

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAPHICA

Editor: G. WOLF

E 2045/1974

Trichodorus similis (Nematoda)
Reaktion der Protoplasten von Wurzelhaaren
(*Nicotiana tabacum*) auf den Saugvorgang

Mit 2 Abbildungen

GÖTTINGEN 1974

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Trichodorus similis (Nematoda)
Reaktion der Protoplasten von Wurzelhaaren
(Nicotiana tabacum) auf den Saugvorgang

U. Wyss, Hannover

Allgemeine Vorbemerkungen¹

Innerhalb der Klasse Nematoda sind z. Zt. nur vier Gattungen der Unterklasse Aphasmidia als phytopathogen bekannt. Sie gehören alle zur Gruppe der wandernden Wurzelnematoden mit ektoparasitischer Lebensweise. Von diesen vier, der Ordnung Dorylaimida zugehörten Gattungen, erlangten drei besondere Bedeutung, seit 1958 und 1961 erstmals der Nachweis erbracht wurde, daß sie zur Übertragung pflanzenpathogener Viren befähigt sind. Bis heute wurde dieser kleine Kreis virusübertragender Nematoden durch keine andere Nematodengattung erweitert.

Die der Familie Longidoridae zugeordneten Gattungen *Longidorus* und *Xiphinema* können nur isometrische Viren übertragen, zu denen u. a. das Himbeerringflecken- und Arabis-Mosaik-Virus gehören. Beide Gattungen sind mit einem langen Mundstachel von meist über 90 µm Länge ausgestattet, mit dem sie tief in das Wurzelgewebe vordringen und sogar, je nach Durchmesser der Wurzel, direkt den Zentralzylinder besaugen können. Die Nahrung wird dabei durch das den Stachel durchziehende Stachellumen aufgenommen. Die Saugzeit an einer Parasitierungsstelle kann mehrere Stunden dauern.

Die Gattung *Trichodorus* Cobb 1913 gehört zur Familie Trichodoridae der Überfamilie Diphtherophoroidea und besitzt, als eines der charakteristischen Merkmale, einen gebogenen, lumenlosen Mundstachel. Arten dieser Gattung sind, soweit bekannt, nur zur Übertragung stäbchenförmiger Viren befähigt. Die infektiösen Partikel der von ihnen übertragenden Viren sind ca. 180 nm (Tabakrattle-Virus) bzw. ca. 210 nm (Virus der Frühen Bräune der Erbse) lang. Im Gegensatz zu Arten der Familie

¹ Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 18 u. 19.

Longidoridae, besaugen *Trichodorus* spp. in der Regel nur Rhizodermiszellen und Wurzelhaare, und sie halten sich auch nur wenige Minuten an einer Saugstelle auf (s. WYSS [17]).

Die Lokalisation des Tabakrattle-Virus im Nematodenkörper wurde von TAYLOR u. ROBERTSON [12] erstmals für die Art *Trichodorus pachydermus* nachgewiesen. Nach ihren Ergebnissen sind die Partikel dieses Virus dem gesamten Pharynx- und Ösophaguslumen entlang angelagert und dort vermutlich selektiv an der kutikularisierten Auskleidung der Lumina adsorbiert. Speichel wird in den Drüsenzellen im muskulösen Basalbulbus des Ösophagus synthetisiert und mündet durch Drüsengänge in diesem Bereich in das Ösophaguslumen. Es wird angenommen, daß der nach dem Anstich einer Wurzelzelle nach vorne fließende Speichel die Partikel von den Adsorptionsstellen löst und sie dann in die Zelle hineintransportiert.

Für die in diesem Film dargestellte Art *Trichodorus similis* wurde die Übertragung des Tabakrattle-Virus durch CREMER u. KOOISTRA [2] und CREMER u. SCHENK [3] nachgewiesen und später durch VAN HOOFF [13], [14] bestätigt. *T. similis* ist in den Sandböden Niedersachsens recht häufig anzutreffen (WYSS [16]; SYMALLA [11]) und läßt sich nach eigener Erfahrung besser an Sämlingswurzeln verschiedener Wirtspflanzen in Agarkultur halten, als andere in der BRD vorkommende *Trichodorus*-Arten. Aus diesem Grunde wurden bereits 1971 Untersuchungen über den Mechanismus der Nahrungsaufnahme auf diese Art konzentriert (WYSS [18], [21]). Die Ergebnisse der damals an Sämlingswurzeln von *Brassica rapa* var. *silvestris* vorgenommenen Beobachtungen und Filmaufnahmen sind nachstehend zusammengefaßt.

Der Saugvorgang bei *Trichodorus similis*

Ein vollständiger Saugvorgang setzt sich aus fünf Phasen zusammen und dauert an Rhizodermiszellen und Wurzelhaaren von *B. rapa* var. *silvestris* durchschnittlich 3 Minuten und 07 Sekunden ($n = 30$). Bei der ersten Phase, dem Abtasten, werden die Lippen auf die Zellwand aufgepreßt und mehrmals hin- und herbewegt, bis eine geeignete Saugstelle gefunden wurde und somit die zweite Phase, das Anstechen der Zellwand, einsetzen kann. Die vor dem Anstich noch hinter der Mundöffnung liegende Mundhöhlenwand wird vorgezogen und auf die Zellwand aufgedrückt. Dann setzen, durch Kontraktionen der Pharynxmuskulatur, sofort sehr schnelle und regelmäßige Stachelstöße mit einer Frequenz von 4—8 Stößen pro Sekunde ein. Die Frequenz der Muskelkontraktionen nimmt allmählich ab. Nach der Perforation der Zellwand werden noch durchschnittlich zwei Stachelstöße pro Sekunde ausgeführt.

In der dritten Phase, als Speichelabgabe bezeichnet, wird das Cytoplasma der Zelle gerichtet zur Einstichstelle gezogen. Entgegen früheren Beob-

achtungen (s. Wyss [18]) wird Speichel in der angestochenen Zelle nicht sichtbar. Die Abgabe eines granulären Speicheltropfens wurde durch die starke Lichtbrechung des sich plötzlich an der Einstichstelle anreichern- den Cytoplasmas vorgetäuscht. Auch CHEN u. MAI [1], vermutlich auf ähnliche Weise irreführt, berichten, daß *Trichodorus christiei* eine viskose Substanz in die Zelle abgibt. Die Entstehung eines Saugrohres entlang der Mundhöhlenwand, das bei tief geführten Stachelstößen in bereits besaugte Zellen ohne Cytoplasmabelag dem Mundstachel entlang in die Zelle hineinwächst (s. Wyss [21]), deutet jedoch auf die Abgabe von Speichel. Während dieser dritten und längsten Saugphase, die durchschnittlich 59% der gesamten Saugzeit beträgt, wird der Mundstachel weiterhin kontinuierlich, doch nur gegen 2 μm tief in die Zelle vorgeschoben. Mit zunehmender Dauer der Cytoplasmaansammlung verlangsamt sich der Stechrhythmus des Stachels auf annähernd einen Stoß pro Sekunde.

Synchron mit den Kontraktionen der Pharynxmuskulatur kontrahieren sich auch die Muskeln im Basalbulbus des Ösophagus. Es ist anzunehmen, daß der Speichelfluß auf seinem Weg vom Ort der Synthese im Basalbulbus des Ösophagus bis zur Zelle durch die jeweils wechselseitigen Druckverhältnisse im Ösophagus- bzw. Pharynxlumen unterstützt wird. Druckänderungen im Pharynxlumen sind durch die Pharynxwandung bedingt, die dorsal und lateral mit dem Mundstachel verwachsen ist und somit bei jedem Stachelstoß als Falte mitgezogen wird. Entsprechend wird das Pharynxlumen beim Vorschieben des Stachels verengt und beim Zurückschnellen des Stachels erweitert.

Die eigentliche Nahrungsaufnahme ist auf die vierte Phase beschränkt, die im Durchschnitt nur 17% der gesamten Saugzeit beträgt. Sie wird eingeleitet durch wenige langsame Stachelstöße, die tief in die inzwischen stark angereicherte und zähflüssiger erscheinende Cytoplasmamasse vordringen. Dann wird bei jedem Zurückschnellen des Stachels ein großer Teil der Cytoplasmaanreicherung in das Pharynxlumen gezogen. Die Nahrung gelangt von dort beim nächsten Vorschieben des Stachels in das Ösophaguslumen und wird schließlich beim erneuten Zurückschnellen des Stachels und gleichzeitiger Erschlaffung der Ösophagusmuskulatur in den Darm gepreßt. Die Frequenz der Stachelstöße erhöht sich während der Nahrungsaufnahme auf ca. 2 Stöße pro Sekunde. Die Cytoplasmaansammlung wird häufig vollständig aufgesaugt.

In der letzten Phase, beim Verlassen der Saugstelle, wird zuerst der Mundstachel aus der Zelle herausgezogen. Dann trennt sich der Kopf des Nematoden, oft mit erheblicher Anstrengung verbunden, von dem der Mundhöhlenwand entlang gebildeten und ca. 4 μm langen Saugrohr, das fest in der Stichöffnung der Zellwand verankert bleibt.

Gleichartige Beobachtungen über den Saugvorgang an Rhizodermiszellen und Wurzelhaaren wurden später auch an Sämlingswurzeln von

Nicotiana tabacum „Samsun“ vorgenommen. Ein wesentlicher Unterschied zum Saugvorgang an *B.rapa* var. *silvestris* wurde nicht festgestellt. Der Anstich betrug im Schnitt 11%, die Speichelabgabe 69% und die Nahrungsaufnahme 20% der durchschnittlichen Saugzeit von 3 Minuten und 25 Sekunden (n = 30).

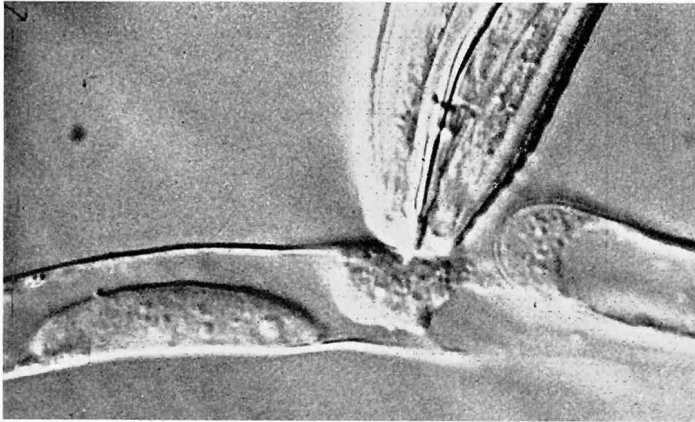
Die Reaktion des Protoplasten in besaugten Rhizodermiszellen und Wurzelhaaren

Die pathogene Einwirkung von *Trichodorus*-Arten (überwiegend *T.similis*) auf Sämlingswurzeln verschiedener Pflanzenarten (*Brassica rapa* var. *silvestris*; *Fragaria vesca* var. *semperflorens* und *Nicotiana tabacum* „Samsun“) in steriler Agarkultur äußerte sich bei einem Massenangriff der Nematoden auf die Wurzelspitze in einer oft irreversiblen Blockierung der apikalen Meristemaktivität. Die besaugten Rhizodermiszellen verbräunten, und aus ihnen gingen keine Wurzelhaare hervor (WYSS [17]).

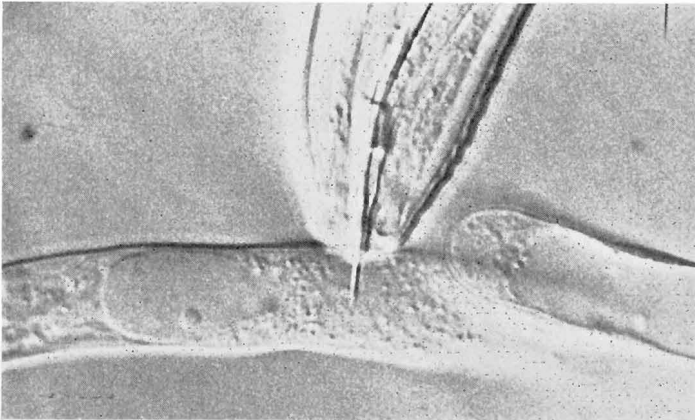
Beobachtungen bei starker Vergrößerung zeigten, daß das Cytoplasma in besaugten Zellen der oben angeführten Pflanzenarten koaguliert. Die Zelle wird somit abgetötet. Diese Feststellung widerspricht der Auffassung von DROPKIN [4], nach der virusübertragende Nematoden die von ihnen besaugten Zellen wenig schädigen. CHEN u. MAI [1] berichten, daß in isolierten Maiswurzeln die Cytoplasmaströmung nach einer Parasitierung durch *Trichodorus christiei* nicht eingestellt wurde. Nach weiteren Literaturangaben zu schließen, scheinen ganz allgemein die Rhizodermisssauger unter den wurzelparasitären Nematoden die parasitierte Zelle nicht wesentlich zu beeinträchtigen. So blieb z.B. ein von *Tylenchorhynchus dubius* besaugtes Wurzelhaar von *Lolium perenne* auch nach dem Abwandern des Nematoden unversehrt (KLINKENBERG [6]). Nach eigenen Beobachtungen wird hingegen in Rhizodermiszellen und Wurzelhaaren von *B.rapa* var. *silvestris* die Rotationsströmung des Cytoplasmas durch die Saugtätigkeit der gleichen Nematodenart verlangsamt und schließlich durch die allmählich fortschreitende Koagulation des Cytoplasmas eingestellt. Andererseits wurde die Cytoplasmaströmung in Rhizodermiszellen von *Nicotiana tabacum* auch dann fortgesetzt, wenn die Zellen oft tagelang ununterbrochen durch *Paratylenchus projectus* besaugt wurden (RHOADES u. LINFORD [9]).

Nicotiana tabacum ist ein guter Wirt für *Trichodorus similis* und gleichfalls ein guter Wirt des Tabakrattle-Virus. Die Pflanze wird leicht systemisch infiziert und somit häufig für den Nachweis infektiöser Nematoden im Boden verwendet. Wie bereits erwähnt, werden durch *T.similis* besaugte Rhizodermiszellen und Wurzelhaare von *N.tabacum* durch die Koagulation des Cytoplasmas abgetötet. Vorausgesetzt, die Cytoplasma-rotation ist das einzige Transportmittel, das injizierte Viren zu den

Plasmodesmen und damit zu nicht direkt besaugten, tieferliegenden Zellen befördert, dann muß der offensichtlich stattfindende Weitertransport des Virus an bestimmte Bedingungen gebunden sein. Eine Weitergabe kann oft stattfinden, wenn das die Viruspartikel forttragende Cytoplasma nicht mehr zur Einstichstelle zurückgezogen wird. Fällt



a



b

Abb. 1. *Trichodorus similis*, an einem Wurzelhaar von *Nicotiana tabacum* saugend.

a: Anreicherung des Cytoplasmas an der Einstichstelle; 25 Sekunden nach dem Durchstechen der Zellwand.

b: Unmittelbar vor der Nahrungsaufnahme werden tiefe Stachelstöße in die angereicherte Cytoplasmamasse geführt; 109 Sekunden nach dem Durchstechen der Zellwand. Der Zellkern erscheint optisch leer

(Vergrößerung: 1100 fach; Einzelbilder aus dem Film)

diese Möglichkeit aus, so kommt es nur dann zu einem Weitertransport, wenn der Saugprozeß abrupt abgebrochen wird, kurz nachdem der Mundstachel die Zellwand durchbohrt hat. Es zeigte sich nämlich, daß unter diesen, relativ seltenen Umständen, die Rotationsströmung des Cytoplasmas in den angestochenen Zellen nicht unterbunden wird.

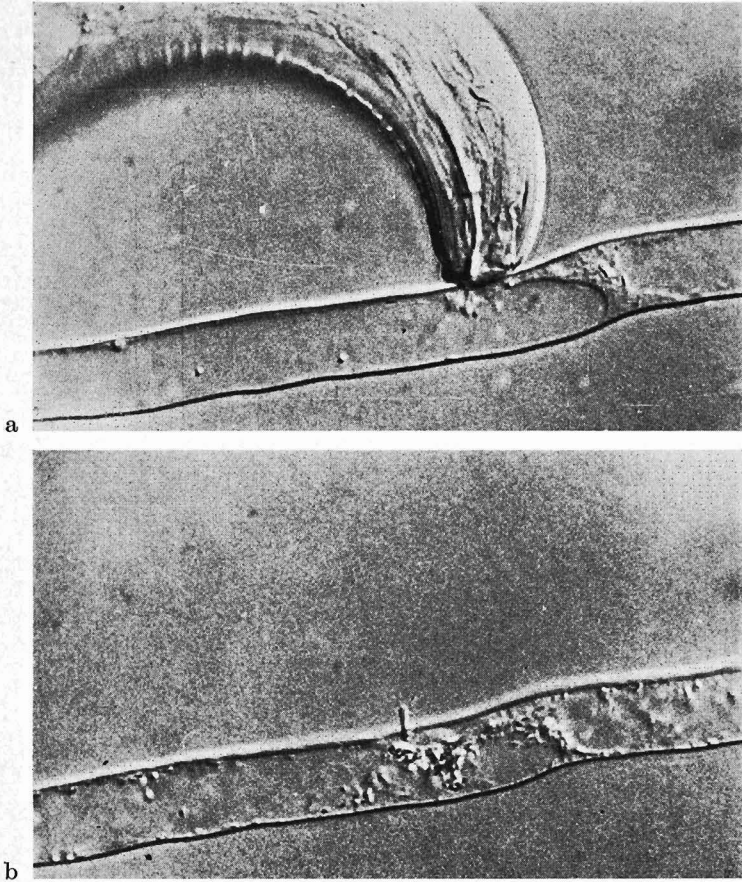


Abb. 2. *Trichodorus similis*, kurz vor und nach dem Verlassen der Saugstelle.

a: Die angereicherte Cytoplasmamasse wurde beinahe vollständig aufgesaugt. Es werden noch einige Stachelstöße in den viskosen Plasmarest geführt.

b: Ca. 2 Minuten nach dem Abwandern des Nematoden. Ein Saugrohr bleibt in der Stichöffnung der Zellwand verankert. Das Cytoplasma ist koaguliert

(Vergrößerung: 900 fach; Einzelbilder aus dem Film)

Bei einem kompletten Saugprozeß äußert sich die Reaktion des Protoplasten in von *T. similis* besaugten Rhizodermiszellen und Wurzelhaaren von *Nicotiana tabacum* wie folgt:

Beim Anstechen der Zellwand wird die Rotationsströmung des Cytoplasmas in den Zellen noch nicht beeinträchtigt. Wenige Sekunden nachdem der Mundstachel des Nematoden die Zellwand durchstoßen hat, häuft sich jedoch das Cytoplasma an der Einstichstelle an (Abb. 1 a). Es wird gerichtet, auch von der gegenüberliegenden Zellwand, dorthin gezogen. Die sich anreichernde Cytoplasmamasse kann, je nach Dauer der als Speichelabgabe bezeichneten Saugphase, beträchtlichen Umfang erreichen. In Wurzelhaaren dehnt sie sich häufig über 30 μm links und rechts von der Einstichstelle aus. Die Stachelspitze wird während der Cytoplasmaansammlung fortlaufend ca. 2 μm tief in die Zelle vorgeschoben. Sie ist nach dem Durchstechen der Zellwand deutlich erkennbar, wird aber später durch die stark lichtbrechende Cytoplasmamasse verdeckt. Oft entstehen in Wurzelhaaren aus der langen Schlauchvakuole kleinere Zellsaftkugeln, die nur durch ihre Membran voneinander getrennt sind.

Befindet sich der Zellkern in der Nähe der Stichwunde, so wird er, auch wenn er noch 50 μm von ihr entfernt liegt, zusammen mit dem Cytoplasma zur Einstichstelle gezogen. Der zunächst noch feinkörnig strukturierte Kern (Abb. 1 a) quillt und verliert schnell sein Lichtbrechungsvermögen. In weniger als zwei Minuten nach dem Anstich der Zelle erscheint er bereits optisch leer (Abb. 1 b). Der nun stark lichtbrechende Nukleolus, der selbst keine Volumenveränderung erfährt, bewegt sich durch Brownsche Molekularbewegung in der verflüssigten Karyolymphe. Gelangt der Kern direkt unter die Einstichstelle, so wird die Kernmembran durch die zu Beginn der Nahrungsaufnahme tief in die Zelle vordringende Stachelspitze durchstoßen. Beim Aufsaugen der Nahrung werden dann zusammen mit dem Cytoplasma auch Kerninhalt und Kernmembran aufgenommen.

Ogleich während der Cytoplasmaansammlung Mundstachelstöße kontinuierlich fortgesetzt werden, gelangt beim Zurückschnellen des Stachels noch keine Nahrung in das Pharynxlumen. Die Nahrungsaufnahme wird, wie bereits beschrieben, stets durch tief in die inzwischen zähflüssiger erscheinende Cytoplasmamasse geführte Stachelstöße eingeleitet. Dann wird beim Zurückschnellen des Stachels ein großer Teil des angereicherten Cytoplasmas aufgesaugt. Zellsaftkugeln, die beim Zusammenschrumpfen der Cytoplasmamasse zur Einstichstelle gelangen, werden einzeln durchstoßen. Somit wird zusammen mit dem Cytoplasma auch Zellsaft aufgenommen. Dringt jedoch die Stachelspitze nach dem Aufsaugen des Cytoplasmas in die eigentliche Schlauchvakuole der Wurzelhaare, so wird die Saugtätigkeit nach wenigen Stachelstößen abgebrochen. Nicht aufgenommenes Cytoplasma im Bereich der Saugstelle ist häufig so viskos, daß es nicht mehr aufgesaugt wird. In Wurzelhaaren

bleibt dann zwischen den Zellwänden eine schmale Plasmabrücke erhalten (Abb. 2a).

Nachdem der Nematode die Saugstelle verlassen hat, bleibt das an der Mundhöhlenwand gebildete Saugrohr in der Stichöffnung der Zellwand zurück (Abb. 2b). An der Einstichstelle verbliebenes Cytoplasma koaguliert sehr schnell. Zelleinschlüsse, die sich in der Flüssigkeit zwischen dem erstarrten Plasma befinden, werden hingegen noch lange Zeit, bis zu mehreren Stunden, in agitierter Bewegung erhalten, bis auch sie schließlich agglutinieren.

In noch jungen Wurzelhaaren wird auch nach Abbruch der Nahrungsaufnahme übriggebliebenes Cytoplasma gerichtet zur Einstichstelle gezogen, wo es später erstarrt.

Häufig ist zu beobachten, daß der Zellkern in an der Basis besaugten Wurzelhaaren an feinen Cytoplasmafäden zur Parasitierungsstelle gezogen wird. Er quillt auf seiner „Wanderung“ und wird optisch leer. Solange der Kern vom erstarrenden Cytoplasma nicht eingedrückt wird, bleibt die Quellung irreversibel. Die Kernmembran wird nicht aufgelöst.

Untersuchungen an Semidünnschnitten von parasitierten Tabak-Wurzelabschnitten zeigten, daß sich die pathogene Einwirkung von *T. similis*, erkennbar am hypertrophierten Zellkern mit koaguliertem Inhalt, nicht allein auf besaugte Rhizodermiszellen, sondern auch auf die unmittelbar darunterliegende Zellschicht erstrecken kann. Kollabieren diese Zellen unter einem massiven Angriff mehrerer Nematoden, so können auch Rindenzellen durch tiefe Stachelstöße, um die sich ein Saugrohr bildet, direkt besaugt werden.

Es ist noch ungewiß, ob die beobachtete Reaktion des Protoplasten auf die mechanische Verletzung der Zelle oder injizierten Speichel oder auf eine Kombination beider Faktoren zurückzuführen ist. Eine traumotaktische Wanderung des Cytoplasmas zur Wundstelle in Pflanzenzellen ist aus mehreren Literaturangaben bekannt (s. KÜSTER [7]); die Anhäufung des Cytoplasmas kann dabei reversibel oder irreversibel sein. Das Anstechen der Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica* verursacht nur an der Stichstelle eine Koagulation des Cytoplasmas, dessen Strömung sonst nicht beeinflußt wird (WADA [15]). Auch in Wurzelhaaren von *Limnobium spongia* führt nach KERR [5] die mikrurgische Verletzung zu keiner Beeinträchtigung der Cytoplasmastromung. In der *Nitella*-Zelle koaguliert hingegen das durch eine Mikronadel angestochene Cytoplasma irreversibel (PÉTERFI u. YAMAHA [8]).

Eigene Bemühungen, die zarten und flexiblen Wurzelhaare von *N. tabacum* mit einer feinen Nadel so anzustechen, daß dabei der Zellinhalt nicht herausfließt, gelangen nur sehr selten¹. Es zeigte sich aber bei den weni-

¹ Herrn Prof. Dr. L. HOFMEISTER, Botanisches Institut der Universität Wien, sei an dieser Stelle für die Einführung in die mikrurgische Arbeitsmethodik gedankt.

gen erfolgreichen Versuchen, daß das Cytoplasma sich zunächst an der eingedrungenen Nadelspitze anstaut, doch dann an ihr vorbeiströmt. Nach RHOADES u. LINFORD [9] wird in Rhizodermiszellen von *N.tabacum* die Cytoplasmaströmung durch die Saugtätigkeit von *Paratylenchus projectus*, einer ektoparasitisch lebenden Nematodenart, trotz des tief vorgeschobenen Mundstachels nicht gestört. Die Strömung wird auch nach dem Abbruch der Nahrungsaufnahme normal fortgesetzt.

In den großen und leicht anstechbaren Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* führt eine noch so grobe Stichwunde zu keiner sich über die ganze Zelle ausbreitenden Koagulation des Cytoplasmas. Die Wasserpflanze läßt sich in Wasseragar kultivieren, doch die an sie gesetzten Nematoden (*T.similis*) versuchten nicht, die Wurzelhaare anzustechen und zu besaugen. Ein Vergleich zur Reaktion des Protoplasten auf die Saugtätigkeit des Nematoden konnte somit nicht gewonnen werden. Es ist anzunehmen, daß sie sich anders äußert, als bei der nur mechanischen Verletzung.

Traumatotaxis des Zellkerns in Pflanzenzellen ist bekannt. Weiterhin steht fest, daß der Kern auch durch einen mechanischen Reiz in den optisch leeren Solzustand übergehen kann (s. u. a. STRUGGER [10]; YAMAHA u. ISHII [20]). Diese Reaktion ist reversibel, wobei der Kern von *Vicia faba* innerhalb weniger Sekunden (YAMAHA u. ISHII [20]) die ursprüngliche feinkörnige Struktur zurückgewinnt. Der in Staubfadenhaaren von *Tradescantia virginica* mit einer Nadel angestochene Zellkern quillt und unterliegt ebenfalls einer reversiblen Gel-Sol-Umwandlung (WADA [15]). In von *T.similis* besaugten *N.tabacum*-Rhizodermiszellen und Wurzelhaaren sind, nach Semidünnschnitten zu schließen, die Hypertrophie des Zellkerns und die Koagulation seines Inhalts irreversibel.

Methodik

Die Beobachtungskammern für die Filmaufnahmen unter Ölimmersion wurden wie folgt hergestellt:

In Plastikschalen von 90 mm \varnothing wurde ein rundes, ca. 0,1 mm dickes Deckglas von 80 mm \varnothing aufgelegt. Über dieses Deckglas wurde dann 0,8%iger Aqua dest.-Agar gegossen, so daß die Schichtdicke des Agars ca. 1 mm betrug. Danach wurden jeweils drei *N.tabacum* „Samsun“-Sämlinge aus steriler Agarkultur (s. Wyss [17]) auf den erhärteten Agar aufgelegt und einige Tropfen Hoagland-Nährlösung auf die Sämlingswurzeln pipettiert. Die Schalen wurden unter Licht gestellt, bis die Wurzeln auf der Deckglasoberfläche entlangwuchsen.

Die Nematoden wurden aus einem sandigen Boden isoliert, mit einer 0,04%igen Cialit-Lösung äußerlich sterilisiert (s. Wyss [17]) und dann auf den Agar über die Sämlingswurzeln übertragen. Sobald mehrere Nematoden in der Wurzelhaarregion gut wachsender Wurzeln saugten,

wurde der Agar samt Deckglas mit einer stumpfen Schere zurecht-geschnitten. Dieser Teil wurde umgekehrt auf ein Deckglas von 80 mm \varnothing aufgelegt und mit einer dünnen Vaselineschicht so umrandet, daß der Sproß des Sämlings frei auf dem Deckglas lag. In diesen Beobachtungs-kammern wuchsen die Sämlingswurzeln noch mehrere Tage lang. Bis zur Beobachtung wurden die Kammern umgekehrt in einer geschlossenen Plastikschele in feuchter Atmosphäre aufbewahrt. Für die Filmaufnah-men unter Ölimmersion wurde die Interferenzkontrast-Einrichtung nach SMITH verwendet.

Filmbeschreibung¹

6 B/s

1. In der Übersichtsaufnahme werden vier, noch nicht von *Trichodorus similis* besaagte Wurzelhaare von *Nicotiana tabacum* „Samsun“ vor-gestellt. Die Aufnahme zeigt die in sich geschlossene Rotationsströmung des Cytoplasmas.

Bildfeldbreite 270 μm

2. Ein von *T. similis* besaagtes Wurzelhaar mit abgetötetem Proto-plasten. Die ehemalige Einstichstelle in der Nähe der Wurzelhaarspitze ist am Saugrohr, das aus der Zellwand herausragt, erkennbar. Das unter dieser Stelle angereicherte Cytoplasma ist erstarrt. Ca. 30 μm links von der Einstichstelle befindet sich der Zellkern mit koaguliertem Kerninhalt.

Bildfeldbreite 90 μm

Reaktion des Cytoplasma

Letale Schädigung

30 B/min bis 12 B/s

24 B/s

3. Ein Wurzelhaar wurde soeben von *T. similis* durchstoßen. Das Cyto-plasma strömt zunächst noch an der Stachelspitze vorbei, wird dann aber ca. 6 Sekunden später zur Einstichstelle zurückgezogen. Die kontinuier-lich 2—3 μm tief in das Wurzelhaar vorgeschobene Stachelspitze ist zu Beginn der Cytoplasmaanreicherung deutlich erkennbar. Der links von der Saugstelle liegende Zellkern wird zusammen mit dem Cytoplasma allmählich zur Einstichöffnung gezogen. Nach dem Filmschnitt wird ein Teil der angehäuften Cytoplasmamasse mit jedem Zurückschnellen des Stachels aufgesaugt. Das proximale Ende des inzwischen hyalin er-scheinenden Zellkerns befindet sich ganz in der Nähe der Einstichstelle.

¹ Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

Die Membran einer Vakuole wird wiederholt von Stachelstößen getroffen, doch nicht sofort durchstoßen.

Bildfeldbreite 115 μm ; Aufn.-Freq. 24 B/s

4. Diese Einstellung gilt als Fortsetzung zur vorangegangenen. Sie zeigt, wie die aufgenommene Nahrung in das Ösophaguslumen und von dort in den Darm gelangt. Beim Vorschieben des Stachels (erkennbar am Vorziehen des schlauchförmigen Teils des Ösophagus) und bei gleichzeitiger Kontraktion der Muskeln im Basalbulbus gelangt das Cytoplasma mit den granulären Einschlüssen vom Pharynxlumen in das Ösophaguslumen und erweitert dieses bis 4 μm vor dem Darmanfang. Beim Zurückschnellen des Stachels und bei gleichzeitiger Erschlaffung der Muskulatur im Basalbulbus wird die Nahrung in den Darm gepreßt. Beim nächsten Vorschieben des Stachels wird das Ösophaguslumen erneut mit Nahrung gefüllt.

Bildfeldbreite 90 μm ; Aufn.-Freq. 24 B/s

5. In einem angestochenen Wurzelhaar wird das Cytoplasma von allen Seiten gerichtet zur Einstichstelle gezogen. Die stäbchenförmigen, ca. 7 μm langen Strukturen, die von rechts zur Einstichstelle gelangen, sind mit großer Wahrscheinlichkeit Mitochondrien. Ihre Form bleibt unverändert. Der Übergang zur Nahrungsaufnahme wird durch mehrere tief geführte Stachelstöße eingeleitet, bei denen die Stachelspitze beinahe an der gegenüberliegenden Zellwand auftrifft. Beim Aufsaugen der Nahrung wird die Stachelspitze weniger tief vorgeschoben, zugleich beschleunigt sich der Rhythmus der Stachelstöße. Bereits während der Cytoplasmaanreicherung entstandene, dicht nebeneinanderliegende, durch Membrane voneinander getrennte Zellsaftkugeln werden nacheinander aufgenommen. Das Durchstechen der Membrane ist bei der gewählten Aufnahme­frequenz von 5 B/s nicht deutlich erkennbar. Beim Verlassen der Saugstelle trennt sich *T. similis* vom Saugrohr, das in der Zellwand verankert bleibt.

Bildfeldbreite 115 μm ; Aufn.-Freq. 5 B/s

6. Die letzten Phasen der Cytoplasmaanreicherung und die Aufnahme des Cytoplasmas erfolgen in dieser Einstellung bei fast doppelter Geschwindigkeit (10 B/s). Die Cytoplasmanmasse schrumpft bei der Nahrungsaufnahme zuerst schnell, später jedoch wesentlich langsamer. Das in­zwischen sehr viskos erscheinende Cytoplasma hindert die Stachelspitze am Durchstechen des elastisch vor- und zurückbewegten Tonoplasten. Gegen Ende der Einstellung wird trotz mehrerer Stachelstöße kein Cytoplasma mehr aufgenommen.

Bildfeldbreite 115 μm ; Aufn.-Freq. 10 B/s

7. Dasselbe Wurzelhaar, ca. zwei Minuten später. Die Koagulation des Cytoplasmas wird stark gerafft gezeigt. Unter der koagulierten Plasma-

brücke befinden sich einige feste Einschlüsse des Cytoplasmas zunächst noch in Brownscher Molekularbewegung. Kurz darauf agglutinieren die Partikel, und die Bewegung kommt völlig zum Stillstand. Einzelne Teilchen, die sich rechts von der Einstichstelle befinden, werden gerichtet zur koagulierten Cytoplasmamasse gezogen und bleiben dann unbeweglich an ihr haften. Später breitet sich von rechts eine Vakuole aus, die die koagulierte Cytoplasmabrücke vorübergehend verformt.

Bildfeldbreite 115 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s und 30 B/min

8. Fahraufnahme über dasselbe Wurzelhaar von der Einstichstelle bis zur Wurzelhaarspitze. Das gesamte Cytoplasma ist koaguliert. In der Flüssigkeit zwischen dem erstarrten Plasma zeigen einige Partikel noch Brownsche Bewegung mit geringer Amplitude.

Bildfeldbreite 115 μm ; Aufn.-Freq. 24 B/s

9. Ein Wurzelhaar wurde ca. 25 μm hinter der Spitze angestochen. An der Einstichstelle entsteht eine starke Cytoplasmaanreicherung, in der sich auch der Zellkern, erkennbar am deutlich hervortretenden Nukleolus, befindet. Die Einschlüsse in der Cytoplasmaanreicherung zeigen agitierte Bewegung. Bei der Nahrungsaufnahme wird ein großer Teil der Plasmaansammlung, einschließlich Zellkern, aufgesaugt.

Bildfeldbreite 90 μm ; Aufn.-Freq. 5 B/s

10. Dasselbe Wurzelhaar, wenige Sekunden später. Nur das Cytoplasma unmittelbar unter dem Saugrohr ist koaguliert. Übriggebliebenes Cytoplasma wird weiterhin gerichtet zur Einstichstelle gezogen und häuft sich dort annähernd so stark an, wie zuvor unter dem direkten Einfluß des Nematoden. Nach ca. 5 Minuten wirklicher Zeit breitet sich bei gleichzeitiger Erstarrung des Cytoplasmas eine Vakuole bis nahe zur Wurzelhaarspitze aus.

Bildfeldbreite 90 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s

11. Angereichertes Cytoplasma wird bei starker Raffung (2 B/s) aus einem Wurzelhaar gesaugt. Unmittelbar vor dem Abbruch der Nahrungsaufnahme verlangsamt sich der Stechrhythmus des Mundstachels. Da das Wurzelhaar schräg von hinten angestochen wurde, ist das Saugrohr nach dem Abwandern des Nematoden nur schemenhaft zu erkennen.

Bildfeldbreite 90 μm ; Aufn.-Freq. 2 B/s

12. Dasselbe Wurzelhaar, nach Herabsetzen der Aufnahme Frequenz auf 1 B/s. Nicht aufgenommenes Cytoplasma reichert sich zunächst noch an der Einstichstelle an. Ca. 1 Minute später koaguliert das Cytoplasma, und Vakuolen breiten sich aus.

Bildfeldbreite 90 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s

Nicht letale Schädigung

1 B/s und 24 B/s

13. Zu Beginn dieser Aufnahme bei normaler Frequenz hat *T. similis* soeben die Zellwand eines Wurzelhaares perforiert. Das Cytoplasma häuft sich wie üblich an der Einstichstelle. Nach 14 Sekunden wird der Saugvorgang abrupt abgebrochen. An der Saugstelle bleibt ein gut entwickeltes Saugrohr zurück.

Bildfeldbreite 115 μm ; Aufn.-Freq. 24 B/s

14. Dasselbe Wurzelhaar nach einem Wechsel der Aufnahme­frequenz auf 1 B/s. Unter dem Saugrohr befindet sich ein gelartiger Plasm­pfropfen, an dem sich das vorbeiströmende Cytoplasma anstaut, bevor es von der entgegengesetzten Cytoplasmaströmung wieder wegtransportiert wird. Die Rotationsströmung des Cytoplasmas bleibt erhalten.

Bildfeldbreite 115 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s

Reaktion des Zellkerns

30 B/min bis 12 B/s

15. Nach dem Durchstechen der Zellwand werden bei doppelter Geschwindigkeit zuerst die 1—2 μm tief in das Wurzelhaar geführten Stachelstöße gezeigt. Die Rotation des Cytoplasmas ist noch nicht beeinträchtigt. Ca. 6 Sekunden später werden an der Stichwunde vorbeitransportierte Cytoplasmaeinschlüsse zur Einstichstelle zurückgezogen. Rechts außen im Bildfeld ist das proximale Ende des langgestreckten Zellkerns erkennbar. Der Kern wird während der Cytoplasmaanreicherung allmählich zur Einstichstelle gezogen; er verändert dabei seine Form und wird zusehends hyaliner. Nach dem Filmschnitt erfolgt sogleich der Übergang zur Nahrungsaufnahme. Der Kern befindet sich inzwischen direkt unter der Stichöffnung. Durch tief vordringende Stachelstöße wird die in der Cytoplasmaan­häufung nicht mehr sichtbare Kernmembran offensichtlich durchsto­chen, denn bei der anschließenden Nahrungsaufnahme wird der Kerninhalt zusammen mit dem Cytoplasma aufgesaugt. Die angereicherte Cytoplas­mamasse schrumpft schnell zu einer schmalen Brücke. Unmittelbar vor dem Abbruch der Nahrungsaufnahme werden noch einige Stachelstöße neben der Cytoplasma­brücke in die Vakuole geführt.

Bildfeldbreite 115 μm ; Aufn.-Freq. 12 B/s

16. Auch hier hat *T. similis* soeben ein Wurzelhaar angestochen. Es kommt zur üblichen Cytoplasmaanreicherung. Der homogen feinkörnig strukturierte Zellkern mit gut sichtbarem Nukleolus liegt links von der Einstichstelle zunächst noch unbeweglich an der gegenüberliegenden

Zellwand. Er wird später zur Einstichstelle gezogen, gelangt aber nie direkt unter die Stichöffnung. Vor der Nahrungsaufnahme, die hier 110 Sekunden nach dem Durchstechen der Zellwand einsetzte, erscheint der vom angereicherten Cytoplasma umschlossene Zellkern optisch leer. Der Nukleolus bewegt sich in der inzwischen verflüssigten Karyolymphe. Während der Nahrungsaufnahme wird die Kernmembran von den tiefen Stachelstößen nicht erfaßt. Der Zellkern bleibt somit unversehrt in der Nähe der Stichwunde. Auch in dieser Einstellung könnte der Nematode gegen Ende der Nahrungsaufnahme Zellsaft aufsaugen, doch er verläßt nach wenigen, in die Vakuole gerichteten, Stachelstößen das Wurzelhaar. Die cytoplasmatischen Einschlüsse werden an der Saugstelle in ständiger Brownscher Bewegung erhalten. Der deformierte Zellkern, dessen Membran erhalten bleibt, wird zum Schluß in zwei verschiedenen Fokusebenen gezeigt.

Bildfeldbreite 90 μm ; Aufn.-Freq. 5 B/s

17. Die „Wanderung“ des Zellkerns zur Parasitierungsstelle an der Basis eines Wurzelhaares wird verfolgt. Der wandständige Kern befindet sich zuerst noch in Nähe der Wurzelhaarspitze. Wenige Minuten später wird er an feinen Cytoplasmafäden zur Einstichstelle gezogen. Er erfährt dabei beträchtliche Veränderungen in Form und Lichtbrechungsvermögen. Ca. acht Minuten nach Beginn der Aufnahme erreicht der Kern die Parasitierungsstelle, an der sich die angereicherten Cytoplasmagranula in Brownscher Molekularbewegung befinden. Nachdem die Wanderung des Kerns dort zum Stillstand gekommen ist, wird die Kernmembran durch die sich über das ganze Wurzelhaar ausdehnende Vakuole zweimal eingedellt. Beim zweiten Mal wird eine hinter dem Kern liegende Vakuole hervorgedrückt und dadurch der Eindruck erweckt, die Kernmembran löse sich auf. Dieser Eindruck wird durch eine anschließend auf das Saugrohr gerichtete Fokussierung verstärkt, die den Kern ganz verschwinden läßt. Gegen Ende der Aufnahme wird der abgerundete und optisch leere Kern bei der Nachfokussierung jedoch wieder deutlich sichtbar.

Bildfeldbreite 90 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s und 30 B/min

18. Die letzte Einstellung zeigt, wie die vorangegangene, eine ähnliche Reaktion des Zellkerns in einem Wurzelhaar, das von *T. similis* an der Basis besaugt wurde. Der zunächst ca. 60 μm hinter der Wurzelhaarspitze liegende Zellkern wird wiederum an Plasmafäden zur Einstichstelle gezogen. Er ist ca. 20 Minuten nach dem Abwandern des Nematoden erheblich gequollen und optisch leer. Der nun stark lichtbrechende Nukleolus, dessen Volumen gleich geblieben ist, bewegt sich bei den Rafferenaufnahmen gegen Ende der Einstellung zusehends schneller in der verflüssigten Karyolymphe.

Bildfeldbreite 90 μm ; Aufn.-Freq. 1 B/s

Literatur und Filmveröffentlichung

- [1] CHEN, T. A., and W. F. MAI: The feeding of *Trichodorus christiei* on individually isolated corn root cells. *Phytopathology* **55** (1965), 128.
- [2] CREMER, M. C., and G. KOOISTRA: Investigations on notched leaf ("kartelblad") of *Gladiolus* and its relation to rattle virus. *Nematologica* **10** (1964), 69—70.
- [3] CREMER, M. C., and P. K. SCHENK: Notched leaf in *Gladiolus* spp., caused by viruses of the tobacco rattle virus group. *Neth. J. Pl. Path.* **73** (1967), 33—48.
- [4] DROPKIN, V. H.: Cellular responses of plants to nematode infections. *Ann. Rev. Phytopath.* **7** (1969), 101—122.
- [5] KERR, T.: The injection of certain salts into the protoplasm and vacuoles of the root hairs of *Limnobium spongia*. *Protoplasma* **18** (1933), 420—440.
- [6] KLINKENBERG, C. H.: Observations on the feeding habits of *Rotylenchus uniformis*, *Pratylenchus crenatus*, *P. penetrans*, *Tylenchorhynchus dubius* and *Hemicyclophora similis*. *Nematologica* **9** (1963), 502—506.
- [7] KÜSTER, E.: *Die Pflanzenzelle*. 3. Aufl. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1956.
- [8] PÉTERFI, T., und G. YAMAHA: Die Wirkung des mechanischen Drucks auf das Protoplasma der *Nitella*-Zelle. *Protoplasma* **12** (1931), 279—286.
- [9] RHOADES, H. L., and M. B. LINFORD: A study of the parasitic habit of *Paratylenchus projectus* and *P. dianthus*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* **28** (1961), 185—190.
- [10] STRUGGER, S.: *Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze*. 2. Aufl. Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg 1949.
- [11] SYMALLA, H. J.: Untersuchungen über den *Trichodorus*-Tobacco Rattle Virus-Komplex mit einem ergänzenden Beitrag zu tobacco necrosis virus and potato moptop virus. Dissertation, Fak. f. Gartenbau und Landeskultur, TU Hannover (1971), 117 pp.
- [12] TAYLOR, C. E., and W. M. ROBERTSON: Location of tobacco rattle virus in the nematode vector, *Trichodorus pachydermus* Seinhorst. *J. gen. Virol.* **6** (1970), 179—182.
- [13] VAN HOOF, H. A.: Transmission of tobacco rattle virus by *Trichodorus* species. *Nematologica* **14** (1968), 20—24.
- [14] VAN HOOF, H. A.: Some observations on retention of tobacco rattle virus in nematodes. *Neth. J. Pl. Path.* **76** (1970), 329—330.
- [15] WADA, B.: Anstichversuche an den Zellen der Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica*. *Cytologia* **1** (1930), 404—416.
- [16] WYSS, U.: Untersuchungen über das Schadaufreten wandernder Wurzel nematoden an Erdbeerkulturen in Niedersachsen. *Mitt. biol. Bund Anst. Ld. u. Forstw. Berlin H.* **136** (1969), 110—126.
- [17] WYSS, U.: Saugverhalten und Pathogenität von *Trichodorus* spp. in steriler Agarkultur. *Nematologica* **17** (1971), 501—507.
- [18] WYSS, U.: Der Mechanismus der Nahrungsaufnahme bei *Trichodorus similis*. *Nematologica* **17** (1971), 508—518.

- [19] WYSS, U.: Feeding of *Tylenchorhynchus dubius*. *Nematologica* **19** (1973), 125—136.
- [20] YAMAHA, G., und T. ISHII: Über die Wasserstoffionenkonzentration und die isoelektrische Reaktion der pflanzlichen Protoplasten, insbesondere des Zellkernes und der Plastiden. *Protoplasma* **19** (1933), 194—212.
-
- [21] WYSS, U.: *Trichodorus similis* (Nematoda) — Saugen an Wurzeln von Sämlingen (Rübsen). Film E 1763 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1971.
-

Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1974 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, schwarzweiß, 116 m, 11 min (Vorführungsgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1973. Veröffentlichung aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz der Technischen Universität Hannover, Dr. U. WYSS, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. H.-K. GALLE; Aufnahme: C. LUDWIG.

Inhalt des Films

Der Film zeigt charakteristische Reaktionen des Protoplasten in von *Trichodorus similis* besaugten Wurzelhaaren der Wirtspflanze *Nicotiana tabacum* „Samsun“.

Wenige Sekunden nachdem der Mundstachel des Nematoden die Zellwand durchstoßen hat, wird das Cytoplasma gerichtet von allen Seiten zur Einstichstelle gezogen. Liegt der Zellkern in der Nähe, so wird er ebenfalls dort hin gezogen. Er verformt sich und erscheint in weniger als 2 Minuten nach dem Durchstechen der Zellwand optisch leer.

Während der Nahrungsaufnahme wird das angereicherte Cytoplasma häufig vollständig aufgesaugt. Nicht aufgenommenes Cytoplasma wird nach dem Abwandern des Nematoden weiterhin zur Einstichstelle gezogen und beginnt dort zu koagulieren. Die Koagulation erstreckt sich über das ganze Wurzelhaar. In an der Basis angestochenen jungen Wurzelhaaren wird der Zellkern an Plasmafäden zur Einstichstelle gezogen. Er quillt auf seiner „Wanderung“ und erscheint bald optisch leer.

Die Cytoplasmastromung wird nur dann fortgesetzt, wenn der Nematode den Saugprozeß abrupt abbricht, kurz nachdem der Mundstachel die Zellwand durchstoßen hat.

Summary of the Film

The film shows characteristic reactions of the nucleus and cytoplasm in root hairs of *Nicotiana tabacum* „Samsun“, when fed upon by the nematode *Trichodorus similis*.

A few seconds after the stylet of the nematode has perforated the cell wall, the cytoplasm is pulled from all directions to the site of stylet penetration.

If lying nearby, the nucleus is also included. It becomes deformed and appears optically empty in less than 2 minutes after the perforation of the cell wall.

The accumulated cytoplasm is usually completely ingested. Cytoplasm that still remains in the root hair is drawn to the former feeding site, where it starts to coagulate. The coagulation spreads over the whole root hair. In young root hairs which have been fed upon at their base, the nucleus is drawn by fine cytoplasmic threads to the site where feeding took place. On its way it swells and soon becomes optically empty.

Cyclosis only continues when feeding is abruptly abandoned, soon after the stylet has perforated the cell wall.

Résumé du Film

Le film montre les réactions caractéristiques du protoplaste dans les poils absorbants de la plante-hôte *Nicotiana tabacum* „*Samsun*“, qui sont sucés par le nématode *Trichodorus similis*.

Quelques secondes après que l'aiguillon buccal du nématode ait transpercé la membrane cellulaire, le cytoplasme est attiré de toutes parts vers la piqûre. Si le noyau de la cellule se trouve à proximité, il est également aspiré vers ce point. Il se déforme et en moins de 2 minutes après le perçage, il apparaît comme optiquement vide.

Au cours de l'absorption de nourriture, il arrive fréquemment que le cytoplasme enrichi soit complètement aspiré. Le cytoplasme non sucé continue d'être attiré à l'endroit de la piqûre où il commence à coaguler. La coagulation s'étend à tout le poil absorbant. Dans les jeunes poils absorbants qui ont été percés à leur base, le noyau de la cellule est attiré à l'endroit de la piqûre par des filaments de plasma. Au cours de sa "migration", il se dilate et apparaît bientôt comme optiquement vide.

Le coulement du cytoplasme ne se poursuit que lorsque le nématode interrompt brusquement la succion, peu après que l'aiguillon buccal ait transpercé la membrane cellulaire.