

Aus der Abteilung Ökologie und Morphologie der Tiere der Universität Ulm

Beiträge zur Fauna der Ulmer Region
II. Ciliaten (Protozoa: Ciliophora)
Bioindikatoren in Waldböden

von Eugen Lehle

Inhalt: I. Einleitung II. Versuchsflächen
III. Methoden
IV. Ergebnisse
V. Schlußfolgerungen
VI. Zusammenfassung
VII. Literatur

I. Einleitung

Gegenüber einer Veränderung von Standortfaktoren sind Organismen in recht unterschiedlichem Maß tolerant. Oft existieren Schutzeinrichtungen gegen extreme natürliche Umweltbedingungen. Den Emissionen, die insbesondere seit den vergangenen 50 Jahren zunehmend die Lebensräume belasten, sind die biologischen Systeme jedoch meist schutzlos ausgeliefert.

Mit Hilfe physikalisch-chemischer Methoden lassen sich viele Umweltgifte ermitteln und quantifizieren. Um die komplexe Gesamtheit der Wirkungen aller Stressoren auf Organismen, Populationen oder Biozönosen zu ermitteln, werden in zunehmenden Maß aber auch Pflanzen und Tiere als Bioindikatoren eingesetzt. Das sind Organismen, die auf Schadstoffbelastungen mit Veränderungen ihrer Lebensfunktionen antworten bzw. den Schadstoff akkumulieren (ARNDT et al. 1987). Flechten als Monitororganismen für Luftschadstoffe (WIRTH 1976) oder limnische Ciliaten als Zeiger für die Wasserqualität (BICK 1972) sind anerkannte Bioindikatoren.

Auch Bodenciliaten sind hervorragende Indikatororganismen (Literaturübersicht bei FOISSNER 1987a). Bei bodenbiologischen Unter-

suchungen wurde allerdings häufig nur die Individuenzahl der gesamten Tiergruppe ermittelt. Erst in neuerer Zeit wurden zahlreiche Arbeiten publiziert, die für die Artbestimmung von besonderer Bedeutung sind (s. BERGER S FOISSNER 1987, BERGER et al. 1984, BUITKAMP 1977, BUITKAMP & WILBERT 1974, DRAGESCO S DRAGESCO-KER^EIS 1979, FOISSNER 1982, 1987b, GELLERT 1957, GROLIERE S COUTEAUX 1984, HEMBERGER 1985, WENZEL 1953). Zusammen mit den Werken von KAHL (1930-35) und LEE et al. (1985) steht nun ausreichend Bestimmungsliteratur für ökologische Untersuchungen auf Artbasis zur Verfügung.

In Ulm werden Untersuchungen an Ciliatenzönosen seit 1985 im Rahmen eines Forschungsprojektes (Projekt Europäisches Forschungszentrum für Maßnahmen zur Luftreinhaltung PEF; Kernforschungszentrum Karlsruhe) durchgeführt. Vor allem in Fichtenforsten und Laubwäldern, aber auch in Streuobstwiesen, Trockenrasen und intensiv landwirtschaftlich genutzten Flächen werden Bodenproben qualitativ-quantitativ analysiert.

Die Problematik der neuartigen Waldschäden macht es notwendig, nach Indikatororganismen zu suchen, die frühzeitig Veränderungen in Waldökosystemen anzeigen. Es ist bekannt, daß die Ciliaten der Waldböden äußerst sensitiv auf Veränderungen in ihrem Lebensraum reagieren (FUNKE 1985, FUNKE S JANS 1989, FUNKE et al. 1989, LEHLE 1986, LEHLE & FUNKE 1987, PETZ et al. 1988, STUMPP et al. 1986). In der vorliegenden Schrift werden die Reaktionen der Ciliatengemeinschaften auf Kalk- und Mineraldüngergaben in einem stark sauren Fichtenforst aufgezeigt. Ferner wird über die Auswirkungen von Säurebehandlungen (im Labortest) auf die Ciliatenfauna eines gedüngten Fichtenbestandes und eines Laubwaldes berichtet.

II. Versuchsflächen

Seit 1977 bildet der Vergleich der Tiergesellschaften verschiedener Landökosysteme einen besonderen Forschungsschwerpunkt der Abteilung Ökologie und Morphologie der Tiere (Leiter: Prof. Dr. W. Funke) der Universität Ulm. Hierfür stehen unter anderem ein Fichtenforst auf dem Oberen Eselsberg (Universitätswald UI) und ein Buchenbestand bei Ulm-Ermingen (Erminger Forst EF) zur Verfügung.

a) Universitätswald U1

Hierbei handelt es sich um einen ca. 65jährigen Bestand von *Picea abies*, Kraut- und Strauchschicht fehlen fast vollständig, der Boden ist stark sauer. Die Versuchsfläche liegt zwischen Universität, Bundeswehrkrankenhaus und der Inneren Klinik. Sie gehört zum Forstamtsbezirk Ulm, Distrikt XIV, Eselsberg 3, Meereshöhe 613 m über NN.

Zwei Teilareale innerhalb von UI wurden für Langzeituntersuchungen verwendet (April 1985 - Januar 1989):

- U1NF: Vergleichsfläche, unbehandelt
- U1DF: Kalk-Düngefläche, am 1.2.1984 mit kohlensaurem Kalk (95 % CaCO_3), 20 kg/ar und am 15.5.1984 mit Kalkammonsalpeter (13,8 % Ammoniumstickstoff, 13,7 % Nitratstickstoff), 5 kg/ar behandelt

Für Kurzzeituntersuchungen (März - August 1985) wurden vier Kleinflächen (jeweils 1,25 Quadratmeter) abgegrenzt:

- NF: Vergleichsfläche, unbehandelt DF: Düngefläche, Behandlung am 15.3.1985 mit Kalkammonsalpeter 50 g/m²
- KF: Kalkfläche, Behandlung am 15.3.1985 mit kohlensaurem Kalk 200 g/m²
- KDF: Kalk-Düngefläche, Behandlung am 15.3.1985 mit kohlensaurem Kalk (s.o.) und am 23.7.1985 mit Kalkammonsalpeter (s.o.)

b) Erminger Forst EF

Es handelt sich um einen ca. 100 Jahre alte Buchenbestand (Melico-Fagetum) westlich von Ermingen. Der Boden ist mäßig sauer, eine ausgeprägte Strauch- und Krautschicht ist vorhanden. Das Areal gehört zum Forstamtsbezirk Ulm, Distrikt XIV, Abt. 5, Steighau. Meereshöhe 630 m über NN. Untersuchungszeitraum: April 1987 - Januar 1989.

Das unbehandelte Areal U1NF stellte mit einem durchschnittlichen pH-Wert von 3,1 einen stark sauren Standort dar. Die einzelnen Werte unterschieden sich während des gesamten Untersuchungszeitraums nur geringfügig (Abb. 1). Die Kalkdüngemaßnahmen führten in U1DF zu einer deutlichen Erhöhung des pH-Wertes. Von April bis Oktober 1985 lag er knapp unter fünf; danach war bis zum Oktober 1987 eine Erniedrigung festzustellen. Die darauffolgenden Messungen ergaben wieder stark erhöhte Werte gegenüber U1NF. Die relativ starken Schwankungen in U1DF könnten durch eine unterschiedlich starke Auswaschung des Kalks verursacht worden sein. Die Werte in EF lagen zwischen 4,9 und 4,1. U1DF und EF lagen in ihren H_3O^- -Konzentrationen auf vergleichbarem Niveau.

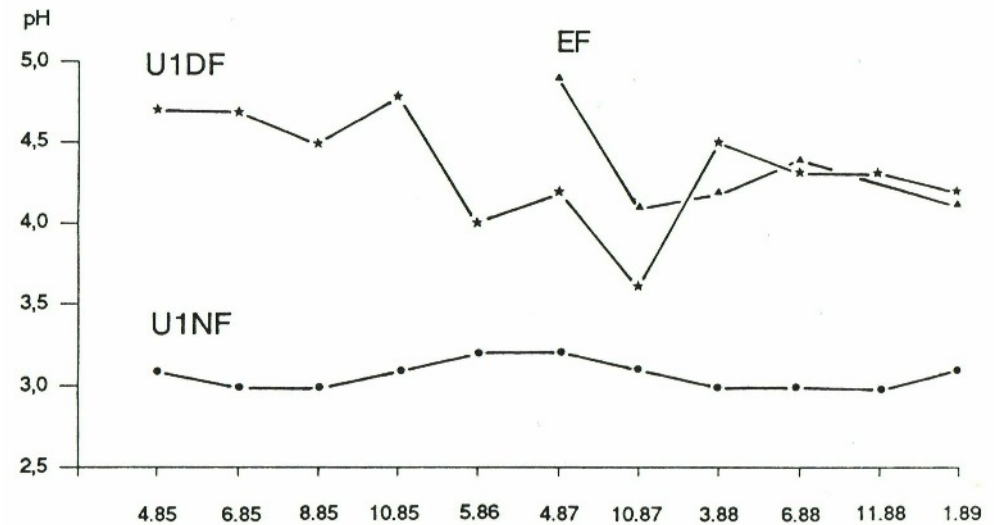


Abb. 1: pH-Werte (KCl) in U1NF, U1DF und EF während der Langzeituntersuchung

III. Methoden

Die Bodenproben wurden mit einem Stechrohr entnommen und 14 Tage an der Luft getrocknet. Nach diesem schonenden Trocknungsprozeß lagen die Ciliaten wie auch die anderen Tiere des Mikroedaphons in ihren Dauerstadien vor. In wässrigen Kulturen ließen sich zahlreiche Organismen, insbesondere Ciliaten, Flagellaten, Nematoden, Rotatorien und in geringerem Maße auch Amöben, Thekamöben, Heliozoen, Turbellarien und Tardigraden reaktivieren. Zur Ermittlung der Artenzahl der Ciliaten wurde die Petrischalen-Kulturmethode nach VARGA (1959) in der Vorschrift von FOISSNER (1982) angewendet. Dabei wurden 50g Substrat bis zur Sättigung mit Wasser (je nach Bodenart die ein- bis dreifache Menge der Substrattrockenmasse) versetzt. Die Kulturen wurden nach 3, 6, 10 und 20 Tagen im Differential-Interferenzkontrastmikroskop auf aktive Ciliaten untersucht. Von Individuen verschiedener Arten wurden Videoaufnahmen gemacht, um Morphologie und Verhalten genauer studieren zu können.

Für eine exakte Determination der Ciliaten reichen Lebendbeobachtungen allein nicht aus. Hierfür sind Präparationsverfahren notwendig, bei denen die Infraciliatur der Tiere sichtbar gemacht wird.

Die von BODIAN (1936, 1937) für die Imprägnation der Neurofibrillen entwickelte und von KIRBY (1950) für die Protozoenforschung abgeänderte Protargolmethode ist eine der bedeutendsten Versilberungstechniken für Ciliaten. DRAGESCO (1962), TUFFRAU (1964), UHLIG (1968), WILBERT (1975) FOISSNER (1982) u.a. beschreiben Modifikationen der

Protargolversilberung. Diese Technik wurde in einigen wesentlichen Punkten abgeändert und vereinfacht.

Protargolversilberung (nach FOISSNER 1982, verändert):

Die Tiere werden in BOUINScher Lösung (ROMEIS 1968) fixiert, dann abzentrifugiert und in Leitungswasser oder demineralisiertem Wasser gewaschen. Überführen in destilliertes Wasser ist für Bodenciliaten aus ionenreichem Kulturmateriale äußerst ungeeignet, weil viele Tiere dabei platzen oder sehr stark deformiert werden. Das Auswaschen des Fixiergemisches wird in der Regel dreimal durchgeführt. Dieser Arbeitsschritt kann abgebrochen werden, wenn das Waschwasser farblos ist. Als Klebemittel hat sich außer selbst hergestelltem Eiweißglycerin (Mischungsverhältnis Hühnereiweiß:Glycerin = 1:1) auch das der Chroma-Gesellschaft (Köngen) bewährt. Aus dem Pellet der Zentrifugengläschen wird ein Tropfen fixierter Ciliaten entnommen und auf dem Objektträger mit Eiweißglycerin vermischt. Die Präparate werden entweder im Trockenschrank bei 60°C eine Stunde oder bei Zimmertemperatur 24 Stunden getrocknet.

Die folgenden Schritte werden bei Zimmertemperatur in Färbeküvetten durchgeführt: 98 % Isopropanol 30 Minuten - 70 % Isopropanol 10 Minuten - 2 x demineralisiertes Wasser je 10 Minuten - Kaliumpermanganatlösung (0,2 %) 2 Minuten - 2 x demineralisiertes Wasser je 1 Minute - Oxalsäurelösung (2%) 4 Minuten - 3 x demineralisiertes Wasser je 3 Minuten. Anschließend werden die Präparate in eine auf 60°C vorgewärmte Protargollösung (0,4%) überführt und 15 Minuten bei dieser Temperatur imprägniert. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur (ebenfalls 15 Minuten) folgt der entscheidende Schritt der Entwicklung der versilberten Basalkörper. Oft wird als Entwicklergemisch 100 ml einer Natriumsulfatlösung (5%) mit darin gelöstem Hydrochinon (lg) empfohlen. Frisch hergestellt arbeitet dieser Entwickler jedoch sehr hart und färbt auch das Eiweißglycerin - meist grün - an. FOISSNER (1982) empfiehlt, das Entwicklergemisch in leicht braunem, etwas gealterten Zustand zu verwenden. Es ist äußerst schwierig, diesen kritischen Schritt in der Präparation zu standardisieren, und der Erfolg der Arbeit hängt sehr von der Erfahrung des Präparators ab. Eine Testreihe mit handelsüblichen, in der Fotografie verwendeten, Entwicklern hat gezeigt, daß folgende drei Positiventwickler für die Ciliatenpräparation sehr gut geeignet sind: Multigrade (Firma Ilford), Eukobrom und Dokumol (beide Firma Tetenal). Die Entwicklerlösung wird mit einer Pasteur-Pipette auf jeden Objektträger einzeln aufgetragen. Der Entwicklungsprozeß wird mikroskopisch verfolgt. Wenn die Infraciliatur schwach sichtbar ist, wird dieser Prozeß durch Eintauchen des Objektträgers in demineralisiertes Wasser abgebrochen. Die anschließende Fixierung erfolgt in Natriumthiosulfatlösung (2%).

Nach dem Entwässern über die Alkoholreihe kommen die Präparate 2 x je 10 Minuten in Xylol und werden dann in neutrales Kunstharz eingeschlossen.

Für die quantitative Auswertung der Proben wurde die Kulturmethode nach BUITKAMP (1979) angewendet: Dabei wurden 3g Trockensubstrat bis zur Sättigung mit Wasser versetzt. Es wurden jeweils 8 Parallelproben angesetzt. Nach 6 Tagen wurden diese Kulturen mit Hilfe des Verdünnungsstufen-Verfahrens nach BRUNBERG-NIELSEN (1968) ausgewertet.

Die in den Jahren 1984/85 in U1DF und den Teilarealen KF, DF und KDF im Freiland durchgeführten Bodenbehandlungsmaßnahmen wurden mit Proben aus U1NF im Labor nachvollzogen. Die Substanzen wurden dabei unmittelbar in die Petrischalenkultur (zu 50g Substrat) gegeben. So konnten die Freilandversuche präzisiert werden, und gleichzeitig stand neben der Langzeit- und der Kurzzeituntersuchung noch eine dritte Testreihe über die Auswirkung der Kalk- und Düngemaßnahmen auf die Wimpertierfauna zur Verfügung. Dieser Ciliaten-Labortest wurde auch für Säurebehandlungen an Proben von EF und U1DF eingesetzt.

Ausgezählt wurden diese Kulturen zum ersten Mal nach 10 Stunden, dann bis zum 14. Tag täglich und weiter nach 20 und nach 30 Tagen. Es wurden jeweils 5 Objektträger mit 0,1 ml Flüssigkeit aus zwei Parallelkulturen ausgewertet. Den typischen Verlauf der Zahl der in der Kultur aktiven Arten veranschaulicht Abb. 2. In den ersten Tagen stieg die Artenzahl rasch an und erreichte zwischen dem 4. und dem 7. Tag ein Maximum. Danach alterte die Kultur und die Artenzahl war rückläufig. Nach 30 Tagen waren bedeutend weniger Spezies aktiv als in der ersten Woche. Dieser natürliche Alterungsprozeß war bei der Wertung des Labortests zu berücksichtigen. Für Indikationszwecke waren vor allem die ersten 10 Tage von Bedeutung. Die relative Häufigkeit wurde folgendermaßen ermittelt: Je nachdem, wie oft eine Art in den Proben durchschnittlich auftrat, wurde ihr eine Häufigkeitsstufe zugeordnet (1-2 Individuen Stufe I, 3-10 Individuen Stufe II, 11-20 Individuen Stufe III, 21-50 Individuen Stufe IV und mehr als 50 Individuen Stufe V). Da es dabei vor allem bei häufigen Arten zu Mehrfachzählungen kam, konnte mit dieser Methode nicht die Abundanz einer Art, sondern nur ihre relative Häufigkeit ermittelt werden.

Tab.1 zeigt die Menge der zugegebenen Testsubstanzen und die damit verbundene Veränderung des pH-Wertes. Nach Kalkung sowie nach Kalkung in Verbindung mit Kalkammonsalpeterdüngung stieg der pH-Wert stark an. Umgekehrt führte Säureeintrag zu einer drastischen Erniedrigung des pH-Wertes. Alleinige Düngung führte dagegen zu keiner Veränderung.

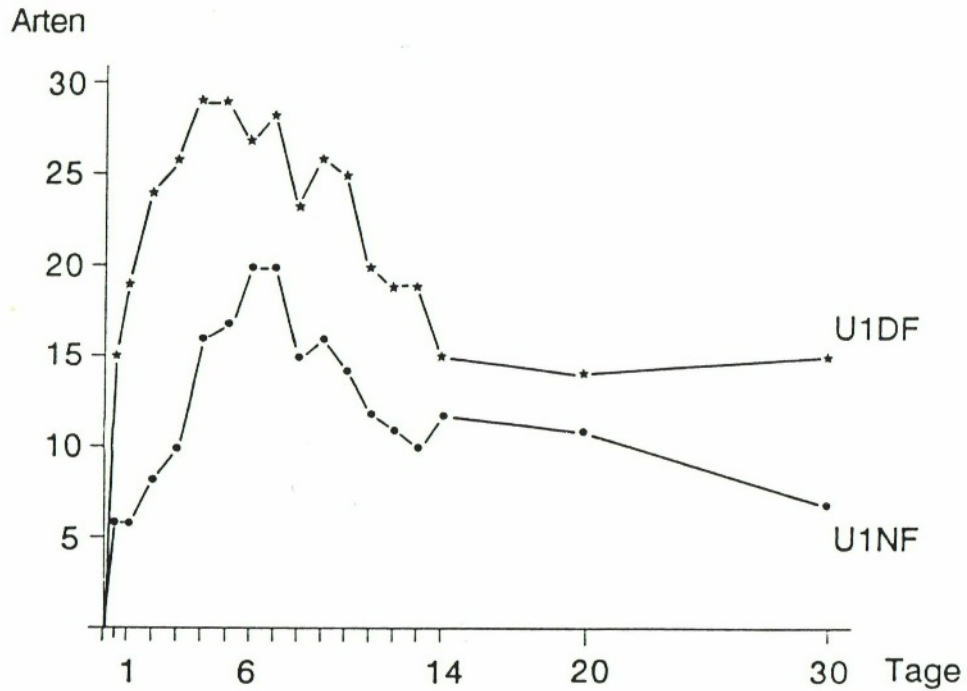


Abb. 2: Verlauf der Artenzahlen in Petrischalen-Kulturen (am Beispiel von U1NF und U1DF, Januar 1989)

Tab. 1: Im Laborversuch verwendete Substanzen

<u>Testsubstanzen</u>	<u>pH-Wert</u>
<u>U1NF Januar 1989</u>	
- Kontrolle	3,1
- Kalk 1,2 g	5,2
- Kalkammonsalpeter 0,3 g	3,0
- Kalk 1,2 g + Kalkammonsalpeter 0,3 g	5,3
<u>U1DF Januar 1989</u>	
- Kontrolle	4,2
- H ₂ SO ₄ konz. 0,075 ml	3,2
- HN ₃ konz. 0,195 ml	3,2
<u>EF Januar 1989</u>	
- Kontrolle	4,0
- H ₂ SO ₄ konz. 0,022 ml	3,2

IV. Ergebnisse

a) Langzeituntersuchung: Auf den drei Untersuchungsflächen wurden 72 Arten nachgewiesen (Tab.2). U1DF wies mit 61 Spezies die höchste Artenzahl auf, gefolgt von EF mit 60 Arten. In U1NF wurden hingegen nur 41 Arten festgestellt. Die Artenzahlen an den einzelnen Terminen verdeutlicht Abb.3: Die Werte lagen in U1NF zwischen 26 und 32, in U1DF zwischen 39 und 46. Stets war die Zahl der nachweisbaren Arten auf der Kalkdüngefläche deutlich höher als auf der Vergleichsfläche. In EF wurden Artenzahlen von 43 bis 45 registriert. Abb.3 belegt eindeutig: Kalkdüngemaßnahmen führten in einem stark sauren Fichtenwald zu einer erhöhten Artenzahl bei Ciliaten. Dieses höhere Artenniveau blieb langfristig stabil und war auch fünf Jahre nach der Behandlung noch erhalten .

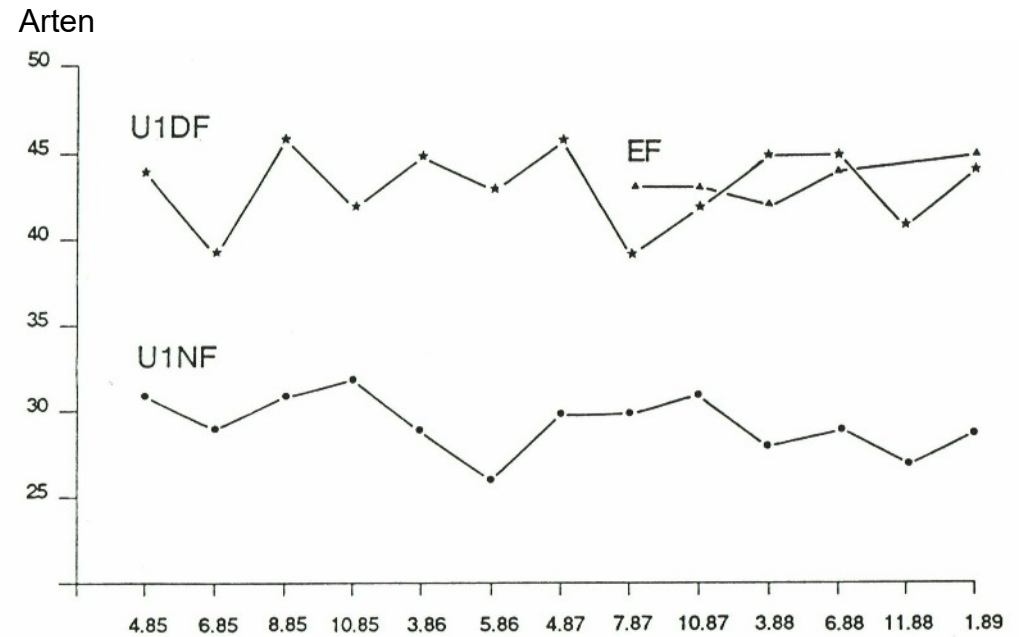


Abb. 3: Artenzahlen (Petrischalen-Kulturmethode) in U1NF, UIDF und EF während der Langzeituntersuchung

Tab. 2: Artenliste der Bodenciliaten in den Versuchsflächen U1NF U1DF und EF

	U1NF	U1DF	EF		U1NF	U1DF	EF
Acropisthium mutabile PERTY			*	Kahlilembus fusiformis (KAHL)		*	*
Blepharisma hyalinum PERTY		*	*	Keronopsis wetzeli WENZEL	*		
Blepharisma sp.			*	Leptopharynx costatus MERMOD	*	*	*
Bryometopus pseudochilodon KAHL	*	*	*	Microdiaphanosoma arcuata (GRANDORI fi GRANDORI)		*	
Bryometopus sphagni (PENARD)		*		Nivaliella plana FOISSNER	*	*	*
Bryophyllum loxophylliforine KAHL	*		*	Odontochlamys gouraudi CERTES			*
Chilodontopsis muscorum KAHL		*	*	Oxytricha setigera STOKES		*	*
Chilophrya terricola FOISSNER	*	*		Oxytricha spp.	*	*	*
Cinetochilum margaritaceum (EHRENBERG)		*	*	Paracolpoda steinii (MAUPAS)	*	*	*
Colpoda aspera KAHL	*	*	*	Paraenchelys wenzeli FOISSNER		*	*
Colpoda cucullus MÜLLER	*	*	*	Paruroleptus muscorum (KAHL)	*	*	*
Colpoda fastigata KAHL		*	*	Phialina sp.			*
Colpoda henneguyi FABRE-DOMERGUE	*	*	*	Platyophrya spumacola KAHL	*	*	*
Colpoda inflata (STOKES)	*	*	*	Platyophrya vorax KAHL	*	*	*
Cyclidium muscicola KAHL	*	*	*	Platyophrya spp.	*	*	*
Cyrtolophosis mucicola STOKES	*	*	*	Protospathidium bonneti (BUIKAMP)	*	*	*
Dileptus amphileptoides KAHL Dileptus spp.	*	*	*	Pseudochilodonopsis mutabilis FOISSNER		*	*
Drepanomonas exigua PENARD		*		Pseudochilodonopsis sp.		*	
Drepanomonas pauciciliata FOISSNER		*		Pseudoholophrya terricola BERGER, FOISSNER & ADAM		*	*
Drepanomonas revoluta PENARD	*	*	*	Pseudoplatyophrya nana (KAHL)	*	*	*
Epispathidium amphoriforme (GREEFF)	*	*	*	Pseudoplatyophrya terricola FOISSNER	*	*	*
Epispathidium papilliferum (KAHL)			*	Sathrophilus muscorum (KAHL)	*	*	*
Epispathidium terricola FOISSNER	*	*		Spathidium muscicola KAHL		*	*
Euplotes muscicola KAHL		*	*	Spathidium spathula (MÜLLER)	*	*	*
Frontonia depressa (STOKES)	*	*	*	Spathidium spp.	*	*	*
Gonostomum affine (STEIN)	*	*	*	Steinia muscorum KAHL			*
Grossglockneria acuta FOISSNER	*	*	*	Tachysoma hyalina BERGER, FOISSNER & ADAM	*	*	*
Halteria grandinella (MÜLLER)		*	*	Tetrahymena edaphoni FOISSNER			*
Hausmanniella discoidea (GELLERT)	*		*	Urosomoida agiliformis FOISSNER	*	*	*
Hemisincirra filiformis (FOISSNER)	*	*	*	Vorticella sp.		*	*
Hemisincirra gellerti (FOISSNER)	*	*	*				
Hemisincirra gracilis (FOISSNER)	*	*	*				
Hemisincirra inquieta HEMBERGER		*					
Hemisincirra interrupta (FOISSNER)		*	*				
Histiculus cavicola (KAHL)			*				
Histiculus muscorum (KAHL)		*					
Holosticha sp.	*	*					
Holosticha multistilata KAHL	*	*	*				
Holosticha muscorum (KAHL)		*					
Holosticha sigmoidea FOISSNER	*	*	*				
Homalogastra setosa KAHL		*	*				
				Gesamtartenzahl	41	61	60

Die Ähnlichkeit von Tierbeständen verschiedener Versuchsflächen lässt sich durch die Artenidentität (JACCARD-Index) ausdrücken. Der Index lag beim Vergleich U1DF/EF (68%) deutlich höher als beim Vergleich U1NF/EF (58%) oder U1NF/U1DF (59%). Die Individuenzahlen in den Kulturen waren extremen Schwankungen unterworfen. Sie bewegten sich in U1NF zwischen 596 Ind./g TM und 10 950 Ind./g TM, in U1DF zwischen 662 Ind./g TM und 19 318 Ind./g TM und in EF zwischen 412 Ind./g TM und 3416 Ind./g TM. Die Mittelwerte zu vergleichbaren Terminen betragen in U1NF 1110 Ind./g TM, in U1DF 2734 Ind./g TM und in EF 1924 Ind./g TM (Abb.4).

Die Kalk-Düngemaßnahmen führten in U1DF zu einer gravierenden Veränderung in der Dominanzstruktur. Besonders deutlich wurde dies innerhalb der Gattung Colpoda. Drei Arten aus dieser wichtigen Gruppe sollen hier näher betrachtet werden (Abb.5): In U1NF dominierte *C.inflata*, *C. cucullus* trat nur vereinzelt auf, *C.fastigata* fehlte. In U1DF und EF waren die Anteile dieser drei Arten untereinander sehr ausgeglichen, wobei *C.fastigata* die meisten Individuen stellte. *C.cucullus* war in EF stets häufiger als in U1DF.

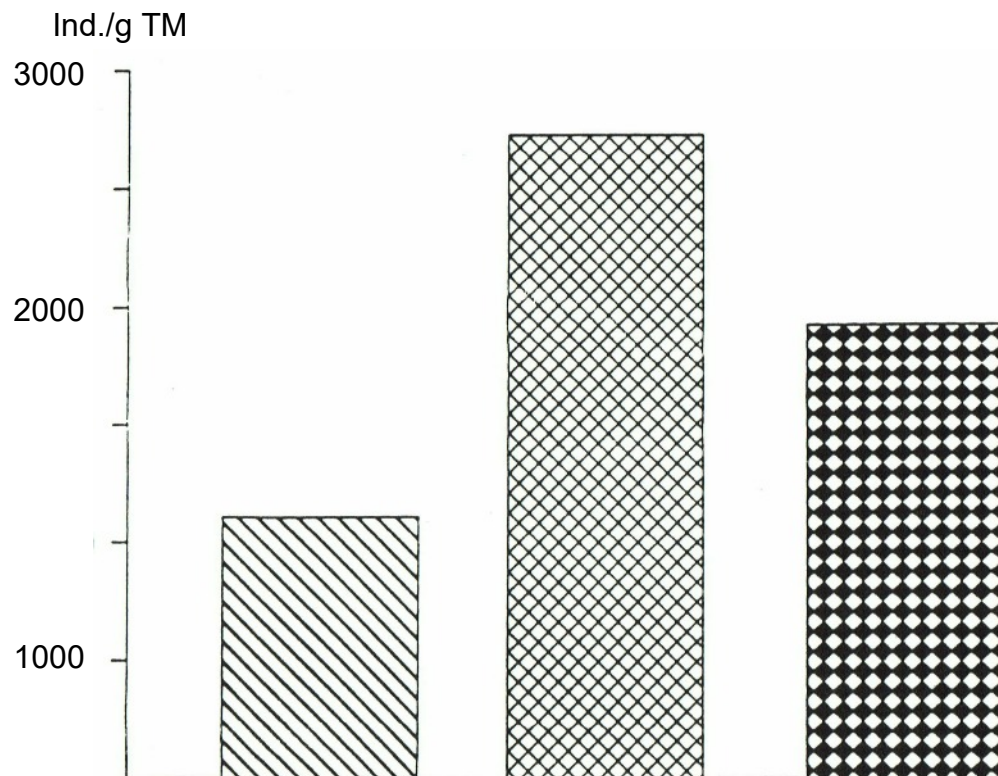


Abb. 4: Individuenzahlen in U1NF, U1DF und EF (Juni 1987 Januar 1989). Mittelwerte aus fünf Probenahmen

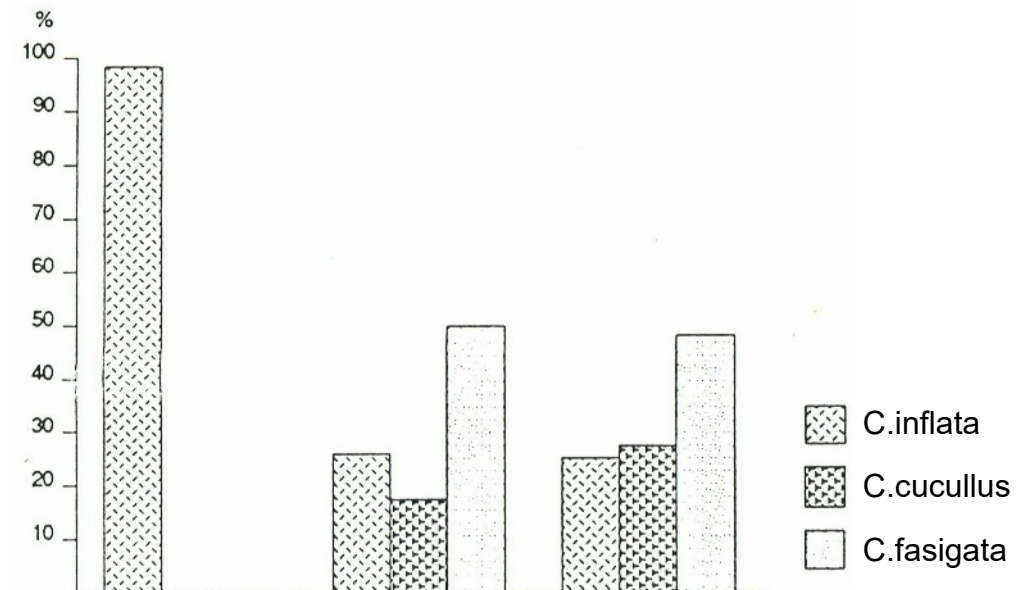


Abb. 5: Relative Abundanz von drei bedeutenden Colpoda- Arten in U1NF, U1DF und EF. Mittelwerte aus fünf Probenahmen

Neben *C.fastigata* erlangten noch etliche weitere Arten, die in U1NF fehlten, in U1DF quantitative Bedeutung, z.B. *Blepharisma hyalinum*, *Homalogastra setosa* und *Kahlilembus fusiformis*. Diese Arten sind charakteristisch für mäßig saure Böden. Die myzetophagen Spezies *Großglockneria acuta*, *Nivaliella plana* und *Pseudoplatyophrya nana* spielten in U1DF eine deutlich geringere Rolle als in U1NF und sind als typische Indikatoren für stark saure Böden anzusehen.

b) Kurzzeituntersuchung: Auf der gekalkten Kleinfläche KF stieg die Artenzahl nach der Behandlung an (Abb.6). Nach zwei Monaten war ein Maximum erreicht. Auch nach einem halben Jahr war die Artenzahl noch höher als auf der Vergleichsfläche NF. Düngung mit Kalkammonsalpeter führte in DF zu einem drastischen Artenrückgang, der erst nach drei Monaten wieder ausgeglichen war. Auch auf der Kleinfläche KDF (grafisch nicht dargestellt) war nach Kalkung eine Artenzunahme festzustellen. Die später erfolgte Düngung wirkte sich auf die Artenzahl weitaus weniger negativ aus als ohne vorhergehende Kalkung.

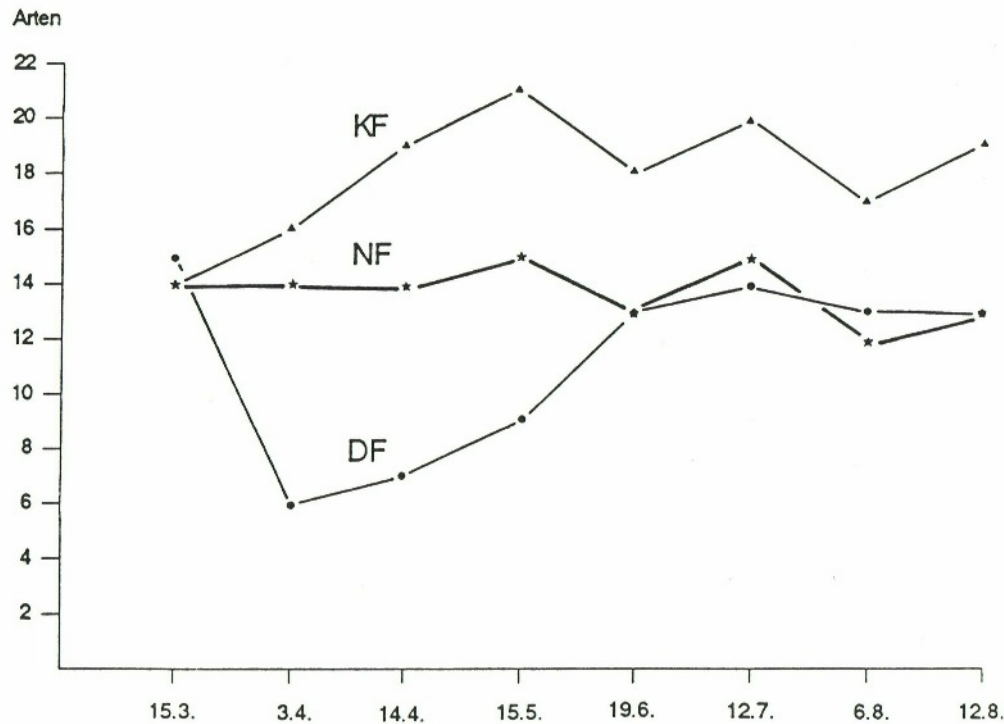


Abb. 6: Artenzahlen (BUITKAMP-Kulturmethode) bei der Kurzzeituntersuchung auf einer gekalkten Fläche KF, einer gedüngten Fläche DF und einer Vergleichsfläche NF. Untersuchungs-jahr 1985

c) Labortest: Sowohl Langzeit-, als auch Kurzzeituntersuchung zeigten, daß in einem stark sauren Boden durch Kalkung und langfristig auch durch Kalkdüngung die Zahl der nachweisbaren Ciliatenspezies deutlich anstieg. Offen blieb die Frage nach der Herkunft dieser "neuen" Arten. Im Labortest konnte gezeigt werden, daß im Boden von U1NF einige Arten latent - als Dauercysten - Vorkommen, die sich jedoch erst nach Erhöhung des pH-Wertes kultivieren lassen. In der Kontroll-Kultur wurden nur 36, in der gekalkten Petrischale 48 Spezies gefunden (Abb.7). Bei den zusätzlichen Arten aus der Kalkpetrischale handelte es sich um solche, die auch im Freiland nur auf weniger sauren Böden vorkamen. Da die Artenzahl im Labortest jedoch nicht bis auf U1DF-Niveau gesteigert werden konnte (vgl. Abb.8), kam die deutlich höhere Artenzahl in U1DF wahrscheinlich durch einen zusätzlichen Cysteneintrag aus umgebenden Laubwäldern zustande.

Deutlich negativ wirkte sich die Behandlung mit Kalkammonsalpeter aus: Die Artenzahl sank auf 25 ab. Dagegen hatte die kombinierte Kalk- und Mineraldüngergabe im Labortest auf die Gesamtartenzahl nahezu keinen Einfluß. Offensichtlich hielten sich unmittelbar nach der Behandlung die positive Wirkung des Kalks und der "Düngeschock" gerade die Waage.

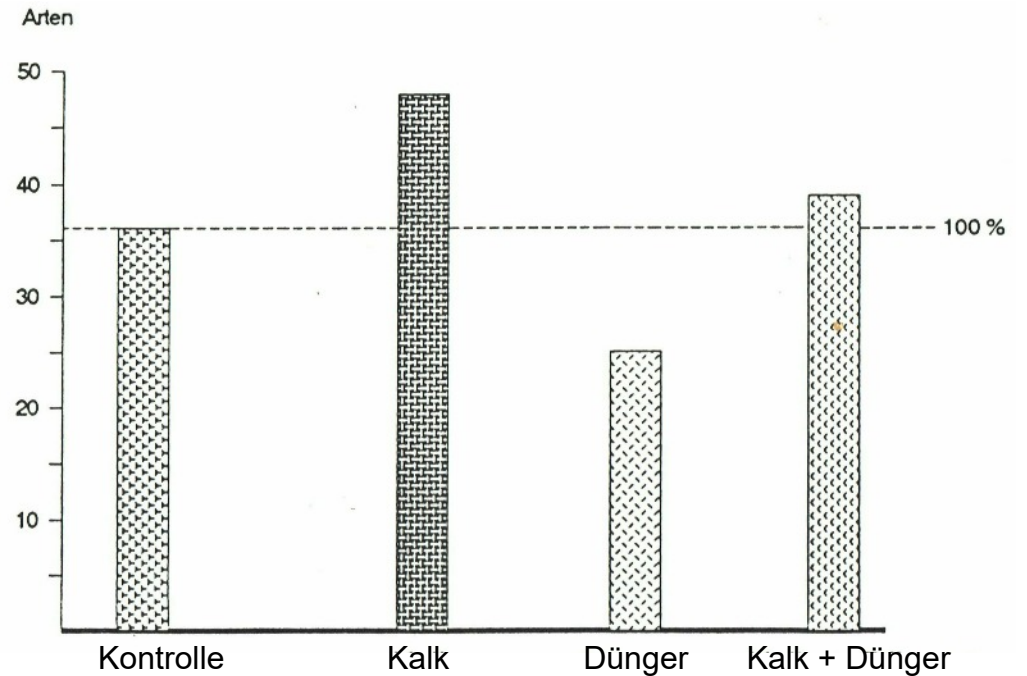


Abb. 7: Artenzahlen nach unterschiedlicher Substanzgabe im Labortest (Substrat U1NF Januar 1989)

Einschneidende Veränderungen in der Dominanzstruktur hatte vor allem Kalkung sowie Kalkung und zusätzliche Düngung zur Folge. In beiden Fällen war es vor allem die bakterivore *Colpoda fastigata*, die sich "explosionsartig" vermehrte (Tab.3). In der Kontrolle und in der gedüngten Petrischale fehlte diese Art während der gesamten Kulturdauer, in einer Kultur mit erhöhtem pH-Wert konnte sie schon nach 10 Stunden nachgewiesen werden. In der gekalkten Schale war *C.fastigata* zwischen dem 4. und dem 6. Tag die individuenstärkste Art. In der gekalkten und zusätzlich gedüngten Kultur war *C.fastigata* am 4., 6. und 7. Tag häufiger als alle anderen Arten zusammen.

Deutlich negativ wirkte sich die Erhöhung des pH-Wertes auf die myzetophagen Spezies aus. Tab.4 zeigt dies am Beispiel von *Großglockneria acuta*. Kontrolle und gedüngte Petrischale wiesen in den ersten drei bzw. vier Tagen hohe Individuenzahlen von *G. acuta* auf. In den Schalen mit erhöhtem pH-Wert wurden nur wenige Tiere dieser Art gefunden.

Tab. 3: Relative Häufigkeit von *Colpoda fastigata* nach unterschiedlichen Substanzgaben im Labortest (Substrat U1NF Januar 1989)

	Kontrolle	Kalk	Dünger	Kalk + Dünger
10 h	-	-	-	I
1 d	-	-	-	I
2	-	II	-	IV
3	-	II	-	II
4	-	V	-	V
5	-	V	-	I
6	-	IV	-	IV
7	-	II	-	V
8	-	-	-	I
9	-	I	-	I
10	-	-	-	-
11	-	I	-	I
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	-	I	-	-
20	-	II	-	-
30	-	I	-	-

Tab. 4: Relative Häufigkeit von *Großglockneria acuta* nach unterschiedlichen Substanzgaben im Labortest (Substrat U1NF Januar 1989)

	Kontrolle	Kalk	Dünger	Kalk + Dünger
10 h	-	-	-	-
1 d	II	II	I	I
2	II	I	I	-
3	IV	0	II	I
4	II	0	IV	I
5	I	0	I	I
6	I	0	I	-
7	I	-	-	-
8	-	-	I	-
9	-	-	-	-
10	-	-	I	-
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	-	-	-	-
20	-	-	-	-
30	-	-	-	-

Dramatisch zurückgegangen sind die Artenzahlen nach Säurebehandlung in U1DF und EF (Abb.8). Salpetersäure führte, bei gleicher pH-Absenkung, zu einem stärkeren Rückgang der Artenzahlen als Schwefelsäure. Besonders deutlich kommt die negative Wirkung der Säuren auch in den Sukzessionskurven der Kulturen (Abb.9) zum Ausdruck.

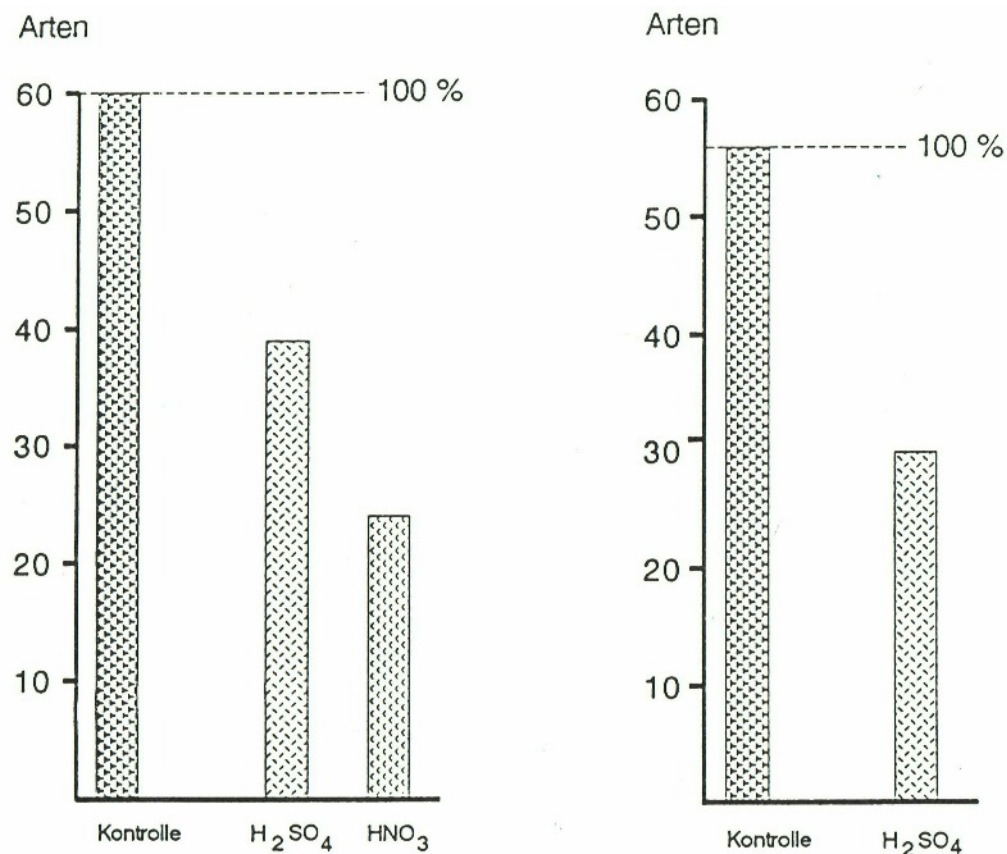


Abb. 8: Artenzahlen in unbehandelten und säurebehandelten Kulturen Substrat U1DF (links) und EF (rechts)

Aus dem Vergleich von Abb. 7/8 mit den Abb. 3 und 6 wird deutlich: Die geringsten Artenzahlen ergab die BUITKAMP-Kulturmethode, bei der nur 3g Substrat verwendet wurden. Deutlich höhere Werte ergab die Petrischalen-Kulturmethode mit 50g und Auszählung nach 3, 6, 10 und 20 Tagen. Nahezu vollständig wurde das gesamte Artenspektrum mit der Petrischalen-Kulturmethode erfaßt, wenn diese Kultur 14 Tage lang täglich und nach 20 und 30 Tagen ausgezählt wurde. Mit allen drei Varianten ließen sich Veränderungen in den Waldböden feststellen.

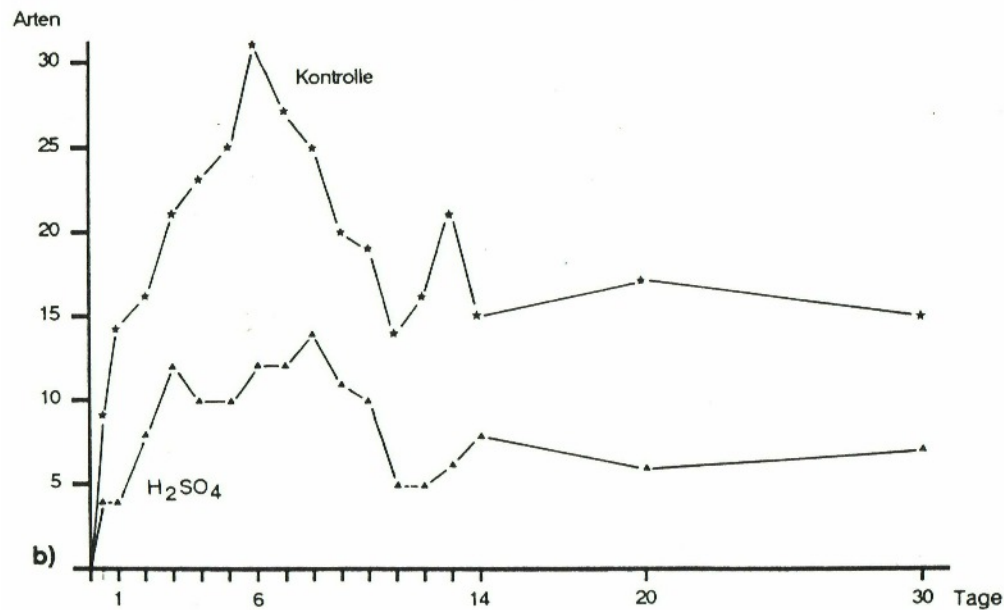
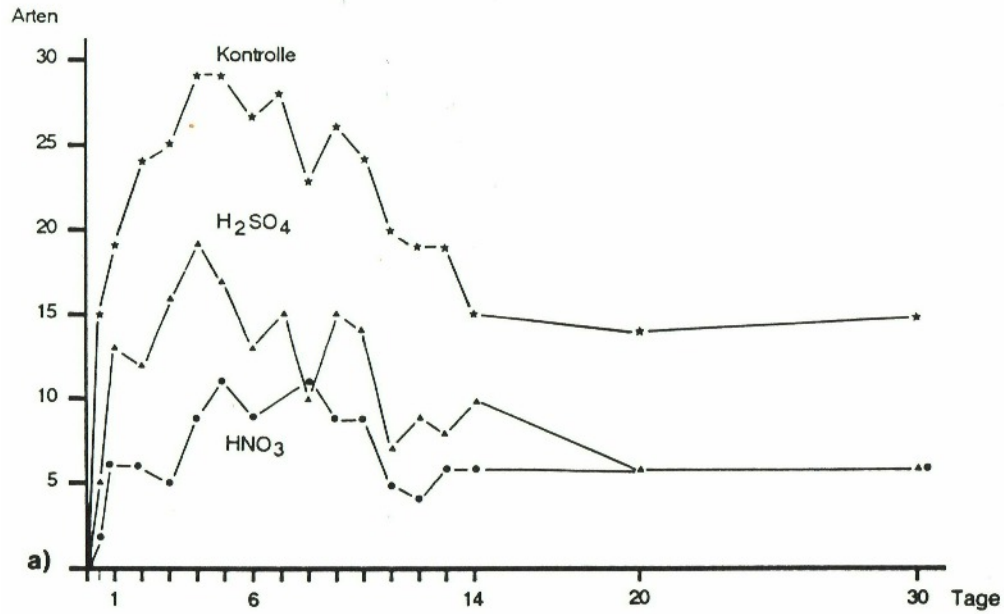


Abb. 9: Verlauf der Artenzahlen in unbehandelten und säurebehandelten Kulturen. Substrat U1DF (a) und EF (b)

Auch die Säurebehandlungen hatten eine gravierende Veränderung im Dominanzgefüge zur Folge. Vor allem die Individuenzahlen zahlreicher Bakterivoren gingen stark zurück. In EF (Abb.10) wurden nach H_2SO_4 -Behandlung z. B. von *Colpoda fastigata* deutlich weniger Tiere gefunden, *Halteria grandinella* fehlte völlig. Stark zugenommen haben dagegen z.B. *Pseudoplatyophrya nana* und *Nivaliella plana*.

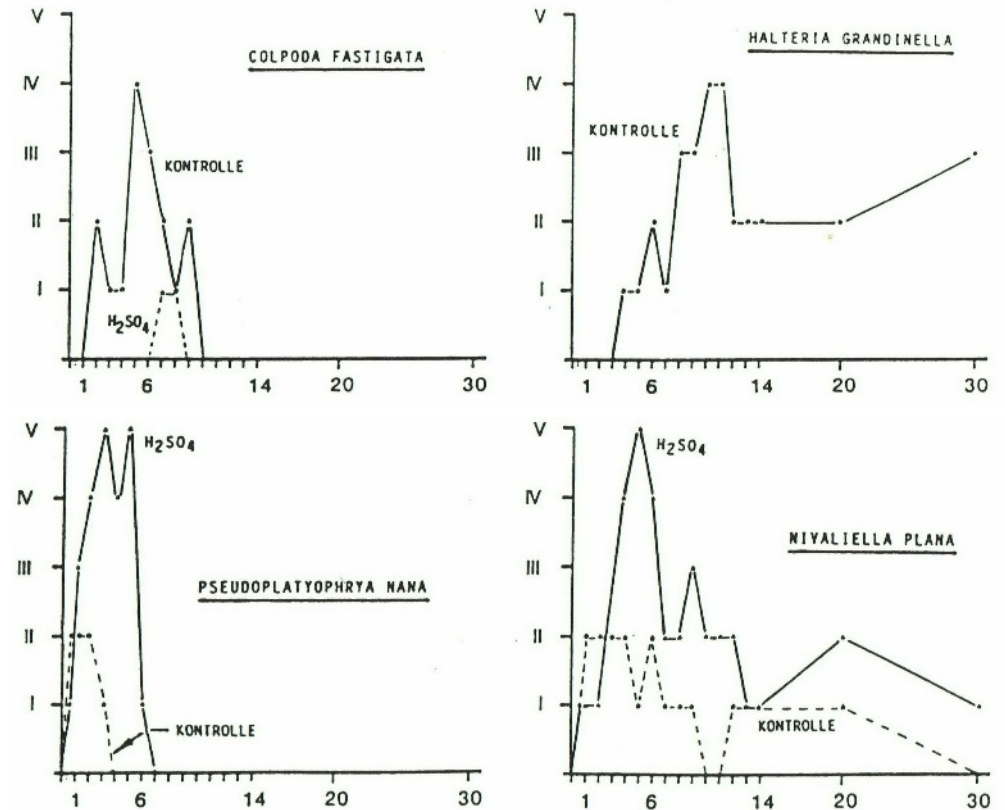


Abb. 10: Relative Häufigkeit der bakterivoren Arten *Colpoda fastigata* und *Halteria grandinella* (oben) und der myzetophagen Spezies *Pseudoplatyophrya nana* und *Nivaliella plana* (unten) im Vergleich Kontrolle/ H_2SO_4 im Labortest. Substrat: EF. Abszisse: Kulturdauer (Tage); Ordinate: Häufigkeitsstufen

Ähnlich wie in EF lagen die Verhältnisse nach Säurezugabe in U1DF. Beispielhaft werden erwähnt *Colpoda fastigata* und *Kahlilembus fusiformis* (Tab.5a) als Vertreter bakterivorer Arten,- die sowohl nach Schwefelsäure-, als auch nach Salpetersäurezugabe stark zurückgingen. Die pilzfressenden Arten, z. B. *Großglockneria acuta* und *Pseudoplatyophrya nana* wurden durch Säurebehandlung gefördert (Tab.5b).

Tab. 5: Relative Häufigkeit von *C.fastigata* und *K.fusiformis* a) und *G.acuta* und *P.nana* b) im Vergleich Kontrolle/ H_2SO_4 / HNO_3 . (Substrat U1DF Januar 1989)

a)	Colpoda fastigata			Kahlilembus fusiformis		
	Kontrolle	H_2SO_4	HNO_3	Kontrolle	H_2SO_4	HNO_3
10 h	I	-	-	-	-	-
1 d	II	I	-	-	-	-
2	III	-	-	-	-	-
3	V	I	-	I	-	-
4	III	I	-	III	I	-
5	V	-	-	III	-	-
6	I	-	-	II	-	-
7	-	-	-	IV	I	-
8	I	-	-	III	I	-
9	-	I	-	II	I	-
10	-	-	-	I	-	-
11	-	-	-	I	II	-
12	-	-	-	III	-	-
13	-	-	-	III	-	-
14	-	-	-	IV	I	-
20	I	-	-	III	II	I
30	-	-	-	II	I	I

b)	Großglockneria acuta			Pseudoplatyophrya nana		
	Kontrolle	H_2SO_4	HNO_3	Kontrolle	H_2SO_4	HNO_3
10 h	-	-	-	I	II	III
1 d	-	I	-	III	III	III
2	I	IV	III	II	V	V
3	II	III	II	I	-	V
4	I	I	IV	-	-	III
5	I	-	II	-	I	V
6	-	-	II	I	-	V
7	-	-	I	-	-	I
8	-	-	I	-	-	I
9	-	-	-	I	-	-
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-

V. Schlußfolgerungen

Die vorliegenden Untersuchungen haben eindeutig gezeigt, daß mit Ciliatenkulturen Veränderungen im Boden schnell und zuverlässig erkannt werden können. Die hohe Empfindlichkeit dieser weichhäutigen Tiere gegenüber pH-Differenzen einerseits, ihre leichte Kultivierbarkeit andererseits, macht die Bodenciliaten zu einem hervorragenden Testsystem für den Schadstoffeintrag in die Umwelt. Als wesentliche Ursache des Waldsterbens, das vor allem in Mittel- und Osteuropa sowie in Nordamerika alarmierende Ausmaße angenommen hat, werden die Luftschadstoffe angesehen. Säurebildende Immissionen, wie Stickoxide und Schwefeldioxid stellen eine wesentliche Komponente des Ursachenkomplexes für die neuartigen Waldschäden dar. Die Ciliatengemeinschaften reagieren auf solche Säureeinwirkungen mit einem starken Artenrückgang. Ebenso nimmt die Häufigkeit zahlreicher bakterivorer Arten drastisch ab, die wenigen typischen myzetophagen Spezies nehmen zu. WILHELMI (1988) beobachtete infolge sauren Regens eine Hemmung der mikrobiologischen Aktivität. Er vermutet aber auch äußerst säureresistente Mikroorganismen im Waldhumus, da selbst pH-Werte bis 1,5 nicht zu einer völligen Einstellung der Stoffwechselfvorgänge, sondern nur zu einer extremen Reduzierung führen. Azidophile Arten stellen innerhalb der Ciliaten insbesondere die Pilzfresser der Familie Großglockneridae dar.

Diejenigen Ciliatenspezies, die sich in säuregeschädigten Böden nicht mehr kultivieren lassen, können trotzdem noch - in Dauercysten - am Leben sein. Eine Erhöhung des pH-Wertes durch Kompensationskalkungen aktiviert dieses latente Artenpotential wieder und führt gleichzeitig zu einer Steigerung der Teilungsrate bei zahlreichen bakterivoren Arten und zu einer Zunahme der Gesamtindividuenzahlen. WANNER (1989) beobachtete auch bei einigen Thekamöben nach Kalkung einen starken Anstieg der Abundanz. Kurzfristig stark zugenommen haben die Regenwürmer nach Kalk- und Mineraldüngergaben (HERLITZIUS et al. 1986). Eine Zunahme der bakterivoren und eine Abnahme der myzetophagen Nematoden stellte RATAJCZAK (1989) in U1DF fest. Die Kalkdüngemaßnahmen führten jedoch bei einigen Tiergruppen, die maßgeblich an den Zersetzungsprozessen im Boden beteiligt sind, auch zu negativen Effekten (FUNKE & JANS 1989). Die Larven einiger Dipteregruppen, die Staphyliniden und vor allem die Enchytraeiden (JANS & FUNKE, im Druck) gingen nach Kalk- und Mineraldüngergaben stark zurück, so daß eine endgültige Wertung von Bodenbehandlungsmaßnahmen zur Zeit noch nicht in vollem Umfang möglich ist.

VI. Zusammenfassung

Es wurden die Ciliatengemeinschaften eines stark sauren Fichtenforstes (U1NF; pH 3,1), eines mit Kalk und Kalkammonsalpeter behandelten Fichtenbestandes (U1DF; pH 4,4) sowie eines Buchenbestandes (EF; pH 4,3) im Raum Ulm in einer Langzeitstudie untersucht. Kalkdüngung führte in U1DF langfristig (mindestens fünf Jahre) zu einem erhöhten pH-Wert, der ungefähr in gleicher Höhe wie in EF lag. Insgesamt wurden 72 Arten nachgewiesen, die meisten in U1DF (61) und EF (60). Deutlich geringer war die Artenzahl in U1NF (41). Auch die Individuenzahlen lagen in EF und U1DF durchschnittlich höher als in U1NF. Von Vertretern der Gattung Colpoda war in U1NF allein *C.inflata* eudominant, in U1DF und EF waren *C.inflata*, *C.cucullus* und *C.fastigata* häufig.

In einer Kurzzeituntersuchung wurde nach Kalkung und nach Kalkung und zusätzlicher Düngung die Artenzahl in einem sauren Fichtenbestand erhöht und beidesmal mindestens ein halbes Jahr auf erhöhtem Niveau stabilisiert. Nach alleiniger Kalkammonsalpeterdüngung ging die Artenzahl deutlich zurück, bis sie nach drei Monaten wieder Normalwerte erreicht hatte.

In einem Labortest wurde nach direkter Substanzgabe in die Petrischalen-Kultur in U1NF eine Erhöhung der Artenzahl nach Kalkung, eine Erniedrigung nach Kalkammonsalpeterdüngung festgestellt. Die Dominanzstruktur veränderte sich nach Kalkung sowie nach Kalkung und zusätzlicher Düngung. Vor allem *Colpoda fastigata* nahm stark zu.

In U1DF und EF führte Schwefelsäure bzw. Salpetersäure im Labortest zu einer Abnahme der Artenzahl und zu einer Verschiebung im Dominanzgefüge. Die Individuenzahlen zahlreicher bakterivorer Arten gingen dabei zurück. Myzetophage Arten sind extrem säuretolerant und werden durch die pH-Absenkung in ihrer Entwicklung gefördert.

Es wurde deutlich, daß nur Untersuchungen auf Artbasis konkrete Aussagen über den Einfluß von Substanzgaben zulassen. Sogar nah verwandte Arten reagieren ganz unterschiedlich - teilweise sogar gegensätzlich (*Colpoda fastigata*/*Colpoda inflata*) - auf Veränderungen im Boden. *Colpoda fastigata*, *Colpoda cucullus*, *Blepharisma hyalinum*, *Halteria grandinella*, *Homalogastra setosa* und *Kahlilembus fusiformis* sind Beispiele für Zeigerorganismen in mäßig sauren bis neutralen Böden. *Großglockneria acuta*, *Nivaliella plana* und *Pseudoplatyophrya nana* sind Indikatoren für stark saure Böden.

Dank

Herrn Prof. Dr. W. Funke danke ich ganz herzlich für Themenstellung und für wertvolle Impulse während der Arbeit.
Herrn Dipl. Ing. (FH) M. Petershagen danke ich für technische Hilfestellungen

VII. Literatur

- Arndt, U., Nobel, W., Schweizer, B. (1987). Bioindikatoren - Möglichkeiten, Grenzen und neue Erkenntnisse. Ulmer, Stuttgart.
- Berger, H. & Foissner, W. (1987). Morphology and biometry of some soil hypotrichs (Protozoa: Ciliophora). *Zool. Jb. Syst.*, 114:193-239.
- Berger, H., Foissner, W. & Adam, H. (1984). Taxonomie, Biometrie und Morphogenese einiger terricoler Ciliaten (Protozoa: Ciliophora). *Zool. Jb. Syst.*, 111:339-367.
- Bick, H. (1972). Ciliated Protozoa: An Illustrated Guide to the Species Used as Biological Indicators in Freshwater Biology. World Health Organization, Geneva.
- Bodian, D. (1936). A new method for staining nerve fibers and nerve endings in mounted paraffin sections. *Anat. Rec.*, 65:89.
- Bodian, D. (1937). The staining of paraffin sections of nervous tissues with activated protargol. The role of fixatives. *Anat. Rec.*, 69: 153-162.
- Brunberg-Nielsen, L. (1968). Investigations on the microfauna of leaf litter in a Danish beech forest. *Natura jutl.*, 14:79-87.
- Buitkamp, U. (1977). Über die Ciliatenfauna zweier mitteleuropäischer Bodenstandorte (Protozoa: Ciliata). *Decheniana (Bonn)*, 130:114-126.
- Buitkamp, U. (1979). Vergleichende Untersuchungen zur Temperaturadaptation von Bodenciliaten aus klimatisch verschiedenen Regionen. *Pedobiologia*, 19:221-236.
- Buitkamp, U. & Wilbert, N. (1974). Morphologie und Taxonomie einiger Ciliaten eines kanadischen Präriebodens. *Acta Protozool.*, 13:201-210.
- Dragesco, J. (1962). L'Orientation actuelle de la systematique des cilies et la technique d'impregnation au proteinate d'argent. *Bull. Micr. Appl.*, 11(2):49-58.
- Dragesco, J. & Dragesco-Kerneis, A. (1979). Cilies muscicoles nouveaux ou peu connus. *Acta Protozool.*, 18:401-416.
- Foissner, W. (1982). Ökologie und Taxonomie der Hypotrichida (Protozoa: Ciliophora) einiger österreichischer Böden. *Arch. Protistenkd.*, 126: 19-143.
- Foissner, W. (1987a). Soil Protozoa: Fundamental Problems, Ecological Significance, Adaptations in Ciliates and Testaceans, Bioindicators, and Guide to the Literature. *Progress in Protistology*, 2:69-212.

- Foissner, W. (1987b). Neue und wenig bekannte hypotriche und colpodide Ciliaten (Protozoa:Ciliophora) aus Böden und Moosen. Zool.Beitr. N.F.,31(2):187-282.
- Funke, W. (1985). Struktur und Funktion von Waldökosystemen - Untersuchungen an Evertebraten-Zönosen. Projekt Europäisches Forschungszentrum für Maßnahmen zur Luftreinhaltung (PEF), 1. Statuskolloquium, Kernforschungszentrum Karlsruhe.2:237 -255.
- Funke, W. & Jans, W.(1989). Kurz- und Langzeiteffekte von Kalk- und Mineraldüngergaben auf die Bodenfauna in Fichtenforsten. KfK-PEF; IMA- Querschnittseminar -"Düngung geschädigter Waldbestände"- Bayreuth (im Druck).
- Funke, W., Jans, W., Kühner, M., Lehle, E., Ratajczak, L., Schreiber, R., Stumpp, J., Vogel, J., Wanner, M. Bodentiere als sensitive Indikatoren in Laub- und Nadelwäldern. KfK-PEF 1989 (im Druck).
- Geliert, J. (1957). Ciliatenfauna im Humus einiger ungarischer Laubund Nadelholzwälder. Annls.Inst.biol.Tihany,24:11-34.
- Groliere, C.A. & Couteaux, M.-M. (1984). Morphologie et infraciliature de *Kahlilembus fusiformis* (Kahl, 1926) gen. nov., scuticocilie de sol. Acta Protozool.,23:77-83.
- Hemberger, H. (1985). Neue Gattungen und Arten hypotricher Ciliaten. Arch. Protistenkd.,130:397-417.
- Herlitzius, H., Bernhard, M., Borin, A., Funke, W., Jans, W. (1986). Streuabbau und Streuzersetzer in Waldökosystemen. KfK-PEF 4(1),355-357.
- Jans, W. & Funke, W. Die Enchyträen (Oligochaeta) von Laub- und Nadelwäldern Süddeutschlands und ihre Reaktion auf substantielle Einflüsse. Verh.Ges.Ökol.,Essen 1988 (im Druck).
- Kahl, A. (1930-35). Wimpertiere oder Ciliata. In: Die Tierwelt Deutschlands, (ed.Dahl,F.),G.Fischer,Jena.
- Kirby, H. (1950). Materials and methods in the study of Protozoa. Univ. Calif.Press,Berkeley.
- Lee, J.J., Hutner, S.H. fi Bovee, E.C., eds. (1985). An Illustrated Guide to the Protozoa. Society of Protozoologists. Allen Press.- Lawrence, Kansas.
- Lehle, E. (1986). Die Ciliatengesellschaften von Fichtenforsten im Raum Ulm/Ochsenhausen (Baden-Württemberg). Diplomarbeit,Ulm.
- Lehle, E. & Funke, W. Zur Mikrofauna von Waldböden. II. Ciliata (Protozoa: Ciliophora). Verh.Ges.Ökol.,Göttingen 1987 (im Druck).
- Petz, W., Wirnsberger, E. S Foissner, W. (1988). Die Kleintiere in den Fichtenwaldböden des Oberen Mühlviertels. Leicht zu übersehen, aber sehr wichtig. In: Land Oberösterreich (Hgb): Das Mühlviertel. Natur, Kultur, Leben (Beiträge), pp.77-88 + Farbtafel 8. Wimmer-Druck, Linz.
- Ratajczak, L. (1989). Die Nematodenfauna eines Fichtenforstes. Diplomarbeit ,Ulm.
- Romeis, B. (1968). Mikroskopische Technik. Oldenbourg, München.
- Stumpp, J., Bernhard, M., Funke, W., Höfer, H., Jans, W., Lehle, E., Roth-Holzappel, M., Schmitt, G., Vogel, J., Wanner, M. (1986). Bodentiere im Fichtenforst - sensitive Indikatoren tiefgreifender Veränderungen in Waldökosystemen. Verh.Dtsch.Zool.Ges.,79:403.
- Tuffrau, M. (1964). Perfectionnements et pratique de la technique d' impregnation au protargol des infusoires cilies. Protistologica, 3(1):91-98.
- Uhlig, G. (1968). Methoden der Meeresbiologischen Forschung. Hrg. Dr. C. Schlieper, VEB Gustav Fischer Verlag,Jena.
- Varga, L. (1959). Untersuchungen über die Mikrofauna der Waldstreu einiger Waldtypen im Bükkgebirge (Ungarn). Acta.Zool.Hung.,4: 443-478.
- Wanner, M. (1989). Zur Morphologie und Ökologie von Thekamöben (Protozoa: Rh izopoda) in süddeutschen Wäldern. Dissertation,Ulm.
- Wenzel, F. (1953). Die Ciliaten der Moosrasen trockener Standorte. Arch.Protistenkd.,99:70-141.
- Wilbert, N. (1975). Eine verbesserte Technik der Protargolimprägation für Ciliaten. Mikrokosmos.6:171-179.
- Wilhelmi, V. (1988). Belastbarkeit und Steuerung von Versauerungsschüben - Biologisch-chemische Untersuchungen von Fichtenhumus unter Düngungseinfluß. AFZ.,29:815-816.
- Wirth, V. (1976). Über den Einfluß von SO₂ auf die Flechtenvegetation in urbanen Räumen und die Indikation der SO₂-Belastung durch Flechten. In: Schriftenreihe für Vegetationskunde, Bad Godesberg 10:203.