

**Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt
für Land- und Forstwirtschaft
Berlin-Dahlem**

Heft 217

Dezember 1983



**Pilzliche Endoparasiten an beweglichen
Nematodenstadien**

von

Ulrike Dürschner

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Nematologie, Münster/Westf.

Berlin 1983

Herausgegeben

*von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Berlin-Dahlem*

Kommissionsverlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
Lindenstraße 44-47, D-1000 Berlin 61

ISSN 0067-5849

ISBN 3-489-21700-4

CIP-Kurztitelaufnahme der Deutschen Bibliothek

Dürschner, Ulrike:

Pilzliche Endoparasiten an beweglichen Nematodenstadien/von
Ulrike Dürschner.

Hrsg. von d. Biolog. Bundesanst. für Land- u.
Forstwirtschaft Berlin-Dahlem. -

Berlin; Hamburg: Parey [in Komm.] 1983.

(Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- u.
Forstwirtschaft Berlin-Dahlem; H. 217)

ISBN 3-489-21700-4

NE: Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft <Berlin,
West; Braunschweig>: Mitteilungen aus der . . .

© Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrages, der Entnahme von Abbildungen, der Funk- sendung, der Wiedergabe auf photomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Werden einzelne Vervielfältigungsstücke in dem nach § 54 Abs. 1 UrhG zulässigen Umfang für gewerbliche Zwecke hergestellt, ist an den Verlag die nach § 54 Abs. 2 UrhG zu zahlende Vergütung zu entrichten, die für jedes vervielfältigte Blatt 0,40 DM beträgt.

1983 Kommissionsverlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, Lindenstraße 44-47, D-1000 Berlin 61.
Printed in Germany by Arno Brynda GmbH, 1000 Berlin 62.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1 <u>Einführung</u>	5
1.1 Einleitung	5
1.2 Zur Entstehung der endoparasitären Lebensweise von Pilzen an Nematoden	8
2 <u>Material und Methoden</u>	10
2.1 Bereitstellung von Nematoden	10
2.2 Untersuchungen über die Eignung verschiedener Verfahren zum Nachweis endoparasitärer Nematodenpilze	12
2.2.1 Probenahme	12
2.2.2 Isolierungsverfahren	13
2.2.2.1 Nematodengewinnung mit dem Baermann-Trichterverfahren, abgewandelt nach Giurma und Cooke (1972)	13
2.2.2.2 Nematodengewinnung durch Zentrifugierung mit Zuckerlösung nach Caveness und Jensen (1955)	14
2.2.2.3 Ausbringen von Erde auf Agar ("Sprinkling Technique") nach Drechsler (1940)	14
2.2.2.4 Die Sporengewinnung nach Barron (1969)	15
2.2.3 Inkubationszeit und Auswertung	15
2.2.4 Ergebnisse des Methodenvergleichs	16
2.2.5 Diskussion	16
2.2.6 Darstellung des ausgewählten Isolierungsverfahrens	19
2.2.7 Die Zuverlässigkeit der Methode	20
2.3 Kultivierung endoparasitärer Nematodenpilze	21
2.3.1 Vermehrung endoparasitärer Nematodenpilze an Rhabditiskulturen	21
2.3.2 Reinkulturen	22
2.3.2.1 Wachstum von endoparasitären Pilzen in axenischer Kultur	23
2.3.2.2 Infektionsfähigkeit von endoparasitären Nematodenpilzen nach Reinkultur	24
3 <u>Untersuchungen von Bodenproben aus vier verschiedenen Ackerbiotopen auf endoparasitäre Nematodenpilze</u>	24
3.1 Material und Methoden	25
3.2 Ergebnisse und Diskussion	26
4 <u>Vorkommen endoparasitärer Nematodenpilze in Standorten unterschiedlicher Nutzung</u>	30
4.1 Datenermittlung	30
4.2 Wahl der statistischen Verfahren	31
4.3 Die ermittelten Daten und ihre statistische Problematik	32
4.4 Ergebnisse	32
4.5 Diskussion	38
5 <u>Nachweise endoparasitärer Nematodenpilze in Europa</u>	40
6 <u>Wirtskreise endoparasitärer Nematodenpilze</u>	44
6.1 Untersuchungen zum Wirtskreis der Endoparasiten <u>Haptoglossa heterospora</u> , <u>Haptoglossa zoospora</u> , <u>Nematoctonus leiosporus</u> , <u>Cephalosporium balanoides</u> und <u>Meria coniospora</u>	44

	Seite
6.1.1 Methoden	44
6.1.1.1 Bereitstellung endoparasitärer Nematodenpilze	44
6.1.1.2 Überprüfte Nematoden	45
6.1.1.3 Durchführung der Infektionsversuche	46
6.1.2 Ergebnisse	47
6.1.2.1 Wirtskreise endoparasitärer Nematodenpilze	47
6.1.2.2 Beobachtungen zum Parasitierungsverlauf	50
6.1.2.2.1 Anhaften von Sporen	50
6.1.2.2.2 Immobilisierung der Wirte	52
6.1.2.2.3 Parasitierungsgeschwindigkeit	53
6.1.2.2.4 Beobachtungen an parasitierten Nematoden	53
6.1.3 Diskussion	55
6.1.4 Zusammenfassung	58
6.2 Infektionsversuche mit <u>Hirsutella heteroderae</u>	58
6.2.1 Vorbemerkungen	58
6.2.2 Ergebnisse und Diskussion	60
6.3 Die Bedeutung des Haftmaterials der Infektionssporen für die Wirtsspezifität	60
7 <u>Diskussion: Die Bedeutung endoparasitärer Nematodenpilze als Antagonisten von Phytonematoden</u>	63
7.1 Parasiten dorylaimider Phytonematoden	63
7.2 Parasiten tylenchider und aphelanchider Phytonematoden	63
7.3 Nematodenparasitäre Pilze im Boden	64
7.4 Ausblick	67
8 <u>Zusammenfassung</u>	68
9 <u>Summary</u>	71
Anhang: Tabelle 22	74
Literaturverzeichnis	75

1. Einführung

1.1 Einleitung

Nematoden sind die individuenreichste Tiergruppe unter den Metazoen im Boden. Es handelt sich überwiegend um Saprobionten, die eine wichtige Rolle im Detritus-Nahrungsnetz spielen. Zu einem geringeren Teil treten Nematoden als Parasiten an Pflanzenwurzeln oder Pilzmyzel in Erscheinung, wenige leben räuberisch.

Als natürliche Feinde von Nematoden werden in der Fachliteratur (z.B. Norton 1978, Southey 1978, Dropkin 1980, Sayre 1980) verschiedene Gruppen genannt: Gelegentliche Feinde sind Viren, Sporozoen, Amöben, Ciliaten, Tardigraden, Collembolen und Oligochaeten. Unter den Bakterien hat anscheinend nur Bacillus penetrans eine Bedeutung (Stirling und White 1982). Wirksame Antagonisten finden sich unter räuberischen Nematoden, zoophagen Milben und Pilzen.

Mit den letzteren wird sich die vorliegende Arbeit beschäftigen. Veröffentlichungen von Barron (1977 a), Nordbring-Hertz und Jansson (1979), Mankau (1980) und Tribe (1980) bieten einen Überblick zum aktuellen Stand der Forschung. Bis heute sind etwa 160 verschiedene nematophage Pilzarten bekannt. Nach der Art ihres Beuteerwerbs können die Nematodenpilze in Antagonisten immobilier Nematodenstadien und Antagonisten beweglicher Tiere eingeteilt werden.

Parasiten immobilier Nematoden

Die kleine Gruppe der Parasiten immobilier Nematodenstadien (Eier, sedentäre Weibchen) fand in den letzten Jahren zunehmend Beachtung. Eiparasiten sind fakultative Parasiten, die als Myzel in die Eier einwachsen. Unter ihnen gelten einige als häufige Bodenbewohner. So sind Cylindrocarpon destructans und Verticillium chlamydosporium weltweit verbreitete, saprophytische Bodenpilze (Domsch und Gams 1970), die als Parasiten der Eier von Heterodera spp. gefunden wurden (Bursnall und Tribe 1974, Kerry und Crump 1977, Tribe 1977a).

Die Parasiten sedentärer Heterodera-Weibchen, Nematophthora gynophila und Catenaria auxiliaris, sind dagegen obligate Parasiten, die als Zoosporen angreifen. N. gynophila wurde erstmals an H. avenae nachgewiesen, kann aber auch Weibchen anderer Heterodera-Arten befallen (Kerry und Crump 1977 und 1980).

Der Einfluß auf die Populationsentwicklung, den einige Parasiten immobilier Nematodenstadien ausüben, kann beachtlich sein. N. gynophila und Dactylella oviparasitica wurden entdeckt und erstmals isoliert, als man unerwartet niedrige Vermehrungsraten von Phytonematoden vorfand. Als Ursache wurde die Parasitierung mit verschiedenen Pilzen festgestellt (Kerry 1974, 1975, 1978, 1979; Perry 1978; Stirling u. McKenry 1979; Tribe 1979).

Nematophage Pilze an mobilen Nematoden

Die Mehrzahl der nematophagen Pilze (etwa 150 Arten) greift bewegliche Nematodenstadien an. Zwei Drittel dieser Pilze bilden Myzelien, die ihre Beute fangen, töten und als Nahrung nutzen. Ein Myzel kann beliebig viele Nematoden erbeuten. Damit handelt es sich bei dieser Lebensweise um Episitismus (=Räubertum). Daher werden die Episiten meist als räuberische Pilze bezeichnet. Bei den übrigen Nematodenpilzen geht der Angriff von der Spore aus. Die vegetative Entwicklung findet nur im Nematoden statt. Deshalb nennt man diese Pilze endoparasitär. Das befallene Tier wird von dem Endoparasiten, ebenso wie bei einem räuberischen Pilz, abgetötet. Im Unterschied zum Episitismus wird aber hier ein vollständiger Vermehrungszyklus an nur einem Beuteindividuum vollendet. Alle räuberischen Nematodenpilze und die meisten Endoparasiten sind auf die Aktivität der Nematoden angewiesen. Das festsitzende Fangorgan eines Räubers oder die bei der Mehrheit der Endoparasiten unbewegliche Infektionsspore muß vom Nematoden aktiv aufgesucht werden. Endoparasiten und räuberische Pilze scheiden deshalb Substanzen ab, die auf Nematoden anziehend wirken (Balan et al. 1974, Jansson und Nordring-Hertz 1979, Jansson 1982).

Räuberische Pilze können unter bestimmten Bedingungen eine vorübergehende Verminderung der Nematodenzahl bewirken (Cooke 1962 a, 1962 b, 1963 a, 1963 b, 1963 c, 1964 und 1968). Die Isolierung und Kultivierung dieser Pilze ist unproblematisch: Sie wachsen gut auf üblichen Nährböden, und die langen Konidiophoren erleichtern das Abimpfen der Sporen. Daher wurden räuberische Pilze als natürliche Gegenspieler von Nematoden häufig untersucht (z.B. Gorlenko 1956, Linford 1959, Hams und Wilkins 1961, Mankau 1961 b, und 1961 c, Dowe 1964, 1966, 1969 und 1972, Van der Laan 1964, Reinmuth und Dowe 1966, Kondakova 1973 a und 1973 b, Mitsui et al. 1976).

Zur Bedeutung endoparasitärer Nematodenpilze als Parasiten beweglicher Nematoden liegen dagegen bisher kaum Angaben vor. Eine neue Arbeit von Jaffee und Zehr (1982) berichtet, daß der Endoparasit Hirsutella rhossiliensis in einigen Pfirsichplantagen den Phytone-matoden Criconebella xenoplax wirksam in Schranken hält. Bis zu 500 parasitierte C. xenoplax wurden in 100 cm³ Erde gefunden. Der Pilz ist nach den genannten Autoren identisch mit Hirsutella heteroderae, der nach Sturhan und Schneider (1980) in Hopfenkulturen beachtliche Befallsgrade an Heterodera humuli erzielen kann. Insgesamt gesehen sind die Kenntnisse über endoparasitäre Nematodenpilze gering im Vergleich zu den vorher erwähnten nematophagen Gruppen. Veröffentlichungen über diese Pilze beschränken sich oft auf die Beschreibung eines neuen Isolates und auf eine Diskussion der systematischen Stellung des Pilzes.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Biologie und Bedeutung endoparasitärer Pilze an beweglichen Nematoden. Für die Bundesrepublik Deutschland wurde aus dieser Pilzgruppe bisher nur Hirsutella heteroderae nachgewiesen (Sturhan und Schneider 1980). Kenntnisse über das Auftreten endoparasitärer Nematodenpilze sind eine wesentliche Grundlage zur Beurteilung möglicher antagonistischer Wirkungen. Vorkommen und Häufigkeit der Pilze sollten daher in verschiedenen Böden untersucht werden. Außerdem war von Interesse, wie gleichmäßig verteilt sie in Freilandflächen vorliegen und wie häufig Parasitierungen sind. Als Voraussetzung für Laborversuche sollten die nachgewiesenen endoparasitären Nematodenpilze in Kultur genommen werden. Als Grundlage für die Vermehrung der Endoparasiten wurde eine Massenproduktion von geeigneten Wirten angestrebt. In Versuchen zur Wirtsspezifität sollten die nematophagen Fähigkeiten der isolierten Endoparasiten gegenüber Nematoden unterschiedlicher systematischer Stellung geprüft werden. Von besonderem Interesse war dabei, ob endoparasitäre Nematodenpilze als wirksame Antagonisten von Populationen pflanzenparasitärer Nematoden in Frage kommen.

1.2 Zur Entstehung der endoparasitischen Lebensweise von Pilzen an Nematoden

Phylogenetisch betrachtet gibt es verschiedene Beziehungen zwischen den in der Einleitung genannten Pilzgruppen. So können zwischen Endoparasitismus und Episitismus fließende Übergänge bestehen, wie z.B. bei den Nematoctonus-Arten (Barron 1977 b). Parasiten beweglicher Nematoden und ein Parasit sedentärer Weibchen sind in der Gattung Catenaria vereinigt (Karling 1938, Birchfeld 1960, Esser und Ridings 1973, Tribe 1977 b).

Einige Dactylella-Arten leben räuberisch von Nematoden, während D. oviparasitica ein Eiparasit ist (Cooke und Godfrey 1964, Stirling und Mankau 1977 und 1978, Stirling 1978 und 1979).

Die Entwicklung nematophager Fähigkeiten bei Pilzen könnte durch die Notwendigkeit einer Abwehr von Nematoden begründet sein. So parasitieren mykophage Nematoden Pilzmyzelien, und saprobiontische Nematoden nehmen unter anderem auch Pilzsporen auf. Eine andere Erklärung (Cooke 1962 a, Dowe 1972) sieht die Erschließung zusätzlicher Nahrung in Mangelsituationen als Ursache an. Da endoparasitäre und räuberische Pilze aber besonders oft aus nährstoffreichen Materialien, wie Laub oder Mist, isoliert werden (z.B. Drechsler 1941, Sheperd 1955, Aschner und Kohn 1958, Perrin 1972), handelt es sich hierbei höchstens um einen relativen Mangel: Die zahlreichen, aktiven Konkurrenten könnten einen Pilz mit geringeren saprophytischen Fähigkeiten zwingen, auf zusätzliche, ungewöhnliche Nahrungsquellen auszuweichen. Aus diesen ursprünglichen Abwehr- oder Ausweichreaktionen entwickelte sich eine Lebensweise in dauernder, enger Bindung an die Nematodenfauna.

Zur Phylogenie endoparasitärer Nematodenpilze liegen nur wenige Angaben vor. So entwickelten sich nach Barron (1977 b) endoparasitäre Nematoctonus-Arten, wie bereits erwähnt, aus räuberischen Pilzen.

Parasitische Catenaria-Arten (Tab. 1), die als eingeißelige Zoosporen angreifen, leiten sich wahrscheinlich von saprophytisch lebenden Zersettern organischen Materials ab (Sparrow 1932, Karling 1938, Couch 1945, Nolan 1970 a, b, c, Esser und Ridings 1973).

Tabelle 1

Infektionsweise und Systematik endoparasitärer Nematodenpilze an beweglichen Nematoden

Infektionsweise	Anzahl der Arten	Systematik (Klasse/Ordnung)	Beispiel
Klebrige Sporen haften an Kutikula	4	Oomycetes/Lagenidales	<u>Myzocyttium glutinosporum</u>
	2	Oomycetes/(Lagenidioid?)	<u>Gonimochaete horridula</u>
	3	Zygomycetes/Enthomophtorales	<u>Meristacrum asterospermum</u>
	3	Zygomycetes/Zoopagales	<u>Euryancale sacciospora</u>
	4	Hymenomyces/Agaricales	<u>Nematoctonus leiosporus</u>
	10	Hyphomycetes/Hyphomycetales	<u>Cephalosporium balancoides</u>
			<u>Meria coniospora</u>
			<u>Hirsutella heteroderae</u>
Infektionssporen werden verschluckt	17	Hyphomycetes/Hyphomycetales	<u>Harposporium anguillulae</u>
Zoosporen einzystieren an Kutikula	2	Chytridiomycetes/Blastocladales	<u>Catenaria anguillulae</u>
	5	Oomycetes/Lagenidales	<u>Myzocyttium intermedium</u>
Injektionssporen schießen Plasma in den Wirt	2	Oomycetes/Saprolegniales	<u>Haptoglossa heterospora</u>
			<u>Haptoglossa zoospora</u>

Die Klasse Oomycetes ist durch das Auftreten von Zoosporen mit zwei Geißeln charakterisiert. Hier zeigt sich eine allgemeine Tendenz zur Entwicklung immobiler Infektionssporen (klebrige Sporen oder Injektionssporen, Tab. 1), wobei die ursprünglichen Zoosporen als primäres, nicht infektiöses Stadium erhalten bleiben oder völlig entfallen können (Drechsler 1940, Juniper 1954, Davidson und Barron 1973, Singh 1973, Barron und Percy 1975, Barron 1976 a, b, c, Esser 1976, Barron 1977 c, Wei-sheng-wu-hsuch-pao 1977).

Die häufigste Infektionsweise ist der Angriff durch klebrige Sporen (Tab. 1). Die Angehörigen dieser Pilzgruppe weisen eine große systematische Vielfalt auf, während die zweitgrößte Gruppe (mit zu verschlingenden Sporen) aus den zahlreichen Arten nur einer einzigen Gattung besteht (Harposporium, Tab. 1). Harposporium-Arten sind weltweit verbreitet. Sie kommen allerdings nicht als natürliche Feinde von Phytonematoden in Betracht. Die zu verschluckenden Infektionssporen können nur von Nematoden mit einer weiten Mundhöhle aufgenommen werden; daher können stacheltragende Nematoden nicht parasitiert werden. Mögliche Antagonisten von pflanzenparasitären Nematoden müssen deshalb unter den Vertretern der drei übrigen Infektionsweisen gesucht werden.

2. Material und Methoden

2.1 Bereitstellung von Nematoden

Für verschiedene Arbeiten mit endoparasitären Pilzen werden Wirtsnematoden benötigt:

- I Zum Nachweis endoparasitärer Nematodenpilze in Bodenproben
- II Zur Vermehrung endoparasitärer Pilze
- III Für Versuche zur Wirtsspezifität

Nachweis und Vermehrung endoparasitärer Nematodenpilze erfordern eine hohe Wirtseignung der eingesetzten Nematoden. Gezielte Untersuchungen zur Wirtsspezifität der endoparasitären Nematodenpilze lagen bei Versuchsbeginn nicht vor. Zufällige Beobachtungen nennen meist saprobiontisch lebende Rhabditis-Arten als Wirte. Nematoden dieser Gattung scheinen für ein breites Endoparasitenspektrum ge-

Tabelle 2

Die verwendeten Nematodenpopulationen

Nematode	Nahrungsgrundlage der Nematoden	Nährboden oder Substrat der Nahrungsgrundlage	Art der Kultur
<u>Rhabditis sp.</u>	Bakterien	CMA	xenisch ¹⁾
<u>Acrobeloides sp.</u>	"	CMA	xenisch
<u>Panagrellus redivivus</u>	"	Seremil-Agar	xenisch
<u>Aphelenchus avenae</u>	Myzel versch. Pilze	PDA oder CMA	xenisch
<u>Ditylenchus triformis</u>	Rhizoctonia solani	PDA	monoxenisch ²⁾
<u>Heterodera schachtii</u>	Brassica napus	Nährboden nach Dropkin + Boone	monoxenisch
<u>Pratylenchus penetrans</u>	Medicago sativa	Nährboden nach Riedel	monoxenisch
<u>Xiphinema index</u>	Vitis vinifera	Sand	Topfkultur
<u>Aphelenchoides ritzemabosi</u>	Nicotiana tabacum	Erde	"
<u>Aphelenchoides fragariae</u>	Chrysanthemum sp.	Erde	"
<u>Rotylenchus robustus</u>	Lolium perenne	Erde	"
<u>Globodera rostochiensis</u>	Solanum tuberosum	Erde	Feldversuch

Abkürzungen: CMA = 14 %iger Corn-Meal-Agar
 PDA = 26 %iger Potato-Dextrose-Agar
 Seremil-Agar = 3 % Seremil-Kindernahrung +
 4 % Glukose + 1 % Agar

1) xenisch = Die Kultur enthält neben den erwünschten Lebewesen eine Vielzahl unbekannter Organismen (hier: Gemisch unbekannter Bakterien).

2) mono-xenisch = Die Kultur enthält neben den erwünschten Lebewesen eine bekannte, andere Art in Mischkultur.

eignete Wirte zu stellen. Weder die Art der Infektionsweise noch die systematische Stellung des Parasiten haben dabei offenbar einen Einfluß.

Weitere vorteilhafte Eigenschaften von Rhabditis sp. sind eine kurze Generationszeit und eine hohe Mobilität der Tiere, welche die Wahrscheinlichkeit des Zusammentreffens mit den meist unbeweglichen Infektionssporen erhöht.

Die verwendeten Nematoden müssen völlig frei von anderen Parasiten sein, da bei einem Einsatz der Tiere zum Nachweis endoparasitärer Nematodenpilze sonst nicht feststellbar ist, ob ein gefundener Parasit aus der untersuchten Bodenprobe stammt oder als Verunreinigung mit den Nematoden zugeführt wurde.

Auch saprophytisches Myzelwachstum kann Auswertungen empfindlich stören. Erfolgt die Nematodenvermehrung in geschlossenen Petrischalen, so lassen sich unerwünschte nematodenparasitäre oder saprophytische Pilze von der Kultur fernhalten.

Eine Zufuhr von Nematoden ist sehr einfach, wenn im Vermehrungssubstrat hohe Individuendichten erreicht werden, wie sie bei einigen bakteriophagen Nematoden (z.B. Rhabditis) auftreten. Die Übertragung erfolgt dann durch Überführen eines Stückchens nematodenhaltigen Nährbodens.

Aus den genannten Gründen wurde als Wirtsnematode bevorzugt eine selbst angelegte Kultur von Rhabditis sp. eingesetzt. Rhabditis sp. wurde auf Corn-Meal-Agar (= CMA) in geschlossenen Petrischalen vermehrt. Die übrigen verwendeten Nematoden und die Art und Weise ihrer jeweiligen Vermehrung gehen aus Tabelle 2 hervor.

2.2 Untersuchungen über die Eignung verschiedener Verfahren zum Nachweis endoparasitärer Nematodenpilze

2.2.1 Probenahme

Zu Beginn der Untersuchungen war über das Auftreten von endoparasitären Nematodenpilzen in der Bundesrepublik Deutschland so gut wie nichts bekannt. Daher wurden für den ersten Versuch 5 möglichst verschiedenartige Biotope aus der Umgebung Münsters gewählt: Acker, Sportrasen, Rebgarten, Brombeerhecke und Komposthaufen.

Es ist anzunehmen, daß endoparasitäre Nematodenpilze besonders in den obersten Bodenschichten vorkommen, wo auch die meisten Nematoden anzutreffen sind. Vlk (1977) wies nach, daß räuberische Nematodenpilze in den obersten 10 cm des Bodens am häufigsten sind. Bereits in 15 cm Tiefe fand er deutlich weniger Räuber. Deshalb wurden für die eigenen Untersuchungen Proben aus den obersten Bodenschichten genommen (0 - 10 cm Tiefe).

2.2.2 Isolierungsverfahren

2.2.2.1 Nematodengewinnung mit dem Baermann-Trichterverfahren, abgewandelt nach Giuma und Cooke (1972)

Das Baermann-Trichterverfahren wird in der Nematologie zur Isolierung mobiler Nematoden benutzt. Auf einen Wattefilter auf einem Gazesieb wird eine Bodenprobe möglichst flach ausgebreitet. Das Sieb wird in einen wassergefüllten Trichter gestellt. Die Nematoden überwinden den Filter aktiv, sinken im Wasser nach unten und sammeln sich in der mit einem Schlauch verlängerten Tülle oberhalb einer Schlauchklemme an (siehe Abbildung 1). Durch Öffnen der Klemme werden sie abgezapft.

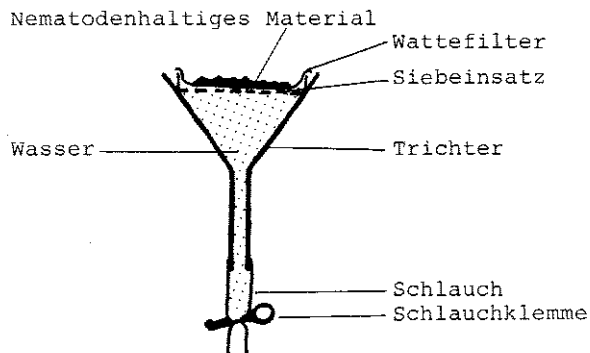


Abb. 1: Aufbau eines Baermann-Trichters

Bei Vorhandensein eines pilzlichen Parasiten im Boden ist anzunehmen, daß einige Tiere befallen aber trotzdem noch lebendig und mobil sind. Diese Nematoden wären in der gewonnenen Nematodensuspension auffindbar. Giuma und Cooke (1972) erweiterten dieses Verfahren, indem sie die gewonnenen Tiere mit destilliertem Wasser reinigten.

Es wurden 150 g Erde von jeder Bodenprobe auf diese Weise behandelt. Die gewonnenen Nematodensuspensionen wurden sofort unter dem Mikroskop auf Pilzbefall überprüft und anschließend auf je vier Wasser-Agar-Schalen (1 % Agar + 300 ppm Streptomzinsulfat in A. dest.) verteilt. Jeweils eine Schale erhielt zusätzlich einige Hundert Wirtsnematoden aus einer gesunden Rhabditis-Kultur um Sekundärinfektionen zu fördern. Dadurch sollten mehr parasitierte Tiere für weitere Versuche zur Verfügung stehen.

2.2.2.2 Nematodengewinnung durch Zentrifugierung mit Zuckerlösung nach Caveness und Jensen (1955)

Wie die erste Methode wurde auch dieses Verfahren zur Isolierung von Nematoden aus Bodenproben entwickelt. Aus gesiebter Erde wird eine Bodenaufschlemmung hergestellt und zentrifugiert, der Überstand verworfen und das nematodenhaltige Sediment in einer Zuckerlösung suspendiert. Die Zuckerlösung muß auf das spezifische Gewicht von Nematoden eingestellt sein. Nach einer zweiten Zentrifugierung sind die Nematoden im Überstand enthalten, aus dem sie durch Abgießen über ein 50- μm^* -Sieb gewonnen werden.

Nach entsprechender Verarbeitung von 150g-Mischproben aus jedem Biotop wurden die Nematodensuspensionen zunächst unter dem Mikroskop auf befallene Tiere untersucht und anschließend auf jeweils vier Wasser-Agar-Schalen (1% Agar + 300 ppm Streptomzinsulfat in A. dest.) verteilt. Je eine Schale erhielt, wie zuvor beschrieben, zusätzlich Rhabditis aus einer befallsfreien Population.

2.2.2.3 Ausbringen von Erde auf Agar ("Sprinkling Technique") nach Drechsler (1940)

Das Krümeln von Erde auf Nährboden ist ein übliches Verfahren zur Erfassung der Wechselbeziehungen zwischen Bodenlebewesen (Newell et al. 1977). In und an dem zugefügten Material beginnt ein reges Wachstum von Mikroorganismen und kleinsten Bodentierchen. Bakteriophage und mykophage Nematoden vermehren sich und dienen nematophagen Pilzen als Nahrung. Infizierte Nematoden, die den nicht auswertbaren Zentralbereich verlassen, können in den Randzonen festgestellt werden. Die Effektivität des Verfahrens läßt sich durch Zufuhr gesunder Wirtsnematoden steigern. Drechsler arbeitete nur mit dieser Technik und wies damit ein breites Spektrum nematophager Pilze erstmals

* μm = Mikron

nach. Die Methode bevorzugt allerdings räuberische Pilze, deren Isolierung im Rahmen dieser Arbeit nicht beabsichtigt war.

Mit Erde aus den 5 Biotopen wurden jeweils 4 Corn-Meal-Agar-Schalen inokuliert. Alle erhielten Rhabditis aus einer befallsfreien Kultur.

2.2.2.4 Die Sporengewinnung nach Barron (1969)

Dieses Verfahren nutzt die unterschiedliche Größe der Sporen endoparasitärer und räuberischer Nematodenpilze zur selektiven Isolierung von Endoparasiten.

Durch Sieben und eine erste Zentrifugierung werden zunächst alle großen und schweren Teilchen aus einer Erdaufschwemmung entfernt. Diesem Schritt folgt eine einstündige Zentrifugierung bei Höchstgeschwindigkeit, um die übrigen, kleineren Partikel zu sedimentieren. Der Überstand wird verworfen. Das sporenhaltige Sediment wird auf 1 %igen Wasser-Agar (= WA) ausgebracht, und anschließend werden Rhabditis aus einer gesunden Population hinzugefügt.

Auf diese Weise wurden Sedimente aus je 150 g Erde von jedem Biotop auf jeweils 8 Petrischalen mit WA verteilt. Die Hälfte der Schalen enthielt zusätzlich 300 ppm Streptomyzinsulfat.

2.2.3 Inkubationszeit und Auswertung

Die durch die beiden ersten Methoden gewonnenen Nematodensuspensionen sollten bereits infizierte Tiere enthalten, deren Parasitierung innerhalb weniger Tage sichtbar wird. Die Auswertung wurde daher sofort vorgenommen und zwei Wochen lang täglich fortgesetzt.

Bei den anderen Methoden treten Infektionen erst innerhalb der Inkubationszeit ein. Die "Sprinkling Plates" (Drechsler 1940), die eventuell auch bereits infizierte Tiere enthalten, wurden am dritten Tag nach Versuchsbeginn erstmals unter dem Mikroskop untersucht. Die Auswertung der Schalen mit sporenhaltigem Sediment begann am 6. Tag. Die Isolierungsschalen beider Verfahren wurden in Abständen von 2-3 Tagen wiederholt angesehen, bis zum Abschluß der Untersuchungen 4 Wochen nach Versuchsbeginn.

2.2.4 Ergebnisse des Methodenvergleichs

Beide Verfahren zur Nematodengewinnung (Baermann-Trichter und Zentrifugierung mit Zuckerlösung) erwiesen sich als ungeeignet zur Isolierung von Nematodenparasiten. Weder in den frisch gewonnenen Nematodensuspensionen noch nach Inkubieren der Tiere auf Wasser-Agar ließ sich ein Befall feststellen.

Mit der "Sprinkling Technique" von Drechsler (1940) wurde Harposporium in den Proben Kompost und Sportrasen festgestellt. Außerdem traten räuberische Pilze auf, die unerwünscht sind, weil sie mit Endoparasiten um Nematoden konkurrieren und damit deren Nachweis verhindern könnten.

Mit der Sporengewinnung nach Barron (1969) konnten in vier der fünf untersuchten Biotope Endoparasiten nachgewiesen werden (Tabelle 3).

Die von Endoparasiten freie Bodenprobe "Acker" war als einzige nicht frisch genommen worden. Nach späteren Erfahrungen lag die Ursache dafür in der mit 8 Wochen bereits zu langen Lagerdauer.

Den größten Artenreichtum zeigte die Probe Kompost mit 3 verschiedenen Endoparasiten. Der häufigste Endoparasit in den Auswertungsschalen aller Biotope war Harposporium sp. Außerdem traten Haptoglossa heterospora, Cephalosporium balanoides und Meria coniospora auf.

In den Petri-Schalen mit Streptomyzinsulfat konnten Endoparasiten etwa einen Tag früher festgestellt werden, als in solchen ohne Zusatz. Der Antibiotika-haltige Agar förderte aber das Wachstum saprophytischer Pilze, so daß die Beobachtung von Endoparasiten nach wenigen Tagen sehr schwierig wurde. In einfachem Wasser-Agar trat dagegen selten Myzel in störendem Ausmaß auf.

2.2.5 Diskussion

Die einzelnen Isolierungsverfahren waren unterschiedlich wirksam. Die Baermann-Trichter-Methode und die Zentrifugierung mit Zuckerlösung versagten. Für den Mißerfolg mit dem Baermann-Trichter-Verfahren, welches nur aktive Nematoden erfaßt, sind folgende Ursachen denkbar:

Tabelle 3

Nachweis von endoparasitären Nematodenpilzen
mit der Sporengewinnung nach Barron (1969)

Biotop	Nachweis von Endoparasiten in je 4 Petrischalen mit	
	1 % WA n = 4	1 % WA + 300 ppm Streptomyzinsulfat n = 4
Acker	4 x keine Endoparasiten	4 x keine Endoparasiten
Sportrasen	3 x <u>Harposporium sp.</u> 1 x " + <u>H.heterospora</u>	4 x <u>Harposporium sp.</u>
Brombeerhecke	4 x <u>Harposporium sp.</u>	4 x <u>Harposporium sp.</u>
Rebgarten	1 x <u>Harposporium sp.</u> 3 x keine Endoparasiten	4 x keine Endoparasiten
Kompost	2 x <u>Harposporium sp.</u> 1 x " + <u>C.balanoides</u> 1 x <u>Harposporium sp.</u> + <u>M.coniospora</u>	1 x <u>Harposporium sp.</u> 1 x " + <u>M.coniospora</u> 1 x <u>Harposporium sp.</u> + <u>M.coniospora</u> + <u>C.balanoides</u> 1 x <u>C.balanoides</u> + ? (nicht auswertbar, wegen störenden, saprophytischen Myzels)

WA = Wasser-Agar

1. Eine sehr rasche Immobilisierung des Wirtes könnte verhindern, daß infizierte Tiere den Wattefilter überwinden.
2. Der Anteil befallener Tiere an der gesamten Nematodenfauna könnte sehr gering sein.

Spätere Versuche mit Kulturen an Endoparasiten an Rhabditis zeigten die prinzipielle Fähigkeit befallener Rhabditis, einen Wattefilter trotz Infektion zu überwinden. Im Boden liegen aber sehr viel weniger infizierte Nematoden vor, als in Rhabditis-Populationen unter Laborbedingungen. Rhabditis sp. ist auch aktiver als viele andere Bodennematoden. Deshalb ist die Wahrscheinlichkeit, mit dem Baermann-Trichter befallene Nematoden aus Bodenproben zu gewinnen, vergleichsweise gering. Mit dem Verfahren von Caveness und Jensen (1955) werden mobile und immobile Nematoden isoliert, sofern die Zersetzung letzterer noch nicht soweit fortgeschritten ist, daß sie durch die mechanischen Belastungen bei der Gewinnung vollends zerfallen. Kleine Bruchstücke würden durch die Siebe fallen und dadurch verloren gehen. Beide Verfahren wurden später noch mehrfach parallel zur Sporenisolierung durchgeführt, führten aber nur selten zum Nachweis eines befallenen Nematoden. Der Sporennachweis war immer am zuverlässigsten.

Dieses Ergebnis wird durch holländische Untersuchungen bestätigt (N. Dolmans + Helen Hoogendoorn, pers. Mitt. 1978). Dort konnten durch Zentrifugierung mit Zuckerlösung trotz vieler Wiederholungen ebenfalls keine befallenen Tiere gefunden werden. Aus einer mir überlassenen Parallelprobe isolierte ich aber mit der Methode nach Barron (1969) drei verschiedene Endoparasiten (Probe 1, Tab. 22). Wie an anderer Stelle gezeigt wird (Dürschner 1983) sind Befallsgrade unter Freilandbedingungen sehr niedrig. Dies dürfte die Hauptursache dafür sein, daß durch Nematodengewinnung selten Endoparasiten nachgewiesen werden.

Mit Drechslers "Sprinkling Technique" konnte als einziger Endoparasit Harposporium sp. gefunden werden. Die Sporenisolierung wies dagegen zusätzlich C. balanoides, M. coniospora und H. heterospora nach. Der Nachweis endoparasitärer Nematodenpilze kann bei Drechslers Verfahren durch das Auftreten konkurrierender räuberischer Pilze verhindert werden. Der geringere Erfolg mit Drechslers "Sprinkling Plates" beruht mit großer Wahrscheinlichkeit auch auf einem Probenahmeeffekt: Die verwendeten 2-3 g Erde könnten zu-

fällig nur einen Teil der Parasiten enthalten, welche in den 150 g vorliegen, die für eine Sporengewinnung benutzt werden. Die für Drechslers Verfahren verwendete Erdmenge enthält als Inokulum bereits infizierte Tiere und Sporen, die im Laufe der Inkubationszeit weitere Tiere befallen können. Die Methode steht damit zwischen den Verfahren zur Nematodenisolierung und der Sporenisolierung. Barrons^s Verfahren schafft durch das Anreichern der Infektionssporen, bei gleichzeitiger Verminderung der Anzahl antagonistischer oder konkurrierender Organismen, günstigere Entwicklungsbedingungen für die Sporen endoparasitärer Nematodenpilze als in Drechslers Isolierungsschalen. Die Nachweiswahrscheinlichkeit wird noch zusätzlich durch die größere Menge Ausgangsmaterial erhöht, die verwendet werden kann.

Die Sporengewinnung (Barron 1969) erwies sich damit eindeutig als die am besten geeignete Methode zum Nachweis endoparasitärer Nematodenpilze in Bodenproben.

2.2.6 Darstellung des ausgewählten Isolierungsverfahrens

Das im folgenden beschriebene Verfahren, eine Abwandlung der Sporengewinnung von Barron (1969) nach eigenen Erkenntnissen, wurde zum routinemäßigen Nachweis von Endoparasiten in Bodenproben eingesetzt. Verschiedene Versuche zur Methodik der Sporengewinnung werden an anderer Stelle ausführlicher dargestellt (Dürschner 1983). Die Veränderungen gegenüber der Originalmethode betreffen vor allem die Zentrifugierzeiten, sowie das zusätzliche Anbieten von D. triformis als Wirt.

Verfahren zum Nachweis endoparasitärer Nematodenpilze in Bodenproben.

150 g Erde werden mit Hilfe eines feinen Wasserstrahles durch ein grobes Sieb (1 mm Maschenweite) geschwemmt. Die gut gemischte Erdaufschwemmung wird in Zentrifugenbecher von 150 ml Fassungsvermögen gefüllt und 2 Min. bei 650 G* zentrifugiert, um schwere Teilchen abzutrennen. Der Überstand enthält die leichten Sporen der endoparasitären Pilze. Er wird über ein 200 µ-Sieb abgossen, in saubere Zentrifugenbecher gefüllt und 30 Minuten bei 4060 G zentrifugiert. Alle kleinen, leichten Teilchen, und damit auch die

*G = Erdbeschleunigung = 9,81 m/sek²

Sporen endoparasitärer Nematodenpilze, sind dann im Sediment konzentriert. Nach der zweiten Zentrifugierung enthält der Überstand keine Sporen mehr und wird verworfen. Das Sediment wird mit einem Glasstab unter Verwendung von möglichst wenigen Tropfen Wasser losgekratzt und in ein Blockschälchen überführt. Die weitere Verarbeitung erfolgt an einer sterilen Werkbank. Die Suspension wird mit einem Glasstab sternförmig auf jeweils 15 Petrischalen mit 1 %igem Wasser-Agar ausgestrichen. Der Agar sollte 2-3 Tage alt sein, um zu starke Kondenswasserbildung zu verhindern. Aus einer gesunden Rhabditis-Kultur werden Agarblöckchen von 1-2 cm² (ca. 8 mm dick) ausgeschnitten und in der Mitte von 10 inokulierten Petrischalen abgelegt. Die 5 übrigen Auswertungsschalen erhalten in gleicher Weise Material aus einer Kultur von Ditylenchus trififormis. Die Petrischalen werden mit Parafilm sofort verschlossen und bei 21°C inkubiert. Die erste Auswertung erfolgt nach 10 Tagen. Bis zum Abschluß des Versuches nach etwa drei Wochen sind noch mindestens zwei weitere Auswertungen nötig.

2.2.7 Die Zuverlässigkeit der Methode

Eine wichtige Frage ist, ob der Nachweis eines Artenspektrums mit der Sporengewinnung zuverlässig wiederholt werden kann. Erde des artenreichen Biotops "Kompost" wurde mehrfach untersucht. Bei insgesamt 11 Isolierungsversuchen war Harposporium 10 x, C. balanoides 10 x und M. coniospora 9 x vorhanden. Die Ergebnisse zeigen damit eine recht hohe Übereinstimmung. Das Fehlen von Harposporium sp. und M. coniospora beruhte in je einem Fall auf der Verarbeitung ungemischter Parallelproben, so daß die Unterschiede wahrscheinlich Probenahmeeffekte sind, verursacht durch Variationen am Standort Kompost. In den beiden übrigen Ansätzen, in denen je einmal C. balanoides und M. coniospora nicht gefunden wurden, war Harposporium auffallend aggressiv und trat sehr rasch in allen Schalen auf, so daß die Entwicklungsmöglichkeiten für andere Pilze sehr ungünstig waren. Diese Beobachtung war Anlaß, eine erneute Sporengewinnung durchzuführen, wenn sich Harposporium in sämtlichen Schalen zeigte. In einigen Fällen konnte dadurch ein weiterer, vorher nicht festgestellter Pilz nachgewiesen werden.

Diese Artenspektren wurden teilweise ermittelt, bevor die Notwendigkeit eines zusätzlichen Angebotes von D. trififormis erkannt worden war, das den Nachweis von C. balanoides wahrscheinlich ermöglicht hätte.

Die sehr seltenen Parasiten H. zoospora und Myzocyttium sp. wurden jeweils nur einmal in den elf Isolierungsversuchen mit Komposterde nachgewiesen. Abgesehen von diesem Nachweis in Komposterde, wurde Myzocyttium nur noch in einer von 20 Proben aus einer 40 m²-Parzelle gefunden (siehe Kapitel 3.). Auch der etwas häufigere Parasit N. leiosporus ließ sich bei mehrfacher Probenahme in Abständen von einem Meter nur in einzelnen Proben nachweisen (Kapitel 3.). Bei Kultur an Rhabditis und in den Wirtskreisuntersuchungen zeigten sich diese Pilze aber nicht weniger aggressiv gegen Nematoden, als die häufiger isolierten Parasiten. Auch in ihrer Sporengröße unterscheiden sie sich nicht von diesen. Daher besteht keine Veranlassung, die Seltenheit des Nachweises einiger Arten als methodisch bedingt anzusehen. Diese weniger häufigen Pilze haben offenbar nur kleinste Verbreitungsgebiete, in denen sie nachweisbare Sporendichten erreichen.

2.3 Kultivierung endoparasitärer Nematodenpilze

2.3.1 Vermehrung endoparasitärer Nematodenpilze an Rhabditis-Kulturen

Die Pilze, die in den Auswertungsschalen Nematoden parasitierten, wurden bestimmt und sollten anschließend für weitere Versuche erhalten und vermehrt werden.

Das Anlegen von axenischen Kulturen (Reinkulturen) mit Inokulum direkt aus den Auswertungsschalen nach einer Sporengewinnung schlug mehrfach fehl. Daher wurden zunächst Kulturen an Wirtspopulationen aufgebaut.

Durch kontrollierte Übertragung von Sporen oder von ganzen parasitierten Nematoden unter dem Binokular ließen sich Endoparasiten an Rhabditis-Kulturen etablieren. Da durch das Abstreifen der Nadel die Agarfläche etwas zerstört wird, sind die kleinen Sporen schlecht zu sehen. Eine Überführung parasitierter Tiere läßt sich leichter überprüfen. In späteren Versuchen wurden deshalb nur befallene Nematoden übertragen.

In den ersten Abimpfungen fand sich häufig neben dem erwünschten Endoparasiten ein anderer parasitischer Pilz, meist eine Harposporium-Art. Durch wiederholte, sorgfältige Überimpfungen konnte aber von allen Parasiten eine Kultur an Rhabditis angelegt werden. Am einfachsten war die Vermehrung von Harposporium anguillulae und Meria coniospora,

am schwierigsten die von Haptoglossa zoospora und Myzocyttium sp.; der letztgenannte Pilz ging nach einigen Vermehrungszyklen wieder verloren. Die Kultur von Myzocyttium-Arten ist offenbar besonders problematisch. Auch Newell et al. (1977) konnten M. vermicola nicht in Dauerkultur halten, während ihnen die Vermehrung von H.hetero-
spora an Nematoden ebenfalls gelang.

Es wurden jeweils mehrere Isolate folgender Endoparasiten an Rhabditis in Kultur genommen:

Harposporium anguillulae
Cephalosporium balanoides
Meria coniospora
Nematoctonus leiosporus
Haptoglossa heterospora
Haptoglossa zoospora

2.3.2 Reinkulturen

Als Ausgangsmaterial dienten die Endoparasitenkulturen an Rhabditis-Populationen. Sie enthielten als einzige weitere Mikroorganismen nur noch Bakterien.

Wie beim Anlegen xenischer Kulturen wurden auch für die Reinkulturen Sporen oder ganze, parasitierte Tiere unter sterilen Bedingungen auf verschiedene Nährböden übertragen. Die Nährböden wurden teilweise mit 150 ppm oder 300 ppm Streptomyzinsulfat versehen.

Das Überimpfen von Sporen war nie erfolgreich. Spätere Beobachtungen an Sporen endoparasitärer Nematodenpilze in Reinkultur zeigten bei diesen nie eine Keimung. Reinkulturen endoparasitärer Nematodenpilze gelangen nur nach Übertragung von vegetativem Material in Form von pilzbesiedelten Nematoden.

In Nährböden ohne Antibiotika-Zusatz wurde das Inokulum regelmäßig schnell von Bakterien überwuchert und war nach etwa einer Woche nicht mehr erkennbar. In Nährböden mit Streptomyzinsulfat (150 oder 300 ppm) war das Bakterienwachstum geringer. Aus einzelnen parasitierten Tieren konnten sich winzige Pilzkolonien entwickeln (häufig weniger als 1 mm Durchmesser). Durch mehrfaches Übertragen auf antibiotikahaltige Nährböden ließen sich diese von Bakterien befreien. Verschiedene Nährböden waren gleichermaßen für eine Reinkultur geeignet. Deshalb wurden bei späteren Isolierungen nur die einfachen Stan-

dardnährböden Corn-Meal-Agar und Potato-Dextrose-Agar verwendet. Es ließen sich axenische Kulturen folgender Pilze anlegen:

<u>Harposporium anguillulae</u>	}	Deuteromycotina
<u>Cephalosporium balanoides</u>		
<u>Meria coniospora</u>		
<u>Nematoctonus leiosporus</u>		Basidiomycotina

Traten in den Kulturen Verunreinigungen auf (Penicillium spp., Cylindrocarpon spp., Fusarium spp. oder verschiedene Hyphomyceten), so war der Endoparasit deutlich unterlegen und in Kürze in der Petrischale nicht mehr feststellbar. Die hier genannten endoparasitären Nematodenpilze werden wegen ihrer geringen Konkurrenzfähigkeit in Bestandsaufnahmen von Bodenpilzen nicht gefunden (z.B. Domsch und Gams 1970). Die üblichen Methoden zur Isolierung von Bodenpilzen erfassen nur räuberische Pilze und Eiparasiten, die größere saprophytische Fähigkeiten haben als die endoparasitären Nematodenpilze. Endoparasiten lassen sich offenbar nur durch den Einsatz selektiver Methoden feststellen und kultivieren. Sie sind als ökologisch obligate Parasiten zu bezeichnen. In ihrer natürlichen Umgebung verhalten sie sich obligat parasitisch. Nur unter den besonderen Bedingungen der axenischen Kultur lassen sie sich saprophytisch vermehren.

Alle Versuche, die Parasiten Haptoglossa heterospora und H. zoospora in Reinkultur zu nehmen, schlugen fehl. Beide Pilze sind obligat parasitisch.

2.3.2.1 Wachstum von endoparasitären Pilzen in axenischer Kultur

Ein Antibiotikazusatz war anfangs zur Eliminierung von Bakterien nötig, erwies sich aber in bakterienfreier Reinkultur als nicht mehr sinnvoll. Nur das Wachstum von C. balanoides wurde durch Streptomyzinsulfat im Nährboden geringfügig gesteigert.

Alle Pilze zeigten relativ langsames Wachstum. Kolonien von C. balanoides erreichten 4 Wochen nach der Abimpfung einen Durchmesser von 1,5 cm, der dann nur noch langsam zunahm, bis auf etwa 3-4 cm. Meria coniospora und H. anguillulae wiesen ein ähnliches Wachstum auf, nur wurde hier kein Einfluß der Antibiotikazufuhr sichtbar. Nematoctonus leiosporus hatte die kleinsten Kolonien, die nach 4 Wochen erst 2-8 mm groß waren und auch bei langer Inkubationszeit nur maximal 1 cm Durchmesser erreichten.

Bis auf einige Abimpfungen von C. balanoides war das weiße Luftmyzel bei allen Isolaten nur spärlich entwickelt.

Verfärbungen des Agars im Zentralbereich der Kolonien wurden regelmäßig bei H. anguillulae (bräunlich), C. balanoides (hellbräunliche Tönung, auf PDA einige Linien auch grau), M. coniospora (gelbliche Beigetöne) und N. leiosporus (sehr helle orange-braune Färbung), beobachtet.

2.3.2.2 Infektionsfähigkeit von endoparasitären Nematodenpilzen nach Reinkultur

Es wurden seit mindestens einem Jahr bestehende axenische Kulturen von H. anguillulae, M. coniospora, C. balanoides und N. leiosporus überprüft. Zur Feststellung der parasitischen Fähigkeiten wurden Myzel oder kleine Agarstückchen aus Pilzkolonien auf Wasser-Agar übertragen. Rhabditis wurde als Wirt zugefügt.

Alle genannten Pilze waren trotz dauernder axenischer Kultivierung fähig, Nematoden zu parasitieren.

Abimpfungen aus etwa ein Jahr alten, nicht erneuerten Kulturen führten jedoch häufig zu Mißerfolgen. Bessere Ergebnisse wurden mit Isolaten erreicht, die im gleichen Zeitraum mehrfach überimpft wurden. Eine Übertragung kleiner Agarstücke war bei allen Parasiten günstiger, als Myzel abzuimpfen. Besonders bei älteren Nährböden besteht die Gefahr einer Austrocknung. Das Substratmyzel im Agar ist durch diesen Vorgang weniger gefährdet als das Luftmyzel, welches zuerst abstirbt.

Die Art des Nährbodens zeigte keinen Einfluß auf die Infektionsfähigkeit des kultivierten Pilzes.

3 Untersuchungen von Bodenproben aus vier verschiedenen Ackerbiotopen auf endoparasitäre Nematodenpilze

Mehrfache Isolierungen von Endoparasiten aus derselben Probe führten meist zu übereinstimmenden Ergebnissen im Artenspektrum. Würden jedoch verschiedene Proben der gleichen Standorte untersucht, waren unterschiedliche Resultate häufiger. Dieser Probenahmeeffekt deutete auf eine ungleichmäßige Verteilung von Endoparasiten im Boden. Es stellte sich die Frage, wie gleichmäßig endoparasitäre Nematoden-

pilze in Freilandflächen verteilt sind und innerhalb welcher räumlichen Abstände das Artenspektrum eines Standortes variieren kann. Die Untersuchung mehrerer Standorte sollte gleichzeitig Unterschiede zwischen verschiedenen Ackerbiotopen zeigen.

3.1 Material und Methoden

Aus einer 40 m² Parzelle des Versuchsfeldes in Münster wurden am 23.4.1980 zwanzig Einzelproben entnommen. Die Abstände der Probenahme lagen zwischen 0,25 m und 1 m (Abb. 2). Gleichzeitig wurde aus derselben Parzelle eine aus 50 gleichmäßig verteilten Einstichen bestehende Mischprobe gezogen und das gut gemischte Material in 2 Wiederholungen auf Endoparasiten untersucht. Alle Nachweise erfolgten wie in Kapitel 2.2.6 dargestellt. Die vereinigten und gemischten Reste der 20 Einzelproben gingen als 9 weitere Mischproben in die Untersuchung ein.

In einem weiteren Versuch wurden an 3 verschiedenen Standorten (Tab. 4) jeweils 10 Proben auf einer Linie in Abständen von 1 m entnommen und in der gleichen Weise verarbeitet. Die Probenahme erfolgte am 15.9.80 von den gerade abgeernteten Stoppelfeldern.

Tabelle 4

Bodenart und Nutzpflanze der untersuchten Ackerflächen

<u>Standort</u>	<u>Bodenart</u>	<u>Nutzpflanze</u>
Münster	Sand	Kartoffel
Hovestadt	lehmiger Sand	Gerste
Havixbeck	Lehm	Weizen
Steghaus	lehmiger Ton	Hafer

Der Standort Hovestadt wurde im Frühjahr 1981 erneut auf endoparasitäre Pilze untersucht, weil die ersten Untersuchungen gezeigt hatten, daß Endoparasiten hier besonders gleichmäßig verteilt vorkamen. Die Punkte der Probenahme von Herbst und Frühjahr sind nicht identisch, gehören aber zum selben Teil des Feldes.

3.2 Ergebnisse und Diskussion

Der Vergleich der Ergebnisse von Einzelproben und Mischproben (Tab. 5) zeigt, daß letztere den Endoparasitengehalt eines Bodens nur begrenzt erfassen. In den Mischproben wurden nur Harposporium sp. und Haptoglossa heterospora gefunden. Aus den Einzelproben von derselben Fläche ließen sich zusätzlich Meria coniospora und Myzocyttium sp. isolieren (Tab. 5). Durch das Mischen wurde das Sporeninokulum der selteneren Pilze offenbar so stark verringert, daß kein Nachweis mehr möglich war.

Die Ergebnisse der Sporengewinnung aus Einzelproben (Abb. 2) zeigen, daß die nachgewiesenen Artenspektren bereits auf kurze Entfernungen variierten. Nur Harposporium sp. war überall gleichmäßig verteilt vorhanden. Die übrigen endoparasitären Pilze hatten nur sehr kleine Verbreitungsgebiete.

Auch bei den drei anderen Standorten gab es Proben, deren Artenspektrum von dem der 1 m entfernten Nachbarpunkte abwich. Dennoch war die Verteilung erheblich einheitlicher (Abb. 3), als in der zuerst untersuchten Fläche.

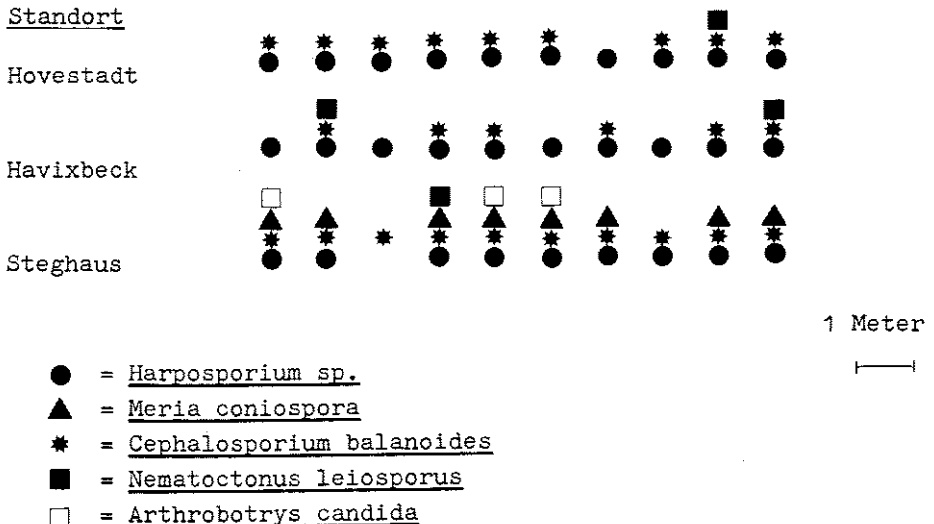


Abb. 3

Artenspektren endoparasitärer Nematodenpilze in Abständen von 1 m an drei verschiedenen Standorten.

Tabelle 5

Vergleich der in 20 Einzel- bzw. Mischproben gefundenen Endoparasiten aus derselben Fläche (Standort: Münster)

Art der Probe	Zahl der Proben	Anzahl der Proben mit Nachweis der Endoparasiten:			
		<u>Harposporium sp.</u>	<u>H.hetero- spora</u>	<u>M. conio- spora</u>	<u>Myzocyttium sp.</u>
Mischprobe	11	11	3	0	0
Einzelprobe	20	20	5	4	1

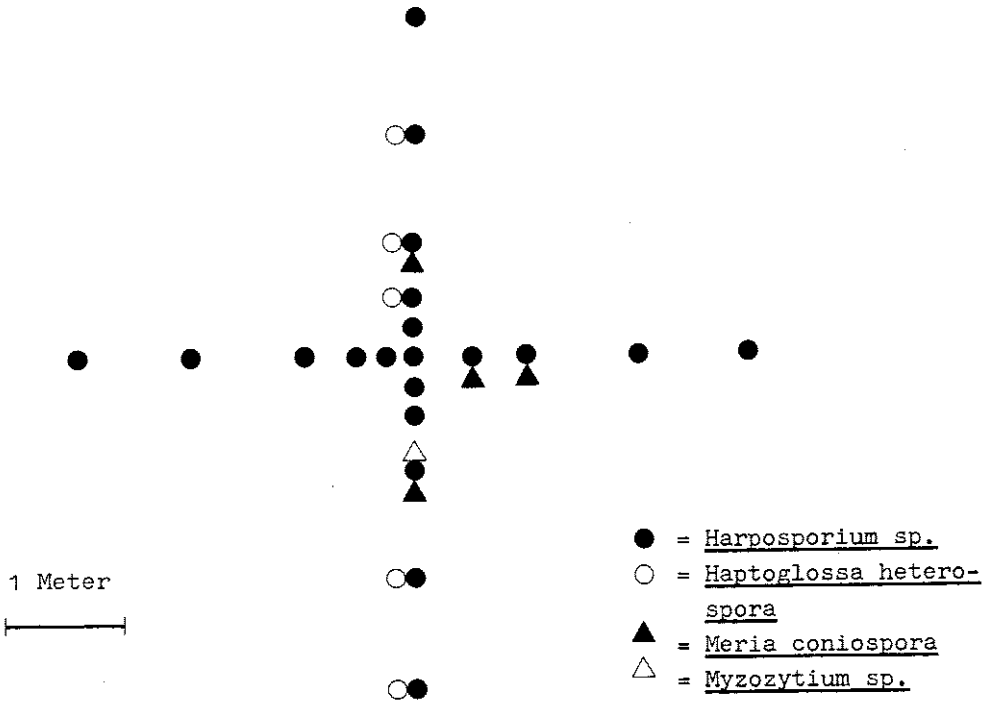


Abb. 2

Artenspektren in 20 verschiedenen Punkten innerhalb einer 40 m²-Parzelle (Standort: Münster).

Die Standorte Havixbeck und Hovestadt wiesen das gleiche Artenspektrum auf. An beiden Standorten wurden Harposporium immer, C. balanoides häufig und N. leiosporus selten nachgewiesen. Die Artenverteilung im Standort Hovestadt war besonders gleichmäßig. Der Standort Steghaus enthielt zusätzlich noch die Parasiten M. coniospora und Arthrobotrys candida (früher Dactylaria candida). A. candida gilt als räuberischer Pilz, aber seine Fangorgane (klebrige Knoten) fallen leicht ab (Barron 1975). Damit nähert sich der Pilz dem Verhalten von Endoparasiten mit klebrigen Sporen. Auch der Standort Steghaus zeigte eine vergleichsweise homogene Verteilung: Achtmal wurden Harposporium sp., C. balanoides und M. coniospora in einer Probe gefunden. Punktuelle Abweichungen bestanden meist im zusätzlichen Nachweis von A. candida oder N. leiosporus, während zwei Punkte ein reduziertes Artenspektrum zeigten.

Die nachgewiesenen Artenspektren am Standort Hovestadt im Herbst und im darauf folgenden Frühjahr stimmen praktisch überein (Abb. 4). N. leiosporus war im Herbst zu selten, um aus dem fehlenden Nachweis im Frühjahr Schlüsse ziehen zu können.

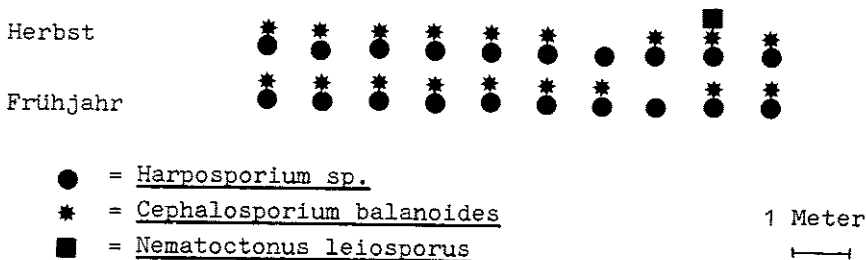


Abb. 4

Artenspektren endoparasitärer Nematodenpilze am Standort Hovestadt im Herbst 1980 und im darauf folgenden Frühjahr.

Die Ausbeute an Sporen schwankt, je nachdem wie gründlich das Sediment nach der zweiten Zentrifugierung ausgekratzt wird. Ein quantitativer Vergleich der Resultate nur zweier Sporengewinnungen ist deshalb nicht sinnvoll. Hier wurden für jeden Standort 10 (bzw. 20) Isolierungen durchgeführt, so daß sich bei den 150 (bzw. 300) Auswertungsschalen (siehe 2.2.6) pro Standort diese Unterschiede ausgleichen müßten.

Die Häufigkeit eines Endoparasiten in den Auswertungsschalen aller Proben von einem Standort sollte daher ein geeignetes Maß für einen quantitativen Vergleich mit einem anderen Standort sein. Die unterschiedliche Häufigkeit eines Endoparasiten in den Auswertungsschalen zweier Standorte läßt sich statistisch in Form von Vierfeldertafeln auf Signifikanz überprüfen. Für je zwei Standorte wurde also die Anzahl Schalen mit und ohne einen bestimmten Pilz festgestellt und als Chiquadrat-Test verrechnet (Weber 1967, Lienert 1973 und 1978, Clauß und Ebner 1977). Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 dargestellt. Vom Versuchsfeld in Münster waren mehr Proben (20) untersucht worden, und es lagen entsprechend mehr Auswertungsschalen vor. Um alle Werte direkt vergleichen zu können, wurden für die tabellarische Zusammenstellung Prozentwerte ermittelt. Die Summe aller Prozentwerte eines Standortes kann 100 % übersteigen, weil einige Petrischalen mehrere endoparasitäre Pilze enthielten.

Tabelle 6

Häufigkeit des Nachweises von Endoparasiten in % der Auswertungsschalen von vier verschiedenen Standorten. Gleiche Buchstaben bedeuten keine signifikante Differenz ($\alpha = 0,05$), unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede im Auftreten des Endoparasiten an verschiedenen Standorten.

- | | |
|--------------------------------------|------------------------------------|
| 1 = <u>Harposporium sp.</u> | 4 = <u>Meria coniospora</u> |
| 2 = <u>Cephalosporium balanoides</u> | 5 = <u>Haptoglossa heterospora</u> |
| 3 = <u>Nematoctonus leiosporus</u> | 6 = <u>Myzocyttium sp.</u> |

n = Zahl der Bodenproben
15 x n = Zahl der Auswertungsschalen

Standort	Endoparasit					
	1	2	3	4	5	6
Münster n = 20	49,5 c	0 d	0 b	3,5 b	3,5 a	0,5 a
Hovestadt n = 10	100 a	18,7 b	0,7 ab	0 c	0 b	0 a
Havixbeck n = 10	63,3 b	3,3 c	2,7 a	0 c	0 b	0 a
Steghaus	43,3 c	57,3 a	0,7 ab	55,3 a	0 b	0 a

4. Vorkommen endoparasitärer Nematodenpilze in Standorten unterschiedlicher Nutzung

4.1 Datenermittlung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden über 100 Bodenproben aus mehr als 40 Standorten auf das Vorkommen endoparasitärer Nematodenpilze überprüft. Die überwiegende Zahl der Bodenproben stammte aus ackerbaulich oder gärtnerisch genutzten Standorten. Allein 50 Proben wurden für den Vergleich von 4 Standorten (siehe Kap. 3) untersucht. Unter den Proben befanden sich auch einige aus England (8 Standorte, je eine Probe) und Dänemark (4 Standorte, je eine Probe), in denen sich trotz wiederholter Versuche kaum Endoparasiten nachweisen ließen. Diese Proben waren bei ihrem Eintreffen (Postversand) völlig trocken. Die selbst genommenen Proben wurden nie getrocknet und möglichst rasch verarbeitet. War eine Lagerung nötig, so wurden die Proben kühl gehalten (Bodenprobenkeller oder Kühlschrank). Eine Lagerdauer über 6 Wochen kann den Isolierungserfolg nach eigenen Untersuchungen vermindern. Die Proben aus dem Ausland hatten offenbar eine abweichende Vorbehandlung erfahren und wurden daher für weitere Fragestellungen nicht berücksichtigt. Die Anzahl der selbst genommenen Proben betrug 96.

Für alle Bodenproben (außer einer, bei der nach der Sporengewinnung kein Material übrig blieb) wurde die Bodenart nach Janetscheck (1982) bestimmt. Unter den Böden befanden sich Sande (S), anlehmige Sande (alS), lehmige Sande (lS), sandige Lehme (sL), Lehme (L) und lehmige Tone (lT).

Der Nachweis endoparasitärer Nematodenpilze erfolgte mit einer selbst entwickelten Abwandlung von Barrons Sporengewinnung (siehe 2.2.6). Zur Bestimmung der eigenen Isolate wurde folgende Literatur herangezogen: Drechsler 1940, 1941 und 1946, Cooke u. Godfrey 1964, Davidson u. Barron 1973. Alle Ergebnisse sind in Tabelle 22 zusammengefaßt (Anhang).

Die Proben aus dem Kaiserstuhlgebiet (17 Proben von 8 Standorten, alles Lehme) enthielten nur vereinzelt Endoparasiten. Die Bodenart kann nicht als Ursache dafür angesehen werden, denn Proben aus anderen lehmigen Standorten waren deutlich reicher an Endoparasiten. Die Probenahme im Kaiserstuhlgebiet erfolgte zu zwei verschiedenen Terminen (5.3.81 und 23.10.81), wobei die zweite Probennahme den

geringen Isolierungserfolg der ersten überprüfen sollte. Alle Proben wurden rasch genug verarbeitet und teilweise wiederholt untersucht. Die Ursache für das geringe Vorkommen der Pilze im Kaiserstuhlgebiet sind nicht bekannt. Um Verzerrungen zu vermeiden, welche die Aufdeckung anderer Beziehungen verhindern könnten, wurden diese Werte nicht berücksichtigt.

Es gingen also 79 Bodenproben von 23 Standorten in die statistische Auswertung ein. Die Berechnungen wurden zunächst für das Datenmaterial aller Bodenproben durchgeführt. Da einige Standorte mit sehr vielen Proben vertreten waren, wäre dabei eine Überbewertung einzelner Standorte möglich. Deshalb wurden die gleichen Berechnungen nochmals mit nach Standorten gewichteten Werten durchgeführt und die Ergebnisse vergleichend diskutiert.

4.2 Wahl der statistischen Verfahren

Die Art der Werte bedingt eine Anwendung parameterfreier Verfahren. Es wurden verschiedene Beziehungen in Form von Vierfeldertafeln ($m \times k = 2 \times 2$) und Kontingenzwürfeln ($m \times k \times s = 2 \times 2 \times 2$) mit Chi-Quadrat-Tests beurteilt. (Weber 1967, Lienert 1973 und 1978, Claus u. Ebner 1977).

Traten zu geringe Werte auf, wurde die Kontinuitätskorrektur nach Yates durchgeführt. Diese Korrektur stellt eine Art "Glättung" der Werte dar, welche die Wahrscheinlichkeit einer Ablehnung von H_0 verringert und damit das Ergebnis " H_0 trifft nicht zu" sicherer macht.

Für alle Tests lautet H_0 : Die Abweichungen der Häufigkeiten bestimmter Merkmalskombinationen von den geschätzten Erwartungswerten sind nur zufällig. Überschreitet das ermittelte Chi-Quadrat den vorgegebenen Chi-Quadrat-Wert bzw. gehört zu dem ermittelten Chi-Quadrat ein α , welches kleiner ist als die vorgegebene Irrtumswahrscheinlichkeit, so muß H_0 verworfen werden. Es gilt dann H_1 : Bestimmte Beziehungen zwischen den Merkmalen (oder bei Scheinkontingenz: gemeinsame Beziehungen zu einer dritten Größe) führen dazu, daß die Merkmale nicht mehr zufällig kombiniert vorliegen.

4.3 Die ermittelten Daten und ihre statistische Problematik

Die Ermittlung der Daten erfolgte immer mit der gleichen Methodik (siehe Kap. 2.2.6). Die Proben wurden allerdings nicht gleichzeitig parallel genommen. Die ausgewerteten Daten waren die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen. Insbesondere landwirtschaftlich genutzte Standorte gingen häufig mit mehreren Proben in die Statistik ein, während andere Standorte nur mit einer Probe vertreten waren. Eine der Voraussetzungen für Chiquadrat-Tests ist die wechselseitige Unabhängigkeit der Ereignisse. Diese kann eingeschränkt sein, wenn "einzelne Individuen enger verwandt sind als andere" (Lienert 1973). Analoge Probleme könnten auftreten, wenn ein Standort mit mehreren Proben eingeht.

Ein Boden ist bezüglich seiner Besiedlung mit Mikroorganismen oder Nematoden ein derartig komplexes, inhomogenes System, daß die verschiedenen Proben von einem Standort durchaus unterschiedliche Lebensgemeinschaften widerspiegeln können. Eigene Untersuchungen zeigten, daß bereits bei 50 cm Distanz ein anderes Artenspektrum von Endoparasiten vorliegen kann (siehe Kap. 3). Die unterschiedlichen Befunde innerhalb eines Standortes könnten also Ausdruck verschiedener Mikrostandorte sein. Deshalb sollte zuerst getestet werden, ob die Ergebnisse der Proben eines Standortes als gleichartig anzusehen sind. Leider lassen sich derartig kleine Stichproben nicht statistisch überprüfen. Die hier dargestellte Problematik der Daten läßt es sinnvoll erscheinen, die Ergebnisse der statistischen Berechnungen nur als Hinweise auf Tendenzen und Zusammenhänge zu interpretieren. Es werden dabei interessante Fragen aufgeworfen, deren endgültige Klärung aber eine gezieltere und der Statistik angemessenere Bearbeitung erfordert.

4.4 Ergebnisse

Die Häufigkeit endoparasitärer Nematodenpilze, bezogen auf die Gesamtheit der untersuchten Bodenproben bzw. Standorte, sind in Tabelle 7 zusammengefaßt. Die fast überall vorhandenen Harposporium spp. waren überwiegend H. anguillulae. Eine genaue Bestimmung wurde nur stichprobenartig durchgeführt. Harposporium-Arten fanden in dieser Arbeit geringere Beachtung, weil ihr Wirkkreis grundsätzlich auf saprobiontische Nematoden beschränkt ist. Die nächst häufigen Endoparasiten waren C. balanoides und M. coniospora.

Tabelle 7

Häufigkeit endoparasitärer Nematodenpilze in 79 Bodenproben bzw. 23 Standorten

Endoparasit	Bezugsgröße	
	Bodenproben	Standorte
<u>Harposporium spp.</u>	94,4 %	90,5 %
<u>Cephalosporium balanoides</u>	49,4 %	32,2 %
<u>Meria coniospora</u>	29,1 %	16,6 %
<u>Haptoglossa heterospora</u>	10,1 %	14,1 %
<u>Nematoctonus leiosporus</u>	6,3 %	6,1 %
<u>Haptoglossa zoospora</u>	2,5 %	4,7 %
<u>Myzocyttium sp.</u>	2,5 %	0,6 %

Die Tabellen 8 und 9 zeigen, wieviele verschiedene Parasiten im Durchschnitt bei jeder Bodenart gefunden wurden. Die starke Variabilität der Ergebnisse ließ es sinnlos erscheinen, einzelne Bodenarten zu vergleichen. Die Daten wurden deshalb vereinfachend zusammengefaßt. In Form einer Vierfeldertafel wurde der Zusammenhang zwischen Bodenart (leicht=S+a1S+lS/schwer=sL+L+lT) und Endoparasitenreichtum überprüft (endoparasitenarm = nur Harposporium oder kein Endoparasit/endoparasitenreich = andere Endoparasiten enthaltend).

Der Chiquadrat-Test zeigte keinen Einfluß der Bodenart auf den Endoparasitenreichtum.

Das Auftreten bestimmter endoparasitärer Nematodenpilze (+/-) wurde ebenfalls mit der Bodenart (leicht/schwer) in Form von Vierfeldertafeln analysiert. Auch hier war kein Zusammenhang feststellbar.

Tabelle 10 gibt Nachweise von Endoparasiten in Standorten unterschiedlicher Bewirtschaftung wieder. Standorte, die einem Fruchtwechsel unterlagen, enthielten im Durchschnitt 2,2 verschiedene endoparasitäre Nematodenpilze, während in Böden ohne Fruchtwechsel durchschnittlich 1,2 endoparasitäre Pilze gefunden wurden. Die Tabellen 11 und 12 zeigen, daß mehr als die Hälfte aller Böden ohne Fruchtwechsel nur einen Endoparasiten enthielt, während in Böden mit Fruchtwechsel das Artenspektrum umfangreicher war: In gut zwei Drittel der Proben bzw. Standorte wurden zwei oder drei endoparasitäre Nematodenpilze nachgewiesen.

Legende für die Tabellen 8 und 9

S + aLS	= Sand + anlehmiger Sand	}	leicht
lS	= lehmiger Sand		
sL	= sandiger Lehm	}	schwer
L	= Lehm		
lT	= lehmiger Ton		
∅	= Durchschnitt		

Tabelle 8

Durchschnittliche Anzahl der nachgewiesenen endoparasitären Nematodenpilze in Bodenproben aus verschiedenen Böden.

Bodenart	∅ Artenzahl	Anteile davon		Anzahl der Bodenproben
		<u>Harposporium sp.</u>	übrige Endoparasiten	
S+aLS	2,25	1	1,25	4
lS	1,63	1	0,63	35
sL	2,62	0,92	1,69	13
L	1,69	1	0,69	13
lT	2,23	0,77	1,47	13

Tabelle 9

Durchschnittliche nachgewiesene Artenzahl endoparasitärer Nematodenpilze in Standorten mit unterschiedlichen Böden.

Bodenart	∅ Artenzahl	Anteile davon		Anzahl der Standorte
		<u>Harposporium sp.</u>	übrige Endoparasiten	
S+aLS	2,25	1	1,25	4
lS	1,50	1	0,50	7
sL	1,94	0,97	0,97	3
L	1,45	1	0,45	4
lT	0,95	0,48	0,48	4

Tabelle 10

Umfang der nachgewiesenen Artenspektren endoparasitärer Nematodenpilze in Standorten unterschiedlicher Nutzung.

Abkürzungen: Ø E = Durchschnittliche Anzahl nachgewiesener endoparasitärer Pilzarten
 Ø H = Durchschnittlicher Anteil der Harposporium-Arten
 Ø Ü = Durchschnittlicher Anteil der übrigen endoparasitären Nematodenpilze

Nutzung	Zahl der Proben	Werte aus allen Bodenproben Ø E Ø H Ø Ü	Zahl der Standorte	Werte nach gewichtet Ø E Ø H Ø Ü
Dauerweide, Rasen	5	1,2 0,8 0,4	5	1,2 0,8 0,4
Wald, Hecke, Baumschule	8	1,3 0,9 0,4	8	1,3 0,9 0,4
Acker	51	1,9 1,0 1,0	5	2,2 1,0 1,2
Mikroplot, Topfversuch	3	2,0 1,0 1,0	3	2,0 1,0 1,0
Gärtnerische Substrate	12	2,8 1,0 1,8	2	2,4 1,0 1,5

Tabelle 11

Häufigkeit des Nachweises von 0, 1, 2, 3 oder 4 verschiedenen Endoparasiten in Bodenproben aus Flächen mit und ohne Fruchtwechsel.

	Zahl der Proben	Anzahl der nachgewiesenen Endoparasiten				
		0	1	2	3	4
mit Fruchtwechsel	66	0 %	28,8 %	36,4 %	31,8 %	3,0 %
ohne Fruchtwechsel	13	15,4 %	53,8 %	23,1 %	7,7 %	0 %

Tabelle 12

Häufigkeit des Nachweises von 0, 1, 2, 3 oder 4 verschiedenen Endoparasiten in Standorten mit oder ohne Fruchtwechsel.

	Zahl der Standorte	Anzahl der nachgewiesenen Endoparasiten				
		0	1	2	3	4
mit Fruchtwechsel	10	0 %	22,0 %	38,7 %	37,4 %	1,9 %
ohne Fruchtwechsel	13	15,4 %	53,8 %	23,1 %	7,7 %	0 %

Die Merkmale Fruchtwechsel (+/-) und Endoparasitenreichtum (kein Endoparasit außer *Harposporium*/andere endoparasitäre Nematodenpilze nachgewiesen) wurden in Form von Vierfeldertafeln auf Unabhängigkeit getestet. Sowohl bei allen Bodenproben (Tab. 13) als auch auf der Basis aller Standorte ergaben sich signifikante Abweichungen von der zufallsgemäßen Merkmalskombination. Fruchtwechsel wirkt sich demnach fördernd auf den Endoparasitengehalt aus.

Tabelle 13

Artenreichtum und Fruchtfolge. (Als artenarm gelten Proben, in denen außer *Harposporium spp.* keine Endoparasiten nachgewiesen wurden)

Ermittelte Werte

Erwartungswerte

Artenreichtum			Artenreichtum	
+	-		+	-
48	18	+	43,4	22,6
4	9	-	8,6	4,4

Eine Aufschlüsselung der Daten nach Arten zeigte, daß Meria coniospora und Cephalosporium balanoides bevorzugt in Böden mit Fruchtwechsel auftreten (Tab. 14 und 15). Bei Berechnungen mit allen Proben war diese Beziehung für beide Endoparasiten signifikant. Auf der Basis der nach Standorten gewichteten Werte war dieser Unterschied nur noch für M. coniospora signifikant, während das α von C. balanoides die Signifikanzgrenze von 5 % überschritt. Der Endoparasitenreichtum von Böden, die einem Fruchtwechsel unterliegen, beruhte nach diesen Berechnungen auf einer Bevorzugung der entsprechenden Standorte durch C. balanoides und M. coniospora.

Tabelle 14

Nachweis von C. balanoides in Bodenproben aus Standorten mit und ohne Fruchtwechsel.

Ermittelte Werte			Erwartungswerte	
<u>C. balanoides</u>			<u>C. balanoides</u>	
+	-		+	-
37	29	+	32,6	31,4
2	11	-	6,4	6,6
		Fruchtwechsel		

$\alpha = 0,0073 = 0,73 \%$ Irrtumswahrscheinlichkeit

Tabelle 15

Nachweis von M. coniospora in Bodenproben aus Standorten mit und ohne Fruchtwechsel.

Ermittelte Werte			Erwartungswerte	
<u>M. coniospora</u>			<u>M. coniospora</u>	
+	-		+	-
23	43	+	19,2	46,8
0	13	-	3,8	9,2
		Fruchtwechsel		

$\alpha = 0,0115 = 1,15 \%$ Irrtumswahrscheinlichkeit

Weiter wurde überprüft, ob das Auftreten von jeweils 2 Parasiten unabhängig voneinander war. Die einzige, deutliche Abweichung von einer zufallsgemäßen Kombination zeigte sich zwischen M. coniospora und C. balanoides (Tab. 16). Beide Pilze traten häufiger gemeinsam auf, oder beide fehlten gleichzeitig, als bei völlig zufälliger Kombination anzunehmen wäre. Stattdessen war der Nachweis nur eines der beiden Pilze seltener als erwartet.

Tabelle 16

Nachweise von M. coniospora und C. balanoides in 79 Bodenproben

Ermittelte Werte			Erwartungswerte	
<u>C. balanoides</u>			<u>C. balanoides</u>	
+	-		+	-
18	5	+	11,4	11,6
21	35	- <u>M. coniospora</u>	27,6	28,4

$\alpha = 0,0010 = 0,10 \%$ Irrtumswahrscheinlichkeit

Diese signifikante Abweichung konnte durch Berechnung eines Kontingenzwürfels mit dem dritten Merkmal "Fruchtwechsel" als Scheinkontingenz erkannt werden. Die oben beschriebenen Abweichungen von rein zufälliger Kombination beruhen also auf der bereits nachgewiesenen, gleichsinnigen Reaktion der beiden Pilze auf Einflüsse, die mit einem Fruchtwechsel verbunden sind.

4.5 Diskussion

Bodenart

Die statistischen Berechnungen zeigten keinerlei Einfluß der Bodenart auf Artenspektrum oder Artenreichtum eines Bodens. Fowler (1970) fand in Neuseeland ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen der Bodenart und dem Auftreten von nematophagen Pilzen, wobei allerdings in erster Linie räuberische Arten erfaßt wurden.

Fruchtwechsel

Standorte, die einem Fruchtwechsel unterliegen, wiesen ein deutlich umfangreicheres Artenspektrum auf, als Biotope mit dauernd gleichartigem Bewuchs. Es konnte gezeigt werden, daß dies auf einer Bevorzugung der zuerst genannten Standorte durch die Endoparasiten M. coniospora und C. balanoides beruhte. Fowler (1970) fand nematophage Pilze häufiger in landwirtschaftlich genutzten Flächen, im Vergleich zu "undeveloped areas". Seine Ergebnisse wurden mit anderen Methoden ermittelt und beziehen sich hauptsächlich auf räuberische Pilze. Einige der von Fowler als "endozoic parasites" aufgeführten Arten sind nach neueren Definitionen ebenfalls räuberische Pilze. Dennoch zeigen seine Resultate eine übereinstimmende Tendenz mit den hier vorgelegten Ergebnissen: Die intensivere Bewirtschaftung eines Standortes fördert das Auftreten von nematophagen Pilzen.

Wechselwirkungen zwischen endoparasitären Nematodenpilzen

Nach den hier vorgelegten Daten war der Nachweis von jeweils zwei verschiedenen Endoparasiten in Bodenproben unabhängig voneinander. Eine Beeinträchtigung eines Pilzes durch einen anderen war, statistisch betrachtet, nicht gegeben. Wie aus anderen Versuchen bekannt ist (Dürschner 1983) sind Befallsgrade im Boden sehr gering. Damit ist das Zusammentreffen zweier Endoparasiten unwahrscheinlich, und die Fähigkeit, andere endoparasitäre Nematodenpilze auszuschalten, bietet praktisch keinen Selektionsvorteil.

Wichtiger könnte ein Schutz gegen andere häufigere Mikroorganismen sein. So berichtet Barron (1977 a) von einer wachstumshemmenden Wirkung der Reinkulturen von Harposporium sp. und M. coniospora auf verschiedene saprophytische Pilze. Ein Wachstum in Reinkultur entspricht aber nicht den Bedingungen im Boden. Diese Ergebnisse können also nicht ohne weiteres auf die natürlichen Verhältnisse übertragen werden.

Unter Laborbedingungen konnten Doppelinfektionen zweier Parasiten an einem Wirt erzielt werden. Bei der Auswertung von Isolierungsschalen wurden häufig Harposporium anguillulae und Cephalosporium balanoides am selben Tier bemerkt, wobei beide Pilze etwa gleich stark entwickelt waren. Bei Doppelinfektionen von C. balanoides und M. coniospora konnte ebenfalls keine gegenseitige Unterdrückung

festgestellt werden. Auch beim gemeinsamen Auftreten von M. coniospora und H. heterospora entwickelten sich beide Pilze. Beobachtungen zu Wechselwirkungen bei Doppelinfektionen am selben Wirt legt Barron (1977 a) für Harposporium und Catenaria vor. Demnach tötete Harposporium die Sporangien des Konkurrenten durch Toxine, ohne in diese einzudringen.

Bei Doppelinfektionen an einem Wirt ist eine Abtötung oder Hemmung des einen Parasiten durch den anderen offenbar nicht die Regel. In allen selbst beobachteten Kombinationen sporulierten beide Pilze. Es zeigten sich gelegentlich Unterschiede in der Menge der neu gebildeten Sporen. Welcher der beiden Pilze sich stärker entwickelte, schien aber nur zufällig zu sein. Unterschiedliche Entwicklungsmöglichkeiten könnten dadurch verursacht werden, daß ein Pilz eher infizierte als sein Konkurrent. Auch könnte die Anzahl der jeweils beteiligten Infektionssporen eine Rolle spielen.

Eine antagonistische Wechselwirkung zwischen Endoparasiten ließ sich weder durch mikroskopische Beobachtungen noch durch eine statistische Auswertung der Daten zum Auftreten dieser Pilze nachweisen.

5. Nachweise endoparasitärer Nematodenpilze in Europa

Überall wo bisher endoparasitäre Pilze untersucht wurden, waren auch Harposporium anguillulae und andere Harposporium-Arten zu finden. Diese Pilze, deren Sporen zur Infektion von den Wirten verschluckt werden müssen, können keine Phytonematoden befallen und werden daher hier nicht berücksichtigt.

Pilze, die als Zoosporen angreifen, sind in Europa offenbar sehr selten. Aus dieser Gruppe wurde nur eine Catenaria-Art an einigen toten Tieren einer Nematodensuspension (Isolierung nach Caveness u. Jensen 1955) beobachtet. Diese Art lebte aber offensichtlich saprophytisch an abgestorbenen Nematoden (vergleiche Kapitel 1).

Dowe (1972), der in der DDR viele räuberische Pilze isolierte, zeigt auch Photos von C. anguillulae. Woher das Isolat stammt und inwieweit es parasitisch aktiv war, ist den Veröffentlichungen nicht zu entnehmen. Dowe erwähnt C. anguillulae nicht als wirksamen Antagonisten von Nematoden in seinen Veröffentlichungen zum Thema Nematodenbekämpfung durch Pilze (Dowe 1964, 1966 und 1969).

Tabelle 17

Pilzliche Parasiten beweglicher Nematoden - Nachweise endoparasitärer Nematodenpilze in Europa (Harposporium-Arten nicht berücksichtigt).

Land	Endoparasiten	England	Dänemark	Niederlande	Deutschland
Schweden	<u>Acrostalagmus obovatus</u>	<u>Acrostalagmus obovatus</u>	(2,1)	<u>Cephalosporium balanoides</u>	<u>Cephalosporium balanoides</u>
	<u>Cephalosporium balanoides</u>	<u>Haptoglossa heterospora</u>	(2)	<u>Haptoglossa heterospora</u>	<u>Haptoglossa heterospora</u>
	<u>Gonimochaete</u> sp. 1)	<u>Meria confospora</u>	(2,6)	<u>Meria confospora</u>	<u>Haptoglossa zoospora</u>
	<u>Meria confospora</u>	<u>Myzocyttium subuliforme</u>	(5)	<u>Nematoctonus tylosporus</u>	<u>Hirsutella heteroderæ</u> (1)
	<u>Myzocyttium</u> sp. 2)	<u>Nematoctonus lelosporus</u>	(2)		<u>Meria confospora</u>
	<u>Nematoctonus lelosporus</u>	<u>Nematoctonus lelosporus</u>	(1)		<u>Myzocyttium</u> sp.
	<u>Nematoctonus pachysporus</u>	<u>Nematoctonus leptosporus</u>	(2)		<u>Nematoctonus lelosporus</u>
		<u>Nematoctonus tripolitanus</u>	(3)		<u>Pythium middletonii</u>
		<u>Verticillium sphaerosporum</u>	(4)		
Autoren	Olson 1979	(1) Cooke 1963 b (2) Duddington 1954 (3) Giama u. Cooke 1972 (4) Goodey 1951 (5) Juniper 1954 (6) Wyborn et al. 1969	Shepherd 1956	eigene Nachweise	eigene Nachweise (1) Sturhan u. Schneider 1980

1) Olson nennt den Pilz Myzocyttium sp.2. nach dem Photo ist es eine Gonimochaete-Art (Vergleich mit Drechsler 1946 und Barron 1973).

2) Bei Olson erfolgte keine Artbestimmung, ein Photo ermöglichte die Spezifikation.

Das Anhaften klebriger Sporen ist die häufigste Infektionsweise endoparasitärer Nematodenpilze (vergleiche Tab. 1). Der größte Teil der nachgewiesenen Endoparasiten gehörte in diese Gruppe. Injektionssporen sind nur bei Haptoglossa heterospora und H. zoospora bekannt, die auch beide gefunden wurden.

Eine Zusammenfassung aller bisher in Europa nachgewiesenen endoparasitären Nematodenpilze zeigt Tabelle 17. Die Nachweise erfolgten mit unterschiedlichen Methoden und basieren zum Teil auf einzelnen, zufälligen Beobachtungen. Ein direkter Vergleich der Häufigkeiten ist daher nicht möglich. So wurde aus den Niederlanden nur eine Probe untersucht (Bodenprobe 1), aus der neben einer hier nicht interessierenden Harposporium sp., M. coniospora und C. balanoides gewonnen werden konnten.

Die Anwesenheit von M. coniospora ist damit für alle aufgeführten Länder außer Dänemark belegt.

Nematoctonus leiosporus wurde in Schweden, England und Deutschland festgestellt. Nach Shepherds Zeichnungen von N. tylosporus könnte es sich bei dem dänischen Nematoctonus-Isolat ebenfalls um N. leiosporus handeln.

Olson versieht die meisten seiner Angaben zur Identität der gefundenen Pilze mit Fragezeichen. Nach den Photos können aber die schwedischen Nachweise von N. leiosporus, C. balanoides und M. coniospora als sicher angesehen werden. Das als "A. obovatus?" angesprochene Isolat ist leider nur als Skizze abgebildet. Nach dieser könnte der Pilz auch C. balanoides sein.

Die in der Literatur als Spicaria coccospora, Verticillium sphaerosporum, Cephalosporium balanoides, Acrostalagmus obovatus und A. bactrosporus beschriebenen Pilze ähneln einander sehr (Drechsler 1941, Goodey 1951, Watanabe 1980). Duddington (1955) bezeichnet sie als nahe verwandte Gruppe, die möglicherweise nur aus einer Gattung besteht.

Nach Gams (1982 briefliche Mitteilung) ist die in der Bundesrepublik Deutschland isolierte Art identisch mit dem von Drechsler (1941) unter dem Namen C. balanoides beschriebenen Pilz. Gams bearbeitet seit kurzem die Systematik verticillater Nematodenpilze und stellt diesen Pilz aber in die Gattung Verticillium (C. balanoides = Verticillium balanoides, Kultur CBS 522.80 Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn).

Zahl und Form der Phialiden von C. balanoides schwanken nach eigenen Beobachtungen je nach Wachstum auf Nährboden oder an Nematoden, zwischen Luftmyzel und Substratmyzel und je nach Feuchtigkeit (Dürschner 1983). Nach den jeweiligen Originalbeschreibungen sind Phialidenmerkmale ein wichtiges Unterscheidungskriterium. Möglicherweise ist dieses Merkmal bei den anderen Pilzen der oben angeführten Gruppe ebenso variabel. Dann wären die Endoparasiten A. obovatus, C. balanoides und V. spaerosporum nur schwer zu unterscheiden, da die Variationsbreiten der übrigen Maße große Überschneidungen aufweisen. Möglicherweise erweisen sich einige der hier als verschiedene Arten und Gattungen bezeichneten Pilze nach der Bearbeitung durch Gams als identisch.

Die von Olson isolierte Myzocyttium-Art hat Zoosporen, die nicht infektiös sind und nach Enzystierung zu immobilisierenden Infektionssporangien mit klebrigem Auswuchs werden. Die deutsche Myzocyttium-Art gehört zum gleichen Kreislauftypus. Nach Barron (1977 b) gibt es drei Myzocyttium-Arten mit diesem Entwicklungsweg. Bei dem deutschen und dem schwedischen Isolat könnte es sich um die gleiche Art handeln. Der einzige weitere Myzocyttium-Nachweis in Europa ist M. subuliforme aus England, der einem anderen Kreislauftyp angehört. In Deutschland und in Schweden kann also nicht der gleiche Pilz vorgelegen haben wie in England.

Bei den eigenen Untersuchungen wurden Haptoglossa heterospora und H. zoospora nachgewiesen, die mit Injektionssporangien angreifen. H. heterospora wurde außerdem in Dänemark und England gefunden. Diese Pilze sind möglicherweise noch weiter verbreitet. Haptoglossa-Arten werden in Auswertungsschalen leicht übersehen, denn es ist nicht einfach beim Auftreten von Sporenhäufchen zu erkennen, daß es sich um die Reste eines ehemaligen Nematoden handelt.

Giurma und Cooke (1972) erwähnen zusätzlich "nonmycelial parasites". Damit könnten neben Haptoglossa- auch Catenaria-, Myzocyttium- oder Gonimochaete-Arten gemeint sein.

Auffällig ist der Reichtum englischer Böden an Nematoctonus-Arten. Es liegen vier Veröffentlichungen vor, von denen jede eine andere Art nennt. Außer N. leiosporus wurde keine der in England gefundenen Arten in anderen europäischen Ländern nachgewiesen.

N. leiosporus wurde auch in Schweden isoliert, bei den eigenen Untersuchungen trat er insgesamt 5-mal auf.

Die endoparasitären Nematodenpilze H. heteroderae, H. zoospora und P. middletonii wurden im europäischen Raum bisher nur in Deutschland gefunden.

6. Wirtskreise endoparasitärer Nematodenpilze

6.1 Untersuchungen zum Wirtskreis der Endoparasiten Haptoglossa heterospora, Haptoglossa zoospora, Nematoctonus leiosporus, Cephalosporium balanoides und Meria coniospora

6.1.1 Methoden

6.1.1.1 Bereitstellung endoparasitärer Nematodenpilze

Harposporium anguillulae oder andere Harposporium spp. wurden nicht berücksichtigt, da sie wegen ihrer Infektionsweise keine stacheltragenden Phytonematoden befallen können. Die seltene Myzocyttium sp. ließ sich trotz zahlreicher Versuche weder an Nematoden noch in Reinkultur kultivieren und stand daher für diese Versuche nicht zur Verfügung.

Alle verwendeten Isolate wurden an einer Rhabditis-Population erhalten und vermehrt. C. balanoides, N. leiosporus und M. coniospora ließen sich zwar auf Nährböden kultivieren (Kap. 2.3.2), doch war zu Beginn dieser Versuche noch nicht auszuschließen, daß dadurch die parasitischen Fähigkeiten beeinträchtigt würden. Diese ökologisch obligaten Parasiten wachsen wahrscheinlich im Boden nicht saprophytisch. Das Sporeninokulum sollte daher unter möglichst ähnlichen Bedingungen ebenfalls an Nematoden gebildet werden. Den ausgewählten Kulturen wurde im Abstand von einigen Tagen Rhabditis zugeführt, um dadurch eine ständig hohe Dichte infektionsfähiger Sporen zu gewährleisten.

Durch einen Austausch von Pilzkulturen mit H.B. Jansson von der Universität Lund (Schweden) konnten noch einige zusätzliche Versuche mit einem anderen Isolat von Meria coniospora durchgeführt werden. Dabei wurden nochmals parallele Infektionsversuche mit der deutschen Herkunft angesetzt.

6.1.1.2 Überprüfte Nematoden

Als Wirte standen Nematoden der Ordnungen Rhabditida, Aphelenchida, Tylenchida und Dorylaimida zur Verfügung. Die systematischen Beziehungen dieser Ordnungen zeigt Abb. 5.

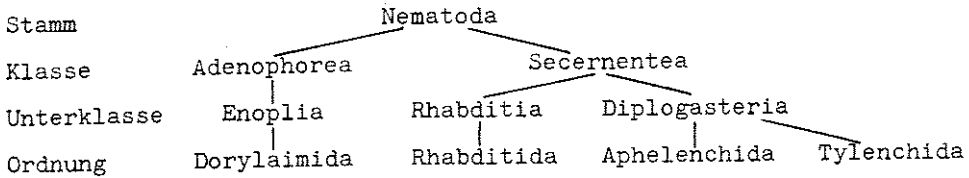


Abb. 5

Übersicht zur Nematodensystematik nach Maggenti (1981)

Tylenchida und Aphelenchida, welche die meisten Pflanzenparasiten stellen, werden der gleichen Unterklasse zugeordnet. Mit Rhabditiden zusammen gehören sie in die Klasse Secernentea. Xiphinema index war in den vorliegenden Versuchen der einzige Vertreter der anderen Klasse.

Die einzelnen getesteten Arten sind in Tabelle 18 aufgeführt. Die Herkunft der Nematoden ergibt sich aus Tabelle 2 (Kapitel 2.1)

Einige Nematoden der Aphelenchoides fragariae-Population zeigten einen Vorbefall mit Cephalosporium balanoides oder Haptoglossa heterospora. Bei Rotylenchus robustus waren einzelne Tiere von Hirsutella heteroderae oder Cephalosporium balanoides parasitiert. Beide Arten wurden unter Gewächshausbedingungen vermehrt und waren daher nicht von vorneherein parasitenfrei.

Es wurden jeweils hochkonzentrierte, artenreine Nematodensuspensionen in Wasser hergestellt. Gemische verschiedener Nematoden sind in der Regel nicht für diese Versuche geeignet, da am parasitierten Tier keine sichere Art- oder Gattungsbestimmung durchgeführt werden kann. Ausnahmen waren nur dann möglich, wenn der Wirt aufgrund seiner Merkmale (z.B. Größe) auch im parasitierten Zustand deutlich von der begleitenden Nematodenfauna unterscheidbar war, und wenn letztere nur einen geringen Prozentsatz ausmachte. Das Herstellen geeigneter Nematodensuspensionen erforderte daher, ebenso wie die genauen Auswertungen, einen hohen Arbeitsaufwand.

Um weitere Informationen zur Wirtsspezifität zu erhalten, wurden neben Nematoden auch Rädertierchen (Habrotrocha sp.) als Wirte angeboten.

6.1.1.3. Durchführung der Infektionsversuche

Vorversuche hatten gezeigt, daß die parasitische Aktivität der Endoparasiten im Wasser in Blockschälchen wesentlich geringer ist, als in dem dünnen Wasserfilm einer Agaroberfläche. Alle Versuche fanden daher auf Agar statt.

Zur Prüfung der Wirtseignung wurden in den Endoparasitenkulturen Bereiche mit besonders hoher Sporendichte ausgewählt. Aus diesen Bereichen wurden Agarblöckchen von 1-2 cm² Grundfläche ausgeschnitten und auf ein Agarstück von etwa 5 cm² auf einen Objektträger gelegt (Abb. 6). Diese Unterlage bestand aus 1 %igem Wasser-Agar und sollte ein vorzeitiges Austrocknen verhindern. In dieser Unterlage ließen sich auch infizierte Nematoden auffinden, die den Inokulum-Block verlassen hatten. Die zu überprüfenden Nematoden wurden in 1-2 Tröpfchen einer hochkonzentrierten Nematodensuspension auf die infektionssporenenreiche Oberfläche pipettiert. Die Objektträger befanden sich während der Inkubationszeit jeweils einzeln in Petrischalen.

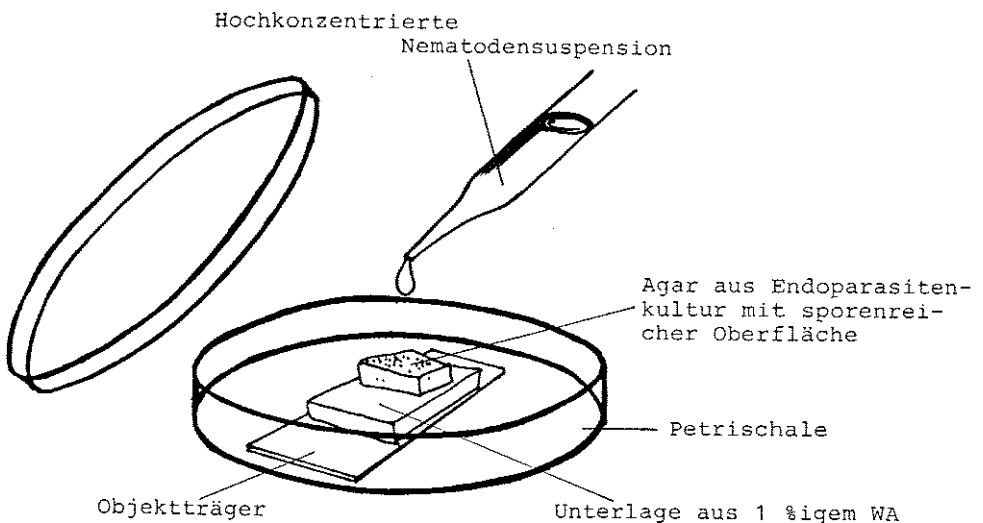


Abb. 6

Versuch zur Feststellung der Wirtseignung

Die Auswertung erfolgte täglich bis zum Abschluß des Versuches nach etwa 10 Tagen. Inokulumblockchen und Agarunterlage wurden dabei sorgfältig unter dem Mikroskop überprüft.

Nematoden wurden dann als Wirte bezeichnet, wenn an ihnen eine neue Generation von Infektionssporen zu beobachten war. Bei geeigneten Wirten traten in allen Wiederholungen viele Infektionen auf und der Versuch konnte nach 6 Wiederholungen abgeschlossen werden. Erst nach 10 erfolglosen Infektionsversuchen mit insgesamt 1000-3000 Tieren wurden Nematoden als Nichtwirte bezeichnet.

Bei Ausbleiben von Infektionen erfolgte nach Abschluß des Versuches eine Überprüfung der Infektionsfähigkeit des Inokulums. Dabei konnte in allen hier vorgelegten Versuchen durch das Zufügen eines bekannt guten Wirtes (Rhabditis) die parasitische Aktivität des Inokulums bestätigt werden. Alle negativen Resultate waren somit eindeutig darauf zurückzuführen, daß der getestete Nematode als Wirt ungeeignet war.

6.1.2. Ergebnisse

6.1.2.1. Wirtskreise endoparasitärer Nematodenpilze

Die Einzelergebnisse der Versuche sind in Tabelle 18 zusammengefaßt. Bei den Wirt-Parasit-Kombinationen, die in Tabelle 18 ein + erhielten, traten in allen sechs Wiederholungen viele Parasitierungen auf. Ein - zeigt an, daß der überprüfte Nematode als Nichtwirt für den betreffenden Pilz eingeschätzt wird. Mit Ausnahme der Infektionsversuche mit M. coniospora an Nematoden der Ordnung Aphelenchida war die Wirtseignung immer eindeutig feststellbar.

Keiner der getesteten endoparasitären Nematodenpilze befiel Xiphinema index. Einige der aus einer Topfkultur an Reben stammenden Tiere waren aber von Myzel besiedelt. Zwei daraus isolierte Hyphomyceten wurden als saprophage Pilze angesehen. Ein Phycomycet konnte als Endoparasit Pythium middletonii identifiziert werden. (Abb. 7-9).

Das Ergebnis der vergleichenden Untersuchungen eines schwedischen und eines deutschen Isolates von M. coniospora zeigt Tabelle 19.

Tabelle 18

Wirtskreise endoparasitärer Nematodenpilze

+ = Wirt

- = Nichtwirt

WIRTE	ENDOPARASITEN				
	Infektionsweise der Sporen				
	Injektion			Anhaften	
	<u>H.hetero- spora</u>	<u>H.zoo- spora</u>	<u>N.leio- sporus</u>	<u>C.bala- noides</u>	<u>M.conio- spora</u>
RHABDITIDA					
<u>Rhabditis</u> <u>sp.</u>	+	+	+	+	+
<u>Acrobeloides</u> <u>sp.</u>	+	+	+	+	+
<u>Panagrellus</u> <u>redivivus</u>	+	+	+	+	+
APHELENCHIDA					
<u>Aphelenchus</u> <u>avenae</u>	+	+	+	+	-
<u>Aphelenchoides</u> <u>ritzemabosi</u>	+	+	+	+	-
<u>Aphelenchoides</u> <u>fragariae</u>	+	+	+	+	-
TYLENCHIDA					
<u>Ditylenchus</u> <u>triformis</u>	+	+	+	+	-
<u>Pratylenchus</u> <u>penetrans</u>	+	+	+	+	-
<u>Heterodera</u> <u>schachtii</u>	+	+	+	+	-
<u>Globodera</u> <u>rostochiensis</u>	+	+	+	+	-
<u>Rotylenchus</u> <u>robustus</u>	-	-	+	+	-
DORYLAIMIDA					
<u>Xiphinema</u> <u>index</u>	-	-	-	-	-
ROTATORIA					
<u>Habrotrocha</u> sp.	+	+	-	-	-

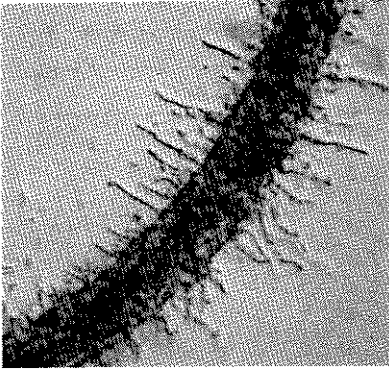


Abb. 7
Hyphen von Pythium middletonii
wachsen aus Xiphinema index.

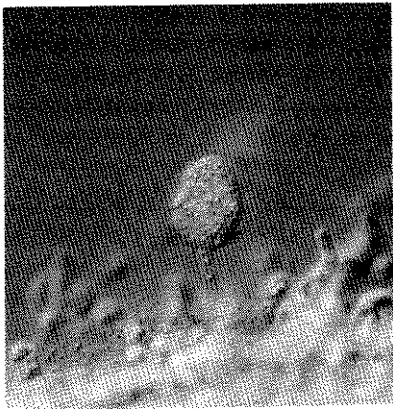


Abb. 8
An einer Hyphenspitze ent-
steht ein Sporangium von
P. middletonii

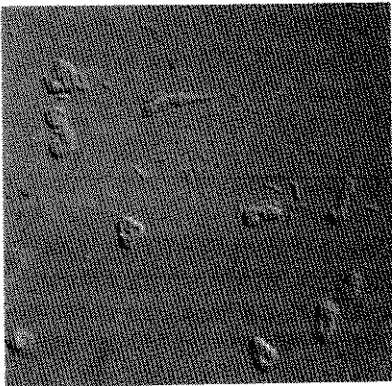


Abb. 9
Amöboides Verhalten der Zoo-
sporen von P. middletonii.

Tabelle 19

Wirtskreise eines deutschen (Münster) und eines schwedischen (Lund) Isolates von Meria coniospora

Wirt	Isolat	
	Münster	Lund
<u>Rhabditis sp.</u>	+	+
<u>Panagrellus redivivus</u>	+	+
<u>Acrobeloides sp.</u>	+	+
<u>Aphelenchoides ritzemabosi</u>	-	+
<u>Ditylenchus triformis</u>	-	-

+ = Wirt

- = Nichtwirt

Beim Vergleich zweier verschiedener Meria-Herkünfte zeigten Infektionsversuche mit dem deutschen Isolat Übereinstimmung mit den bereits vorher erzielten Ergebnissen. Das schwedische Isolat, welches an rhabditiden Nematoden deutlich aggressiver war, konnte auch A. ritzemabosi parasitieren, während die deutsche Herkunft nicht dazu fähig war.

Tylenchide Nematoden waren aber auch für dieses Isolat keine geeigneten Wirte. Von 1700 D. triformis wurden nur 2 Tiere parasitiert.

6.1.2.2. Beobachtungen zum Parasitierungsverlauf

6.1.2.2.1. Anhaften von Sporen

Bei geeigneten Wirten konnte ein Anhaften von Infektionssporen bereits innerhalb von Minuten nach Zufuhr der Nematoden beobachtet werden.

Bei trägen Tieren dauerte es etwas länger, bis ein Kontakt mit Sporen eintrat.

Die kleinen, rundlichen Sporen von C. balanoides hafteten überall an der Nematodenkutikula (Abb. 10). Ein Abstreifen von Infektionssporen wurde hier nie beobachtet. Die Infektionssporen von N. leiosporus und M. coniospora konnten gelegentlich wieder abgestreift werden. Mög-

licherweise tritt bei diesen Pilzen erst nach einiger Zeit eine feste Verbindung zur Kutikula ein.

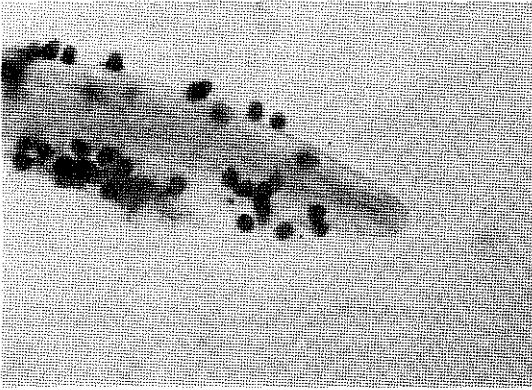


Abb. 10

Infektionssporen von Cephalosporium balanoides haften an der Kutikula von Ditylenchus triformis. Von der Sporenanhäufung unterhalb des Wirtes führt bereits eine Keimhype in das Nematodeninnere (Färbung: Perjodsäure-Leukofuchsin, Vergr. 1100 x)

N. leiosporus und M. coniospora klebten bevorzugt an der Lippen- oder der Schwanzregion (Abb. 11). Bei N. leiosporus kam es häufiger als bei M. coniospora vor, daß sich Sporen auch an anderen Körperpartien befanden. Bei den Infektionsversuchen mit dem schwedischen Meria-Isolat hafteten die Sporen besonders oft an der Schwanzspitze von A. ritzemabosi. Es wurde eine Stichprobe ausgezählt: In drei Fällen war die Lippenregion der Ausgangspunkt der Parasitierung, 51 mal war es die Schwanzspitze. In vier Fällen war nicht mehr feststellbar, wo die Infektion eintrat.

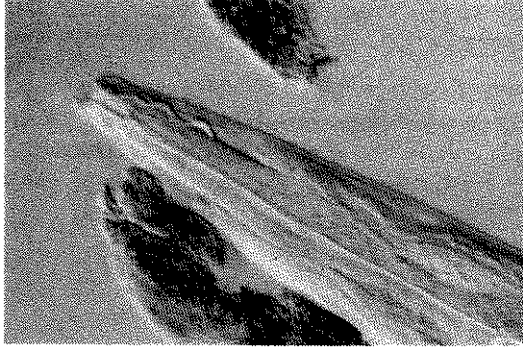


Abb. 11

Wellenförmige Keimhyphne von Meria coniospora in Rhabditis sp.
Wie bei diesem Pilz üblich, begann die Infektion an der Lippenregion
(Vergr. 1200 x).

Bei Wirten von M. coniospora waren bereits am ersten Versuchstag viele anhaftende Sporen zu beobachten. Bei Nichtwirten konnten erst nach mehreren Tagen in einigen seltenen Fällen anhaftende Sporen festgestellt werden. Bei einer Auswertung eines Versuches mit D. triformis wurden unter 1500 Tieren 5 mit je einer Spore von Meria gefunden. Diese Tiere wurden mit einer Nadel entnommen und weiter beobachtet. Nach einer halben Stunde hatte das erste bereits seine Sporen wieder verloren, die anderen Tiere streiften sie etwas später ab. In keinem Fall trat eine Infektion ein. An A. avenae und A. ritzemabosi ließ sich beobachten, daß in den seltenen Fällen eines Anhaftens von Meria-Sporen stets weniger aktive Tiere betroffen waren. Dennoch wurde in diesen Versuchen kein Befall festgestellt.

6.1.2.2.2. Immobilisierung der Wirte

Beobachtungen an M. coniospora, N. leiosporus und C. balanoides zeigten, daß ein Anhaften von Infektionssporen die Aktivität von Nematoden noch nicht beeinflußt. Die Spore keimt dann in den Wirt. Gelegentlich ließen sich erste Keimhyphen in Wirten feststellen, die noch uneingeschränkt aktiv waren. Einige Stunden nach dem Eindringen

des Pilzes werden die befallenen Tiere zunehmend träger. Spätestens 10 Stunden nach der Sporenkeimung sind die infizierten Nematoden inaktiviert.

Für die beiden Haptoglossa spp. konnten zu diesem Punkt keine genauen Beobachtungen gemacht werden. Bei diesen Pilzen gibt es keine anhängenden Sporen, die einen frühen Befall erkennen lassen. Sind Thalli im Tier deutlich erkennbar, so ist der Wirt meist bereits abgetötet. Nur in einem Fall konnte in einem noch lebenden aber nicht mehr aktiven Rhabditis ein Thallus beobachtet werden, der bereits 80 % der Körperlänge des Nematoden erreicht hatte.

6.1.2.2.3. Parasitierungsgeschwindigkeit

Vollständig ausgebildete Sporangien von Haptoglossa spp. wurden am 2. oder 3. Versuchstag festgestellt. Bei den drei Parasiten mit klebrigen Infektionssporen waren aus parasitierten Tieren auswachsende Hyphen spitzen zwischen dem 2. und 7., meist aber am 3. oder 4. Versuchstag erstmals zu beobachten.

6.1.2.2.4. Beobachtungen an parasitierten Nematoden

Gelegentlich wurde beobachtet, daß aus den offensichtlich unbeschädigten Eiern in parasitierten Tieren Larven schlüpften. Die endoparasitären Pilze C. balanoides und M. coniospora lassen in parasitierten Weibchen vorhandene Eier unbehelligt. Die genannten Pilze verfügen offensichtlich nicht über die Enzyme (z.B. Chitinasen) die ihnen ein Durchdringen der Eihüllen ermöglichen würden.

Die Kutikula widersteht dem Abbau lange. H. heterospora (Abb. 15) und H. zoospora (Abb. 12) sind bei ihrer Zersetzung erfolgreicher als die übrigen isolierten Endoparasiten. Das gleiche wurde auch für Myzocyttium sp. in den Auswertungsschalen nach Sporenextraktionen beobachtet.

Myzocyttium und Haptoglossa gehören gemeinsam zu den Oomycetes.

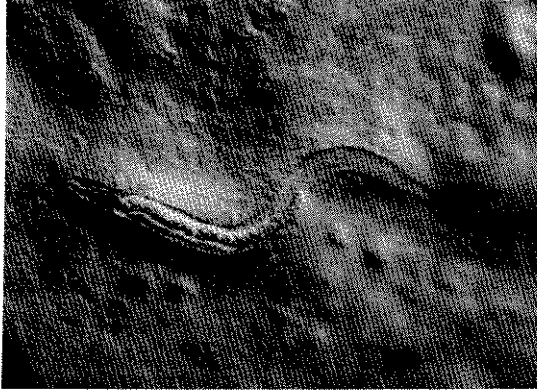


Abb. 12

Dieser Panagrellus redivivus wurde durch eine Infektion mit nur einer Spore von Haptoglossa zoospora abgetötet. Deshalb entwickelte sich in dem Tier nur ein einziger, langer Thallus. (Vergr. 200 x)

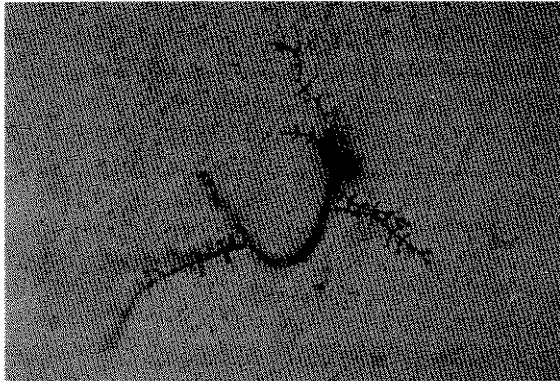


Abb. 13

Aufsicht auf einen parasitierten Pratylenchus penetrans
Aus dem Tier wachsen die Sporenträger von Cephalosporium balanoides.
(Vergr. 100 x)

Das Eindringen der Keimhyphen sowie das Auswachsen der Sporenträger erfolgte bei M. coniospora, N. leiosporus und C. balanoides jeweils über feine, durch den Pilz gebildete Poren in der Kutikula. Bei diesen "Hyphenpilzen" bleibt die restliche Kutikula relativ lange erhalten (siehe Abb. 13). Dadurch sind geschlüpfte Jungtiere im ehemaligen Weibchen gefangen. Larven in parasitierten Muttertieren waren nicht weniger aktiv als vergleichbare Jungtiere auf Agar. Es gab keine An-

haltungspunkte für die Existenz von pilzlichen Toxinen, die gegen Nematoden wirken. Entweder erfolgt die Abtötung des eigentlichen Wirtes nicht durch Toxine, sondern durch Zerstörung lebenswichtiger Organe, oder die Giftstoffe sind zu diesem Zeitpunkt bereits wieder abgebaut.

6.1.3. Diskussion

C. balanoides und M. coniospora verfügen offenbar nicht über die Enzyme (speziell Chitinasen), die ihnen ein Durchdringen von Eihüllen ermöglichen würden. Auch in den eigenen Kulturen von Harposporium anguillulae und den räuberischen Pilzen Arthrobotrys dactyloides und A. oligospora wurden geschlüpfte Larven in abgetöteten, pilzbesiedelten Weibchen beobachtet. Jaffee und Zehr (1982) berichten, daß der Endoparasit Hirsutella rhossiliensis ebenfalls nur Larven und adulte Tiere befiel, nicht aber Nematodeneier. Die Erbeutung oder Parasitierung von Nematoden bzw. Nematodeneiern erfordert offenbar unterschiedliche Fähigkeiten.

Die getesteten endoparasitären Nematodenpilze wiesen zum Teil abweichende Wirtskreise auf.

Das Parasitierungsverhalten von H. heterospora und H. zoospora war unspezifisch, denn es wurden außer Nematoden (Abb. 12 und 15) auch Rotatorien befallen (siehe Abb. 14). Als einziger Tylenchide blieb bei ihnen R. robustus befallsfrei. Diese beiden Pilzarten haben "Injektionssporen", deren infektiöser Inhalt in den Wirt geschossen wird. Offenbar bietet die dicke Kutikula von R. robustus soviel mechanischen Widerstand, daß kein Befall möglich ist.

Die Pilze N. leiosporus, C. balanoides und M. coniospora greifen als klebrige Sporen an. Alle drei waren nicht fähig, das Rädertierchen Habrotrocha zu infizieren. An ihm wurden auch niemals anhängende Sporen beobachtet.

Whisler und Travland (1974) berichten von einem pilzlichen Parasiten (Zoophagus insidians) der speziell einen Klebstoff zum Anhaften an Cilien von Rädertierchen besitzt. Während die mechanisch wirkenden Injektionssporen offenbar alle Tiere passender Größe und mit nicht zu robuster Haut infizieren können, ist der Angriff einer klebrigen Spore wohl spezifischer und davon abhängig, daß die Oberfläche des Wirtes bestimmte, für den Klebstoff passende Bindungsstellen aufweist.

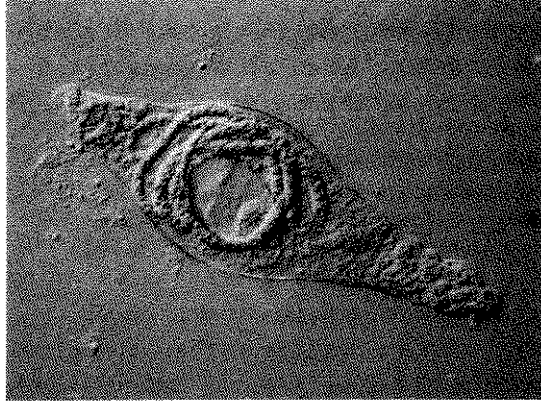


Abb. 14

Die länglichen Sporangien von Haptoglossa heterospora liegen aufgerollt in einem parasitierten Rädertierchen. (Vergr. 650 x)

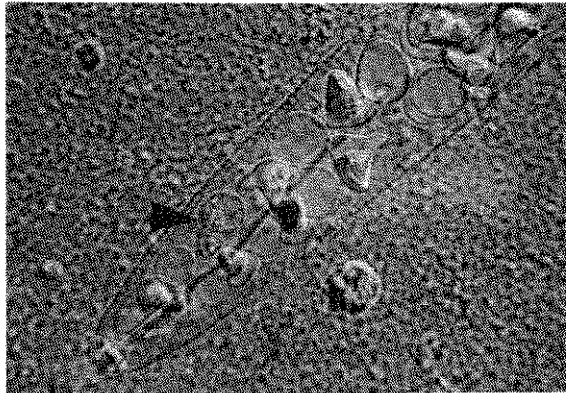


Abb. 15

Die Sporenentwicklung von Haptoglossa heterospora erfolgte hier in der Kutikula von Pratylenchus penetrans. Das Sporangium ist nicht mehr erkennbar. An den runden, jetzt leeren Hüllen der Primärsporen hängen die dreizipfligen, infektiösfähigen Sekundärsporen. Ein Zwischenstadium dieser Sporenentwicklung ist mit einem Pfeil markiert. (Vergr. 1000 x)

C. balanoides und N. leiosporus haben einen sehr weiten Wirtskreis, der mit Ausnahme von Xiphinema index alle angebotenen Nematoden umfaßt (Tab. 18, Abb. 10 und 13). Die dicke Kutikula von R. robustus scheint die Parasitierung nur zu verzögern aber nicht zu verhindern.

Der Wirtskreis von M. coniospora ist begrenzt. Er umfaßt die Rhabditiden (Tab. 18, Abb. 11) und je nach Isolat noch die Aphelenchiden. Bei rhabditiden Wirten sind innerhalb von Minuten nach Zufuhr der Tiere bereits anhängende Sporen zu sehen. Dies ist bei den anderen Nematoden nicht oder nur selten zu beobachten.

Für die Versuche zur Wirtsspezifität wurden stets frisch gewonnene Nematodensuspensionen verwendet. In einem Vorversuch mit A. avenae hatte die Nematodensuspension bereits 14 Tage lang im Kühlschrank gestanden. In diesem Falle gelangen M. coniospora einige Infektionen an den geschwächten Tieren. A. avenae ist grundsätzlich als Nahrung für M. coniospora geeignet, eine Infektion tritt aber nur ein, wenn die Beweglichkeit der Tiere eingeschränkt ist. Der Klebstoff von M. coniospora haftet an der Kutikula von aphelenchiden und tylenchiden Nematoden so schwach, daß ein normal aktives Tier die Spore leicht wieder abstreift. So lassen sich auch die Parasitierung eines einzelnen unter 3000 P. penetrans durch das deutsche Isolat und die 2 parasitierten unter 1700 D. triformis bei den Versuchen mit der schwedischen Meria-Herkunft erklären: Die betroffenen Tiere waren offenbar nicht mehr sehr aktiv, als sie in Kontakt mit den Infektionssporen kamen. Dadurch war M. coniospora eine Infektion möglich, obwohl die Spore nur lose an der Kutikula haften kann. Das Wirtsspektrum von M. coniospora wird also offensichtlich durch das Haftvermögen des Klebstoffes der Infektionsspore begrenzt.

Keiner der genannten Pilze war imstande, Xiphinema index zu parasitieren, den einzigen Vertreter der Klasse Adenophorea in diesen Versuchen. In einigen Xiphinemen konnte stattdessen der endoparasitäre Phycomycet Pythium middletonii nachgewiesen werden (Abb. 7-9). Dieser Pilz tritt in Indien als Parasit an Xiphinema spp. auf. Nach Gupta et al. (1979) kann der Pilz auch andere Dorylaimiden befallen, aber nicht Rhabditis spp. oder Aphelenchus avenae. Es gibt wahrscheinlich Pilze, die nur dorylaimide Nematoden parasitieren und andere, die gerade diese Gruppe nicht befallen können.

6.1.4. Zusammenfassung

Es wurden die Wirtskreise der endoparasitären Pilze Haptoglossa zoospora, H. heterospora, Cephalosporium balanoides, Nematoctonus leiosporus und Meria coniospora untersucht. Die Pilze H. zoospora, H. heterospora, C. balanoides und N. leiosporus wiesen innerhalb der Nematodenklasse Secernentea ein weites Wirtsspektrum auf. M. coniospora parasitierte nur rhabditide Nematoden regelmäßig und je nach Isolat auch aphelenchide Nematoden. Xiphinema index, der einzige Vertreter der Klasse Adenophorea, wurde von keinem der getesteten Pilze infiziert. An ihm wurde ein anderer, vermutlich dorylaimidenspezifischer Endoparasit nachgewiesen: Pythium middletonii.

6.2. Infektionsversuche mit Hirsutella heteroderae

6.2.1. Vorbemerkungen

Dieser Parasit wurde nie mit dem Verfahren nach Barron (1969) nachgewiesen. Bei vereinzelt parallel zur Sporenisolierung durchgeführter Gewinnung von Nematoden (Methode nach Caveness u. Jensen 1955) wurden in der Bodenprobe 3 (Mikroplot, anlehmiger Sand) einige mit Hirsutella befallene Tiere gefunden. Auch die Rotylenchus-Population, die für die Wirtskreis-Untersuchungen eingesetzt wurde, wies von Hirsutella befallene Individuen auf.

Das Sporenisolierungsverfahren nutzt die unterschiedliche Größe der Sporen räuberischer und endoparasitärer Nematodenpilze zur selektiven Isolierung von Endoparasiten. Dementsprechend wurden bei der hier vorgelegten Bestandsaufnahme auch nur selten räuberische Pilze isoliert, die bei anderen Methoden dominieren. Hirsutella heteroderae gehört innerhalb der Endoparasiten zu den Formen mit etwas größeren Sporen, zu denen auch die Nematoctonus spp. zählen. N. leiosporus, der größere Sporen als H. heteroderae hat, war durch Sporengewinnung isolierbar. Die Größe der Sporen erklärt also nicht den Fehlschlag der Methode bei der Isolierung von Hirsutella. Andererseits weist Hirsutella eine dicke Schleimhülle auf, die bei anderen Endoparasiten fehlt. Möglicherweise wird die Spore durch diese Hülle so schwer, daß sie schnell absinkt und nach der ersten Zentrifugierung mit dem Sediment verworfen wird.

In der Gattung Nematoctonus gibt es räuberische Arten mit klebrigen Fangorganen und endoparasitäre Formen, bei denen aus der Vereini-

gung von Fangorgan und Spore eine klebrige Spore entstand, bei gleichzeitiger Reduktion des saprophytischen Potentials. Die endoparasitären Nematoctonus-Arten, die sich von räuberischen Pilzen ableiten, bringen jeweils nur eine einzige Spore pro Phialide hervor. Alle anderen endoparasitären Nematodenpilze bilden nacheinander viele (bis zu 30) Infektionssporen an einer Stelle. Nur bei Hirsutella heteroderae herrschen die gleichen Verhältnisse wie bei Nematoctonus spp.: Es wird nach eigenen Beobachtungen ebenfalls nur eine Infektionsspore pro Phialide hervorgebracht (Abb. 16). Jaffee und Zehr (1982) berichten das gleiche auch von Hirsutella rhossiliensis. Die endoparasitäre Lebensweise von Hirsutella könnte sich daher, wie bei Nematoctonus-Arten, als weitere Spezialisierung räuberischer Pilze entwickelt haben.

Hirsutella heteroderae wurde erst zu einem Zeitpunkt isoliert, als ein Großteil aller Versuche bereits abgeschlossen war und konnte daher nicht mehr für die Versuche zum Wirtskreis endoparasitärer Nematodenpilze (Kapitel 6.1.) berücksichtigt werden. Deshalb wurden mit diesem Pilz, der sich leicht axenisch kultivieren ließ, nur wenige Infektionsversuche durchgeführt. In jeweils 4 Wiederholungen wurden Aphelenchus avenae, Ditylenchus triformis, Rhabditis sp. und Acrobeloides sp. mit Myzel einer axenischen Hirsutella-Kultur zusammengebracht.

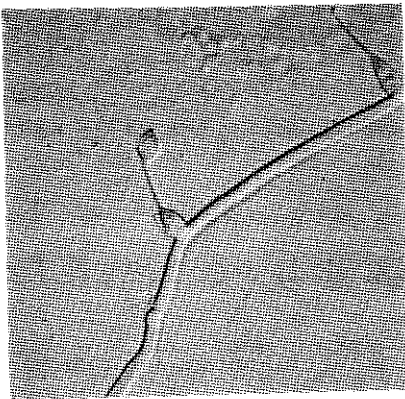


Abb. 16

Phialide mit Infektionsspore
von Hirsutella heteroderae.

6.2.2 Ergebnisse und Diskussion

Die Auswertungen zeigten in allen vier Wiederholungen übereinstimmende Ergebnisse: A. avenae und D. triformis waren gute Wirte, während Acrobelloides sp. und Rhabditis sp. kaum befallen wurden. Die unterschiedliche Wirtseignung der überprüften Nematoden zeigt sich deutlich in den ausgezählten Stichproben (Tab.20).

Tabelle 20

Auszählung von Stichproben aus einem Infektionsversuch mit Hirsutella heteroderae an verschiedenen Nematoden

Nematode	befallene Tiere	befallsfreie Tiere
<u>Rhabditis sp.</u>	8	573
<u>Acrobelloides sp.</u>	4	458
<u>Aphelenchus avenae</u>	38	14
<u>Ditylenchus triformis</u>	74	43

Sturhan und Schneider (1980) nennen als gute Wirte für Hirsutella heteroderae überwiegend tylenchide und aphelenchide Nematoden. Rhabditiden wurden nach ihren Beobachtungen ebenfalls nur selten infiziert. In den eigenen Versuchen wurden nie anhaftende Sporen bei Rhabditis oder Acrobelloides beobachtet, trotz mehrfacher Auswertung aller Wiederholungen. Bei Aphelenchus und Ditylenchus konnte dies häufiger festgestellt werden. Die Wirtsspezifität von H. heteroderae beruht vermutlich, wie auch bei M. coniospora, auf einer spezifischen Wirkung des Klebstoffes.

6.3. Die Bedeutung des Haftmaterials der Infektionssporen für die Wirtsspezifität

Die eigenen Versuche zeigten, daß die Wirtskreise der Endoparasiten mit klebrigen Infektionssporen offensichtlich durch die Haftfähigkeit des Klebstoffes bestimmt wurden. Bei geeigneten Wirten haften rasch viele Sporen an der Kutikula. Bei Nichtwirten wurden dagegen nie oder nur selten anhängende Sporen beobachtet.

Nach Sturhan und Schneider (1980) und eigenen Beobachtungen parasitierte H. heteroderae Tylenchiden und Aphelenchiden, aber nur sehr selten Rhabditiden. Letztere waren dagegen gute Wirte für M. coniospora, der tylenchide und aphelenchide Nematoden verschonte.

C. balanoides und N. leiosporus konnten alle angebotenen Nematoden aus der Klasse Secernentea befallen, während M. coniospora und H. heteroderae innerhalb dieser Klasse nur einen begrenzten Wirtskreis hatten. Die Wirtskreise der beiden letzteren schließen einander aus, erfassen aber in ihrer Addition das gesamte getestete Spektrum der Klasse Secernentea. Stellt man sich vor, es gäbe einen "Rhabditiden-Klebstoff" (bei Meria) und einen "Aphelenchiden+Tylenchiden-Klebstoff" (bei Hirsutella), so könnten die Parasiten Cephalosporium und Nematoctonus Gemische dieser Stoffe besitzen, was ihnen ermöglichen würde, rhabditide, aphelenchide und tylenchide Nematoden zu befallen. Die Spore von Meria bildet einen Klebstoff, der offenbar spezifisch nur mit bestimmten Komponenten der Kutikula von Lippen- oder Schwanzregion des Wirtes eine Bindung eingeht. McClure und Zuckerman (1982) zeigten, daß die Kutikula von Caenorhabditis elegans in der Kopfregion und bei Meloidogyne incognita an Kopf und Schwanz Mannoside enthält, nicht aber auf der übrigen Körperoberfläche.

Ähnliche Verteilungen bestimmter Zucker wies auch Jansson nach (pers. Mitteilung 1982), der diese Beobachtung in Zusammenhang mit der Bindung von Meria-Sporen an bestimmte Körperregionen des Wirtes brachte.

Nach den umfangreichen eigenen Wirtskreisstudien zu schließen, müßte Caenorhabditis als Angehöriger der Rhabditida ein Wirt für Meria sein, Meloidogyne als tylenchider Nematode dagegen nicht. Da aber beide in bestimmten Regionen Mannoside enthalten, bilden diese offenbar nicht die Bindungsstellen für den "Meria -Klebstoff". Mannoside könnten aber Bindungsstellen für den Klebstoff der Infektionssporen von N. leiosporus sein, die ebenfalls bevorzugt an der Lippenregion ihrer Wirte anhaften, zu denen rhabditide und tylenchide Nematoden gehören.

Eine völlig andere Wirkung zeigten die Klebstoffe von C. balanoides und H. heteroderae: Das Anhaften der Sporen fand rein zufällig überall am Körper statt. Die Klebstoffe von C. balanoides und H. heteroderae gehen also eine Bindung mit Komponenten der Kutikulaoberfläche ein, die überall am Nematoden vorliegen. Möglicherweise haben sie

aber auch die Fähigkeit, mit verschiedenen Bestandteilen der Kutikula zu reagieren. Die Haftfähigkeit der Infektionssporen von C. balanoides erstreckt sich auf alle Körperregionen der untersuchten Rhabditiden, Aphelenchiden und Tylenchiden. Die Bevorzugung aphelenchider und tylenchider Nematoden durch H. heteroderae weist darauf hin, daß die Rhabditiden vermutlich eine andere Kutikulaoberfläche haben, die für das Anhaften der Infektionssporen dieses Pilzes wenig geeignet ist.

Die Wirtskreise der untersuchten endoparasitären Nematodenpilze und die jeweiligen Haftstellen der Infektionssporen sind in Tabelle 21 einander gegenübergestellt.

Tabelle 21

Einfluß der Klebstoffe von Infektionssporen endoparasitärer Nematodenpilze auf Wirtskreise und Haftstellen am Wirt

Endoparasit	Wirtskreis	Anhaften der Sporen an:
<u>C. balanoides</u>	Rhabditida Aphelenchida Tylenchida	gesamter Kutikula
<u>N. leiosporus</u>	Rhabditida Aphelenchida Tylenchida	Lippen und Schwanz
<u>M. coniospora</u>	Rhabditida	Lippen und Schwanz
<u>H. heteroderae</u>	Aphelenchida Tylenchida	gesamter Kutikula

Die unterschiedlichen Wirtskreise und das spezielle Haftvermögen der klebrigen Sporen an bestimmte Kutikulabereiche lassen vermuten, daß jeder der vier untersuchten Pilze mit klebrigen Sporen einen anderen Klebstoff hat.

Endoparasitäre Nematodenpilze mit klebrigen Sporen gibt es unter den Phycomycotina, Zygomycotina, Basidiomycotina (N. leiosporus) und Deuteromycotina (C. balanoides, M. coniospora und H. heteroderae). Dieselbe Infektionsweise wurde demnach von Pilzen unterschiedlicher systematischer Stellung hervorgebracht, die dabei verschiedene Klebstoffe entwickelten.

Zur Art der Klebstoffe nematophager Pilze liegt bisher nur eine Angabe für den räuberischen Pilz Arthrobotrys oligospora vor (Nordbring-Hertz und Mattiasson 1979). Bei diesem Pilz wird ein Lecitin gebil-

det, welches mit Kohlehydraten der Nematodenkutikula eine Bindung eingeht. Über die Natur der Klebstoffe endoparasitärer Nematodenpilze ist noch nichts bekannt.

7. Diskussion: Die Bedeutung endoparasitärer Nematodenpilze als Antagonisten von Phytonematoden

7.1. Parasiten dorylaimider Phytonematoden

Die getesteten eigenen Isolate von fünf endoparasitären Nematodenpilzen zeigten Wirtskreise, die stets auf Nematoden der Klasse Secernentea begrenzt blieben. Xiphinema index, der einzige Dorylaimide in diesen Versuchen, wurde nie befallen. Einige Tiere der X. index-Population waren aber von Pythium middletonii besiedelt. Nach Gupta et al. (1979) parasitiert dieser Pilz dorylaimide Nematoden, nicht aber Aphelenchus avenae oder Rhabditis spp., die zu den Secernentea gehören.

Bisher war P. middletonii als pilzlicher Gegenspieler dorylaimider Nematoden nur von Freilandpopulationen in Indien bekannt. Der eigene Nachweis erfolgte an Nematoden aus einer Gewächshauspopulation. Noch ist völlig ungeklärt, welche Pilze in der Bundesrepublik Deutschland unter Feldbedingungen Dorylaimiden parasitieren.

7.2. Parasiten tylenchider und aphelenchider Phytonematoden

Nach den Ergebnissen der Wirtskreisuntersuchungen kommen folgende Endoparasiten als wirksame natürliche Feinde tylenchider und aphelenchider Phytonematoden unter Freilandbedingungen in Betracht:

Cephalosporium balanoides

Nematoctonus leiosporus

Hirsutella heteroderae

Haptoglossa heterospora

Haptoglossa zoospora

Die beiden Haptoglossa-Arten greifen mit Injektionssporen an, alle übrigen Pilze haben klebrige Infektionssporen, wobei wohl jeder der drei einen anderen Klebstoff bildet (Kapitel 6.3.).

C. balanoides und N. leiosporus wurden bereits in mehreren europäi-

schen Ländern nachgewiesen (Kapitel 5.). Sie und H. heteroderae können in Reinkultur gehalten werden (Kap. 2.3.2.). Mit geeigneten Nährmedien ließen sich diese Parasiten massenhaft vermehren, so daß für Bekämpfungsversuche ausreichend Material zur Verfügung stände.

H. heterospora und H. zoospora sind zwar obligate Parasiten, ihr Wirkkreis ist aber offenbar nicht auf Nematoden beschränkt. Möglicherweise lassen sich Wirte finden, die es erlauben, auch diese Pilze in großen Mengen zu produzieren.

7.3. Nematodenparasitäre Pilze im Boden

Der Lebensraum Boden wirkt als ein biologischer Puffer (Hoffmann et al. 1976), der künstlich zugeführte Populationen schnell eliminiert oder auf das ursprüngliche Maß reduziert. Antagonistische Effekte des belebten Bodens gegen räuberische Pilze wurden von Mankau (1961 a, 1962 b), Cooke (1968), Cooke und Satchuthananthavale (1968) sowie Dutto und Isaac (1979) beobachtet. Dauerhafte Veränderungen des Mikroorganismenbesatzes lassen sich nur erzielen, wenn die Umweltbedingungen umgestaltet werden (Hoffmann et al. 1976). In einem "biologischen Ungleichgewicht" (z.B. nach Entseuchung) ist es leichter möglich, neue Organismen zu etablieren. Ein Beispiel für die Ausnutzung derartiger Effekte ist der Einsatz des Pilzpräparates "Royal 300" gegen Nematoden in Champignon-Kulturen (Cayrol und Renou 1976). In diesem Fall wird ein Inokulum aus räuberischen Pilzen gleichzeitig mit der Champignonbrut in das sterilisierte Substrat gebracht, in dem es sich ohne viele störende Konkurrenten gut entwickeln kann. Es ist anzunehmen, daß ein Einsatz endoparasitärer Nematodenpilze an dieselben Voraussetzungen geknüpft wäre.

Um den möglichen Einfluß endoparasitärer Nematodenpilze abzuschätzen, wurden aus Ackererde Nematoden gewonnen und Befallsgrade ermittelt. Bei mehrfachen Probenahmen von einer Fläche waren in den gewonnenen Nematodensuspensionen nur vier Wochen nach einer Gründung räuberische und endoparasitäre Nematodenpilze mit einem Befallsgrad von je 0,38 % parasitierten Nematoden nachzuweisen (Dürschner 1983). In dieser und in einer weiteren Nematodensuspension von einem anderen Standort waren die Befallsgrade mit endoparasitären und räuberischen Nematodenpilzen jeweils gleich niedrig. Der niedrige Befallsgrad spricht also bei endoparasitären Nematodenpilzen noch nicht gegen eine

geringe Bedeutung dieser Pilze, da auch die bekanntermaßen wirksamen räuberischen Pilze keine höheren Werte erreichten. Parasitierte Nematoden werden im Boden rasch zersetzt und sind deshalb nur kurze Zeit nachweisbar. Die wirklichen quantitativen Auswirkungen von Endoparasiten auf die Nematodenfauna lassen sich zur Zeit noch nicht abschätzen.

Der Einfluß einer organischen Düngung auf das Wechselspiel zwischen räuberischen Pilzen und Nematodenfauna untersuchten Linford (1937) Duddington et al. (1956 a), Duthoit und Godfrey (1960), Tarjan (1960), Duddington et al. (1961), Cooke (1962 b), und Mankau (1962 a). Dadurch ist bekannt, daß nach Zufuhr einer C-Quelle die Aktivität räuberischer Pilze für einige Wochen gesteigert wird. Nach Cooke (1962 b) weisen Nematodenfauna und räuberische Pilze eine typische Dynamik nach Zufuhr organischer Substanz auf. Die Zahl saprobiontischer Nematoden und die nematophage Aktivität räuberischer Pilze nehmen zu, erreichen ein Maximum und sinken wieder auf das Ausgangsniveau zurück. Wie bei einem Räuber-Beute-Verhältnis zu erwarten, folgt die Zunahme der Räuber dem höheren Angebot an Nematoden. Überraschenderweise geht aber die räuberische Aktivität bereits zurück, bevor das Angebot an Beute nachläßt. Verschiedene Untersuchungen (Eitminavičūtė 1976, Santos et al. 1981, Wasilewska et al. 1981) zum Abbau von organischem Material im Boden zeigten, daß zuerst bakterielle Umsetzungen vorherrschen. Erst nach einigen Wochen nehmen pilzliche Saprophyten zu. Dieser Zeitpunkt entspricht etwa dem Beginn der Abnahme räuberischer Aktivitäten. Eren und Pramer (1978) stellten fest, daß die antagonistische Wirkung von Böden (= Fungistasis) gegen räuberische Pilze hauptsächlich auf den vorhandenen Bodenpilzen beruht, weniger auf den Bakterien. Die Abnahme räuberischer Aktivitäten nach etwa 7 Wochen trotz reichlich vorhandener Beute könnte daher durch das in dieser Phase verstärkt einsetzende Wachstum saprophytischer Pilze begründet sein. Räuberische Pilze leben nicht nur von Nematoden, sondern sie wachsen auch saprophytisch und könnten durch die Konkurrenz der übrigen Bodenpilze zurückgedrängt werden. Endoparasitäre Nematodenpilze sind in ihrer Spezialisierung auf die nematophage Lebensweise soweit fortgeschritten, daß sie ihre saprophytischen Fähigkeiten weitgehend verloren haben. Eine direkte Konkurrenz zu den anderen Pilzen besteht deshalb nicht mehr. Ob auch die Dichte endoparasitärer Nematodenpilze durch das zunehmende Wachstum saprophytischer Pilze beeinflusst wird, z.B. durch Toxine, wäre noch zu überprüfen. Denkbar

wäre auch gerade zu diesem Zeitpunkt eine weitere Zunahme der Endoparasiten, weil ihre Konkurrenten, die räuberischen Pilze, zurückgehen, während noch zahlreiche Nematoden vorhanden sind. Dieses Wirkungsgefüge von Bakterien, Pilzen und Nematoden wird dadurch noch komplexer, daß eine Reihe von weiteren Organismen an der Zersetzung organischer Masse im Boden beteiligt sind. Wechselwirkungen von Milben (Santos et al. 1981) oder Regenwürmern (Rössner 1981, Yeates 1981) mit Nematoden und Mikroorganismen sind bekannt.

Die in den genannten Veröffentlichungen beschriebenen Beziehungen habe ich in Abbildung 17 schematisch zusammengefaßt. Weitere Interaktionen sind vorstellbar, in ihren möglichen Auswirkungen auf Nematodenfauna und Nematodenparasiten aber noch nicht abzuschätzen. So ist beispielsweise anzunehmen, daß Milben auch räuberische Pilze fressen, oder daß auch Enchyträiden eine wichtige Rolle spielen könnten. Abb. 17 beschränkt sich auf die bisher sicher erkannten, teils sogar quantitativ beschriebenen, Zusammenhänge.

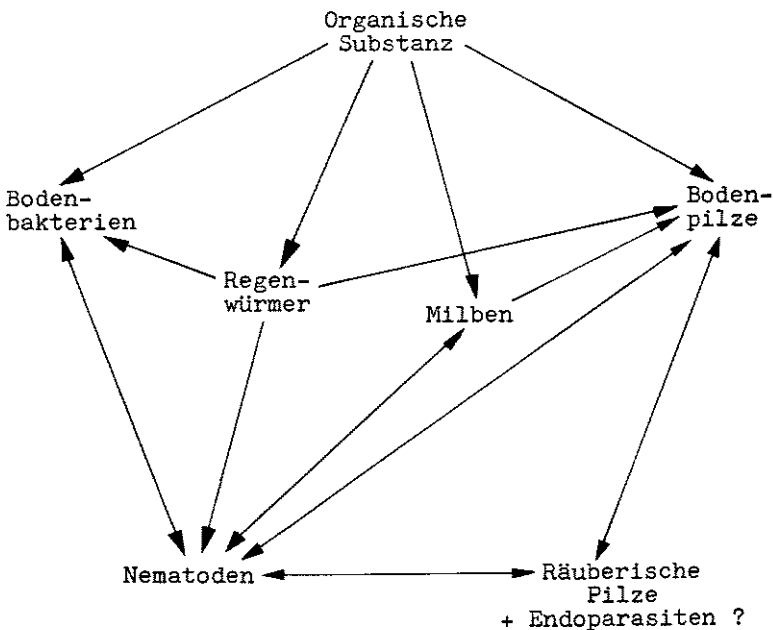


Abb. 17

Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Organismengruppen beim Abbau organischer Substanz.

(Zusammengestellt nach Etminavičūtė 1976, Eren und Pramer 1978, Rössner 1981, Santos et al. 1981, Wasilewska et al. 1981 und Yeates 1981)

7.4. Ausblick

Das Auftreten endoparasitärer und räuberischer Nematodenpilze wird durch die Bewirtschaftung beeinflusst. Böden, die einem Fruchtwechsel unterliegen, sind offenbar endoparasitenreicher als solche, die einen dauernden, gleichmäßigen Bewuchs aufweisen (Kap. 4.4). Aber auch zwischen Standorten gleicher Nutzung treten deutliche Unterschiede auf, die noch nicht erklärbar sind (s. Kap. 3). Viele in Deutschland nachgewiesenen Endoparasiten sind fähig, tylenchide und aphelenchide Phytonematoden zu parasitieren (s. Kap. 6). Mit Hilfe dieser Antagonisten wäre es prinzipiell möglich, Nematodenschäden zu verringern. Wie aber bereits in Kap. 7.3 dargelegt, ist das direkte Ausbringen von Pilzmaterial in belebten Boden wenig erfolgversprechend.

Nach einer Zufuhr organischer Substanz beginnen Sukzessionen verschiedener Art, in deren Rahmen die Aktivität räuberischer Nematodenpilze bekanntermaßen ein Maximum aufweist. Ähnliche Effekte werden auch bei endoparasitären Pilzen vermutet. Zwischen den beteiligten Organismen (Bakterien, Pilze, Nematoden, Enchyträiden, Regenwürmer, Milben etc.), der Art und Menge der zugeführten Substanzen und dem Mikroklima bestehen Beziehungen, die bisher kaum quantifiziert wurden.

Für räuberische Pilze existieren bereits Modellvorstellungen (Cooke 1962 b) zur Dynamik der parasitischen Aktivität nach Zufuhr organischer Masse. Eigene Untersuchungen (Dürschner 1983) ergaben nach einer organischen Düngung eine, wenn auch geringe, Zunahme des Befallsgrades mit endoparasitären und räuberischen Pilzen an Nematoden. Möglicherweise ließe sich durch eine gewöhnliche organische Düngung auch die Aktivität endoparasitärer Nematodenpilze gezielt stimulieren. Zur Zeit sind unsere Kenntnisse über die im Boden zwischen endoparasitären Nematodenpilzen und anderen Organismengruppen auftretenden Wechselbeziehungen noch äußerst gering. Die Vielfalt der möglichen Interaktionen läßt eine Nutzung dieser Pilze zur Verminderung von Nematodenschäden als sehr schwierig erscheinen. Dennoch könnten weitere Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Kulturmaßnahmen Hinweise geben, wie man diese weit verbreiteten natürlichen Gegenspieler von Nematoden im Boden erhält und fördert.

8. Zusammenfassung

1. Die Eignung verschiedener Methoden zur Isolierung endoparasitärer Nematodenpilze aus Bodenproben wurde überprüft. Das beste Verfahren war eine Sporengewinnung nach Barron, bei der endoparasitäre Nematodenpilze an geeigneten Wirten, üblicherweise Rhabditis sp., in Auswertungsschalen mit 1 %igem Wasser-Agar nachgewiesen werden. Zum routinemäßigen Nachweis wurde eine eigene Abwandlung des Verfahrens eingesetzt. Die wichtigsten Veränderungen gegenüber der Originalmethode waren eine zeitsparende Verkürzung der Zentrifugierdauer zur Konzentrierung der Sporen, sowie das zusätzliche Angebot von Ditylenchus triformis als Wirt.
2. Mit Hilfe der abgewandelten Sporengewinnung nach Barron wurden aus Bodenproben folgende endoparasitäre Nematodenpilze isoliert: Harposporium anguillulae, Meria coniospora, Cephalosporium balanoides, Nematoctonus leiosporus, Haptoglossa heterospora, Haptoglossa zoospora und Myzocyttium sp.
3. Die endoparasitären Nematodenpilze H. anguillulae, M. coniospora, C. balanoides, N. leiosporus, H. heterospora und H. zoospora konnten an Rhabditis-Populationen vermehrt werden. Es wurden jeweils mehrere Isolate der genannten Pilze in Kultur genommen.
4. Reinkulturen ließen sich von H. anguillulae, M. coniospora, C. balanoides und N. leiosporus anlegen. H. zoospora und H. heterospora verhielten sich obligat parasitisch. Infektionsversuche an Rhabditis sp. zeigten, daß die nematophagen Fähigkeiten von H. anguillulae, M. coniospora, C. balanoides und N. leiosporus nach mehr als einjähriger Reinkultur noch vorhanden waren.
5. Es wurden insgesamt 108 Bodenproben aus 43 Standorten mit Hilfe der Sporengewinnung auf endoparasitäre Nematodenpilze untersucht. In getrockneten Proben aus Dänemark (4 Standorte, je eine Probe) und England (8 Standorte, je eine Probe) ließen sich trotz wiederholter Versuche keine Endoparasiten nachweisen. Einige Proben aus dem Kaiserstuhlgebiet (17 Proben aus 8 Standorten), die selbst genommen und frisch verarbeitet wurden, erwiesen sich nach der Sporengewinnung als ausgesprochen arm an endoparasitären Nematodenpilzen.
Die übrigen Bodenproben (79 Proben aus 23 Standorten) enthielten

im Durchschnitt 2 verschiedene endoparasitäre Pilzarten.

Harposporium spp. (überwiegend H. anguillulae) waren praktisch überall vorhanden. Die nächst häufigen endoparasitären Nematodenpilze waren C. balanoides und M. coniospora.

6. Sporenisolierungen aus mehreren Proben, die in kurzer Entfernung voneinander genommen wurden, zeigten, daß die nachweisbaren Artenspektren im Extremfall bereits bei 50 cm Abstand variieren können. Insbesondere die selteneren endoparasitären Nematodenpilze N. leiosporus, H. zoospora und Myzocyttium sp. wurden meist nur in einzelnen Proben nachgewiesen.
7. Zwischen vier verschiedenen, intensiver untersuchten, Standorten zeigten die Ergebnisse der Sporengewinnung deutliche Unterschiede bezüglich der nachgewiesenen Artenspektren und/oder in der Häufigkeit der einzelnen Pilze in den Auswertungsschalen.
8. Es ließ sich kein Einfluß der Bodenart auf das mit der Sporenextraktion nachweisbare Artenspektrum feststellen.
9. Standorte mit Fruchtwechsel (Acker- und Gartenbau) enthielten häufiger endoparasitäre Nematodenpilze als Standorte mit dauernd gleichartigem Bewuchs (Forstwirtschaft, Grünland etc.).
10. Endoparasitäre Nematodenpilze traten in den untersuchten Bodenproben offensichtlich unabhängig voneinander auf. Sowohl eine Analyse der Daten (Nachweis mit Sporengewinnung) als auch Beobachtungen in Petrischalen ließen keine Anzeichen gegenseitiger Unterdrückung erkennen.
11. In Laborversuchen wurden die Wirtskreise der endoparasitären Nematodenpilze M. coniospora, C. balanoides, N. leiosporus, H. heterospora und H. zoospora untersucht. Als Wirte, deren Vermehrung in eigenen xenischen, monoxenischen oder sterilen Kulturen erfolgte, wurden 12 verschiedene Nematodenarten und eine Rädertierchenart (Habrotrocha sp.) angeboten.
X. index, der einzige Dorylaimide in diesen Versuchen, wurde von keinem der Pilze infiziert. C. balanoides und N. leiosporus parasitierten alle angebotenen Rhabditiden (3 Arten), Aphelenchiden (3 Arten) und Tylenchiden (5 Arten). Für M. coniospora waren nur rhabditide Nematoden geeignete Wirte. C. balanoides, N. leiosporus und M. coniospora konnten die Rädertierchen nicht befallen.
Habrotrocha wurde nur von H. zoospora und H. heterospora parasiti-

- tiert. Diese beiden Pilze befielen außer Rotylenchus robustus und Xiphinema index alle angebotenen Nematoden.
12. In einem weiteren Infektionsversuch mit einem schwedischen und einem deutschen Isolat von M. coniospora parasitierte das deutsche Isolat, wie zuvor, nur die rhabditiden Nematoden. Das schwedische Isolat befiel auch A. ritzemabosi, der tylenchide Nematode D. triformis war aber auch für diesen Pilz kein geeigneter Wirt.
 13. In einem zusätzlichen Infektionsversuch mit Hirsutella heteroderae bestätigte sich die bereits bekannte Bevorzugung aphelenchider und tylenchider Wirte.
 14. Die verschiedenen Infektionsversuche zeigten, daß jeder der vier untersuchten Pilze mit klebrigen Infektionssporen (C. balanoides, N. leiosporus, M. coniospora und H. heteroderae) einen anderen Klebstoff bildet. Die Art des Haftmaterials bestimmt offenbar den Wirtskreis.
 15. An Xiphinema index wurde der Endoparasit Pythium middletonii nachgewiesen. Dieser Pilz war bisher nur aus Indien als Nematodenparasit bekannt.
 16. Eine Zusammenstellung der Nachweise endoparasitärer Nematodenpilze in verschiedenen europäischen Ländern zeigte, daß Hirsutella heteroderae, Haptoglossa zoospora und Pythium middletonii bisher nur in Deutschland gefunden wurden. Auffällig war der Reichtum englischer Böden an Nematoctonus-Arten.
 17. Wie aus der Literatur bekannt, beginnen nach Zufuhr organischer Substanzen zum Boden bestimmte Sukzessionen, in deren Verlauf sich die Aktivität räuberischer Nematodenpilze in typischer Weise verändert. Es wird vermutet, daß endoparasitäre Nematodenpilze ebenfalls eine bestimmte Rolle in diesem Wirkungskreis spielen, die aber bisher noch weitgehend ungeklärt ist.

9. Summary

Fungal endoparasites of free-living stages of nematodes

1. Different methods to isolate endoparasitic nematophagous fungi from soil samples were compared. Best results were obtained with Barrons's differential centrifugal flotation technique. With this method endoparasites are pointed out by parasitizing Rhabditis sp. on 1 % water-agar. A modification of Barron's method was developed. Main differences are due to a time saving reduction of the second centrifugation turn and to offering Ditylenchus triformis as additional host.
2. By means of the modified differential centrifugal flotation technique presence of the following endoparasites in soil samples could be stated: Harposporium anguillulae, Meria coniospora, Cephalosporium balanoides, Nematoctonus leiosporus, Haptoglossa heterospora, Haptoglossa zoospora and Myzocyttium sp.
3. It was possible to obtain xenic cultures with Rhabditis sp. of different isolates of each of the following endoparasites: H. anguillulae, M. coniospora, C. balanoides, N. leiosporus, H. heterospora and H. zoospora.
4. Axenic cultivation of H. anguillulae, M. coniospora, C. balanoides and N. leiosporus was possible. H. zoospora and H. heterospora were obligate parasites.
Axenic cultivation for more than 1 year did not reduce pathogenicity of H. anguillulae, M. coniospora, C. balanoides and N. leiosporus against Rhabditis sp.
5. Using the modified differential centrifugal flotation technique in total 108 soil samples from 43 different sites were analysed. Dried soil samples from Denmark (4 sites) and Great Britain (8 sites) yielded no endoparasites. Fresh samples from the area "Kaiserstuhl" (17 samples, 8 sites) produced exceptionally poor results too.
The plurality of soil samples (79 samples from 23 different sites) contained in average two different endoparasitic nematophagous fungi per sample. Harposporium spp. (predominantly H. anguillulae) were most frequent. Comparatively less common, but also abundant were C. balanoides and M. coniospora.

6. Examination of several soil samples from identical sites showed in some extreme cases a variation of the occurrence of species at the distance of 50 cm. Especially the rare endoparasites N. leiosporus, H. zoospora and Myzocyttium sp. were only recorded in single samples out of 10 (respectively 20) samples.
7. Four different fields were examined in detail. Obvious differences between the sites were detected with respect to the occurrence of species and/or in frequency of occurrence of the specific fungi.
8. Occurrence of endoparasitic nematophagous fungi seemed to be independent of soil type.
9. Endoparasitic nematophagous fungi were more frequent at sites with crop rotation in comparison with sites with permanent uniform vegetation (forest, pasture).
10. Endoparasitic nematophagous fungi seem to occur independently from one another. Neither data analysis nor microscopic observations revealed evidence for antagonistic interactions.
11. Host ranges of M. coniospora, C. balanoides, N. leiosporus, H. heterospora and H. zoospora were examined. Twelve different nematode species and one rotifer were offered as hosts. None of the above mentioned fungi was able to attack Xiphinema index, the only tested dorylaimid nematode. C. balanoides and N. leiosporus were able to parasitize all tested rhabditids (3 spp.) aphelenchids (3 spp.) and tylenchids (5 spp.). For M. coniospora rhabditids were the only appropriate hosts. M. coniospora, C. balanoides and N. leiosporus did not infect the rotifer, whereas H. zoospora and H. heterospora did so. Both latter fungi parasitized all offered hosts with exception of Rotylenchus robustus and Xiphinema index.
12. Supplementary trials with the german and a swedish isolate of M. coniospora were carried out. Results with the german isolate confirmed the above cited host range of M. coniospora. The swedish isolate parasitized in addition Aphelenchoides ritzemabosi whereas the tylenchid Ditylenchus triformis was not an appropriate host for this isolate too.

13. Some tests with Hirsutella heteroderae confirmed for this fungus the known preference of aphelenchid and tylenchid hosts.
14. Results of the infection tests indicated presence of different sticky materials in all four proved endoparasites with adhesive spores (C. balanoides, M. coniospora, N. leiosporus, Hirsutella heteroderae). Nature of the sticky material determines the host range.
15. In some individuals of Xiphinema index the endoparasite Pythium middletonii could be found. This fungus was hitherto known as parasite of nematodes in India only.
16. Data from different European countries are compared. Hirsutella heteroderae, H. zoospora and P. middletonii are hitherto recorded for Germany only. English soils seem to contain an evident abundance of Nematoctonus spp.
17. From literature it is known that a supply of organic matter to soil causes specific successions. Activity of predacious nematophagous fungi will be changed in that way too. It is supposed, that endoparasitic nematophagous fungi play a certain but still unknown part in this complex.

Tabelle 22

Nachweise von Endoparasiten in Bodenproben (Methode: Sporengewinnung nach Barron 1969)

Standort	Nutzung	Bodenart	Herkunft	<u>Harpospo-</u> <u>rium spp.</u>	<u>C.bala-</u> <u>noides</u>	<u>M.conio-</u> <u>spora</u>	<u>N.leio-</u> <u>sporus</u>	<u>H.hetero-</u> <u>spora</u>	<u>H.zoo-</u> <u>spora</u>	<u>Mvzocy-</u> <u>tium sp.</u>
1	Topfver- such	Sand	Wagenin- gen (Niederl.)	+	+	+	-	-	-	-
2	Acker	anlehm. S.	Bielefeld	+	+	+	-	-	-	-
3	Mikro- plot	"	Münster	+	-	-	-	-	-	-
4	Eichen- wald	"	Hansell	+	+	-	-	-	-	-
5a	Acker	lehm.S.	Hovestadt	+	+	-	+	-	-	-
b-1				+	+	-	-	-	-	-
j				+	-	-	-	-	-	-
6	Garten	lehm.S.	Hannover	+	-	-	-	-	+	-
7	Eichen+ Buchenw.	"	Hansell	+	-	-	-	-	-	-
8	Fichten- schonung	"	Hansell	+	-	-	-	-	-	-
9	Mikro- plot	"	Versuchs- feld "Bayer"	+	-	-	-	+	-	-
10	Rosenbaum- schule	"	Hamburg	+	-	-	-	-	-	-
11 a-1	Acker	Sand	Münster	+	-	-	-	-	-	-
m+n				+	-	+	-	-	-	-
o				+	-	+	-	+	-	-
p-s				+	-	-	-	+	-	-
t				+	-	+	-	-	-	+
12	Sporttra- sen	sand,Lehm	Münster	+	-	-	-	+	-	-
13	Brombeer- gebüsch	"	Münster	+	-	-	-	-	-	-
14a-f	Kompost- erde	"	Münster	+	+	+	-	-	-	-
g				-	+	+	-	-	-	-
h				+	-	+	-	-	-	-
i				+	+	-	-	-	-	-
j				+	+	-	-	-	-	+
k				+	+	+	-	-	+	-
15a-d	Acker	Lehm	Havixbeck	+	-	-	-	-	-	-
e-h				+	+	-	-	-	-	-
i+j				+	+	-	+	-	-	-
16	Reben	"	Neustadt	+	-	-	-	-	-	-
17	Rasen	"	Münster	+	-	-	-	-	-	-
18	Rasen	"	Münster	+	-	-	-	+	-	-
19a-c	Obstan- lage	"	Kaiserstuhl	-	-	-	-	-	-	-
20a-c	Gemüse	"	"	-	-	-	-	-	-	-
21a	Weinbau	"	"	+	-	-	-	+	-	-
b+c				-	-	-	-	-	-	-
22a-c	Mais	"	"	-	-	-	-	-	-	-
23	Weinbau	Lehm	Kaiserstuhl	+	-	+	-	-	-	-
24	"	"	"	-	-	-	-	-	-	-
25	"	"	"	-	-	-	-	-	-	-
26	Weide	lehm.Ton	Hansell	-	-	-	-	-	-	-
27	"	"	Hohenhorst	+	-	-	-	-	-	-
28	Holunder	"	"	-	-	-	-	-	-	-
29a	Acker	"	Steghaus	-	+	-	-	-	-	-
b				+	+	-	-	-	-	-
c-1				+	+	+	-	-	-	-
j				+	+	+	+	-	-	-
30	Buche Baumschule	-	Lonau	+	+	-	+	-	-	-

LITERATURVERZEICHNIS

- Aschner, M. and S. Kohn (1958): The biology of *Harposporium anguillulae*.
J.Gen.Mikrobiol. 19, S. 182-189
- Balan, J., L. Krizkova, P. Nemeč and V. Vollek (1974):
Production of nematode-attracting and nematocidal substances by predacious fungi.
Folia Microbiologica 19, S. 512-519
- Barron, G.L. (1969): Isolation and maintenance of endoparasitic nematophagous Hyphomycetes.
Can.J.Bot. 47, S. 1899-1902
- Barron, G.L. (1973): Nematophagous fungi: a new Gonimochaete.
Can.J.Bot. 51, S. 2451-2453
- Barron, G.L. (1975): Detachable adhesive knobs in *Dactylaria*.
Trans.Brit.mycol.Soc. 65, S. 311-312
- Barron, G.L. (1976a): Nematophagous fungi: new species of the Lagenidales endoparasitic on *Rhabditis*.
Antonie van Leeuwenhoek 42, S. 131-139
- Barron, G.L. (1976b): Nematophagous fungi: three new species of *Myzocyttium*.
Can.J.Mikrobiol. 22, S. 752-762
- Barron, G.L. (1976c): Nematophagous fungi: a new endoparasite intermediate between *Myzocyttium* and *Lagenidium*.
Can.J.Bot. 54, S. 1-4
- Barron, G.L. (1977a): Topics in Mycobiology No. 1
The nematode-destroying Fungi
- Barron, G.L. (1977b): Nematophagous fungi: *Protascus* and its relationship to *Myzocyttium*.
Can.J.Bot. 55, S. 819-824
- Barron, G.L. and J.G. Percy (1975): Nematophagous fungi: a new *Myzocyttium*.
Can.J.Bot. 53, S. 1306-1309
- Birchfeld, W. (1960): A new species of *Catenaria* parasitic on nematodes of sugarcane.
Mycopath.Mycol.appl. 13, S. 331-338
- Burns, Lesley A. and H.T. Tribe (1974): Fungal parasitism in cysts of *Heterodera* II Egg parasites of *H. schachtii*.
Trans.Brit.mycol.Soc. 62, S. 595-601
- Caveness, F.E. and H.J. Jensen (1955): Modification of the centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue.
Proc.helminth.Soc.Wash. 22, S. 87-89
- Cayrol, J.C. and A. Renou (1976): Nouveaux aperçus sur l'utilisation des champignons nématophages en lutte biologique.
Pépinieristes Hort.Maraichers 164, S. 21-25

Clauß, G. und E. Ebner (1977): Grundlagen der Statistik.
Verlag Harri Deutsch, Frankfurt a.M.

Cooke, R.C. (1962a): The ecology of nematode-trapping fungi
in soil.

Ann.appl.Biol. 50, S. 507-513

Cooke, R.C. (1962b): Behaviour of nematode-trapping fungi
during decomposition of organic matter in the soil.

Trans-Brit. mycol.Soc. 45, S. 314-320

Cooke, R.C. (1963a): The predaceous activity of nematode-trap-
ping fungi added to soil.

Ann.appl.Biol. 51, S. 295-299

Cooke, R.C. (1963b): Succession of nematophagous fungi during
the decomposition of organic matter in the soil.

Nature 197, S. 205

Cooke, R.C. (1963c): Ecological characteristics of nematode-
trapping Hyphomycetes. I. Preliminary studies.

Ann. appl. Biol. 52, S. 431-437

Cooke, R.C. (1964): Ecological characteristics of nematode-
trapping Hyphomycetes. II. Germination of conidia in soil.

Ann. appl.Biol. 54, S. 375-379

Cooke, R.C. (1968): Relationships between nematode-destroying
fungi and soil-borne phyto-nematodes.

Phytopathology 58, S. 909-913

Cooke, R.C. and B.E.S. Godfrey (1964): A key to the nematode-
destroying fungi.

Trans-Brit.mycol.Soc. 47, S. 61-74

Cooke, R.C. and V. Satchuthananthavale (1968): Sensitivity to
mycostasis of nematodetrapping Hyphomycetes.

Trans-Brit.mycol.Soc. 51, S. 555-561

Couch, J.N. (1945): Observation on the genus Catenaria.

Mycologia 37, S. 163-193

Davidson, J.G.N. and G.L. Barron (1973): Nematophagous fungi:
Haptoglossa.

Can.J.Bot. 51, S. 1317-1323

Dayal, R. (1975): Key to phycomycetes predaceous or parasitic
in nematodes or amoebae. I. Zoopagales

Sydowia 25, S. 293-301

Domsch, K.H. und W. Gams (1970): Pilze aus Agrarböden.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

Dowe, A. (1964): Probleme der Nematodenbekämpfung mit Raubpilzen
Wiss.Z.d.Univ.Rostock 13. Jahrgang math.naturwissenschaftliche
Reihe Heft 2/3 S. 379-386

- Dowe, A. (1966): Untersuchungen zur Frage der Wirtsspezifität nematodenfangender Pilze.
Wiss.Z.d.Univ.Rostock 15. Jahrgang Math.Nat.Reihe Heft 2,
S. 261-264
- Dowe, A. (1969): Die Bedeutung natürlicher Feinde für die Bekämpfung von zystenbildenden Nematoden.
Wiss.Z.d.Univ.Rostock 18. Jahrgang Math.Nat.Reihe Heft 3/4
S. 397-402
- Dowe, A. (1972): Räuberische Pilze im Boden.
Die Neue Brehm-Bücherei, Ziemsen Verlag Wittenberg
- Drechsler, G. (1940): Three fungi destructive to free-living terricolous nematodes.
J. Wash. acad.Sci. 30, S. 240-254
- Drechsler, G. (1941): Some hyphomycetes parasitic on free-living terricolous nematodes.
Phytopathology 31, S. 773-802
- Drechsler, G. (1943): Two new basidiomycetous fungi parasitic on nematodes.
J.Wash.Acad.Sci. 33, S. 183-189
- Drechsler, G. (1946): A nematode-destroying phycomycete forming immotile spores in aerial evacuation tubes.
Bull.Torrey Botan.Club. 73, S. 1-17
- Dropkin, V.H. (1980): Introduction to plant nematology.
Verlag John Wiley & Sons, New York Chichester, Brisbane, Toronto
- Duddington, D.L. (1954): Nematode-destroying fungi in agricultural soils.
Nature 173, S. 500-501
- Duddington, C.L. (1955): Fungi that attack microscopic animals.
Bot.Rev. 21, S. 377-439
- Duddington, C.L., M.G. Duthoit and C.O.R. Everard (1961):
Effect of green manuring and a predacious fungus on cereal root eelworm in Oats.
Plant Pathology 10, S. 108-109
- Duddington, C.L., F.G. Jones and F. Moriarty (1956): The effect of predacious fungus and organic matter upon the soil population of beet eelworm, *Heterodera schachtii* Schm.
Nematologica 1, S. 344-348
- Dürschner, U. (1983): Endoparasitäre Pilze an beweglichen Nematoden.
Diss. Univ. Hannover
- Duthoit, C.M.G. and B.E.S. Godfrey (1963): Effect of green manure and predacious fungi on cereal root eelworm in oats.
Plant Path. 12, S. 18-19
- Dutto, B.K. and I. Isaac (1979): Seasonal variation of fungistasis in some soils.
Trans.Br.mycol.Soc. 73, S. 157-159

- Eitminavičiūtė, I., Z. Bagdanavičionė, B. Kadvytė, L. Lazauskienė and I. Sukackienė (1976): Characteristic successions of microorganisms and soil invertebrates in the decomposition process of straw and lupine.
Pedobiologia 16, S. 106-115
- Eren, J. and D. Pramer (1978): Growth and activity of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys conoides* in soil.
Microbial Ecology S. 121-127 (ed. M.W. Loutit and J.A.P. Miles, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg)
- Esser, R.P. (1976): *Haptoglossa heterospora* (Drechsler), a fungus parasite of Florida nematodes.
Nematology circular No. 23
- Esser, R.P. and W.H. Ridings (1973): Pathogenity of selected nematodes by *Catenaria anguillulae*.
Soil Crop Sci Soc. (Florida) 33, S. 60-64
- Fowler, M. (1970): New Zealand predacious fungi.
New Zealand J. Botany 8, S. 283-302
- Giuma, A.Y. and R.C. Cooke (1972): Some endozoic fungi parasitic on soil nematodes.
Trans-Brit.mycol.Soc. 59, S. 213-218
- Goodey, J.B. (1951): A new species of hyphomycete attacking the stem eelworm *Ditylenchus dipsaci*.
Trans.Brit.mycol.Soc. 34, S. 270-272
- Gorlenko, M.V. (1956): Predatory fungi and their utilisation in nematode control.
Nematologica 1, S. 147-150
- Gupta, M.C., R.S. Singh and K. Sitaramaiah (1979): A new endoparasitic fungus on *Xiphinema* and cultivation of *Rhabditis* spp. and *Aphelenchus avenae* on same fungus.
Nematologica 25, S. 142
- Hams, A.F. and G.D. Wilkins (1961): Observations on the use of predacious fungi for the control of *Heterodera* spp.
Ann. appl. Biol. 49, S. 515-523
- Hoffmann, G.M., F. Nienhaus, F. Schönbeck, H.C. Weltzien und H. Wilbert (1976): Biologische Bekämpfung bodenbürtiger Krankheitserreger.
in: "Lehrbuch der Phytomedizin", S. 439-441, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
- Jaffee, B.A. and E.I. Zehr (1982): Parasitism of the nematode *Criconebella xenoplax* by the fungus *Hirsutella rhossiliensis*.
Phytopathology 72, S. 1378-1381
- Janetschek, K. (Hrsg.) (1982): Ökologische Feldmethoden.
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- Jansson, H.-B. (1982): Attraction of nematodes to endoparasitic nematophagous fungi.
Trans-Br.mycol.Soc. 79, S. 25-29

- Jansson, H.-B. und Birgit Nordbring-Hertz (1979): Attraction of nematodes to living mycelium of nematophagous fungi. *J. of General Microbiology* 112, S. 89-93
- Juniper, A.P. (1954): Some predacious fungi occurring on dung. *Trans.Brit.mycol.Soc.* 37, S. 171-175
- Karling, J.S. (1938): A further study of Catenaria. *Am.J.Bot.* 22, S. 328-335
- Kerry, B.R. (1974): A fungus associated with young females of the cereal cyst-nematode *Heterodera schachtii*. *Nematologica* 20, S. 259-260
- Kerry, B.R. (1975): Fungi and the decrease of cereal cyst-nematode populations in cereal monoculture. *EPPO Bull.* 5 (4), S. 353-361
- Kerry, B.R. (1978): Natural control of the cereal cyst-nematode by parasitic fungi. *ARC Research Review* 4, No. 1, S. 17-21
- Kerry, B.R. (1979): Fungal parasites of females of cyst-nematodes. *Journal of Nematology* 11, S. 304-305
- Kerry, B.R. and D.H. Crump (1977): Observations on fungal parasites of females and eggs of the cereal cyst-nematode *H. avenae* and other cyst-nematodes. *Nematologica* 23, S. 193-201
- Kerry, B.R. and D.H. Crump (1980): Two fungi parasitic on females of cyst nematodes (*Heterodera* spp.). *Trans-Br.mycol.Soc.* 74, S. 119-125
- Kondakova, E.I. (1973a): (Untersuchungen zur Anwendungsmöglichkeit parasitischer Pilze bei der Bekämpfung von *Heterodera rostochiensis*). *Bjull.vses.Inst.Gel'mintol.im.K.I.Skrjabina Moskva* 11, S. 47-51
- Kondakova, E.I. (1973b): (Befall der Zysten von *Heterodera rostochiensis* durch parasitische Pilze im Labor). *Bjull.vses.Inst.Gel'mintol.im.K.I.Skrjabina Moskva* 11, S. 52-55
- Lienert, G.A. (1973): Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik Band 1 (1978): Band 2
Verlag Anton Hein, Meisenheim am Glan
- Linford, M.B. (1937): Stimulated activity of natural enemies of nematodes. *Science* 85, S. 123-124
- Linford, M.B. (1959): Biological control of plant nematodes. *Ill. Research* 1, S. 10-11
- Maggenti, A. (1981): *General Nematology*
Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin
- Mankau, R. (1961a): Antagonisms to nematode-trapping fungi in soil. *Phytopathology* 51: S. 61

- Mankau, R. (1961b): An attempt to control root-knot nematodes with *Dactylaria thaumasias* Drechsler and *Arthrobotrys arthrobotryoides* Lindau. Plant Disease Rep. 45 S. 164-166
- Mankau, R. (1961c): The use of nematode-trapping fungi to control root-knot nematodes. Nematologica 6, S. 326-332
- Mankau, R. (1962a): The effect of some organic additives upon a soil nematode population and associated natural enemies. Nematologica 7, S. 65-73
- Mankau, R. (1962b): Soil fungistasis and nematophagous fungi. Phytopathology 52, S. 611-615
- Mankau, R. (1980): Biological control of nematode pests by natural enemies. Ann.Rev.Phytopathol. 18, S. 415-440
- McClure, M.A. and B.M. Zuckerman (1982): Localization of cuticular binding sites of Concanavalin A on *Caenorhabditis elegans* and *Meloidogyne incognita*. J. of Nematology 14, S. 39-44
- Mitsui, Y., T. Yoshida, K. Okamoto and R. Ishii (1976): Relationship between nematode trapping fungi and *Meloidogyne hapla* in the peanut field. Japanese Journal of Nematology 6, S. 47-56
- Newell, S.Y., R. Cefalu and J.W. Fell (1977): *Myzocyttium*, *Haptoglossa* and *Gonimochaete* in littoral marine nematodes. Bulletin of Marine Science 27, S. 177-207
- Nolan, R.A. (1970a): The phycomycete *Catenaria anguillulae*: Growth requirements. J.gen.Microbiol. 60, S. 167-180
- Nolan, R.A. (1970b): Sulfur source and vitamin requirements of the phycomycete, *Catenaria anguillulae*. Mycologia 62, S. 568-577
- Nolan, R.A. (1970c): Carbon source and micronutrient requirements of the aquatic phycomycete, *Catenaria anguillulae*. Ann.Bot. 34, S. 927-939
- Nordbring-Hertz, Birgit and H.-B. Jansson (1979): Nematodätande svampar-kuriöstet eller ekologisk balansfaktor. Svensk Bot. Tidskr. 72, S. 271-277
- Nordbring-Hertz, Birgit and B. Mattiasson (1979): Action of a nematode-trapping fungus shows lectin-mediated host-micro-organism interactions. Nature 281, S. 477-479
- Norton, D.C. (1978): Ecology of plant-parasitic nematodes. Verlag John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane Toronto
- Olson, S. (1979): Endoparasitära nematofaga svampar - förekomst i jord. Diplomarbeit, University of Lund, Department of Microbial Ecology.

- Perrin, R.W. (1972): *Conidium* germination in *Arthrobotrys*.
Trans-Brit.mycol.Soc. 58, S. 331-332
- Perry, J.N. (1978): A population model for the effect of parasitic fungi on numbers of the cereal cyst-nematode, *Heterodera avenae*.
Journal of Applied Ecology 15, S. 781-787
- Reinmuth, E. und Dowe, A. (1966): Pilzliche Nematodenfeinde und die Möglichkeit ihrer Verwendung zur biologischen Nematodenbekämpfung.
Mitt. BBA 118, S. 117-131
- Rössner, J. (1981): Einfluss von Regenwürmern auf phytoparasitäre Nematoden.
Nematologica 27, S. 340-348
- Santos, P.F., Janice Phillips and W.G. Whitford (1981): The role of mites and nematodes in early stages of buried litter decomposition in a desert.
Ecology 62, S. 664-669
- Sayre, R.M. (1980): Promising organisms for biocontrol of nematodes.
Plant disease 64, S. 526-532
- Sheperd, A.M. (1955): *Harposporium crassum* sp. nov.
Trans-Br.mycol.Soc. 38, S. 47-48
- Sheperd, A.M. (1956): A short survey of danish nematophagous fungi.
Friesia 5, S. 396-408
- Singh, H.P. (1973): A new species of *Myzocyttium* from india.
Hydrobiologia 42, S. 445-450
- Southey, J.F. (editor) (1978): *Plant Nematology*
London: Her Majesty's Stationery Office Ministry of Agriculture, Fisheries and Food
- Sparrow, F.K. (1932): Observations on the aquatic fungi of Cold Spring Harbour.
Myologia 24, S. 268
- Stirling, G.R. (1978): Techniques for detecting *Dactylella oviparasitica* and evaluating its significance in field soils.
Journal of Nematology 11, S. 99-100
- Stirling, G.R. (1979): Effect of temperature and parasitism of *Meloidogyne incognita* eggs by *Dactylella oviparasitica*.
Nematologica 25, S. 104-110
- Stirling, G.R. and R. Mankau (1977): New fungal parasites of *Meloidogyne* spp.
Journal of Nematology 9, 285-286
- Stirling, G.R. and R. Mankau (1978): Parasitism of *Meloidogyne* eggs by a new fungal parasite.
Journal of Nematology 10, S. 236-240

- Stirling, G.R. and M.V. McKenry (1979): Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on peach. *Phytopathology* 69, S. 806-809
- Stirling, G.R. and A.M. White (1982): Distribution of a parasite of root-knot nematodes in South Australian vineyards. *Plant Disease* 66, S. 52-53
- Sturhan, D. und Roswitha Schneider (1980): *Hirsutella heteroderae*, ein neuer nematodenparasitärer Pilz. *Phytopath. Z.* 99, S. 105-115.
- Tarjan, A.J. (1960): Predacious activity and growth of nematophagous fungi on various organic substances. *Phytopath.* 50, S. 577
- Tribe, H.T. (1977a): Pathology of cyst-nematodes. *Biol.Rev.* 52, S. 477-507
- Tribe, H.T. (1977b): A parasite of white cysts of Heterodera: *Catenaria auxiliaris*. *Trans.Brit.mycol.Soc.* 69, S. 367-376
- Tribe, H.T. (1979): Extent of disease in populations of Heterodera, with especial reference to *H. schachtii* *Ann. appl. Biol.* 92, S. 61-72
- Tribe, H.T. (1980): Prospects for the biological control of plantparasitic nematodes. *Parasitology* 81, S. 619-639
- Von der Laan, P.A. (1964): Guard our friends, destroy only our competitors. *Nematologica* 10, S. 57-60
- Vlk, F. (1977): The occurrence and vertical distribution of nematophagous fungi in soil under some crops. *Sbornik Vysoké Skoly Zemeldelské v Praze (Fakulta agronomická)* S. 165-175
- Wasilewska, Lucyna, E. Paplińska and J. Zieliński (1981): The role of nematodes in decomposition of plant material in a rye field. *Pedobiologia* 21, S. 182-191
- Watanabe, T. (1980): A new variety of *Verticillium sphaerosporum*, an endoparasite of nematodes and its antagonism to soil-borne plant pathogens. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 46, S. 598-606
- Weber, E. (1967): *Grundriß der biologischen Statistik.* Verlag Gustav Fischer, Jena
- Wei-sheng-wu-hsuch-pao, S. (1977): *Myzocyrtium vermicolum*, a nematode-endozoic fungus. *Acta Microbiologica Sinica* 17, S. 297-302
- Whisler, H.C. and L.B. Travland (1974): The rotifer trap of Zoophagus. *Arch. Microbiol.* 101, S. 95-107

Wyborn, C.H.E., D. Priest and C.L. Duddington (1969):
Selective technique for the determination of nematophagous
fungi in soil.
Soil Biol. Biochem. 1, S. 101-102

Yeates, G.W. (1981): Soil nematode populations depressed in
the presence of earthworms.
Pedobiologia 22, S. 191-195

Die finanzielle Unterstützung der Deutschen Forschungsge-
meinschaft ermöglichte diese Arbeit. Den Herren
Prof. Dr. U. Wyss und Prof. Dr. B. Weischer verdanke
ich anregende Diskussionen. Ihnen und allen anderen,
die mir Bodenproben bzw. Nematoden überließen oder
meine Arbeit in anderer Weise förderten, sei hiermit
herzlich gedankt.

Für die Finanzierung des Druckes ist der Gemeinschaft
der Förderer und Freunde der BBA (GFF) zu danken.