

F. Schinner    R. Öhlinger  
E. Kandeler    R. Margesin (Hrsg.)

---

# **Bodenbiologische Arbeitsmethoden**

Zweite überarbeitete und erweiterte Auflage

Mit 20 Abbildungen

Springer-Verlag *1993*  
Berlin Heidelberg New York London Paris  
Tokyo Hong Kong Barcelona Budapest

# Mikrofauna

W. FOISSNER

Zur Mikrofauna gehören eukaryotische Einzeller (Protozoen; nackte und beschaltete Wechsellierer, Geißeltiere, Wimpertiere) und kleine Vielzeller (Metazoen; Rädertiere, Bärtiere, Fadenwürmer), also Organismen, die meist kleiner als 2 mm sind und mikroskopisch untersucht werden müssen.

Protozoen und Nematoden sind hinsichtlich des Stoff- und Energieumsatzes der Meso- und Makrofauna gleichwertig (Abb. 18; Zell 1985, Foissner 1987, Meisterfeld 1989).

Testaceen, Ciliaten und Nematoden zählen zu den individuen- und artenreichsten, vor allem aber (stoffwechsel)aktivsten Bodentieren. Sie konsumieren beträchtliche Mengen von Bakterien, Pilzen und Detritus. So benötigen Protozoen und Nematoden für eine Zellteilung bzw. für den Erhaltungsstoffwechsel pro Tag  $10^3$ - $10^5$  bzw.  $2 \cdot 10^4$  -  $7 \cdot 10^5$  Bakterien (Anderson 1988). Über die Nahrungskette beschleunigen sie die N-Mineralisierung und die N-Aufnahme der Pflanzen (Wasilewska 1979, Anderson 1988). Der durch Protozoen konsumierte Prozentsatz am jährlichen Kohlenstoffeintrag (C-Input) wird auf 10-22 % geschätzt (Foissner 1987, Meisterfeld 1989). Lousier und Parkinson (1984) geben allein für die Boden-Testaceen eines Birkenwaldes 6 % an. Für Nematoden wird der Anteil mit 0,5-2 % veranschlagt (Persson et al. 1980, Sohlenius 1980).

Der Anteil der Protozoen an der tierischen Respiration beträgt im Durchschnitt etwa 70 %, also viel mehr, als es ihrem Anteil an der Biomasse entspricht (Abb. 18). Die Ursache dafür ist, daß ein Organismus zur Deckung des Energiebedarfs umso mehr Nahrung aufnehmen muß, je kleiner er ist. In extremen Regionen der Erde, wie den Gebirgen und den Polargebieten, werden weit über 50 % des tierischen Energieumsatzes von der Mikrofauna geleistet; in regenwurmreichen Böden der gemäßigten Zonen sind es wohl eher 10-30 % (Foissner 1987). In Buchen- und Fichtenwaldböden ist allein der Energieumsatz der Testaceen gleich dem der Arthropoden oder Oligochaeten plus Nematoden. In Mullböden mit geringer Humusaufgabe entspricht er etwa dem der Nematoden (Dunger und Fiedler 1989, Meisterfeld 1989).

Die Mikrofauna hat von allen bekannten Bodentieren die geringsten Verbreitungsschwierigkeiten, ist also zumindest potentiell allgegenwärtig. Ihre Vertreter sind deshalb auch bzw. gerade dort reichlich vorhanden, wo viele

andere Tiergruppen aufgrund extremer Lebensbedingungen ganz oder teilweise ausfallen, z.B. oberhalb der Waldgrenze und in den Polargebieten.

Die Mikrofauna ist ortstreu und weitgehend kosmopolitisch, was unter anderem den Vergleich von Ergebnissen erleichtert. Da Verlagerungen praktisch nur in der Vertikalen stattfinden, entfällt das bei anderen Tiergruppen, besonders beim Epigaion, oft schwierige Problem der horizontalen Migration.

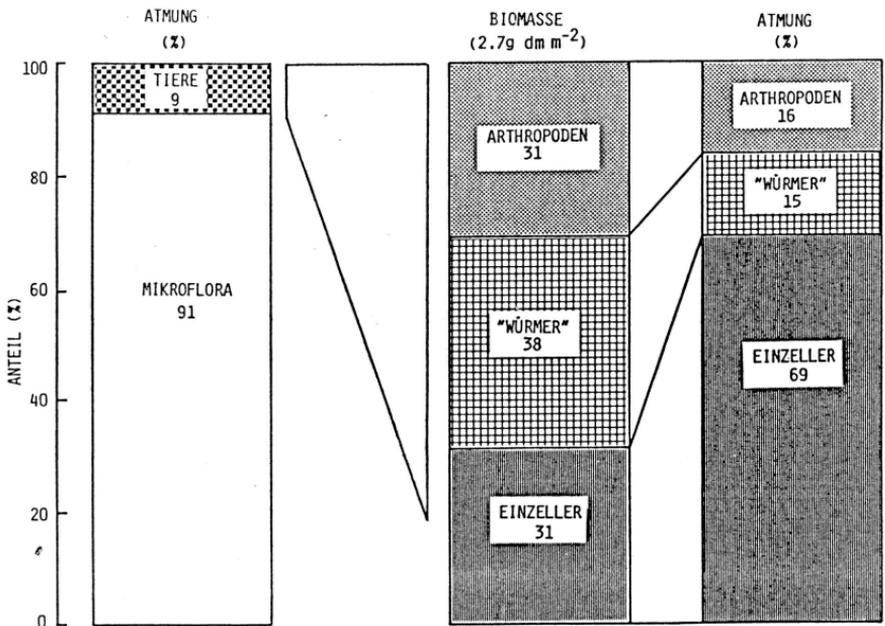


Abb. 18: Biomasse und Atmung der Bodenorganismen (aus Foissner 1987). Die Graphik zeigt die Mittelwerte von 14 Ökosystemstudien an verschiedenen Standorten der Welt. Arthropoden (Gliederfüßler): Käfer, Zweiflügler usw.; "Würmer": Fadenwürmer, Rädertiere, Enchytraeiden, Regenwürmer; Einzeller (Protozoen): Nacktamoeben, Schalenamoeben, Geißeltiere, Wimpertiere; dm = Trockenmasse.

Die Mikrofauna kann schneller als alle anderen Eukaryoten auf Umwelteinflüsse reagieren, da sie mit ihrer "dünnen Haut" der Umgebung unmittelbar ausgesetzt ist und die Vermehrungsraten höher sind.

Bei Bodenprotozoen beträgt die Generationszeit unter günstigen Verhältnissen wenige Stunden oder Tage, bei Nematoden (von Ei zu Ei) 1-2 Monate (Anderson 1988, Dunger und Fiedler 1989). Untersuchungen an Bodenprotozoen eignen sich deshalb auch zur Dokumentation kurzfristiger Einflüsse.

Es liegen zahlreiche Untersuchungen vor, die zeigen, daß die Mikrofauna-Komponenten hervorragende Bioindikatoren sind. Die entsprechende Literatur wurde von Foissner (1987, 1993a) kritisch gesichtet.

Standardisierte Methoden zur quantitativen Erfassung gibt es für die Testaceen (Schalenamöben), Ciliaten (Wimpertiere) und Nematoden (Fadenwürmer). Im Vordergrund steht dabei die Untersuchung aktiver bzw. freilebender Individuen, da Kenntnisse über den Anteil von Ruhestadien (Cysten) bzw. Wurzelparasiten vor allem für spezielle Fragestellungen relevant sind. Überdies liegen z.B. für die schaderregenden Nematoden genormte Richtlinien für die Entnahme und Untersuchung von Bodenproben vor (Dunger und Fiedler 1989).

Für die Ermittlung der Abundanz und des Artenspektrums der Mikrofauna werden häufig Kultur- oder Siebmethoden verwendet; kaum eine dieser Methoden ist ausreichend getestet. Eigene Untersuchungen (Berthold und Foissner 1992) und Literaturdaten (z.B. Zell 1985) zeigen, daß diese Methoden sehr selektiv und daher nicht quantitativ sind. Es wird daher empfohlen, die aktive Mikrofauna direkt, d.h. im suspendierten Boden zu zählen. Diese einfache Methode gibt zufriedenstellende Resultate wie die relativ hohen, mittleren Wiederfindungsraten belegen (Abb. 19). Für Nacktamöben ist die direkte Zählung leider nicht geeignet; sie können zur Zeit nicht vertrauenswürdig erfaßt werden und sind daher hier nicht aufgenommen.

In Tab. 3 sind häufig benötigte Umrechnungsfaktoren zusammengestellt.

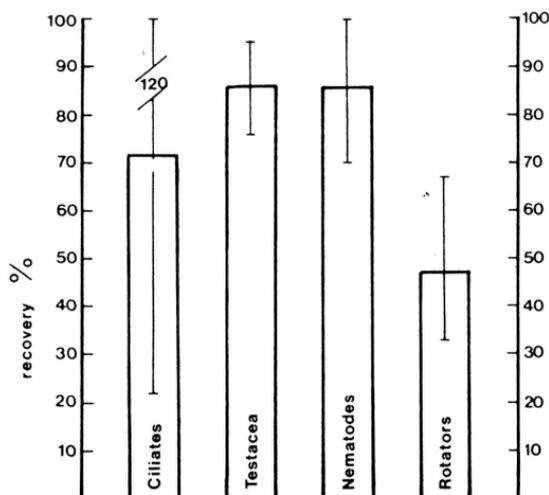


Abb. 19: Wiederfindungs-Experimente mit Ciliaten, Testaceen, Nematoden und Rotatorien. Zählung in suspendierten Böden (aus Lüftenegger et al. 1988).

Tab. 3: Konversionsfaktoren (aus Foissner et al. 1992).

Umrechnung von	auf	Konversionsfaktor
Biovolumen	Feuchtmasse (FM)	$1 \mu\text{m}^3 = 1 \text{ pg FM}$
Biovolumen	Trockenmasse (TM)	$1 \mu\text{m}^3 = 0,15 \text{ pg TM}$
Biovolumen	organischen Kohlenstoff	$1 \mu\text{m}^3 = 0,11 \text{ pg C}$
Feuchtmasse	Trockenmasse	$\text{TM} = 0,15 \cdot \text{FM}$
Trockenmasse	Trockenmasse (aschefrei)	$\text{TM}_a = 0,1 \cdot \text{TM}$
Trockenmasse	organischen Kohlenstoff	$\text{C} = 0,5 \cdot \text{TM}$
Trockenmasse	Stickstoff	$\text{N} = 0,04-0,07 \cdot \text{TM}$
Trockenmasse (aschefrei)	Joule	$1 \text{ mg} = 17-20 \text{ J}$
organischem Kohlenstoff	Joule	$1 \text{ mg} = 46 \text{ J}$

# Bodenprobenahme

## 1 Prinzip

Aus der zu untersuchenden Fläche wird eine repräsentative Anzahl von Bodenproben (Einstichen) entnommen und zu einer Mischprobe vereinigt.

## 2 Material und Geräte

Zusätzlich zur Laborgrundausrüstung sind erforderlich:

- 2.1 Bodenentnahmegerät (Probenstecher, Bohrstock, Spaten, Stechzylinder etc.)
- 2.2 Kübel
- 2.3 Kunststoffsäcke
- 2.4 Kühltasche oder Kühlbox

## 3 Probenahmezeitpunkt

Protozoen und Nematoden sind zu jeder Jahreszeit vorhanden, wobei Abundanzmaxima häufig im Frühjahr und/oder Herbst auftreten. Dies gilt nicht unbedingt für die Artenzahl bzw. für einzelne Gruppen oder Standortstypen; Testaceenmaxima können z.B. mit Ciliatenminima korrelieren (Petersen und Luxton 1982, Zell 1985, Foissner 1987). Es sollten daher mindestens viermal im Verlauf eines Jahres (Frühjahr, Sommer, Herbst, Winter) Proben genommen werden; ist dies nicht möglich, entnehme man die Proben nach Möglichkeit im Herbst.

## 4 Auswahl repräsentativer Flächen

Variationsstatistische Untersuchungen über die Anzahl der benötigten Einstiche und über die Probengröße zur repräsentativen Erfassung der Mikrofauna wurden erst in geringem Ausmaß durchgeführt. Die meisten Bearbeiter entnehmen 10-20 Teilproben (Einstiche) auf der zu untersuchenden Fläche (Raster oder Transekt) und bilden daraus eine Mischprobe, um einen repräsentativen Querschnitt für den Standort zu erhalten (Petersen und Luxton 1982, Foissner 1987). Zur Bestimmung von Nematoden reichen 3 Parallelproben, wenn man einen Fehler von 10 % toleriert (Balogh 1958). Für wissenschaftliche Untersuchungen wird die Anlage von randomisierten Blöcken mit mindestens vierfacher Wiederholung empfohlen.

Für die Vertikalverteilung der Mikrofauna ist nicht so sehr die Bodenfeuchte sondern das Nahrungsangebot entscheidend. Die höchsten Abundanzen finden sich daher meist in der organischen Auflage und im gut durchwurzelten Horizont (0-10 cm Bodentiefe); mit zunehmender Tiefe nimmt die Zahl der Tiere rasch ab (Balogh 1958, Foissner 1987). Pro einheitlicher Fläche ist die Entnahme aus folgenden Bodentiefen zu empfehlen:

- Acker: 5-15 cm
- Grünland: 0-5 cm und 5-10 cm
- Wald: Streuauflage; wenn stark zoniert, in  $O_L$ ,  $O_F$ ,  $O_H$  trennen.

## 5 Entnahme von Bodenproben und Transport

Die Probenahme erfolgt mit einem Stechrohr (Durchmesser 3-5 cm; z.B. von Eikelkamp, Giesbeck, Niederlande), bei sehr voluminösem Material (z.B. Streuauflage) mit einem Spatel oder einem Löffel. Die dem Mineralboden aufliegende Streuschicht wird nicht entfernt. Nur die lebenden Pflanzen werden an der Basis abgeschnitten.

Zusätzlich müssen mindestens je 3 Proben mit bekanntem Volumen ausgestochen werden, um anhand des Raumgewichtes die Abundanz- und Biomassenwerte auf  $m^2$  umrechnen zu können. Die Bestimmung des Raumgewichtes erfolgt nach ÖNORM L 1068-88.

Der Transport erfolgt in gut verschlossenen Kunststoffbehältern und eventuell gekühlt (vgl. Probenvorbereitung). Die einzelnen Teilproben werden erst kurz vor der Verarbeitung vermischt (= Mischprobe), um Veränderungen der Bodenfauna vorzubeugen.

## Probenvorbereitung

### 1 Prinzip

Aus der naturfeuchten Bodenprobe wird durch Mischung eine homogene Probe gewonnen.

### 2 Material und Geräte

Laborgrundausrüstung.

### 3 Arbeitsvorgang

Die Teilproben werden in einem Kübel mit der Hand zerkrümelt und so gut als möglich vermischt. Steine und grobe Wurzeln werden entfernt. Aus der Probe werden 500 g entnommen und wie folgt verarbeitet:

- a) 100 g werden für die Trockengewichtsbestimmung (14 Tage Lufttrocknung oder Trocknung bei 105°C; Blum et al. 1989) in einen vorgewogenen Behälter gegeben;
- b) 0,5-2,0 g werden für die Zählung der Testaceen eingewogen und fixiert;
- c) 0,4 g werden für die Zählung der Ciliaten eingewogen, die noch am Tag der Probenahme gezählt werden sollten;
- d) 100 g (1 g bei Direktzählung) werden für die Zählung der Nematoden eingewogen und nach Möglichkeit noch am Tag der Probenahme weiterverarbeitet;
- e) der Rest wird luftgetrocknet und kann für die Erhebung des Artenspektrums der Ciliaten verwendet werden ("non-flooded petri dish method").

### 4 Lagerung

Wegen der kurzen Generationszeit und der Fähigkeit zur Ex- und Encystierung müssen die Proben innerhalb von 48 (besser 24) Stunden verarbeitet werden. Während dieser Zeit sollten die Proben nach Möglichkeit bei der standortstypischen Temperatur und Feuchtigkeit (Probe daher erst unmittelbar vor der Verarbeitung aus dem Kunststoffsäckchen nehmen) gelagert werden.

### 5 Anmerkungen

- 5.1 Da der Boden nicht angetrocknet werden darf, ist eine Siebung meist nicht möglich, besonders bei nassen Böden. Man muß daher grundsätzlich auf eine Siebung verzichten und aus der so gut als möglich mit der Hand vermischten Probe 10-20 Einzelproben entnehmen, die zu einer weiteren Mischprobe vereinigt werden (siehe Arbeitsvorgang). Variationsstatistische Untersuchungen dazu liegen bisher nicht vor.

## Schalenamöben (Testacea)

### 1 Prinzip

Die Individuen und Arten werden im suspendierten Bodenmaterial gezählt. Belebte und unbelebte Individuen (Schalen) werden durch Färbung differenziert.

### 2 Material und Geräte

Zusätzlich zur Laborgrundausrüstung sind erforderlich:

- 2.1 5 ml Meßpipette, an der 4 ml Markierung abgeschnitten
- 2.2 Mikropipetten und Glasstäbchen mit aufgeklebter Augenwimper (Anfertigung siehe Foissner et al. 1991)
- 2.3 feuchte Kammer (eine mit nassem Filterpapier ausgelegte Petrischale)
- 2.4 Mikroskop mit Ölimmersion und (nach Möglichkeit) Interferenzkontrast
- 2.5 Zentrifuge

### 3 Chemikalien und Reagenzien

- 3.1 Phenolisches Anilinblau zur Fixierung und Färbung  
5%ige wäßrige Phenollösung, 1%ige wäßrige Anilinblaulösung und Eisessig werden im Verhältnis 15 : 1 : 4 gemischt und filtriert. Die fertige Lösung (1000 ml) wird unverdünnt verwendet und kann auf Vorrat gehalten werden.
- 3.2 Eiweiß-Glyzerin  
10 ml Hühnereiklar und 10 ml konzentriertes Glyzerin werden gut vermischt (auch käuflich bei Merck).
- 3.3 Xylol
- 3.4 Kunstharz (z.B. Euparal, Eukitt) zum Anfertigen von Dauerpräparaten (siehe Lehrbücher der histologischen Technik)

### 4 Ausführung der Zählung

#### 4.1 Individuenzahl (Abundanz)

Von der naturfeuchten Bodenmischprobe werden 1,00-2,00 g (Acker, Wiese) oder 0,50 g (Wald) in ein Zentrifugenröhrchen (siehe 6.3) eingewogen, indem

mit einer Pinzette etwa 10-20 Portionen aus verschiedenen Stellen der Mischprobe entnommen werden. Die Probe wird mit 7 ml Lösung 3.1 versetzt, mit der Hand gut geschüttelt und mindestens 10 Stunden gefärbt. Vor der Zählung wird die Probe mit dest. Wasser vollständig in einen 100 ml Meßzylinder gespült, mit dest. Wasser auf 100 ml aufgefüllt und gut vermischt (mindestens zehnmal kippen, Meßzylinder mit Parafilm verschließen). Anschließend wird mit der Meßpipette 2.1 1 ml (entsprechend 0,01-0,02 bzw. 0,005 g naturfeuchtem Boden) Bodensuspension entnommen (rasch arbeiten, um Entmischung von Boden und Wasser so gering als möglich zu halten). Je nach Individuenzahl und Tongehalt werden 0-2 ml dest. Wasser zugegeben und die Probe wird tropfenweise (ca. 0,1-0,3 ml) auf einen fettfreien Objektträger gebracht (siehe 6.4, 6.5).

Die Zählung erfolgt bei 100-facher Vergrößerung (Objektiv 10-fach, Okular 10-fach) im Mikroskop 2.4 und ohne Deckglas, um das Hantieren mit der Augenwimper und der Mikropipette 2.2 zu ermöglichen. Die Individuen werden nach Arten, leeren (ungefärbten) und vollen Schalen (Cytoplasma und Zellkern hell- bis dunkelblau gefärbt) getrennt gezählt. Dauercysten, Kapselstadien und parasitierte Exemplare werden entweder getrennt notiert oder den belebten Schalen zugerechnet.

Bei Acker- und Wiesenböden wird dieser Vorgang neunmal wiederholt (d.h. aus der 100 ml "Stammuspension" wird neunmal 1 ml entnommen), es wird also mindestens 0,1 g Boden-Frischmasse ausgezählt. Insgesamt soll soviel Boden-Frischmasse untersucht werden, bis 15-30 (Acker) bzw. 50-70 (Wiese, Wald) belebte Schalen erfaßt werden.

## 4.2 Artenspektrum

Die Testaceen-Arten werden bei der Zählung der Individuen erfaßt. Da die einzelnen Arten jedoch abhängig von ihren Ansprüchen und der Jahreszeit nicht mit derselben Häufigkeit vorkommen, benötigt man zur annähernd vollständigen Erfassung des Artenspektrums eines bestimmten Standortes zumindest 4 Probenahmen über das Jahr verteilt oder Proben aus mehrjährigen Untersuchungen. Zur qualitativen Analyse können auch auf dem Flotationsprinzip beruhende Ausleseapparate verwendet werden, deren Effizienz aber noch ungenügend getestet ist (Schönborn 1989, Aescht und Foissner 1992a). Da die Mobilität der Testaceen gering ist, gehen in die "Gesamtartenzahl" auch jene Arten ein, von denen nur unbelebte Schalen gefunden werden.

## 5 Berechnung der Ergebnisse

### 5.1 Individuenzahl (Abundanz)

$$\frac{\text{IAM} \cdot 100}{\text{AM} \cdot \% \text{ TM}} = I \cdot \text{g}^{-1} \text{ TM}$$

$$\frac{\text{IAM} \cdot R \cdot D \cdot 10^4 \cdot 100}{\text{AM} \cdot \% \text{ TM}} = I \cdot \text{m}^{-2}$$

I	Individuenzahl
IAM	Individuenzahl der ausgezählten Boden-Feuchtmasse AM
AM	ausgezählte Masse des naturfeuchten Bodens (g)
R	Rohdichte (Lagerungsdichte, Raumgewicht, Volumengewicht, bestimmt nach ÖNORM L 1068-88; $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ )
D	Dicke der entnommenen bzw. analysierten Bodenschicht (cm)
$10^4$	Faktor zur Umrechnung von R auf $1 \text{ m}^2$ ( $1 \text{ m}^2 = 10^4 \text{ cm}^2$ )
$100 \cdot \%^{-1} \text{ TM}$	Faktor für die Trockenmasse des Bodens

### 5.2 Biomasse

Die Berechnung erfolgt der Einfachheit halber nach den Maßen der Schalen. Es sollten mindesten 10 Individuen pro Art vermessen werden. Der sich ergebende Volums-Mittelwert kann zahlenmäßig dem Gewicht gleichgesetzt werden, da die spezifische Masse der Mikrofauna annähernd  $1 \text{ g cm}^{-3}$  beträgt.

$$\sum_{i=1}^s I_{i\text{TM}} \cdot F_i \cdot 0,15 = \text{BM} \cdot \text{g}^{-1} \text{ TM}$$

$$\sum_{i=1}^s I_i \cdot F_i \cdot 0,15 = \text{BM} \cdot \text{m}^{-2}$$

BM	Biomasse (Trockenmasse; mg)
TM	Trockenmasse des Bodens (g)
s	Gesamtanzahl der Arten
$I_{i\text{TM}}$	Individuenzahl der Art i pro g Boden-Trockenmasse (siehe 5.1)
$F_i$	Feuchtmasse jeder Art (ng)
0,15	Faktor zur Umrechnung von Feuchtmasse auf Trockenmasse (siehe Tab. 3)
$I_i$	Individuenzahl der Art i pro $\text{m}^2$ (siehe 5.1)

### 5.3 Artenzahl

Die Arten werden getrennt nach belebten und unbelebten Schalen angegeben. Die "Gesamtartenzahl" umfaßt belebte und unbelebte Schalen (siehe 4.2).

## 6 Anmerkungen

- 6.1 Zur Bestimmung von Testaceen werden verschiedene Modifikationen der direkten Zählmethode verwendet (Lousier und Parkinson 1981, Foissner 1987). Die Effektivität der hier beschriebenen Methode wurde experimentell geprüft, wobei durchschnittlich 86 % der Individuen wiedergefunden wurden (Abb. 19).
- 6.2 Ein Probevolumen von 0,1 g Boden-Frischmasse muß kaum überschritten werden, da Untersuchungen des Gruppen-Minimalareals ergaben, daß diese Menge einen repräsentativen Ausschnitt der Testaceenzönose enthält.
- 6.3 Die Proben können in Lösung 3.1 unbegrenzt aufbewahrt werden. Zur Aufbewahrung haben sich Zentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss bewährt. Falls die Bodensuspension einige Stunden nach Zugabe der Lösung 3.1 farblos oder hellblau wird (manchmal bei kalkreicher Böden), muß die Probe scharf zentrifugiert und das Sediment mit frischer Lösung 3.1 versetzt werden.
- 6.4 Die erforderliche Verdünnung für die Zählung hängt weitgehend vom Bodentyp ab. Tonige Böden und solche mit hohen Individuenzahlen (z.B. Nadelstreu) benötigen eine stärkere Verdünnung als humose Böden und solche mit niedrigen Individuenzahlen.
- 6.5 Die Zählung erfolgt ohne Deckglas, da es zur korrekten Bestimmung notwendig ist, die Schalen zu wenden. Arten, die nicht rasch bestimmt werden können, nimmt man mit der Mikropipette 2.2 heraus und überführt sie zur späteren Determination in einem Tropfen Wasser auf einen frischen Objektträger, der in der feuchten Kammer 2.3 aufbewahrt wird. Um zügig zählen zu können, sollte man sich mit dem Arteninventar des betreffenden Standortes vor der quantitativen Untersuchung vertraut machen.
- 6.6 Bei humosen Böden empfiehlt sich die Zugabe von etwa 0,1 ml Eiweiß Glycerin 3.2 zu 1 ml Bodensuspension, damit die Humusteilchen weniger stark aggregieren.

- 6.7 Ein erfahrener Bearbeiter benötigt etwa 8 Stunden für die Auszählung der Schalenamöben in 0,10 g Acker- oder Wiesenboden und 2-4 Stunden für die Zählung in 0,005 g Waldstreu.
- 6.8 Für Bodentestaceen gibt es keine zusammenfassende Bestimmungsliteratur, ein entsprechendes Werk ist in Vorbereitung und wird in der Reihe "Protozoenfauna" des Fischer-Verlages erscheinen (Spezialliteratur siehe Aeschl und Foissner 1989).
- 6.9 Zur Archivierung werden die mit der Mikropipette isolierten Schalen auf mit Eiweiß-Glycerin 3.2 bestrichene Objektträger gebracht, luftgetrocknet, 10 Stunden in Xylol 3.3 gestellt und anschließend in mitteldickes Kunstharz 3.4 eingeschlossen. Bei größeren Arten wird das Deckglas mit Deckglassplittern gestützt, damit die Schalen nicht zerquetscht werden.

## Wimpertiere (Ciliophora)

### 1 Prinzip

Aktive Individuen und Arten werden in vivo im suspendierten Boden gezählt. Zur qualitativen Analyse mit der "non-flooded petri dish method" wird die Microbiostasis (Ciliatostasis) reduziert.

### 2 Material und Geräte

Zusätzlich zur Laborgrundausrüstung sind erforderlich:

- 2.1 Mikropipetten und Glasstäbchen mit aufgeklebter Augenwimper (Anfertigung siehe Foissner et al. 1991)
- 2.2 feuchte Kammer (eine mit nassem Filterpapier ausgelegte Petrischale)
- 2.3 Mikroskop mit Ölimmersion und (nach Möglichkeit) Interferenzkontrast

### 3 Chemikalien und Reagenzien

#### 3.1 Bodenextrakt-Stammlösung

300 g Boden der Probenfläche werden in 1000 ml dest. Wasser 10 Minuten gekocht. Anschließend wird der Überstand dekantiert, filtriert und autoklaviert. Da diese Lösung leicht von Bakterien und

Pilzen besiedelt wird, empfiehlt es sich, sie vor Gebrauch zu überprüfen und eventuell zu filtrieren und nochmals zu autoklavieren.

### 3.2 Bodenextrakt-Gebrauchslösung

Bodenextrakt-Stammlösung 3.1 wird mit dest. Wasser 1 : 4 bis 1 : 6 verdünnt und mit HCl oder NaOH auf den pH-Wert des zu untersuchenden Bodens eingestellt. Die Lösung (10 ml) soll erst unmittelbar vor Gebrauch hergestellt werden.

### 3.3 Salzsäure (1 M)

### 3.4 Natronlauge (1 M)

## 4 Ausführung der Zählung

### 4.1 Individuenzahl (Abundanz)

0,10 g der naturfeuchten Bodenmischprobe werden in ein kleines Glasröhrchen (Durchmesser 2-3 cm) eingewogen, indem mit einer Pinzette etwa 10 Portionen zu je 0,01 g von verschiedenen Stellen der Mischprobe entnommen werden. Je nach Individuendichte und Tongehalt (siehe 6.6) wird die Probe mit 1-3 ml Bodenextrakt-Gebrauchslösung 3.2 versetzt. Man suspendiert durch kräftiges Rühren mit einem Glasstab und bringt die gesamte Suspension tropfenweise (ca. 0,1-0,3 ml) auf einen fettfreien Objektträger.

Die Zählung erfolgt mikroskopisch bei 40-facher Vergrößerung und ohne Deckglas, um das Hantieren mit der Augenwimper und der Mikropipette 2.1 zu ermöglichen (siehe 6.7).

Der oben beschriebene Vorgang wird viermal wiederholt, so daß insgesamt 0,4 g Boden-Frischmasse ausgezählt werden. Die Aufteilung in Portionen zu 0,1 g vermindert das Risiko der Excystierung.

### 4.2 Artenspektrum

Zur qualitativen Analyse hat sich die "non-flooded petri dish method" bewährt (Foissner 1993b): In eine Petrischale mit einem Durchmesser von 10-15 cm gibt man 15-50 g der mindestens 2 Wochen luftgetrockneten Mischprobe und sättigt sie mit dest. Wasser. Sättigung ist dann erreicht, wenn beim Kippen (45°) der Schale und bei leichtem Fingerdruck 5-20 ml Bodenwasser frei abfließen. Dieser Vorgang benötigt mehrere Stunden, der Sättigungszustand sollte daher etwa 12 Stunden nach der Befeuchtung kontrolliert werden.

Die Petrischale wird mit dem Deckel verschlossen, wobei man zwischen Deckel und Schalenboden eine Büroklammer (oder ähnliches) klemmt, damit der Gasaustausch nicht behindert wird.

Die Untersuchung der Kulturen erfolgt nach 2, 6, 12, 20 und 30 Tagen, indem man 1-2 ml des Bodenwassers von mehreren Stellen entnimmt und die darin vorkommenden Arten notiert. 2-5 solcher Proben, verteilt über ein Jahr, erbringen 50-80 % der Arten, die man in 10 solchen Proben, verteilt über 2 Jahre, findet.

## 5 Berechnung der Ergebnisse

### 5.1 Individuenzahl (Abundanz)

Berechnung siehe "Schalenamöben".

### 5.2 Biomasse

Die Berechnung erfolgt der Einfachheit halber nach den Maßen fixierter und gefärbter Exemplare, wobei die durch die Fixierung und Präparation verursachte Schrumpfung der Zellen berücksichtigt werden muß, entsprechende Faktoren geben Foissner (1985) und Dragesco und Dragesco-Kernéis (1986) an. Die Biomassewerte der meisten bisher bekannten Arten sind bei Foissner (1987) nachzulesen. Der Volums-Mittelwert kann zahlenmäßig dem Gewicht gleichgesetzt werden, da die spezifische Masse der Mikrofauna annähernd  $1 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$  beträgt.

Berechnung siehe "Schalenamöben".

### 5.3 Artenzahl

Die mittels der quantitativen und qualitativen ("non-flooded petri dish method") Untersuchungen erhobenen Artenzahlen werden getrennt angegeben. Die "Gesamtartenzahl" umfaßt alle Arten, die mittels beider Methoden gefunden wurden.

## 6 Anmerkungen

6.1 Die vielfach verwendeten, aus der Mikrobiologie übernommenen Kulturmethode (z.B. Singh 1946) sind zur Ermittlung der Abundanz aktiver Ciliaten ungeeignet (Foissner 1987, Aesch und Foissner 1992b, Berthold und Foissner 1992), da mit ihnen nur die Abundanz der aktiven *und* cystierten Protozoen ermittelt werden kann. Die hier beschriebene direkte Zählung in wäßriger Bodensuspension ist eine brauchbare Methode, da durchschnittlich 72 % der Ciliaten wiedergefunden werden (Abb. 19). Bei der Zählung kleinerer Arten kann der Fehler beträchtlich sein, da eine starke positive Korrelation zwischen Körpergröße und

Wiederfindungsrate besteht. Die mittels Direktzählung gewonnenen Werte stellen daher untere Grenzen dar, zumal bei der Probenaufbereitung (z.B. der Suspensierung) geringe Verluste unvermeidlich sind.

- 6.2 Couteaux und Palka (1988) beschreiben eine Membranfiltertechnik zur Zählung der aktiven und encystierten Individuen. Griffiths und Ritz (1988) empfehlen das Zentrifugieren in einem Dichtegradienten mit nachfolgender Fluoreszenzfärbung. Da bei beiden Methoden fixierte Individuen bearbeitet werden, ist die Artbestimmung nur eingeschränkt möglich.
- 6.3 Wegen ihrer Fähigkeit zur raschen Cystenbildung sollten Ciliaten am Tag der Probenahme gezählt werden.
- 6.4 Zur mikroskopischen Zählung von Ciliaten genügt eine 40-fache Vergrößerung.
- 6.5 Eine Probemenge von 0,4 g ist für Böden mit hohen Abundanzen ausreichend. Bei schwächer belebten Böden sollte die Menge entsprechend erhöht werden. Ungestörte, evolvierte Böden enthalten meist weniger als 50 aktive Ciliaten pro g Boden-Feuchtmasse, da die Entwicklung der Ciliaten durch die Microbiostasis gehemmt wird (Foissner 1987).
- 6.6 Die Bodenextrakt-Gebrauchslösung bewahrt empfindliche Arten vor dem Zerplatzen. Die erforderliche Verdünnung hängt weitgehend vom Bodentyp ab. Tonige Böden und solche mit hohen Abundanzen (z.B. Laubstreu) benötigen eine höhere Verdünnung als humose oder schwach belebte Böden.
- 6.7 Zur Artbestimmung können einzelne Individuen mit der Mikropipette isoliert und in der feuchten Kammer 2.2 aufbewahrt werden, bis die Zählung des Tropfens abgeschlossen ist. Man sollte sich vor der quantitativen Bearbeitung mit dem jeweiligen Artenspektrum vertraut machen, damit die Determinationen ohne aufwendige Untersuchung während des Zählens vorgenommen werden können.
- 6.8 Ein erfahrener Bearbeiter benötigt etwa 2-4 Stunden für die Zählung der Ciliaten in 0,4 g Boden.
- 6.9 Für Bodenciliaten gibt es keine zusammenfassende Bestimmungsliteratur. Eine der dominanten Gruppen, die Colpodea, wurde jedoch umfassend bearbeitet (Foissner 1993b). Relevante Bestimmungsliteratur für die anderen Gruppen ist bei Foissner (1987) und Foissner und Foissner (1988) angeführt.

- 6.10 Bei der Anwendung der "non-flooded petri dish method" ist darauf zu achten, daß der Boden nur leicht mit Wasser übersättigt, also nicht geflutet wird. Das abfließende Bodenwasser enthält häufig sehr viele Arten und Individuen und ist daher gut zur Anfertigung von Dauerpräparaten (z.B. Silberimpregnation) geeignet. Die Probe sollte viel Streu und Feinwurzeln enthalten und muß die Petrischale 1-2 cm hoch füllen.
- 6.11 Archivierung: Die meisten Ciliaten und Flagellaten lassen sich ausgezeichnet in Silberpräparaten konservieren, deren Anfertigung allerdings ziemlich aufwendig ist (Foissner 1991).
- 6.12 Die Ciliaten-Arten werden bei der Ermittlung der Abundanz erfaßt. Da die einzelnen Arten jedoch abhängig von ihren Ansprüchen und der Jahreszeit nicht mit derselben Häufigkeit vorkommen oder encystiert (eingekapselt) sind, benötigt man zur annähernd vollständigen Erfassung des Artenspektrums eines bestimmten Standortes zumindest 4 Proben, die über das Jahr verteilt entnommen wurden oder Proben aus mehrjährigen Untersuchungen.

### Geißeltiere (Flagellaten)

Geißeltiere werden im Prinzip wie die Ciliaten gezählt. Folgende Änderungen sind zu beachten:

- a) Die meisten Bodenflagellaten sind kleiner als  $10\ \mu\text{m}$ . Sie müssen daher bei 200- bis 300-facher mikroskopischer Vergrößerung gezählt werden.
- b) Aus der Bodensuspension (siehe "Ciliophora", 4.1) entnimmt man mit einer kalibrierten Pipette 0,01 ml und bedeckt den Tropfen mit einem Deckglas, das gerade so groß ist, daß sich die Suspension zwischen Objektträger und Deckglas ausbreitet, aber nicht hervorquillt. Das ganze Präparat wird durchmustert.
- c) So wie bei den Ciliaten wird dieser Vorgang viermal wiederholt. Die Zählwerte werden summiert und die Individuen pro g Boden-Trockenmasse bzw. pro  $\text{m}^2$  entsprechend der Verdünnung berechnet.

## Fadenwürmer (Nematoda)

### 1 Prinzip

Individuen und Arten werden entweder direkt im suspendierten Boden oder nach Siebung und Zentrifugation im Dichtegradienten gezählt.

### 2 Material und Geräte

Zusätzlich zur Laborgrundausrüstung sind erforderlich:

- 2.1 Küchensieb aus rostfreiem Stahl (Durchmesser ca. 12 cm)
- 2.2 Meßkanne aus Kunststoff oder Stahl (Fassungsvermögen 2 l, Höhe ca. 21 cm, Durchmesser ca. 15 cm)
- 2.3 rostfreies Analysesieb (Maschenweite 0,038 mm, Durchmesser 200 mm)
- 2.4 rostfreies Analysesieb (Maschenweite etwa 0,03 mm, Durchmesser ca. 50 mm)
- 2.5 Glasstäbchen mit aufgeklebter Augenwimper (Anfertigung siehe Foissner et al. 1991)
- 2.6 Mikroskop mit Ölimmersion und (nach Möglichkeit) Interferenzkontrast
- 2.7 Stereolupe
- 2.8 Zentrifuge

### 3 Chemikalien und Reagenzien

- 3.1 Magnesiumsulfatlösung  
450 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  werden in 1000 ml Leitungswasser gelöst. Die Lösung kann bei 4°C aufbewahrt werden.
- 3.2 Fixierer ("FP 4-1")  
10 ml Formaldehyd (handelsübliche Konzentration etwa 37 %) und 1 ml Propionsäure werden in einem 100 ml Meßkolben mit dest. Wasser bis zur Marke aufgefüllt.
- 3.3 Entwässerungsgemisch I ("Seinhorst I")  
20 ml Ethanol (96 % v/v) und 1 ml Glycerin werden in einem 100 ml Meßkolben mit dest. Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

- 3.4 Entwässerungsgemisch II ("Seinhorst II")  
5 ml Glycerin werden in einem 100 ml Meßkolben mit Ethanol (96 % v/v) bis zur Marke aufgefüllt.
- 3.5 Umrandungslack (z.B. Deckglaslack Chroma, Fa. Schmidt GmbH, D - 7316 Köngen)

## 4 Ausführung der Zählung

### 4.1 Individuenzahl (Abundanz)

#### 4.1.1 Direktzählung

Die Direktzählung (Lüftenegger et al. 1988) erfolgt wie bei den Ciliaten, nur sollte statt 0,4 g Boden-Frischmasse 1,0 g durchmustert werden, damit 100-200 Individuen erfaßt werden. Wenn keine Trennung nach Arten erfolgt, können Nematoden auch gut in mit phenolischer Anilinblaulösung (siehe "Schalenamöben") fixierten und gefärbten Bodensuspensionen gezählt werden.

#### 4.1.2 Zentrifugiermethode (Jenkins 1964, mod.)

100 g der naturfeuchten Bodenmischprobe werden unter Entnahme mehrerer Portionen von der Mischprobe in ein Becherglas eingewogen und mit einem starken Wasserstrahl (etwa 1 l) über das Küchensieb 2.1 in die Kanne 2.2 gespült; der im Sieb verbleibende Rest wird verworfen. Die Probe wird durch Kippen gut vermischt. Nach kurzem Absetzen (etwa 10 Sekunden) der schwereren Bodenteilchen, die verworfen werden, wird die Suspension rasch über das Sieb 2.3 gegossen und der Rückstand mit einer Brause von der Rückseite des Siebes her gewaschen. Der verbleibende Rest am Boden des Siebes wird von der Rückseite her mit einer Spritzflasche in ein Becherglas gespült. Der Inhalt des Becherglases wird 3 Minuten bei 2200 Upm zentrifugiert. Der Überstand wird dekantiert und durch Lösung 3.1 ersetzt. Das Pellet wird nun gut suspendiert und 3 Minuten bei 2200 Upm zentrifugiert. Der Überstand wird durch das Analysensieb 2.4 gegossen, das Pellet wird verworfen. Die Nematoden werden von der Rückseite des Siebes mit möglichst wenig Wasser in ein sauberes Becherglas gespült. Die beschriftete Probe kann bis zur Aufarbeitung bei 4°C aufbewahrt werden (Jenkins 1964, mod.). Je nach Individuenzahl muß die Suspension verdünnt werden oder kann vollständig bei 40-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop oder unter der Stereolupe (wenn keine Trennung nach Arten gewünscht ist) ausgezählt werden.

## 4.2 Artenspektrum

Die Nematoden-Arten werden bei der Abundanzermittlung erfaßt. Nach Balogh (1958) erreicht die Artenzahl der Nematoden pro Standort bereits bei einer Arealgröße von 0,5-1 cm<sup>2</sup> ihr Maximum und erhöht sich bei einer Vergrößerung der Probefläche auf 5, 10 oder 15 cm<sup>2</sup> nicht mehr weiter. Da die einzelnen Arten jedoch in Abhängigkeit von ihren Eigenschaften und der Jahreszeit nicht gleich häufig vorkommen, benötigt man zur annähernd vollständigen Erfassung des Artenspektrums mehrere Proben, die über das Jahr verteilt entnommen wurden, oder Proben aus mehrjährigen Untersuchungen (Wasilewska 1979).

## 5 Berechnung der Ergebnisse

### 5.1 Individuenzahl (Abundanz)

Berechnung siehe "Schalenamöben".

### 5.2 Biomasse

Die Masse eines Nematoden wird mit Hilfe der Formel von Andrassy (1956) errechnet, wobei zur Bestimmung jeder Art mindestens 10 Individuen vermessen werden sollten.

$$\frac{a^2 \cdot b}{16 \cdot 10^5} = M$$

M	Masse eines Nematoden ( $\mu\text{g}$ )
a	größte Körperbreite ( $\mu\text{m}$ )
b	Körperlänge ( $\mu\text{m}$ )
$16 \cdot 10^5$	Erfahrungsschlüsselzahl

Nach Andrassy (1956) beträgt die spezifische Masse der Nematoden annähernd 1,084 g · cm<sup>-3</sup>, andere Autoren bestimmten sie mit 1,02 g · cm<sup>-3</sup>. Daher wird empfohlen, diese Masse so wie bei den Protozoen mit 1 g · cm<sup>-3</sup> anzunehmen. Der Trockenmassegehalt der Nematoden wird mit 20-25 % angegeben (Yeates 1979). Auch die Stoff- und Energieäquivalente sind sehr ähnlich jenen der Protozoen. Das C : N-Verhältnis beträgt 10 : 1 (Hunt et al. 1987), das aschefreie Energieäquivalent liegt bei 17,9 J (Yeates 1979).

## 6 Anmerkungen

6.1 Die Methoden der Extraktion von Nematoden lassen sich in 3 Gruppen gliedern:

- dynamische Verfahren, z.B. "Baermann-Trichter"
- mechanische Verfahren, z.B. Flotationsmethoden (Dichtegradienten oder Siebkaskaden)
- Direktauslese (d.h. Aufschlammung kleinster Bodenproben).

Obwohl zumeist modifizierte Trichterverfahren verwendet werden, ist die dynamische Methode für die Zählung von Nematoden nicht zu empfehlen (Zell 1985). Die Effektivität wird zwar mit etwa 90 % angegeben (Oostenbrink 1971), die Prüfmethode sind jedoch oft zweifelhaft (Zell 1985). Vergleiche der Ergebnisse aus Trichter- und Flotationsmethoden unter standardisierten Bedingungen zeigten, daß letztere um das Zwei- bis Achtfache effektiver arbeiten. Die Direktzählung erbrachte im Vergleich zur Flotation nochmals das Doppelte (Zell 1985). Die hier beschriebene Flotationsmethode wird empfohlen und routinemäßig angewandt. Eigene Versuche an Wiesen- und Ackerböden ergaben, daß im Vergleich mit der direkten Zählmethode 60-90 % weniger Individuen erfaßt werden, vor allem die kleinen Arten gehen verloren (Siebgröße 38  $\mu\text{m}$  !).

Die Direktzählung kleiner Bodenproben in hoher Verdünnung ist von der Sicherheit der Aussage her allen anderen Methoden überlegen, auch weil sie für sämtliche Substrattypen gleichermaßen geeignet ist (Zell 1985, Dunger und Fiedler 1989). Sie wird wegen des sehr hohen Zeitaufwandes jedoch selten angewandt. Die von Lüftenegger et al. (1988) vorgeschlagene und hier beschriebene Direktzählmethode stellt in dieser Hinsicht einen Kompromiß zwischen Effektivität (durchschnittlich 85 %, geprüft durch Wiederfindungs-Experimente, Abb. 19) und Arbeitsaufwand dar, da die Nematoden und Ciliaten gleichzeitig mit einem Zeitaufwand von etwa 4 Stunden erfaßt werden können.

6.2 Für Boden-Nematoden werden die Bestimmungsschlüssel von Andrassy (1984) und Bongers (1988) empfohlen. Einen vereinfachten Schlüssel zu den Großgruppen gibt Decker in Dunger und Fiedler (1989).

6.3 Archivierung (Seinhorst 1962): Die lebenden Tiere werden in einem Blockschälchen in wenig Wasser konzentriert, durch kurze Hitzeeinwirkung (50-60°C) getötet und anschließend mit Gemisch 3.2 mindestens 24 Stunden fixiert. Anschließend werden die Nematoden unter der Stereolupe mit Hilfe der Augenwimper 2.5 in ein weiteres Blockschäl-

chen überführt, das 0,5 ml des Gemisches 3.3 enthält. Zur Entfernung des Wassers wird das Blockschälchen für mindestens 12 Stunden bei 35-40°C in einem Exsikkator inkubiert, der etwa zu 1/10 seines Volumens mit 96%igem Ethanol gefüllt ist. Danach wird das Blockschälchen mit Gemisch 3.4 gefüllt, restliches Ethanol läßt man in einer halboffenen Petrischale 3-5 Stunden bei 40°C langsam verdunsten. Auf einen Objektträger wird ein Tropfen Glycerin aufgebracht, die Nematoden werden einzeln überführt, mit einem Deckglas bedeckt und mit Umrandungslack 3.5 versiegelt.

## Literatur

- Aescht E, Foissner W (1989) Stamm: Rhizopoda. *Catalogus Faunae Austriae Ia*
- Aescht E, Foissner W (1992a) Enumerating active soil testate amoebae by direct counting. *Protocols in Protozoology*:B-6.1 - B-6.4
- Aescht E, Foissner W (1992b) Enumerating active soil ciliates by direct counting. *Protocols in Protozoology*:B-7.1 - B-7.4
- Anderson JM (1988) Spatiotemporal effects of invertebrates on soil processes. *Biol Fertil Soils* 6:216-227
- Andrassy I (1956) Die Rauminhalts- und Gewichtsbestimmung der Fadenwürmer (Nematoden). *Acta Zool* 2:1-15
- Andrassy I (1984) Klasse Nematoda (Ordnungen Monhysterida, Desmoscolecida, Araeolaimida, Chromadorida, Rhabditida). Akademie Verlag, Berlin
- Balogh J (1958) Lebensgemeinschaften der Landtiere. Ihre Erforschung unter besonderer Berücksichtigung der zoologischen Arbeitsmethoden. Akademie Verlag, Berlin
- Berthold A, Foissner W (1992) Singh's dilution culture method is inappropriate for estimating individual numbers of active soil ciliates (Protozoa). In: Haimi I, Pitkänen PL (eds), *Soil Organisms and Soil Health*. Jyväskylä Congress Publications 3, p 148
- Blum WEH, Spiegel H, Wenzel WW (1989) Bodenzustandsinventur. Konzeption, Durchführung und Bewertung. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien
- Bongers T (1988) *De Nematoden Van Nederland*. Koninklijke Nederlandse Natuurhistorische Vereniging, Utrecht
- Couteaux MM, Palka L (1988) A direct counting method for soil ciliates. *Soil Biol Biochem* 20:7-10
- Dragesco J, Dragesco-Kernéis A (1986) Ciliés libres de l'Afrique intertropicale. Introduction à la connaissance et à l'étude des ciliés. *Faune Tropicale* 26:1-559
- Dunger W, Fiedler HJ (eds) (1989) *Methoden der Bodenbiologie*. Fischer Verlag, Jena
- Foissner W (1985) Protozoologische Untersuchungen an Almböden im Gasteiner Tal (Zentralalpen, Österreich). III. Struktur und Dynamik der Testaceen- und Ciliaten-taxozönose. *Veröff Österr MaB-Programms* 9:65-95
- Foissner W (1987) Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicators, and guide to the literature. *Progr Protistol* 2:69-212

- Foissner W (1991) Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa. *Europ J Protistol* 27:313-330
- Foissner W (1992) Estimating the species richness of soil protozoa using the "non-flooded petri dish method". *Protocols in Protozoology*:B-10.1 - B-10.2
- Foissner W (1993a) Soil protozoa as bioindicators in ecosystems under human influence. In: Darbyshire JF (ed), *Soil Protozoa*. CAB Int, Wallingford Oxon UK (im Druck)
- Foissner W (1993b) *Colpodea (Ciliophora)*. Fischer Verlag, Jena (im Druck)
- Foissner W, Berger H, Kohmann F (1992) Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems - Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomata. *Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Heft 5/92*
- Foissner W, Blatterer H, Berger H, Kohmann F (1991) Taxonomische und ökologische Revision der Ciliaten des Saprobiensystems - Band I: Cyrtophorida, Oligotrichida, Hypotrichida, Colpodea. *Informationsberichte des Bayer. Landesamtes für Wasserwirtschaft, Heft 1/91*
- Foissner W, Foissner I (1988) Stamm: Ciliophora. *Catalogus Faunae Austriae* 1c
- Griffiths BS, Ritz K (1988) A technique to extract, enumerate and measure protozoa from mineral soils. *Soil Biol Biochem* 20:163-173
- Hunt H, Coleman DC, Ingham, ER, Elliott ET, Moore JC, Rose SL, Reid CPP, Morley CR (1987) The detrital food web in a shortgrass prairie. *Biol Fert Soils* 3:57-68
- Jenkins WR (1964) A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48, p 692
- Lousier JD, Parkinson D (1981) Evaluation of a membrane filter technique to count soil and litter testacea. *Soil Biol Biochem* 13:209-213
- Lousier JD, Parkinson D (1984) Annual population dynamics and production ecology of Testacea (Protozoa, Rhizopoda) in an aspen woodland soil. *Soil Biol Biochem* 16:103-114
- Lüftenegger G, Petz W, Foissner W, Adam H (1988) The efficiency of a direct counting method in estimating the numbers of microscopic soil organisms. *Pedobiologia* 31:95-101
- Meisterfeld R (1989) Die Bedeutung der Protozoen im Kohlenstoffhaushalt eines Kalkbuchenwaldes (Zur Funktion der Fauna in einem Mullbuchenwald 3). *Verh Ges Ökol* 17:221-227
- Oostenbrink M (1971) Comparison of techniques for population estimation of soil and plant nematodes. *IBP Handbook* 18:72-82
- Persson T, Baath E, Clarholm M, Lundvist H, Söderström BE, Söhlenius B (1980) Trophic structure, biomass dynamics and carbon metabolism of soil organisms in a Scots pine forest. *Ecol Bull* 32:419-459
- Petersen H, Luxton M (1982) A comparative analysis of soil fauna populations and their role in decomposition processes. *Oikos* 39:287-288
- Schönborn W (1989) Urtiere (Protozoa). In: *Dunger W und Fiedler HJ (eds), Methoden der Bodenbiologie*. Fischer, Jena, p 282
- Seinhorst (1962) On killing, fixation and transferring to glycerin of nematodes. *Nematologia* 8:29-32
- Singh BN (1946) A method of estimating the number of soil protozoa, especially amoebae, based on their differential feeding on bacteria. *Ann Appl Biol* 33:112-120
- Söhlenius B (1980) Abundance, biomass and contribution to energy flow by soil nematodes in terrestrial ecosystems. *Oikos* 34:186-194

- Wasilewska L (1979) The structure and function of soil nematode communities in natural ecosystems and agrocoenoses. *Pol Ecol Stud* 5:97-145
- Yeates GW (1979) Soil nematodes in terrestrial ecosystems. *J Nematol* 11:213-229
- Zell A (1985) Die Nematodenfauna eines Buchenwaldbodens. Dissertation Universität Karlsruhe

Für die Mithilfe bei der Ausarbeitung des bodenzoologischen Abschnittes "Mikrofauna" danke ich Dr. E. Aesch.