

EC **ENCYCLOPAEDIA**
CINEMATOGRAPHICA

FILM E 2904

Heterodera schachtii (Nematoda)
Verhalten im Innern von Wurzeln (Raps)

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM • GÖTTINGEN

ISSN 0073-8417

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION
BIOLOGIE

SERIE 18 · NUMMER 37 · 1986

FILM E 2904

Heterodera schachtii (Nematoda)
Verhalten im Innern von Wurzeln (Raps)



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

Angaben zum Film:

Tonfilm (Komm., deutsch od. engl.), 16 mm, farbig, 127 m, 12 min (24 B/s). Hergestellt 1984/85, veröffentlicht 1986.

Das Filmdokument ist für die Verwendung in Forschung und Hochschulunterricht bestimmt. Veröffentlichung aus dem Institut für Phytopathologie der Universität Kiel, Prof. Dr. U. WYSS, Dr. U. ZUNKE, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. T. HARD; Kamera: K. LECHNER; Schnitt: B. MILTHALER; Videoaufzeichnung: Prof. Dr. U. WYSS, Dr. U. ZUNKE; Videoauswahl: Dr. U. ZUNKE, Prof. Dr. U. WYSS und E. POLOCZEK.

Zitierform:

WYSS, U., U. ZUNKE und INST. WISS. FILM: Heterodera schachtii (Nematoda) – Verhalten im Innern von Wurzeln (Raps). Film E 2904 des IWF, Göttingen 1986. Publikation von U. WYSS u. U. ZUNKE, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 18, Nr. 37/E 2904 (1986), 21 S.

Anschrift der Verfasser der Publikation:

Prof. Dr. U. WYSS und Dr. U. ZUNKE, Institut für Phytopathologie der Universität Kiel, Olshausenstr. 40–60, D-2300 Kiel 1.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

Sektion BIOLOGIE

Sektion ETHNOLOGIE

Sektion MEDIZIN

Sektion GESCHICHTE · PUBLIZISTIK

Sektion PSYCHOLOGIE · PÄDAGOGIK

Sektion TECHNISCHE WISSENSCHAFTEN

NATURWISSENSCHAFTEN

Herausgeber: H.-K. GALLE · Redaktion: E. BETZ, I. SIMON

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN sind die schriftliche Ergänzung zu den Filmen des Instituts für den Wissenschaftlichen Film und der Encyclopaedia Cinematographica. Sie enthalten jeweils eine Einführung in das im Film behandelte Thema und die Begleitumstände des Films sowie eine genaue Beschreibung des Filminhalts. Film und Publikation zusammen stellen die wissenschaftliche Veröffentlichung dar.

PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN werden in deutscher, englischer oder französischer Sprache herausgegeben. Sie erscheinen als Einzelhefte, die in den fachlichen Sektionen zu Serien zusammengefaßt und im Abonnement bezogen werden können. Jede Serie besteht aus mehreren Lieferungen.

Bestellungen und Anfragen an: Institut für den Wissenschaftlichen Film
Nonnenstieg 72 · D-3400 Göttingen
Tel. (05 51) 20 22 02

URS WYSS, ULRICH ZUNKE, Kiel, und INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN
FILM, Göttingen:

Film E 2904

Heterodera schachtii (Nematoda) Verhalten im Innern von Wurzeln (Raps)

Verfasser der Publikation: URS WYSS und ULRICH ZUNKE
Mit 6 Abbildungen

Inhalt des Films:

Heterodera schachtii (Nematoda) – Verhalten im Innern von Wurzeln (Raps). Mit Hilfe der elektronischen Kontrastverstärkung durch ein spezielles Videosystem zeigt dieser Film erstmals das Saugverhalten der Infektionslarven von *Heterodera schachtii* an ihrer permanenten Saugstelle im Zentralzylinder der Wurzeln von *Brassica-napus*-Sämlingen. Zunächst konzentrieren sich die Aufnahmen auf das intrazelluläre Vordringen der Larven zu dieser Stelle. Obwohl ihre Ösophagusdrüsen, speziell die beiden subventralen, zu dieser Zeit mit Speichelgranula gefüllt sind, durchwandern sie das Rindengewebe offenbar rein mechanisch. Mit exakt aufeinander abgestimmten Mundstachelstößen durchlöchern sie die Zellwand, bis ein Schlitz entsteht, durch den sie zur Nachbarzelle vordringen.

Die Nahrungsaufnahme aus dem primären Syncytium (primäres Nährzellensystem) erfolgt in drei Phasen. Während Phase I, die durchschnittlich eine Stunde anhält, wird über ein mit der Mundstachelöffnung verbundenes Saugröhrchen fortlaufend Nahrung aus einer modifizierten Cytoplasmazone aufgenommen. Charakteristisch für Phase II sind das Zurückziehen des Mundstachels in die Mundhöhle und die Entleerung des Endapparates innerhalb der Ampullen der beiden subventralen Drüsenzellen. Unmittelbar nach dem Zurückschieben der Mundstachelspitze in die modifizierte Cytoplasmazone wird während der 3. Phase ca. 20 Minuten lang Speichelflüssigkeit aus der Ampulle der dorsalen Drüsenzelle durch die Mundstachelöffnung abgesondert. Die Flüssigkeit erhärtet zu einem neuen Saugröhrchen. Anschließend tritt erneut Phase I ein. Die Vorgänge im Saugapparat werden während der drei Phasen bei starker Vergrößerung gezeigt.

Die Dynamik im primären Nährzellensystem wurde drei Tage lang erfaßt. Im sich entwickelnden Syncytium (es entsteht durch partielle Zellwandauflösung und Fusion der Protoplasten) manifestiert sich die stark erhöhte Stoffwechselaktivität in einer erheblichen Zunahme der Dichte und Strömungsaktivität des Cytoplasmas sowie in einer Hypertrophierung des Zellkerns und des Nucleolus. Die modifizierte Cytoplasmazone, die gewöhnlich mehrere Saugröhrchen umhüllt, bleibt während der gesamten Nematodenentwicklung erhalten und wirkt wie eine Barriere auf die vorbeiströmenden Zellorganellen.

Der Film zeigt auch Aufnahmen von älteren Nährzellensystemen, in denen eine gerichtete Cytoplasmaströmung aufrechterhalten wird, und die Defaecation eines jungen Weibchens.

Summary of the Film:

Heterodera schachtii (Nematoda) — Behaviour inside the Root (Rape). This film, produced with the aid of video-enhanced contrast microscopy, shows for the first time the feeding behaviour of infective J2 juveniles of *Heterodera schachtii* at their permanent feeding site within the vascular cylinder in roots of *Brassica napus* seedlings. Emphasis is first placed on the intracellular migration of the juveniles towards this site. Although the oesophageal glands, especially the two subventral ones, are then filled with salivary granules, forward progression through the cortical tissue is apparently by mechanical means only. With highly coordinated stylet thrusts a slit is cut into the cell wall by a line of merging holes, through which the juveniles enter the neighbouring cell.

Feeding from the initial syncytium (nurse cell system) consists of a series of repeated cycles, each composed of three distinct phases. During phase I, which lasts on the average about one hour, nutrients from within a zone of modified cytoplasm are continuously withdrawn through a feeding tube connected to the stylet-tip aperture. Phase II is characterized by the retraction of the stylet into the stomatal cavity and the depletion of valve contents from within the ampullae of the two subventral glands. Reinsertion of the stylet-tip into the zone of modified cytoplasm is immediately followed by phase III, lasting on the average about 20 minutes, during which salivary fluids from the ampullae of the dorsal oesophageal gland are released through the stylet-tip aperture, forming a new feeding tube. This is followed by a repeat of phase I. Details of the function of the feeding apparatus during all phases are shown at high magnification.

The dynamics in the initial syncytium (it develops by partial wall dissolution and fusion of the protoplasts) have been recorded over a period of three days. The much enhanced metabolic activity expresses itself in a remarkable increase in cytoplasmic density, pronounced acceleration in cytoplasmic streaming and increases in nuclear and nucleolar volumes. The zone of modified cytoplasm, which usually harbours several feeding tubes, remains preserved throughout the nematode's life cycle and acts like a barrier to the cell organelles that flow past it.

The film also shows shots of cell dynamics in older nurse cell systems in which a uniform streaming of the dense cytoplasm is maintained and includes the defaecation process of a young female.

Résumé du Film:

Heterodera schachtii (Nematoda) — Comportement à l'intérieur des racines (colza). Ce film montre à l'aide d'un renforcement de contraste électronique par un système de vidéo spécial tout d'abord le comportement lors de l'aspiration par les juvéniles infestants de *Heterodera schachtii* à leur emplacement de succion permanent dans le cylindre central des racines de plantules de *Brassica napus*. Les prises de vue se concentrent en premier lieu sur la migration intracellulaire des larves vers cet emplacement. Bien que les glandes oesophagiennes, en particulier les deux subventrales, sont remplies à ce moment de salive granuleuse, les larves circulent à travers le tissu cortical, apparemment tout à fait mécaniquement. Elles perforent la membrane cellulaire à l'aide de poussées du stylet coordonnées, réglées les unes sur les autres, jusqu'à ce qu'il y ait une fente par laquelle elles atteignent la cellule voisine.

La prise de nourriture à partir du syncytium initial (système de cellules nourricières primaire) a lieu en trois phases. Pendant la phase I, qui dure en moyenne une heure, de la nourriture est prélevée continuellement d'une zone de cytoplasme modifié à travers un tube nutritionnel connecté à l'orifice de lumière du stylet. Les caractéristiques pour la phase II sont le retraitement du stylet dans la cavité buccale et la vidange de l'appareil final à l'intérieur des ampoules des deux glandes subventrales. Immédiatement après la réinsertion de l'extrémité du stylet dans la zone cytoplasmique modifiée, des sécrétions fluides s'écoulent, pendant la phase III, qui dure environ 20 minutes, de l'ampoule de la glande oesophagienne dorsale à travers l'orifice de la lumière du stylet. La sécrétion se solidifie et donne naissance à un nouveau tube nutritionnel. Ensuite la phase I recommence. Les

processus touchant l'appareil nutritionnel seront montrés pendant ces trois phases en agrandissement important.

La dynamique dans le système primaire des cellules a été enregistrée pendant trois jours. Dans le syncytium se développant (il est produit par dissolution partielle de la membrane cellulaire et de la fusion de protoplastes) l'activité très élevée du métabolisme se manifeste par une augmentation importante de la densité et de l'activité de l'écoulement du cytoplasme ainsi que par une hypertrophie du noyau cellulaire et du nucléole. La zone cytoplasmique modifiée qui entoure habituellement plusieurs tubes nutritionnels subsiste pendant le développement complet des nématodes et agit comme une barrière sur les organelles cellulaires s'écoulant au passants.

Le film montre également des images de systèmes de cellules nourricières plus anciens dans lesquels un écoulement cytoplasmique est maintenue et la défécation d'une jeune femelle.

Allgemeine Vorbemerkungen

Der Rübenzystennematode *Heterodera schachtii* ist der gefährlichste Schädling im Rübenanbau. Nach realistischen Schätzungen (Dr. J. MÜLLER, Institut für Nematologie der BBA, Münster) beläuft sich der jährlich bedingte Wertverlust allein in der BRD Deutschland auf 40 Millionen DM. Ertragsausfälle bis zu 50 % sind bei schwerem Befall nicht selten. Die Pflanzen bleiben im Wachstum stark zurück und reagieren bei Trockenheit und intensiver Sonneneinstrahlung mit Welkesymptomen. Der Rübenkörper bleibt klein und zeigt eine starke Seitenwurzelbildung, den sog. 'Wurzelbart'. Bei sorgfältiger Entnahme aus dem Boden sind die an den Wurzeln haftenden, ca. 0,7 mm großen, zitronenförmigen weißen Weibchen mit bloßem Auge gerade noch zu erkennen.

Heterodera schachtii vermehrt sich nicht nur an Chenopodiaceen, mit der Zuckerrübe als wichtigster Art, sondern ebensogut an Kruziferen, wie Raps, Rübsen, Ölrettich, Senf und allen Kohlarten. Im Gegensatz zu Beta-Rüben wurden jedoch an Kruziferen noch keine wirtschaftlich bedeutenden Schäden festgestellt. Unter ihnen haben auf Resistenz selektierte Ölrettich- und Senfsorten inzwischen große Bedeutung in der biologischen Bekämpfung des Rübenematoden erlangt.

Über die Ursachen der Pflanzenschädigung durch Zysten- und auch Wurzelgallennematoden informiert der Film C 1485 'Pflanzenschädigung durch sedentäre Wurzelnematoden' (WYSS, MÜLLER & IWF [15]). Einzelheiten über die Entwicklung sind im Film C 1387 'Entwicklung des Zystennematoden *Heterodera schachtii*' (MÜLLER, WYSS & IWF [14]) festgehalten.

Entwicklungszyklus von *Heterodera schachtii* und Zellreaktionen am Infektionsort

Für das bessere Verständnis der hier vorliegenden Publikation werden der Entwicklungszyklus (Abb. 1) und die cytologischen Ereignisse am Infektionsort in straffer Form vorgestellt. Alle Ergebnisse stammen aus Untersuchungen zur Wirt-Parasit-Beziehung unter sterilen Bedingungen in Agarnährmedien.

Innerhalb der Zyste (abgestorbenes Nematodenweibchen, dessen Körperhülle sich zu einer derbwandigen, widerstandsfähigen dunkelbraunen Kapsel umgewandelt hat) können Larven im 2. Entwicklungsstadium (L2), noch im Ei eingeschlossen, jahrelang in einem Ruhezustand verharren. Schlupfanregend sind vor allem Wurzelexsudate von Wirtspflanzen. Die geschlüpften Infektionslarven (L2) dringen überwiegend im Bereich der Streckungszone in die Wurzeln anfälliger wie auch resistenter Pflanzen ein, wo sie in

kurzer Zeit bis in den Bereich des noch jungen Zentralzylinders vordringen. Dort wird dann eine Zelle zur Primärzelle des Syncytiums (Nährzellensystems) umfunktioniert. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen (WYSS et al. [9]) zeigen die Zellen des noch jungen Syncytiums (es entsteht durch partielle Zellwandauflösung und Protoplastenfusion) 1–2 Tage nach dem Eindringen der Infektionslarven charakteristische Merkmale einer stark erhöhten Stoffwechselaktivität. Sie äußert sich u.a. in der Zunahme freier Ribosomen, Polyribosomen, Mitochondrien, Dictyosomen und der Volumenvergrößerung von Zellkern und Nucleolus. Die Zellen sind dicht mit Cytoplasma gefüllt; die große Zentralvakuole wird durch zahlreiche kleine Vakuolen ersetzt. Die Wände einiger Zellen sind zu diesem Zeitpunkt bereits teilweise aufgelöst. Das sich weiter ausdehnende Nährzellensystem versorgt die inzwischen sesshaft gewordenen Parasiten zeit lebens mit der für ihre Entwicklung notwendigen Nahrung.

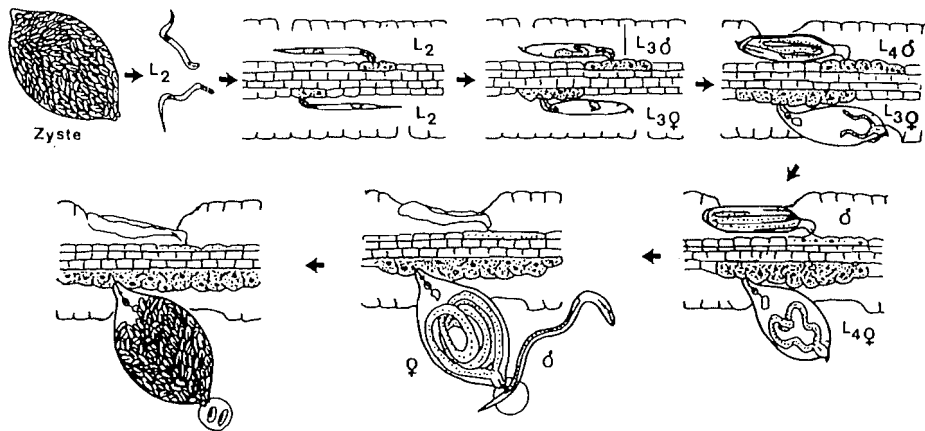


Abb. 1. Entwicklungszyklus des Rübenzystennematoden *Heterodera schachtii* (Erläuterungen im Text)

Wenige Tage nach der Induktion des Nährzellensystems häuten sich die Larven zum 3. Entwicklungsstadium. Erst nach dieser Häutung wird die Differenzierung des Geschlechtsprimordiums zum männlichen oder weiblichen Nematoden bei starker Vergrößerung erkennbar. Die Geschlechtsdetermination wird offenbar durch Ernährungsbedingungen und somit über das Nährzellensystem gesteuert (GRUNDLER et al. [4]; MÜLLER [5]). Durch die ständige Nahrungsaufnahme sind die Larven im L3-Stadium deutlich angeschwollen (Abb. 1), und sie können in dünnen Seitenwurzeln schon in diesem Stadium mit dem Hinterkörper aus der Wurzel herausbrechen. Dies ist z.B. im Film C 1387 der Fall (MÜLLER et al. [14]). Dort ist bei der starken Zeitraffung ein rhythmischer Wechsel zwischen stetiger Zunahme und schlagartiger Schrumpfung des Körpervolumens deutlich zu erkennen. Diese Rhythmik bleibt auch in späteren Entwicklungsstadien erhalten und wird nur zur Zeit der Häutung (dann wird keine Nahrung aufgenommen) unterbrochen. Analysen der Filmaufnahmen und ergänzende Beobachtungen zeigten, daß die Nematoden während jeder Schwellung kontinuierlich Nahrung aufnehmen,

denn der Mittelbulbus, das dafür notwendige Pumporgan, pulsiert dann fortwährend (MÜLLER et al. [6]). Für die schlagartige Schrumpfung des Körpervolumens wurde eine plötzlich eintretende Defäkation (Darmentleerung) vermutet. Ausscheidungsprodukte werden auch teilweise außen an der Cuticula als sog. subkristalline Schicht angelagert (ZUNKE [13]).

Der rhythmische Wechsel zwischen Schwellung und Schrumpfung des Körpervolumens ermöglichte eine approximative Berechnung des täglichen Flüssigkeitsentzugs aus dem Nährzellensystem. Für Larven im 3. Stadium beträgt er bei 25°C ca. 1,8; für weibliche L4-Larven ca. 5,8 und für Weibchen ca. $11,3 \times 10^{-6}$ ml (MÜLLER et al. [6]). Bis vor kurzem war noch ungeklärt, wie Zystennematoden über die Öffnung ihres Mundstachels, deren Durchmesser kaum mehr als 100 nm beträgt, Flüssigkeit aus dem dichten Cytoplasma des Syncytiums entziehen. Eine Blockierung der Öffnung durch Zellorganellen würde für den Parasiten tödlich enden. Die Untersuchungen von WYSS et al. ([9]) und RUMPENHORST ([7]) zeigten, daß röhrenförmige Strukturen (feeding tubes) das Cytoplasma im Bereich des Nährstoffentzugs durchziehen. Sie sind von einer Cytoplasmazone umgeben, die frei von größeren Organellen wie Mitochondrien und Plastiden ist. Die Röhren stehen mit der Mundstachelöffnung in Verbindung und modifizieren offenbar das sie umgebende Cytoplasma für einen effektiven Flüssigkeitsentzug (WYSS et al. [9]).

In resistentem Ölrettich degeneriert das Nährzellensystem 4–5 Tage nach der Induktion, im anfälligen wird es dagegen zu einem Transferzellenkomplex, denn die am Xylem angrenzenden Zellwände weisen dann bereits die Anfangsstadien der für diese Zellen charakteristischen Wandprotuberanzen auf. Da die männlichen Larven nur bis zur Vollendung des L3-Stadiums Nahrung aufnehmen, können sie sich auch in resistenten Pflanzen entwickeln. Während und nach der Häutung zum 4. Entwicklungsstadium wird der Geschlechtsdimorphismus erstmals sehr deutlich erkennbar. Die männliche L4-Larve hat den Kopf aus dem Nährzellensystem zurückgezogen, nimmt nun nie wieder Nahrung auf und wird durch schnelles Streckungswachstum innerhalb der L3-Cuticula wieder wurmförmig (Abb. 1). Die weibliche L4-Larve entzieht dagegen weiterhin ständig Nahrung.

Nach der 4. und letzten Häutung ist das Männchen voll ausdifferenziert und befreit sich mit Mundstachelstößen aus der Hülle des L3-Stadiums. Es bleibt nur wenige Tage am Leben. Die adulten Weibchen scheiden nun ein Sexualpheromon aus, welches die Männchen über einige cm Entfernung zur Begattung anlockt. Mit Beginn der Eiproduktion werden die höchsten Ansprüche an das Nährzellensystem gestellt. An den Kontaktstellen zu den Xylemgefäßen sind nun die Protuberanzen der Sekundärzellwand voll entwickelt (STENDER et al. [8]; WYSS et al. [9]), und das Plasmalemma hat dadurch eine beträchtliche Vergrößerung seiner Oberfläche erfahren. Die Wandprotuberanzen entstehen offenbar als Folge eines stark selektiven Kurzstreckentransports von Nährstoffen aus den Wasserleitungsbahnen in Richtung des Bedarfs, d.h. in das hoch entwickelte Nährzellensystem des weiblichen Parasiten. Das Weibchen produziert unter optimalen Ernährungsbedingungen über mehrere Wochen bis zu 500 Eier. Dann stirbt es ab, und die Körperhülle wandelt sich zur derbwandigen Zyste um. Die Entwicklung der neuen Generation beginnt bereits im Ei. Dort wachsen die jungen Larven heran, die sich noch im Ei zum infektiösfähigen 2. Stadium häuten. Damit kann der Befallszyklus von neuem beginnen.

Zielsetzung des Films

Bisher ist es mit der herkömmlichen Lichtmikroskopie, auch unter Verwendung der bestmöglichen Interferenzkontrastoptik, noch nie gelungen, das Verhalten endoparasitärer Nematoden im Innern der Wurzel in allen Einzelheiten festzuhalten. Ihr Vordringen durch Wurzelzellen läßt sich nur in den obersten Rindenschichten verfolgen, wie z.B. in Sequenz Nr. 7 des Films C 1387 (MÜLLER et al. [14]) und in verschiedenen Einstellungen des Films von DONCASTER et al. ([2]) ersichtlich. Eine direkte Beobachtung der Parasitierungsvorgänge im Bereich des Zentralzylinders, wo sich die meisten sedentären endoparasitisch lebenden Wurzelnematoden ihr permanentes Nährzellensystem schaffen, gehörte bis vor kurzem in den Bereich von Wunschvorstellungen.

Semi- und Ultradünnschnitte ermöglichen nur Momentaufnahmen von cytologischen Ereignissen im Nährzellensystem und erlauben nur vage Aussagen über die dynamischen Vorgänge. Ungeklärt blieb auch, ob die Infektionslarven der Zystennematoden ihr intrazelluläres Vordringen zum Induktionsort des Nährzellensystems rein mechanisch oder nur mit Unterstützung von Speichelsekreten schaffen. Die Ultrastruktur der Ösophagusregion der Infektionslarven von *Heterodera glycines* wurde von ENDO ([3]) in allen Einzelheiten beschrieben und diskutiert. Er wies darauf hin, daß eine Funktionsanalyse des Saugapparates über eine direkte Beobachtung wohl nur mit einem neuen technologischen Verfahren möglich sei.

ALLEN et al. ([1]) gelang mit ihrer 'Video-enhanced contrast, differential interference contrast (AVEC-DIC)'-Mikroskopie-Methode ein entscheidender Durchbruch in dieser Richtung. Durch die Kontraststeigerung mit Hilfe einer speziellen Videoeinrichtung waren sie in der Lage, optische Grenzen der Lichtmikroskopie zu überwinden und zelluläre Strukturen im lebenden Zustand bei über 3000facher Vergrößerung in noch nie gesehener Schärfe sichtbar zu machen. Wir benutzen für die Analyse von Bewegungsabläufen ebenfalls ein sehr empfindliches, direkt an das Lichtmikroskop angeschlossenes Videosystem, das aber bei weitem nicht so hoch entwickelt ist. Trotzdem erlaubt es eine erhebliche Kontraststeigerung, wodurch im Wurzelinnern nur schemenhaft erkennbare Strukturen in ihren Umrissen deutlich hervorgehoben werden. Mit Hilfe dieses Systems gelang es uns (Dr. U. ZUNKE und mir), das Parasitierungsverhalten der Infektionslarven von *Heterodera schachtii* und auch spätere Entwicklungsstadien sowie damit verbundene Zellreaktionen deutlich sichtbar zu machen und zu analysieren. Um die Magnetbandaufzeichnungen der Öffentlichkeit zugänglich zu machen, hat sich das IWF bereit erklärt, die wichtigsten Sequenzen direkt vom Monitor der Videoeinrichtung abzufilmen und im hier vorliegenden Film zu veröffentlichen.

Herstellung des Films

Für die Videoaufzeichnungen der Parasitierungsvorgänge von *H. schachtii* wurde die von WYSS und ZUNKE ([10]) beschriebene Beobachtungskammer verwendet. In den dünnen Seitenwurzeln der Rapssämlinge konnten damit die Infektionsorte mehrere Tage lang beobachtet werden. Das Verhalten der Nematoden und die Reaktionen im Nährzellensystem wurden mit Hilfe des in Abb. 2 dargestellten hoch auflösenden Videosystems (s. WYSS und ZUNKE [11]) auf 1"-Chromdioxid-Magnetbänder aufgezeichnet.

- 1) Reichert Interferenzkontrast Lichtmikroskop 'Polyvar', u.a. mit Plan Apo 40x/1.0 Öl- und 100x/1.32 Öl-Objektiven. Für die Beobachtungen wurde ein Rotfilter verwendet.
- 2) Videokamera Grundig FA 76 I, umgerüstet auf 875 Z/50 Hz mit 1" Newvicon XQ 1440 Aufnahmeröhre (Lichtempfindlichkeit 0,1 Lux).
- 3) Fernbedienung, u.a. für Vor- und Rücklauf und Stand von Einzelbildern.
- 4) Monitor Grundig BG 330, umgerüstet auf 875 Z/50 Hz, 31 cm Bilddiagonale.
- 5) Professioneller Videorecorder Grundig BK 411 HE, hochauflösend bis 10 MHz, umgerüstet auf 875 Z/50 Hz.
- 6) Monitor Grundig BG 12, umgerüstet auf 875 Z/50 Hz, 12 cm Bilddiagonale.

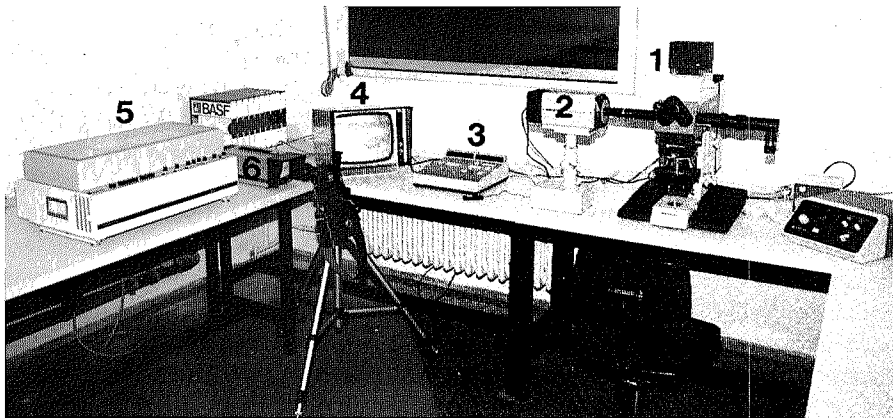


Abb. 2. Das für die Videoaufzeichnungen verwendete Videosystem (Erläuterungen im Text)

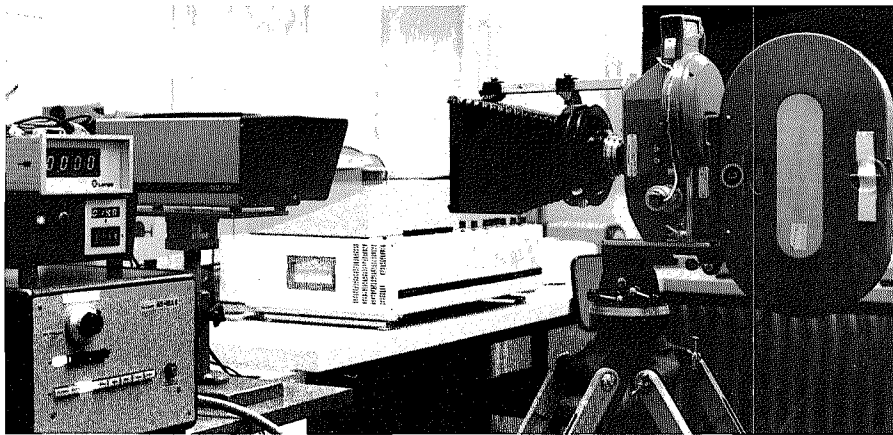


Abb. 3. Die wichtigsten Videoaufzeichnungen wurden mit der 35-mm-Filmkamera direkt vom Monitor mit 12 cm Bilddiagonale abgefilmt

Vom Monitor mit 12 cm Bilddiagonale werden für Veröffentlichungen Einzelbilder mit 1 Sekunde Belichtungszeit abfotografiert. Abb. 6 vermittelt einen Eindruck über die Qualität der Einzelbilder bei 438 Zeilen.

Für die Aufnahmen zu diesem Film wurden die wichtigsten Sequenzen der Videoaufzeichnungen mit einer 35-mm-Filmkamera direkt vom kleinen Monitor abgefilmt (Abb. 3). Mit Ausnahme der 6. Filmsequenz (gerafft mit 8 B/min) wurden alle Einstellungen mit normaler Geschwindigkeit aufgenommen.

Die wichtigsten Ergebnisse der Videoaufzeichnungen

Sie wurden von WYSS und ZUNKE ([12]) in *Revue de Nématologie* veröffentlicht, dort auch ausführlich diskutiert und lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Das intrazelluläre Vordringen der Infektionslarven (L2) zum Induktionsort des Nährzellensystems innerhalb oder in unmittelbarer Nähe des Zentralzylinders erfolgt offenbar rein mechanisch. Die Kerne (KvD) der beiden subventral gelegenen Ösophagusdrüsen (Abb. 4 A) und der Kern (KvD) der dorsal gelegenen Drüse sind zwar aktiv, d.h. sie produzieren Speichelgranula (dies trifft vor allem für die beiden subventralen Drüsen zu), doch Anhaltspunkte für eine mögliche Beteiligung von Speichelsekreten beim Durchdringen der Zellwände ergaben sich nicht. Der Mundstachel ist mit ca. 150 Stößen/min ständig in Aktion, wobei die Zellwände mit exakt koordinierten Stößen bearbeitet werden. Ein mit der Mundstachelspitze geschaffenes Loch wird neben das nächste gesetzt, bis schließlich innerhalb von 1–15 min in der Wand eine schlitzförmige Öffnung entsteht, durch welche die Larve in die benachbarte Zelle vordringt. Dieses Verhaltensmuster wird nach Erreichen der Induktionsstelle für das künftige Nährzellensystem durch ein anderes ersetzt. Nun konzentrieren sich die Mundstachelstöße \pm punktförmig auf einzelne Stellen der Zellwand. Nach dem Schaffen einer Wandperforation wird die Mundstachelspitze vorsichtig 3–4 μm tief in die Zelle vorgeschoben und verweilt dann in dieser Position. Einzelheiten im Saugapparat ließen sich zu Beginn der Induktion des Nährzellensystems wegen dessen ungünstiger Lage in verschiedenen optischen Ebenen nicht genau festhalten. Jedenfalls flossen nach kurz andauernden Mittelbulbuskontraktionen Speichelgranula durch den dorsalen Drüsengang nach vorne und reicherten sich in der Ampulle hinter den Mundstachelknöpfen an. Ca. 45 Minuten später begann der Mittelbulbus mit der für die Nahrungsaufnahme charakteristischen Rhythmik zu pulsieren.

Mit viel Geduld wurden vereinzelt Larven gefunden, deren Saugapparat und Nährzellensystem in der gleichen optischen Ebene lagen. Die für den Film ausgewählte Infektionslarve (Abb. 4 und 6 D–F) lag besonders günstig. Ihr Nährzellensystem war zu Beginn der Aufnahmen ca. 24 Stunden alt. Zu diesem Zeitpunkt hat die partielle Auflösung der Wand einer benachbarten Zelle, erkennbar am Zellwandfragment (Zwf) bereits stattgefunden (Abb. 4 und 6 D). Die Zellkerne (K) des jungen Syncytiums waren hypertrophiert, das Cytoplasma hatte an Dichte stark zugenommen und zeigte eine erhöhte Strömungsaktivität. Im Saugstellenbereich des Nematoden hatte sich eine modifizierte Cytoplasmazone (mCz) gebildet, die in die Plasmaströmung nie einbezogen wurde. Es zeigte sich für diese, wie auch für alle übrigen untersuchten Infektionslarven ($n = 16$), daß sich die Nahrungsaufnahme aus drei charakteristischen Phasen (I–III) zusammensetzt (Abb. 4).

Phase I (Abb. 4 A)

In dieser Phase wird über ein Saugröhrchen (Sr), das mit dem Lumen des Mundstachels (Ms) an dessen Spitze verbunden ist, kontinuierlich Nahrung aus der modifizierten Cytoplasmazone aufgenommen. Der Flüssigkeitsentzug dauert durchschnittlich ca. eine Stunde, und der Mittelbulbus (Mb), das Pumporgan für die Nahrungsaufnahme, pulsiert dann ununterbrochen mit 5–7 Muskelkontraktionen pro Sekunde. Muskeln am Vorderende (MV) und Hinterende (MH) des Mittelbulbus bleiben während der gesamten Pumptätigkeit kontrahiert. Speichelgranula (Sg) in den Gängen der dorsalen Speicheldrüse und der beiden subventralen Speicheldrüsen stauen sich vor den kontrahierten Muskeln am Hinterende des Bulbus an.

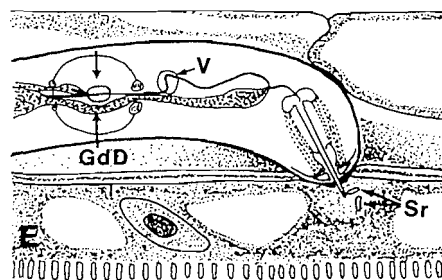
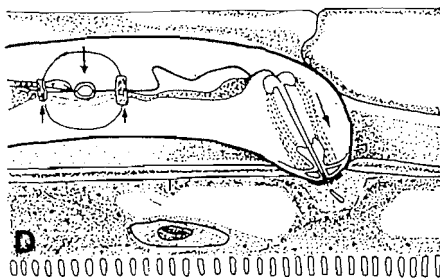
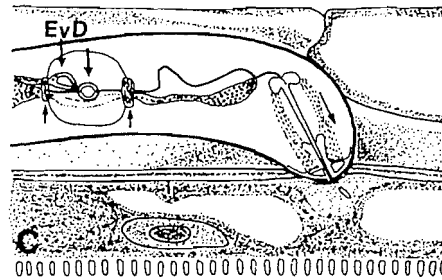
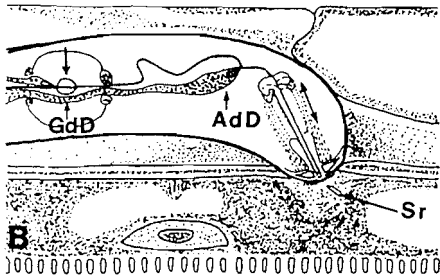
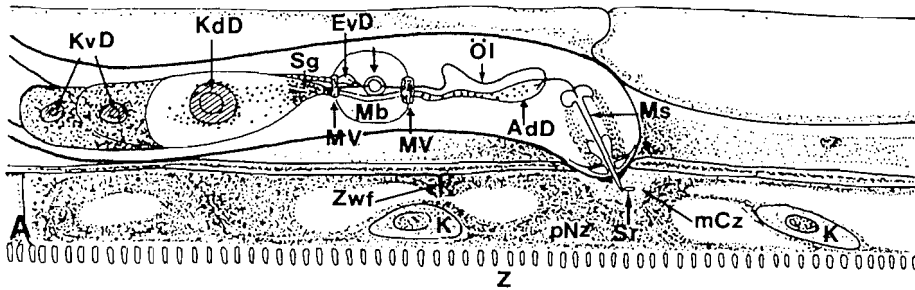


Abb. 4. Schematische Darstellung der drei Phasen der Nahrungsaufnahme einer Infektionslarve (L2) von *Heterodera schachtii*. A: Phase I; B–D: Phase II; E: Phase III. (Erläuterungen im Text)

Phase II (Abb. 4 B–D)

Nach ca. einer Stunde kontinuierlicher Pumptätigkeit hört der Mittelbulbus plötzlich auf zu pumpen, gleichzeitig erschlaffen die Muskeln vor und hinter dem Bulbus. Die Speichelgranula fließen nun ungehindert durch die Drüsengänge nach vorn und reichern sich in einer Ampulle in Nähe der Einmündungsstelle der Drüsen in das Ösophaguslumen (Öl) an. Abb. 4 B zeigt den mit Speichelgranula gefüllten Gang (GdD) der dorsalen Drüsenzelle und die Anreicherung der Granula in der Ampulle (AdD) wenige μm hinter den Mundstachelknöpfen. Wenige Sekunden nach dem Aufhören der Pumptätigkeit wird der Mundstachel aus der modifizierten Cytoplasmazone herausgezogen, wobei das Saugröhrchen den Kontakt mit der Mundstachelspitze verliert. Kurz darauf wird die Mundstachelspitze hinter der Mundöffnung leicht hin- und herbewegt (Pfeile in Abb. 4 B), vermutlich um ein Verstopfen der Mundöffnung mit Speichelsekret zu verhindern.

Auffallend während dieser Phase II ist vor allem eine Erweiterung der Membran im Endapparat (EvD) innerhalb der Ampulle der beiden subventralen Drüsen (Abb. 4 C). Sie wird offenbar durch Speichelflüssigkeit aus den angrenzenden Speichelgranula ausgedehnt. Sobald der Mittelbulbus für knapp eine Minute unregelmäßig zu pumpen beginnt (Abb. 4 C–D; beachte die kontrahierten Muskeln am Vorder- und Hinterende des Bulbus), entleert sich der Inhalt in wenigen Sekunden in das dreistrahliges Ösophaguslumen hinter dem Bulbus und wird von dort mit größter Wahrscheinlichkeit in Richtung Darm befördert. Eine Entleerung von Speichelflüssigkeit aus den beiden subventralen Drüsen findet in der im Film gezeigten Larve mehrmals während der Phase II statt. Bei den meisten beobachteten Larven ($n = 14$) erfolgte die Entleerung jedoch nur einmal, nämlich dann, wenn 4–11 Minuten nach Beginn der Phase II die Mundstachelspitze, begleitet von Mittelbulbuskontraktionen, in die modifizierte Cytoplasmazone der primären Nährzelle sorgfältig zurückgeschoben wurde (Abb. 4 C–D).

Phase III (Abb. 4 E)

Zu Beginn dieser Phase (die unmittelbar auf Phase II folgt) ragt die Mundstachelspitze wieder 3–4 μm in die modifizierte Cytoplasmazone der primären Nährzelle hinein. Wenige μm vor dem nun völlig bewegungslosen Mittelbulbus entwickelt sich eine 'Vakuole' (V), deren Volumen im Verlauf der Phase III ständig zunimmt und deren Funktion noch unbekannt ist. Speichelgranula der Drüsenzellen fließen ungehindert durch die Gänge nach vorn und reichern sich in den Ampullen an. Vor allem die Ampulle der dorsalen Drüsenzelle ist nun prall mit Speichelgranula gefüllt. Eine Erweiterung der Membran im Endapparat ist hier jedoch nicht zu erkennen, vermutlich bedingt durch die hohe Dichte der sich ständig bewegenden Granula. Speichelflüssigkeit fließt jedoch aus der Mundstachelöffnung heraus und erhärtet im modifizierten Cytoplasmabereich zu einem neuen Saugröhrchen.

Phase III dauert im Schnitt ca. 20 Minuten, dann setzt erneut Phase I ein. Dieser Phasenwechsel bleibt bis zur Häutung zum L3-Stadium erhalten und setzt sich auch in den späteren Entwicklungsstadien in gleicher Weise fort, allerdings mit ständig zunehmender Dauer der Phase I, die in adulten Weibchen bis zu drei Stunden anhalten kann.

Zusammenfassend lassen sich die drei Phasen wie folgt charakterisieren:

I, kontinuierlicher Flüssigkeitsentzug über ein Saugröhrchen innerhalb der modifizierten

Cytoplasmazone im Nährzellensystem. II, Beförderung von Speichelflüssigkeit aus den beiden subventralen Drüsenzellen in Richtung Darm. III, Beförderung von Speichelflüssigkeit aus der dorsalen Drüsenzelle durch das Mundstachellumen in die modifizierte Cytoplasmazone. Dieser Speichel erfüllt offenbar verschiedene Funktionen, wie Induktion des Nährzellensystems, Modifikation des Cytoplasmas im Saugstellenbereich sowie Bildung von Saugröhrchen für eine effiziente Nahrungsaufnahme.

Filmbeschreibung

Erläuterungen zu einzelnen Filmsequenzen¹

3. Einzelheiten über die Anatomie der Ösophagusregion der Infektionslarven von *Heterodera* (hier *H. glycines*) sind aus der Veröffentlichung von ENDO ([3]) zu entnehmen.

4. Siehe Erläuterungen im Text und Abb. 6 A—C. A: Beim Vordringen durch das Rindengewebe hat hier die Mundstachelspitze einer Infektionslarve die Zellwand soeben mit einem kräftigen Stoß perforiert. B: Bei weniger kräftigen Stachelstößen verbiegt sich die Mundstachelspitze an der Zellwand. Die Pfeile markieren Zellwandlöcher, die unmittelbar davor durch jeweils einen Stachelstoß geschaffen wurden. C: Die Kopfregion der Larve dringt durch den mit koordinierten Stachelstößen entstandenen Schlitz in der Zellwand in die benachbarte Zelle vor.

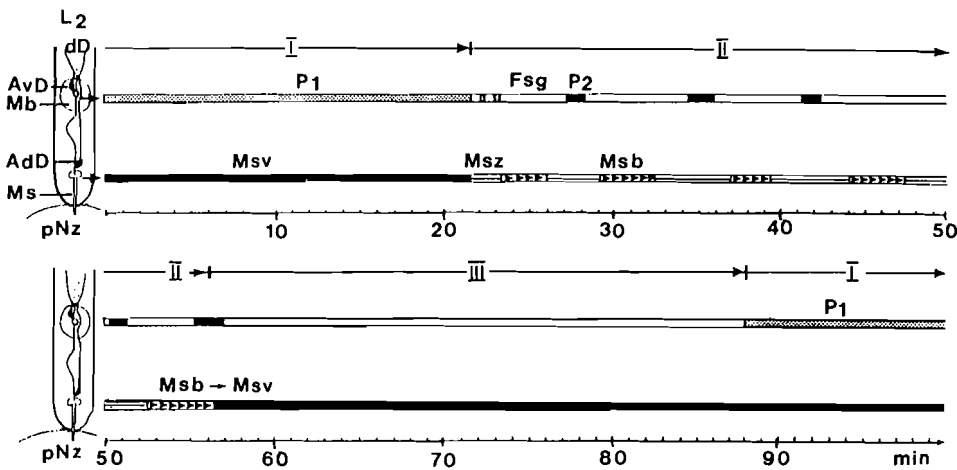


Abb. 5. Analyse der 6. mit 8 B/min gerafften Filmsequenz über eine Zeitspanne von 100 min
 AdD: Ampulle dorsale Drüsenzelle; AvD: Ampulle subventrale Drüsenzelle; Mb: Mittelbulbus;
 Ms: Mundstachel; pNz: primäre Nährzelle. I-III, die drei verschiedenen Phasen der Nahrungsaufnahme.
 Msb: Mundstachel bewegt sich innerhalb der Mundhöhle; Msv: Mundstachel in pNz vorgeschoben;
 Msz: Mundstachel in Mundhöhle zurückgezogen; Fsg: Fluß von Speichelgranula durch die Gänge der 3 Ösophagusdrüsen in Richtung Ampulle; P1: Pumpfähigkeit des Mittelbulbus während der kontinuierlichen Nahrungsaufnahme (Phase I); P2: Pumpfähigkeit des Mittelbulbus während der Entleerung des Endapparates in den Ampullen der beiden subventralen Drüsen

¹Die Nummern entsprechen den im Wortlaut des gesprochenen Kommentars nummerierten Sequenzen.

6. Die hier stark geraffte Einstellung (8 B/min) wurde durchgehend von einem Videoband mit 100 min Spieldauer bei konstant bleibender Fokussierung abgefilmt. Vorgänge, die während dieser Zeitspanne im Saugapparat der Infektionslarve abliefen, sind in Abb. 5 dargestellt. Das Verhalten dieser Larve weicht von der Norm der meisten untersuchten L2-Larven ab, denn hier wurde während der Phase II der Nahrungsaufnahme (s. S. 12) der Inhalt aus dem Endapparat der subventralen Ösophagusdrüsen mehrmals entleert.

Abb. 6 D zeigt die Larve während Phase III der Nahrungsaufnahme. AdD: Ampulle der dorsalen Drüsenzelle; K: die hypertrophierten Kerne des primären Nährzellensystems. Deutlich ist in beiden der Nucleolus (N) zu erkennen; Ms: Mundstachel; V: die in Phase II vor dem Mittelbulbus gebildete 'Vakuole'; ZwF: Zellwandfragment. Die Pfeile markieren die Dimension der modifizierten ruhenden Cytoplasmazone, aus der über ein Saugröhrchen während Phase I Nahrung entzogen wird.

9. Über die Ultrastruktur der Endapparate der 3 Ösophagusdrüsen in Infektionslarven von *H. glycines* informiert die Veröffentlichung von ENDO ([3]). Ihre Funktion in *H. schachtii* wird von WYSS und ZUNKE ([12]) diskutiert.

12. Die Erweiterung der Membran im Endapparat der beiden subventralen Drüsengänge und die Entleerung des Inhalts während der Pumpfähigkeit des Mittelbulbus in Phase II der Nahrungsaufnahme waren nur dann so deutlich zu erkennen, wenn der Mittelbulbus, wie hier, in der dafür optimalen optischen Ebene lag.

Im Film markiert ein Pfeil die 'Schließmuskeln' am Vorderende des Mittelbulbus. Gleichzeitig kontrahieren aber auch Muskeln am Hinterende des Bulbus (Abb. 4). Sie sind nicht so deutlich zu erkennen wie die Vordermuskeln. Der in Einstellung 10 gezeigte Stau der Speichelgranula hinter dem pulsierenden Mittelbulbus entsteht durch die kontinuierliche Kontraktion dieser Muskeln.

13. Siehe Kommentar zu Sequenz 6. Das Verhalten dieser Infektionslarve hat sich auch 1–2 Tage später nicht wesentlich verändert.

15. Die Funktion der mit einem Pfeil markierten 'Vakuole' ist noch ungeklärt (s. WYSS und ZUNKE [12]). Sie bildet sich immer während Phase III der Nahrungsaufnahme. Kurz nach Beginn der Pumpfähigkeit des Mittelbulbus in Phase I wird die 'Vakuole' innerhalb von zwei Minuten abgebaut.

19. und 20. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen (von CORNELIA STENDER) sind identisch mit den Abb. 3 C bzw. 4 in der Veröffentlichung von WYSS et al. ([9]).

22. Das in Abb. 6 E mit zwei Pfeilen markierte Saugröhrchen, dessen Bildung phasenweise in Einstellung 21 gezeigt wurde, verbleibt während Phase I der Nahrungsaufnahme ständig in Kontakt mit der Mundstachelöffnung (s. dazu die elektronenmikroskopische Aufnahme in Einstellung 20).

23. In Abb. 6 F sind in dieser Ebene der Fokussierung deutlich zwei Saugröhrchen (Pfeile) in der modifizierten Cytoplasmazone zu erkennen.

28. Das Potential des verwendeten Videosystems wird hier bei der Durchfokussierung durch eine Seitenwurzel verdeutlicht. Im Syncytium eines jungen Weibchens, das sich nun nach partieller Zellwandauflösung über mehrere Zellagen erstreckt, wird, wie in Einzelzellen, eine geordnete Cytoplasmastromung aufrechterhalten.

29. Diese Einstellung ist in Abb. 6 G wiedergegeben. Die Organellen des am Zellwandfragment (Zwf) vorbeiströmenden Cytoplasmas gelangen nie in die mit Pfeilen markierte modifizierte Cytoplasmazone.

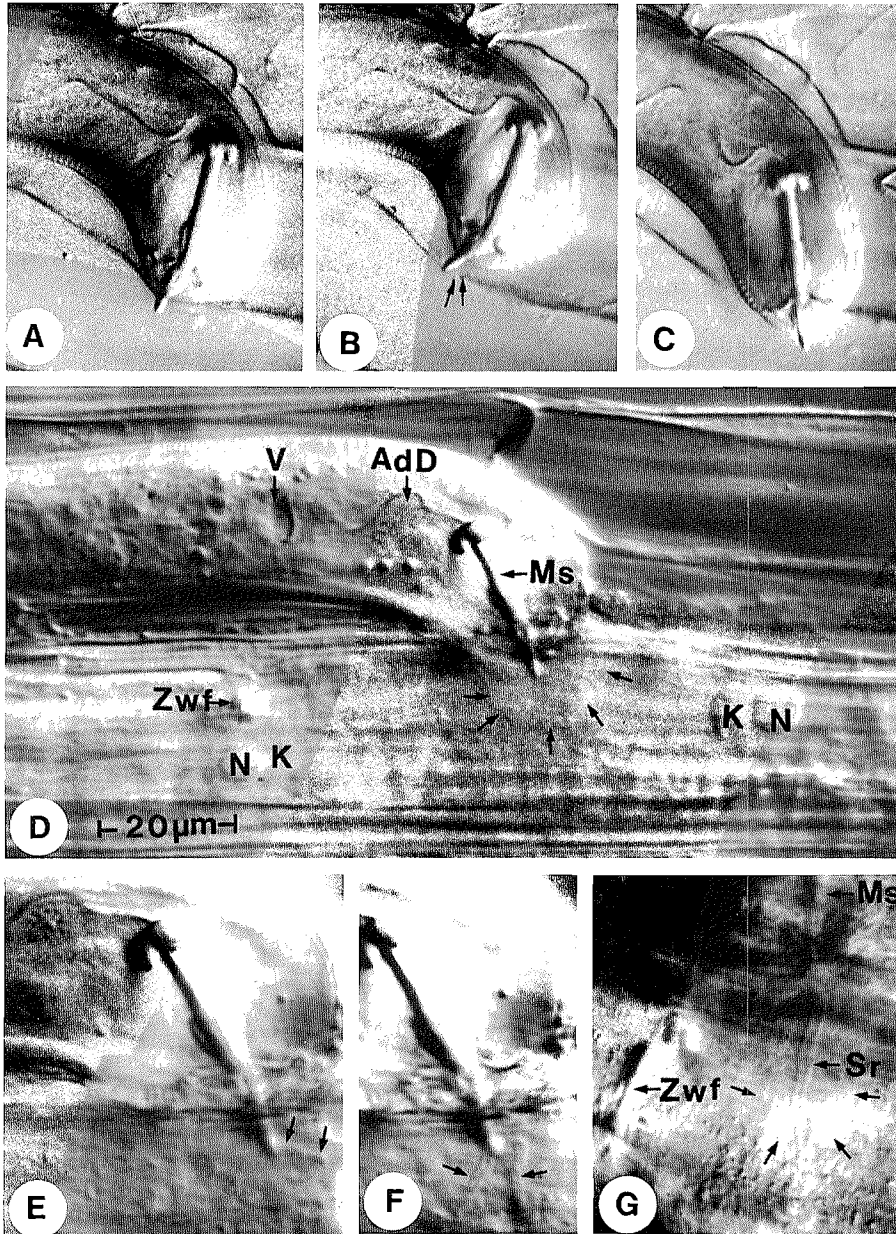


Abb. 6. Aufnahmen aus verschiedenen Sequenzen des Films. A–C: Sequenz 4; D: Sequenz 6; E: Sequenz 22; F: Sequenz 23; G: Sequenz 29. (Erläuterungen im Text)

Innerhalb dieser Zone befindet sich das Saugröhrchen (Sr) eines präadulten Weibchens; Ms: Teil des Mundstachels, der hier nur schwer zu erkennen ist.

31. Die hier gezeigte Defaekation eines jungen Weibchens und die damit verbundene Schrumpfung des Körpervolumens soll verdeutlichen, daß die in Film C 1387 (MÜLLER et al. [14]) bei Zeitraffung dargestellten abrupten Körperschrumpfungen in der Tat bei der Defaekation eintreten. Aus dem Anus wird offensichtlich nur Flüssigkeit ausgeschieden. Nach Analysen der Videoaufzeichnungen (WYSS und ZUNKE [11], [12]) erfolgt die Defaekation (zumindest bei den L2-Larven) jeweils einige Minuten nach Beginn der Phase I (kontinuierliche Nahrungsaufnahme).

Wortlaut des gesprochenen Kommentars¹

1. Zwei Infektionslarven von *Heterodera schachtii* suchen die Oberfläche einer Rapswurzel ab, um eine Eindringstelle zu finden.

Objektfeldbreite 1 mm

2. Mit kräftigen Stachelstößen versucht die Larve eine Rhizodermiszelle anzustechen.

Objektfeldbreite 80 µm

3. Inzwischen ist die Larve bis zur dritten Zellschicht des Rindengewebes vorgedrungen. Die Fahraufnahme zeigt zunächst die mit Speichelgranula prall gefüllten Gänge der beiden subventralen Drüsenzellen im Ösophagus, dann den Kern der dorsalen Drüsenzelle und nun den vorderen und den hinteren Kern der subventralen Drüsenzellen.

Objektfeldbreite 70 µm

4. In einem charakteristischen Muster stößt der Mundstachel gegen die Zellwand und durchsticht sie.

Dabei ist ein Schlitz entstanden, durch den die Larve in die nächste Zelle vordringt.

Objektfeldbreite 70 µm

5. Nahe dem Zentralzylinder wird die Larve ihr Nährzellensystem induzieren.

Objektfeldbreite 80 µm

6. In starker Zeitraffung die Nahrungsaufnahme der Larve einen Tag nach der Induktion. Während der Mundstachel zurückgezogen ist, wird Speichel in den Darm abgegeben. Leichte Stachelstöße verhindern, daß der Zugang zur primären Nährzelle verstopft. Mit vorgeschobenem Mundstachel gibt die Larve Speichel in die Zelle ab. Danach nimmt sie erneut Nahrung aus der Nährzelle auf. Die Strömungsaktivität der infizierten Zelle ist erhöht.

Objektfeldbreite 100 µm; Aufn.-Freq. 8 B/min

7. Alle folgenden Vorgänge laufen mit normaler Geschwindigkeit ab. Hier schiebt sich der Mundstachel vorsichtig in die primäre Nährzelle. Unmittelbar danach wird Speichel aus der dorsalen Drüsenzelle abgegeben.

Objektfeldbreite 70 µm

8. Hinter den Stachelknöpfen ist die Ampulle des Drüsenganges zu erkennen, die bereits dicht mit Speichelgranula gefüllt ist.

Objektfeldbreite 40 µm

¹ Die eingerückten Zeilen in Kleindruck geben zusätzliche Informationen.

9. Wenn die Nahrungsaufnahme wieder beginnt, sind nur noch wenige Granula in der Ampulle. Die Speichelgranula werden im Vorfeld der trichterförmigen Ausmündung, des sog. Endapparates, verflüssigt.

Objektfeldbreite 40 μm

10. Bei der Nahrungsaufnahme ist der Pumpapparat, der Mittelbulbus des Ösophagus, stets aktiv. Links im Bild der hochaktive Kern der dorsalen Drüsenzelle. Die von ihr gebildeten Speichelgranula stauen sich hinter dem Bulbus an.

Objektfeldbreite 40 μm

11. Sobald die Nahrungsaufnahme beendet ist, fließen Granula der dorsalen Drüsenzelle durch einen Gang nach vorne.

Objektfeldbreite 40 μm

12. In der Zwischenzeit hat sich der Endapparat der subventralen Drüsen mit verflüssigtem Speichel gefüllt. Muskeln schließen sich am Vorderende des Mittelbulbus. Durch sporadische Pumpbewegungen entleert sich der Endapparat. Dadurch wird Speichel offenbar in Richtung Darm befördert.

Objektfeldbreite 40 μm

13. Eine Wiederholung. Diese Vorgänge laufen mehrmals ab, solange der Mundstachel zurückgezogen ist.

Objektfeldbreite 40 μm

14. Während Speichel in die Nährzelle abgegeben wird, fließen Granula der dorsalen Drüsenzelle ungehindert durch den Drüsengang nach vorn. Der Speichelfluß dauert etwa eine halbe Stunde an.

Objektfeldbreite 40 μm

15. In dieser Zeit hat sich vor dem Bulbus eine Vakuole gebildet.

Objektfeldbreite 40 μm

16. Mit eintretender Pumpfähigkeit beginnt die kontinuierliche Nahrungsaufnahme, die etwa eine Stunde anhält. Dabei baut sich die Vakuole in kurzer Zeit ab.

Objektfeldbreite 40 μm

17. Für die Nahrungsaufnahme benötigen die Nematoden modifiziertes Cytoplasma, das sich um die Stachelspitze herum ansammelt und in die Plasmaströmung nicht einbezogen ist.

Objektfeldbreite 70 μm

18. Bei stärkerer Vergrößerung wird innerhalb der ruhenden Cytoplasmazone ein Röhrchen sichtbar, hier in gewellter Form, welches während der Speichelabgabe gebildet und für die darauffolgende Nahrungsaufnahme benutzt wird.

Objektfeldbreite 40 μm

19. Eine elektronenmikroskopische Aufnahme des modifizierten Cytoplasmas zeigt, daß die Zone rund um die Stachelspitze frei von Organellen ist.

20. In diesem Dünnschnitt ist in Bildmitte ein gerade entstandenes Röhrchen getroffen, das aus der Mundstachelöffnung herausgeflossen ist.

21. Zwischen der Öffnung des Mundstachels und dem sichtbaren Röhrchen wird sich ein Röhrenabschnitt neu bilden.

Er ist wenige Mikrometer lang.

Objektfeldbreite 40 μm

22. Bei der Nahrungsaufnahme verbleibt das Röhrchen in Kontakt mit der Mundstachelöffnung.

Objektfeldbreite 40 μm

23. In jeder Periode der Speichelabgabe wird ein neues Röhrchen gebildet. Beim Durchfokussieren sind deshalb mehrere Röhrchen innerhalb der ruhenden modifizierten Cytoplasmazone zu erkennen.

Objektfeldbreite 40 μm

24. Außerhalb des ruhenden Cytoplasmas ist die Stoffwechselaktivität der Nährzelle stark erhöht. Hier eine Nährzelle mit vergrößertem Kern und großem Nucleolus zwei Tage nach ihrer Induktion.

Objektfeldbreite 40 μm

25. Bei gleicher Vergrößerung der Kern einer unmittelbar benachbarten Zelle, deren Stoffwechselaktivität vom Nematoden noch nicht beeinflusst ist.

Objektfeldbreite 40 μm

26. Ca. zwei Tage nach der Induktion sind die Wände benachbarter Zellen partiell aufgelöst. Damit ist ein Nährzellensystem entstanden.

Objektfeldbreite 40 μm

27. Es folgt eine Fahraufnahme über das gesamte Nährzellensystem etwa drei Tage nach der Induktion. Hier, am oberen Bildrand, der Mittelbulbus des Nematoden bei der Pumpfähigkeit; die Aggregation des Cytoplasmas im Bereich der modifizierten Zone; einer der stark vergrößerten Zellkerne. Das Nährzellensystem ist jetzt etwa 300 μm lang.

Objektfeldbreite 70 μm

28. Von der Wurzeloberfläche aus geht der Fokus langsam tiefer durch die Rindenzellen. Mit dem verwendeten Videosystem läßt sich auch das Nährzellensystem innerhalb des Zentralzylinders gut darstellen. Es befindet sich nun in einem späten Entwicklungsstadium und erstreckt sich über mehrere Zellagen. Es ist dicht mit Cytoplasma gefüllt. An einigen Stellen fließt Cytoplasma durch partiell aufgelöste Zellwände hindurch.

Objektfeldbreite 40 μm

29. Der Nematode, links im Bild, entnimmt weiterhin über ein Röhrchen Nahrung aus der modifizierten Cytoplasmazone. Rechts unten das Fragment einer Zellwand.

Objektfeldbreite 70 μm

30. Ein Ausschnitt bei stärkerer Vergrößerung.

Objektfeldbreite 40 μm

31. Defaecation eines jungen Weibchens. Im Inneren des Körperendes ist der angeschwollene Endabschnitt des Darms zu erkennen, der nun durch Bewegungen der Anusmuskeln entleert wird. Dabei schrumpft das Körpervolumen.

Dieser Vorgang leitet die kontinuierliche Nahrungsaufnahme jeweils ein.

Objektfeldbreite 80 μm

32. Nach ca. 2 Wochen ist ein Weibchen ausgewachsen. Im Inneren der Wurzel liegt das langgestreckte Nährzellensystem, welches das Weibchen noch weiter mit Nahrung versorgt.

Objektfeldbreite 1 mm

English Version of the Spoken Commentary

1. Two infective second-stage juveniles of *Heterodera schachtii* explore the surface of a rape-seed root for an invasion site.
2. An infective juvenile attempts to perforate the wall of an epidermal cell with vigorous stylet thrusts.
3. The juvenile has now reached the third cell layer of the cortical tissue. In the following shot the ducts of the two subventral oesophageal glands are first seen. They are packed with secretory granules. This is the nucleus of the dorsal gland, and these are the nuclei of the two subventral glands.
4. We see here the characteristic pattern of stylet thrusts with which the juvenile perforates the cell wall during migration inside the root.
A slit is made through which the nematode enters the neighbouring cell.
5. Near the vascular cylinder the juvenile will induce and maintain its permanent nurse cell system.
6. Food withdrawal by the juvenile is shown much accelerated one day after nurse cell induction. When the stylet is retracted, secretory fluids are passed into the intestine. Stylet movements prevent the blockage of the access to the initial nurse cell. When the stylet is reinserted, secretory fluids are released into it. This is again followed by food withdrawal.
7. All following scenes are shown at normal speed. The stylet tip is here carefully reinserted into the initial nurse cell, just before secretory fluids from the dorsal gland are injected.
8. Behind the stylet knobs the ampulla of the dorsal gland duct is packed with secretory granules.
9. When food withdrawal is resumed, only a few granules are left within the ampulla. The cuticularized support arms of the valve within the ampulla are still expanded.
10. The median oesophageal bulb, the pumping organ, pulsates continuously during food withdrawal. To the left the highly active nucleus of the dorsal gland. Secretory granules gather behind the bulb.
11. As soon as the pumping action of the bulb ceases, secretory granules from the dorsal gland flow forward through the duct.
12. In the meantime the membrane-bound valve of the subventral glands has become filled by secretory fluids. Constraining muscles contract in front of the median bulb each time the bulb starts pumping. With sporadic bulb pulsations the contents of the valve are depleted.
Secretory fluids from the subventral glands are now obviously passed into the intestine.
13. A repetition. These processes occur several times as long as the stylet is retracted.
14. When secretory fluids are released into the initial nurse cell, the granules of the dorsal gland flow forward unimpeded through the gland duct. This stage usually lasts more than half an hour.
15. During this time a vacuole has been formed in front of the median bulb.
16. When the pump starts pumping, food is withdrawn continuously for more than half an hour from the nurse cell system. The vacuole disappears within a short time.
17. Food is withdrawn from a zone of modified resting cytoplasm that surrounds the stylet tip.

18. At higher magnification a slightly sinuous feeding tube becomes visible within this zone. The tube is formed when secretions from the dorsal gland are injected. It is used for subsequent food withdrawal.
19. In the electron microscope picture the zone of modified cytoplasm around the stylet tip is free from organelles.
20. In another electron microscope picture a newly formed feeding tube can be seen that has emanated from the stylet tip aperture.
21. Between the stylet tip and the visible tube a new feeding tube is being formed. It is now several microns long and has pushed aside the previously-formed tube.
22. During food withdrawal the tube remains connected to the stylet tip aperture.
23. A new tube is formed whenever secretory fluids are released through the stylet. During focussing several tubes therefore become visible within the zone of modified cytoplasm.
24. Outside this zone metabolic activity is much enhanced within the nurse cell system. Here a greatly enlarged nucleus and nucleolus, two days after nurse cell induction.
25. In comparison and at the same magnification, the nucleus of a neighbouring cell whose metabolic activity has not yet been influenced by the nematode.
26. About two days after nurse cell system induction, walls of neighbouring cells are partially dissolved.
27. The full extent of the nurse cell system is shown here about three days after its induction. Here at the top edge of the picture: the pulsating median bulb of the nematode. Now the aggregation of cytoplasm around the modified zone. Here one of the much enlarged nuclei. The nurse cell system is now about 300 microns long.
28. Starting from the root surface the focus is first directed through cortical cells. With the aid of the video system used, the nurse cell system at a later stage now becomes visible within the vascular cylinder. It comprises several cell layers and is filled with cytoplasm. At some spots cytoplasm can be seen to flow past partially dissolved cell walls.
29. At this stage the preadult female, whose head can be seen at the left, continues to remove fluids through the feeding tube from the zone of modified cytoplasm.
30. A section at a higher magnification.
31. Defaecation of a young female. The body volume, shown here at the hind end, shrinks rapidly when fluids are expelled through the anus. Defaecation occurs at the beginning of each period of continuous food withdrawal.
32. After about two weeks the female is adult. Within the root the much expanded nurse cell system is visible which will continue to supply the female with food.

Literatur

- [1] ALLEN, D.A., N.S. ALLEN, and J.L. TRAVIS: Video-enhanced contrast, differential interference contrast (AVEC-DIC) microscopy: A new method capable of analyzing microtubule-related motility in the reticulopodial network of *Allogromia laticollaris*. *Cell Motility* 1 (1981), 291–302.
- [2] DONCASTER, C.C., C.D. GREEN, and A.M. SHEPHERD: Behaviour of Heterodera species through the life cycle. *Film Brit. Film Inst.*, London 1968.

- [3] ENDO, B.Y.: Ultrastructure of the esophagus of larvae of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. Proc. helminth. Soc. Wash. 51 (1984), 1–24.
- [4] GRUNDLER, F., U. ZUNKE und U. WYSS: Untersuchungen zur Geschlechtsdetermination bei *Heterodera schachtii*. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft Berlin-Dahlem H. 223 (1984), 207.
- [5] MÜLLER, J.: Der Einfluß der Wirtspflanze auf die Geschlechtsdetermination bei *Heterodera schachtii*. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft Berlin-Dahlem H. 226 (1985), 46–60.
- [6] MÜLLER, J., K. REHBOCK and U. WYSS: Growth of *Heterodera schachtii* with remarks on amounts of food consumed. Revue Nématol. 4 (1981), 227–234.
- [7] RUMPENHORST, H.J.: Intracellular feeding tubes associated with sedentary plant parasitic nematodes. Nematologica 30 (1984), 77–85.
- [8] STENDER, C., H. LEHMANN und U. WYSS: Feinstrukturelle Untersuchungen zur Entwicklung von Wurzel-Riesenzellen (Syncytien) induziert durch den Rübenzystennematoden *Heterodera schachtii*. Flora 172 (1982), 223–233.
- [9] WYSS, U., C. STENDER, and H. LEHMANN: Ultrastructure of feeding sites of the cyst nematode *Heterodera schachtii* Schmidt in roots of susceptible and resistant *Raphanus sativus* L. var. *oleiformis* Pers. cultivars. Physiol. Pl. Pathol. 25 (1984), 21–37.
- [10] WYSS, U., and U. ZUNKE: In vitro feeding of root parasitic nematodes. In: ZUCKERMAN, B.M., MAI, W.F. & HARRISON, M.B. (Eds.): Plant Nematology Laboratory Manual. The University of Massachusetts Agr. Exp. Sta. Amherst, Massachusetts 1985, 91–96.
- [11] WYSS, U., und U. ZUNKE: The potential of high resolution video-enhanced contrast microscopy in nematological research. Revue Nématol. 9 (1986), 91–94.
- [12] WYSS, U., und U. ZUNKE: Observations on the behaviour of second stage juveniles of *Heterodera schachtii* inside host roots. Revue Nématol. 9 (1986), 153–165.
- [13] ZUNKE, U.: Zur Bildung der subkristallinen Schicht bei *Heterodera schachtii* unter aseptischen Bedingungen. Nematologica 31 (1985), 117–120.

Filmveröffentlichungen

- [14] MÜLLER, J., U. WYSS und INST. WISS. FILM: Entwicklung des Zystennematoden *Heterodera schachtii*. Film C 1387 des IWF, Göttingen 1980. Publikation von J. MÜLLER und U. WYSS, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 14, Nr. 10/C 1387 (1981), 20 S.
- [15] WYSS, U., J. MÜLLER und INST. WISS. FILM: Pflanzenschädigung durch sedentäre Wurzel-nematoden. Film C 1485 des IWF, Göttingen 1983.

Abbildungsnachweis

Abb. 1: F. GRUNDLER; Abb. 2–5: U. ZUNKE; Abb. 6: U. WYSS u. U. ZUNKE.

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Die internationale ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA (EC) wurde 1952 gegründet. Sie hat die Aufgabe, wissenschaftliche Film- und Videodokumente zu sammeln und für Forschung und Lehre nutzbar zu machen. Über die Aufnahme der Dokumente in die ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA entscheidet unter Vorsitz des Editors der Redaktionsausschuß, ein internationales Gremium von Wissenschaftlern und Fachleuten für den wissenschaftlichen Film. EC-Archive in aller Welt machen die ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA der internationalen Wissenschaft verfügbar.

The international ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA (EC), founded in 1952, has the task to collect scientific film and video documents, and to render them useful to research and teaching. Under the leadership of the editor the editorial board, an international committee of scientists and scientific film experts, decide about the acceptance of documents in order to make them available through EC-archives all over the world.

L'Encyclopédie internationale du film ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA (EC), fondée en 1952, a pour but de collectionner des documents scientifiques du film et de la vidéo et de les rendre utiles à la recherche et à l'enseignement. C'est sous la présidence de l'éditeur que le comité de rédaction, un cercle international de scientifiques et d'experts du film scientifique, décide l'acceptation des documents pour les rendre accessibles dans le monde entier par l'intermédiaire des archives de l'EC.