

# Eine einfache Methode zur Extraktion der vagilen, mesopsammalen Mikrofauna<sup>1</sup>

GOTRAM UHLIG

*Biologische Anstalt Helgoland, Meeresstation, Helgoland*

**ABSTRACT:** A simple method for the extraction of the vagile, mesopsammal microfauna. The methods used up to now for separating the mesopsammal (interstitial) microfauna from its substrate are both cumbersome and time-consuming and can hardly be considered quantitative. A new, relatively fast extraction method is introduced, which makes it possible to collect and transfer the microfauna from different sediment types – providing they have a capillary structure – uninjured and soil-free into a culture dish. The extraction is effected via a steep temperature gradient built up in the substratum through the addition of ice from above. The mesopsammal microfauna flees from the downward moving temperature gradient and finally emerges into the culture dish below, where it can be readily collected. The efficiency of the new method seems quite high, especially for the smallest forms, such as flagellates and ciliates, of which almost 100% are driven out. It is hoped to increase both the efficiency and the group specificity of the method by employing additional environmental gradients.

## EINLEITUNG

Durch die Entdeckung der von REMANE (1933) als Mesopsammon bezeichneten Fauna des Sandlückensystems wurde der marinbiologischen Forschung ein nahezu unerschöpfliches, neues Arbeitsfeld eröffnet. Die zahlreichen, in den vergangenen 30 Jahren angestellten Untersuchungen über diesen Biotop erbrachten eine Fülle neuer Ergebnisse und Gesichtspunkte. Verglichen mit der Vielfalt noch offenstehender Probleme nehmen sich allerdings unsere bisherigen Kenntnisse und Erfahrungen recht bescheiden aus. Die bisher angewandten Methoden ermöglichen es kaum, die Infauna größerer, mesopsammaler Areale in ihrer Gesamtheit qualitativ, noch viel weniger quantitativ zu erfassen. In besonderem Maße gilt dies für die kleinsten Vertreter des Sandlückensystems, etwa die Protozoen (Flagellaten, Ciliaten). Gerade diese Kleinstformen dürften auf Grund ihres mitunter massenhaften Auftretens ein nicht zu unterschätzendes Glied im benthalen Ökosystem bilden.

Gemessen an der Subtilität der Sandlückenfauna sind die bisher angewandten Trennungsmethoden mehr oder weniger unbefriedigend und roh: ausschütteln und dekantieren, sieben, versetzen mit Betäubungsmitteln etc. Unsere Kenntnisse von der gesamten Biomasse eines definierten Sandareals sind sehr unvollkommen, zumal die

---

<sup>1</sup> Herrn Professor Dr. ADOLF BÜCKMANN zum 65. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

Kleinstformen methodisch nicht erfaßt oder vernachlässigt wurden. Naturgemäß sind quantitative Untersuchungen durch direkte Auszählung kleinster Sandmengen zwangsläufig mit erheblichen, subjektiven Fehlern belastet, die einen Vergleich kaum erlauben und nur selten reproduzierbar sind.

Die Forderung nach einer, diese Schwierigkeiten in Rechnung stellenden Extraktionsmethode ist relevant. Es wurde angestrebt, eine möglichst physiologisch wirksame Methode zu entwickeln – vergleichbar dem bekannten BERLESE-Trichter, der sich schon seit Jahrzehnten bei terrestrischen Untersuchungen gut bewährt hat. Das im folgenden beschriebene Prinzip dürfte einen günstigen Weg aufzeigen. Die Entwicklung der Methode ist noch keineswegs abgeschlossen. Dank der bisher erzielten Erfolge scheint mir jedoch eine vorläufige Mitteilung gerechtfertigt zu sein.

### BESCHREIBUNG DER METHODE

Die Extraktion der Sandlückenfauna aus beliebigen fein-, mittel- oder grobsandigen Böden (auch vom Supralitoral) beruht auf der künstlichen Erzeugung eines Faktorengefälles. Nach Ermittlung und Anwendung weiterer biologisch wirksamer Gradienten dürfte die Extraktion auch speziellen Ansprüchen genügen.

#### *Aufbau des Extraktionsfilters*

Das Ende eines 10 cm langen Trovidur-Rohres (Abb. 1, T), Innendurchmesser 45 mm, ist mit einer, der durchschnittlichen Sediment-Korngröße entsprechenden, Nylongaze („Nytal“) abgeschlossen. Für einen straffen Sitz der Nylongaze (N) sorgt ein gut angepaßter Trovidur-Überwurfring (Tr), der sich durch Wärmedehnung aus der gleichen Rohrstärke leicht herstellen läßt. Das so gefertigte Filterrohr wird in eine Halterung (DB) eingesetzt, die eine sanfte und gleichmäßige (keinesfalls ruckartige) Auf- und Abwärtsbewegung des Rohres gewährleistet. In den meisten Fällen (nicht an Bord eines Schiffes) genügt hierfür die Aufhängung mit Faden, der gleichmäßig auf- oder abgerollt werden kann; notfalls sind auch Stativ-Klemmen geeignet. Zum Auffangen der Mikrofauna bewährten sich hohe Kulturschalen oder Abdampfschalen (Durchmesser: 95 mm, Höhe: 50 mm).

#### *Ausführung einer Extraktion*

Zunächst muß im Eisschrank eine ausreichende Anzahl Eiswürfel aus filtriertem Seewasser bereitstehen. Ein etwa 25 cm<sup>3</sup> Sediment fassendes Gefäß wird dann mit dem zu untersuchenden Sediment aufgefüllt und die überstehende Flüssigkeit vorsichtig dekantiert. Das Sediment wird in das bereitstehende Filterrohr gegeben, wobei darauf zu achten ist, daß das Sediment möglichst direkt auf die Gaze fällt, ohne die Rohrwandung zu berühren. Die weiteren Arbeitsgänge müssen möglichst rasch durchgeführt werden, um ein Abtropfen vom Filter zu vermeiden.

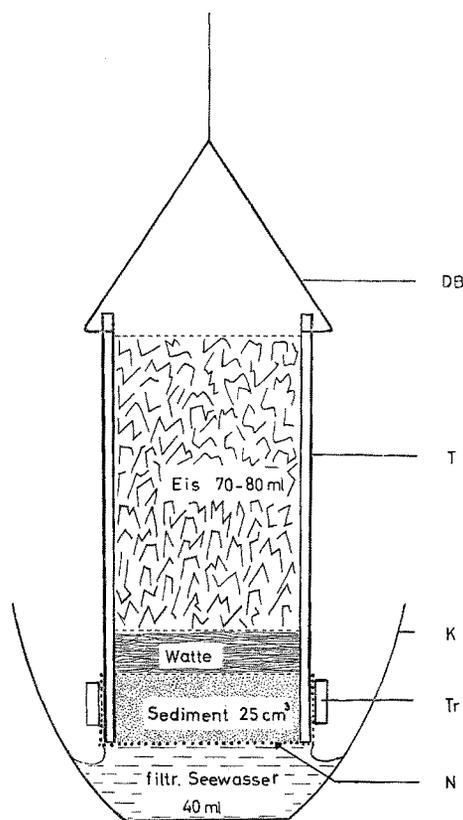


Abb. 1: Aufbau des Extraktionsfilters im Längsschnitt (annähernd maßstabsgerecht). DB: Drahtbügel mit Faden zur Aufhängung, K: Kulturschale, N: Nylongaze, T: Trovidurrohr, Tr: Trovidur-Überwurf

Das mit einem Spatel gleichmäßig auf der Gaze verteilte Sediment wird mit einer etwa 1 cm dicken Watteschicht abgedeckt und das Filterrohr in die Halterung eingesetzt. Eine saubere Kulturschale wird mit 40 ml filtriertem Seewasser (etwa 20°C) gefüllt und möglichst median unter das Filterrohr gestellt. In einem Mörser zerstößt man einige Seewasser-Eiswürfel (70–80 ml) und füllt das Filterrohr bis zum Rand mit dem Eisbrei auf. Nun taucht man das Rohr relativ schnell und gleichmäßig bis auf den Grund der mit Seewasser gefüllten Kulturschale ein. Nach etwa 15 Sekunden (Feinsediment etwas länger, Grobsediment kürzer) ist das Seewasser durch das Kapillarsystem des Sedimentes aufgestiegen und hat die Watte durchtränkt. Gleichzeitig werden durch das schnelle Eintauchen kleinste Sedimentpartikel hochgewirbelt und eine eventuelle Verschmutzung der Kulturschale auf ein Mindestmaß beschränkt. Man zieht nun das Rohr langsam aber kontinuierlich wieder hoch, bis die Nylongaze gerade noch mit der Wasseroberfläche in Kontakt bleibt. Da wegen der einsetzenden Eisschmelze der Wasserstand in der Kulturschale allmählich ansteigt, muß das Filterrohr von Zeit zu Zeit (etwa in 5-Minuten-Intervallen) auf das entsprechende Niveau angehoben werden. Um einerseits eine zu starke Abkühlung des Seewassers in der

Kulturschale zu vermeiden, andererseits den Wasserstand nicht übermäßig zu erhöhen, empfiehlt es sich, nach 15 bis 20 Minuten einen Schalenwechsel vorzunehmen. Dabei wird das Rohr kurz hochgezogen, eine neue Schale mit 40 ml Seewasser untergestellt und sogleich wieder der Kontakt mit der Wasseroberfläche hergestellt; ein völliges Eintauchen, wie zu Beginn, ist nicht erforderlich.

Damit ein gleichmäßiges Abtauen des Eises gewährleistet ist, sollte nach jeweils 30 Minuten vorsichtig etwas neuer Eisbrei aufgefüllt werden (mindestens nach 1 Stunde Laufzeit). Bei einer Zimmertemperatur von 20° bis 21° C durchlaufen in einer Stunde ungefähr 36 ml Eiswasser das Filterrohr (bei einem Schalenwechsel von 20 Minuten also 12 ml pro Schale). In der Kulturschale fällt dann die Temperatur um knapp 5° C ab. Die nach 20 Minuten gegebenen 52 ml Seewasser erlauben gerade noch unter dem Präpariermikroskop ein sorgfältiges Absuchen auch der Schalenwandung.

#### VORLÄUFIGE ERGEBNISSE

Die bisher an sehr verschiedenartigen Sedimenten durchgeführten Extraktionen ergaben immer wieder eine überraschend hohe Ausbeute an mesopsammaler Fauna. Es kann kein Zweifel daran bestehen, daß die vagile Mikrofauna nahezu quantitativ das Substrat verläßt und auf den Boden der Kulturschale absinkt. Die Maschenweite der Nylongaze wirkt naturgemäß als begrenzender Faktor. Dennoch kann man immer wieder beobachten, daß sich auch größere Tiere der flexibleren Formen (Polychaeten, Archianneliden, *Halammohydra* etc.) durch die Maschen hindurchzwängen. Zur Zeit ist es schwer, eine eindeutige Erklärung für das eigentümliche Verhalten der Sandlückenfauna im Filterrohr zu geben. Fest steht, daß die Tiere einmal dem durch die Eisschmelze gegebenen Temperaturgradienten ausweichen, zum anderen der – wenn auch schwachen – kapillaren Strömung von oben nach unten folgen. Auch ohne Eis läßt sich in der beschriebenen Weise durch tropfenweise Zugabe von Seewasser auf das Sediment ein gewisser Prozentsatz extrahieren. Annähernd quantitativ ist die Ausbeute allerdings nur unter Einwirkung eines langsam von oben nach unten wandernden Temperaturgefälles. Die dem Sediment aufgelegte Watteschicht verhindert dabei einen eventuellen Temperaturschock infolge direkten Kontaktes der Sedimentoberfläche mit dem Eis.

Sofern das Sediment relativ arm an organischen Beimengungen (Detritus etc.) ist, bleibt die Kulturschale sehr sauber und die extrahierte Mikrofauna kann in der Schale unter dem Präpariermikroskop direkt studiert und weiterverarbeitet werden. Wichtig ist die Wahl der Maschenweite der Nylongaze. Gute Dienste leistet hierbei ein sogenanntes Teleskop-Filter: Auf ein einfaches Filterrohr sind drei oder vier verschieden graduierte Nylongazen – in der Reihenfolge grob, mittel, fein – mit drei beziehungsweise vier aufeinanderpassenden Überwurfringen aufgezogen.

Auch bei sehr detritusreichen Sedimenten konnte ich gute Erfahrungen sammeln. Zwar läßt sich dann eine gewisse Verschmutzung der Schale nicht vermeiden, doch wird das Studium der Mikrofauna dadurch kaum beeinträchtigt. Voraussetzung für die Anwendbarkeit der Methode ist in jedem Fall, daß das Sediment ein kapilläres Struktur-

gefüge aufweist. Die geringe Durchlässigkeit reiner Schlick- oder Schlamm Böden verhindert vorerst noch eine sinnvolle Anwendung der Extraktionsmethode.

Um die Leistungsfähigkeit der Methode zu testen, werden gegenwärtig quantitative Untersuchungen angestellt. Vergleichsweise werden auch Analysen an bereits extrahierten Sedimenten nach den üblichen Methoden durchgeführt. Bei diesen Kontrollen findet man fast ausnahmslos nur noch die größeren Formen, die das Nylonnetz nicht passieren konnten.

Laufenden Untersuchungen zufolge scheint die optimale Ausbeute nur bis zu einer bestimmten Sedimentmenge gegeben zu sein. Bisher wurden nur an mittelfeinem Sand aus dem Supralitoral (Helgoländer Düne) einige Versuche durchgeführt. Dabei zeigt sich, daß von 8 cm<sup>3</sup> bis zu 24 cm<sup>3</sup> Sand die Anzahl extrahierter Oligochaeten direkt proportional zur Sandmenge ansteigt, bei größeren Sandmengen aber keine weitere Erhöhung eintritt (Tab. 1).

Tabelle 1

Beziehung zwischen der Anzahl extrahierter Oligochaeten (*Michaelseta subterranea*) und der geprüften Sandmenge. Bei Sandmengen über 24 cm<sup>3</sup> nimmt der Nutzeffekt ab. (Für die Bestimmung des Oligochaeten danke ich Frau Dr. L. SCHÜTZ, Kiel)

Datum der Probenentnahme	cm <sup>3</sup> Sand						
	8	16	24	32	40	48	56
2. 11. 1964	48	89	156	(nicht ermittelt)			
3. 11. 1964	33	64	132	92	88	85	88

Bei Anwendung einer Eisschmelze von 15 ‰ Salzgehalt war die Ausbeute deutlich niedriger als bei 30 ‰. Die Einführung eines solchen Salzgehalts-Gradienten hat sich demnach nicht bewährt.

Die nachfolgende Aufzählung der verschiedenen, bisher untersuchten Sedimente und der aus diesen Proben extrahierten Fauna dürfte den ungefähren Wirkungsbereich der Methode umreißen.

#### *Untersuchte Sedimente*

Feinsand (Helgoland: Mole nahe Jugendherberge, Dünenhafen, Loreleybank), Mittelsand (Helgoland: südlich der Reede, Düne-Süd, Mole nahe Jugendherberge), Grobsand (Helgoland: *Amphioxus*-Grund), Detritusreicher Sand und Feinschlamm (Helgoland: Garten), Grobes Schillgemisch (Helgoland: Skittgat), Grobkörniges Sediment (Helgoland: Felswatt), Schlickiger Sand (List auf Sylt: Wattenmeer), Schlickiges Mischsediment (Helgoland: Felswatt).

#### *Extrahierte Fauna*

##### Protozoen

Flagellaten: Vornehmlich im feinen und mittelfeinen Sand teilweise in Massen vertreten, darunter zahlreiche Dinoflagellaten. Ciliaten: In jedem bisher unter-

suchten Sediment vertreten. Die kleinsten Vertreter in großer Zahl besonders im Feinsand.

#### Coelenteraten

*Halammohydra*: 30 cm<sup>3</sup> Mittelsand (Mole nahe Jugendherberge) lieferten bei einem Extraktionsversuch 14 Tiere. Auch aus dem Sand der Loreleybank und *Amphioxus*-Grund extrahiert.

#### Turbellarien

Acoela, Otoplaniden, Macrostromiden, Kalyptrorhynchier etc. Am 28. 10. 1964 konnte ich aus einer 30-cm<sup>3</sup>-Sandprobe (Südlich der Reede = S. d. R.) rund 400 Turbellarien von > 50  $\mu$  Länge, unter Vernachlässigung der zahlreichen, kleineren Tiere auszählen.

#### Gnathostomuliden

Die Beschreibung dieser erst vor wenigen Jahren entdeckten Tiergruppe basiert nur auf einigen wenigen Exemplaren. Bei einer Extraktion von Sediment aus dem „Garten“ fand ich in einer Probe über 40 Tiere. Inzwischen wurden Gnathostomuliden auch aus schlickigem Mischsediment des Felswattes extrahiert.

#### Gastrotrichen

Macrodasyoidea (*Pleurodasys*, *Urodasys* etc.) Chaetonotoidea. Am 28. 10. 1964 (S. d. R.) aus 30 cm<sup>3</sup> Sand extrahiert.

#### Nematoden

Am 28. 10. 1964 (S. d. R.) 51 Tiere aus 30 cm<sup>3</sup> Sand extrahiert.

#### Rotatorien

In den untersuchten Sedimenten nur vereinzelt vertreten.

#### Archianneliden

*Protodrilus*, *Nerilla*, *Nerillidium*. Am 28. 10. 1964 (S. d. R.) 20 Tiere aus 30 cm<sup>3</sup> Sand extrahiert.

#### Polychaeten

*Microphthalmus*, *Praegeria*, *Ophryotrocha*. Besonders aus dem Felswatt und Grobsand (*Amphioxus*-Grund).

#### Oligochaeten

Aus dem supralitoral Sand der Helgoländer Düne (siehe oben angegebene Werte für *Michaelsena subterrana*).

#### Harpacticiden

Am 28. 10. 1964 (S. d. R.) 49 Tiere aus 30 cm<sup>3</sup> Sand extrahiert.

#### Ostracoden

Besonders zahlreich im Felswatt-Sediment vertreten. Häufig auch im Grobsand (*Amphioxus*-Grund). Quantitativ nur bei entsprechend großer Maschenweite der Gaze erfassbar.

#### Tardigraden

*Batillipes* aus dem supralitoral Dünensand.

Die Mehrzahl der Tiere passierten das Filter im Verlauf von etwa 30 Minuten, vor allem die Flagellaten, Ciliaten und acoelen Turbellarien. Danach folgen über einen längeren Zeitraum hinweg die anderen Gruppen. Den Abschluß bilden vornehmlich die Archianneliden, Polychaeten und *Halammohydra*. Ob die Nematoden und Tardi-

graden im gleichen Verhältnis wie die anderen Tiergruppen extrahiert werden, ist noch ungeklärt.

### DISKUSSION

Die Vorteile der hier beschriebenen Extraktionsmethode gegenüber den bisher angewandten Techniken zur Isolation der Sandlückenfauna sind offensichtlich: 1. Einfache Handhabung sowohl im Freien, an Bord eines Schiffes oder im Labor, sofern Eis zur Verfügung steht. 2. Durch serienmäßige Anwendung der Methode können größere Sandareale systematisch untersucht werden. 3. Sämtliche vagilen Vertreter des Mesopsammon werden nahezu quantitativ erfaßt, besonders auch die kleinsten, oft vernachlässigten Formen. 4. Die Extraktion detritusarmer Sedimente liefert alle Formen frei von Verunreinigung, was eine sofortige Weiterverarbeitung gestattet. 5. Selbst höchst fragile Formen (besonders bei den Ciliaten) passieren unbeschädigt das Filter. 6. Die Methode erlaubt eine weitgehende Anpassung an spezielle Fragestellungen; nach Ermittlung weiterer biologisch wirksamer Faktorengefälle ist möglicherweise eine Steigerung des Wirkungsgrades zu erreichen. 7. Bestimmte Verhaltensweisen der Mikrofauna (Wanderungsgeschwindigkeit etc.) können anhand des Verhaltens im Filterrohr getestet werden.

Bevor exakte, quantitative Untersuchungen mit dieser Methode durchgeführt werden können, bedarf es noch der Klärung verschiedener Fragen. Es gilt vor allem die optimale Sedimentmenge zu bestimmen; die mittlere Korngröße des Sedimentes dürfte hierbei eine wesentliche Rolle spielen. Auch der Einfluß des Eiswasser-Durchlaufes pro Zeiteinheit ist noch ungeklärt; durch Zugabe von Block-Eis, Bruch-Eis oder Eisbrei unter verschiedener Umgebungstemperatur könnte dieser Faktor weitgehendst variiert werden. Der eventuelle Einfluß des Lichtfaktors bedarf noch der Nachprüfung. Durchleiten von Stickstoff könnte unter Umständen den Extraktionsvorgang begünstigen oder beschleunigen.

Bis zum Ausbau einer Standard-Methode sind zweifellos noch zahlreiche Experimente durchzuführen. Immerhin zeichnet sich schon jetzt die Möglichkeit ab, frisches Bodenmaterial an Bord eines Schiffes sofort zu bearbeiten. Der von REINECK entwickelte Kastengreifer, der die ungestörte Entnahme von Sedimentproben des Meeresgrundes ermöglicht, könnte hierbei wertvolle Dienste leisten.

Das Verhalten der Mikrofauna im Filterrohr ist nicht ohne weiteres verständlich. Zweifellos weichen die Tiere dem Temperaturgradienten aus und wandern durch das Kapillarsystem nach unten. Treffen die Tiere auf die Nylongaze, so wirken die Maschen des Gewebes offensichtlich als Porensystem, welches die Tiere passieren. Erstaunlich ist jedoch, daß die Tiere, trotz extrem substratgebundener Bewegungsweise (REMANE 1951) das Maschennetz verlassen und in das freie Wasser der Kulturschale hineinfallen. Bei etwas größeren, länglichen Formen kann man diesen Vorgang direkt mit dem Auge verfolgen. Wird das Filterrohr ohne Eis ganz eingetaucht, so verlassen nur rein zufällig einige Tiere den Sand, die Hauptmasse bleibt im Substrat. Stellt man wieder den Kontakt mit der Wasseroberfläche her, so verläßt – auch ohne Eis – ein wesentlich höherer Prozentsatz (besonders Ciliaten und Turbellarien) das Filter. Die eigentliche Extraktion kommt allerdings erst nach Zugabe von Eis in Gang.

Erste Versuche, einer sterilen Sandprobe eine bestimmte Anzahl Tiere beizugeben und dann später wieder zu extrahieren, verliefen recht erfolgreich. So konnten beispielsweise nach Zugabe von 50 Ciliaten und 50 Turbellarien bereits innerhalb einer Stunde 45 Ciliaten und 38 Turbellarien extrahiert werden.

### ZUSAMMENFASSUNG

1. Die vagile Mikrofauna des Sandlückensystems läßt sich mit Hilfe der hier beschriebenen, einfachen und schnellen Extraktionsmethode nahezu quantitativ aus dem Substrat hinaustreiben und ohne Beschädigung sauber in einer Kulturschale auffangen.
2. Die Methode beruht auf der künstlichen Erzeugung eines Temperaturgefälles, dem die mesopsammale Fauna auszuweichen sucht. Die Wirksamkeit weiterer Faktorengradienten soll noch ermittelt werden.
3. Die Extraktion verläuft selbst bei recht verschiedenartigen Sedimenten erfolgreich. Voraussetzung ist, daß das Sediment ein kapillares Strukturgefüge aufweist.
4. Die Methode kann im Labor, aber auch im Freien oder an Bord eines Schiffes eingesetzt werden.

### ZITIERTER LITERATUR

- BERLESE, A., 1905. Apparechio per raccogliere presto ed in gran numero piccoli artropodi. *Redia* **2**, 85–90.
- REMANE, A., 1933. Verteilung und Organisation der benthonischen Mikrofauna der Kieler Bucht. *Wiss. Meeresunters. Abt. Kiel*, N. F. **21**, 161–221.
- 1951. Die Besiedlung des Sandbodens im Meer und die Bedeutung der Lebensformtypen für die Ökologie. *Zool. Anz. (Suppl. Bd)* **16**, 327–359.