

ISSN 0073-8417

# PUBLIKATIONEN ZU WISSENSCHAFTLICHEN FILMEN

SEKTION  
**BIOLOGIE**

SERIE 20 · NUMMER 1 · 1988

FILM D 1657

**Reaktion von Wurzelzellen (*Ficus carica*)  
auf die Saugtätigkeit des Nematoden *Xiphinema index***



INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM · GÖTTINGEN

*Angaben zum Film:*

Tonfilm (Komm., deutsch oder engl.), 16 mm, farbig, 149 m, 14 min (24 B/s). Hergestellt 1986, veröffentlicht 1988.

Der Film wurde aus vorhandenem Material zusammengestellt und ist für die Verwendung im Hochschulunterricht bestimmt.

Aus dem Institut für Phytopathologie der Universität Kiel, Prof. Dr. U. WYSS. Bearbeitet und veröffentlicht durch das Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. T. HARD; Kamera: U. WYSS, K. LECHNER; Schnitt: E. POLOCZEK.

*Zitierform:*

WYSS, U.: Reaktion von Wurzelzellen (*Ficus carica*) auf die Saugtätigkeit des Nematoden *Xiphinema index*. Film D 1657 des IWF, Göttingen 1988. Publikation von U. WYSS, Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol., Ser. 20, Nr. 1/D 1657 (1988), 22 S.

*Anschrift des Verfassers der Publikation:*

Prof. Dr. U. WYSS, Institut für Phytopathologie der Universität Kiel, Hermann-Rodewald-Str. 9 D-2300 Kiel.

---

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 werden.

Bestellungen und Anfragen an: Institut für den Wissenschaftlichen Film  
Nonnenstieg 72 · D-3400 Göttingen  
Tel. (05 51) 20 22 04

## FILME FÜR FORSCHUNG UND HOCHSCHULUNTERRICHT

URS WYSS, Kiel:

Film D 1657

### Reaktion von Wurzelzellen (*Ficus carica*) auf die Saugtätigkeit des Nematoden *Xiphinema index*

Verfasser der Publikation: URS WYSS

Mit 6 Abbildungen

#### *Inhalt des Films:*

**Reaktion von Wurzelzellen (*Ficus carica*) auf die Saugtätigkeit des Nematoden *Xiphinema index*.** Der Film vermittelt mit Hilfe der elektronischen Kontrastverstärkung erstmals einen Einblick in die Reaktion der Protoplasten in meristematischen Zellen der Wurzelspitzen von *Ficus carica* auf die Saugtätigkeit des ektoparasitisch lebenden Wurzel nematoden *Xiphinema index*. Die Aufnahmen konzentrieren sich zunächst auf die Vorgänge im Basalbulbus des Ösophagus, dem Pumporgan für die Nahrungsaufnahme. Er enthält neben Muskeln drei Speicheldrüsen, von denen die dorsale den Speichel produziert, der immer wenige Sekunden nach der Zellwandperforation und zu Beginn kurzer Pumpausen durch den Mundstachel in die angestochene Wurzelzelle injiziert wird. Der Speichel der beiden subventralen Drüsen gelangt in den Darm, jeweils unmittelbar nach dem Anstich einer Zelle.

Der Schwerpunkt des Films richtet sich dann auf die Reaktion der Protoplasten im Innern der Wurzelspitze. Nach dem Anstich einer Zelle bleibt der Mundstachel wenige  $\mu\text{m}$  tief vorgeschoben und kurz darauf fließt Speichel in die Zelle, welcher zu einer schnellen Verflüssigung des Cytoplasmas im Bereich der Mundstachelspitze führt, wodurch die Nahrungsaufnahme erleichtert wird. Nach der 2. Speichelinjektion ist das Cytoplasma der ganzen Zelle verflüssigt, wie auch das Karyoplasma, und der Nucleolus schrumpft zusehends. Nach 1–2 weiteren Speichelinjektionen bleibt von ihm nur noch eine dichte Masse übrig, die Zelle ist entleert. Der Mundstachel wird darauf in die nächst tiefere Zelle vorgeschoben, die innerhalb von zwei Minuten das gleiche Schicksal erleidet. Kernhülle und Plasmalemma werden durch den Speichel offenbar nicht zerstört, dagegen zerfällt die Membran der Amyloplasten in den Kalyptrazellen schon nach der 1. Speichelabgabe. Die Stärkekörner werden freigesetzt, doch nicht aufgelöst. Ein Tag nach dem ersten Angriff sind entleerte Zellen von zweikernigen Zellen umgeben, deren Protoplast in gleicher Weise, doch nicht so schnell wie in einkernigen Zellen zerstört wird.

#### *Summary of the Film:*

**Responses of Root-tip Cells (*Ficus carica*) to Feeding of the Nematode *Xiphinema index*.** With the aid of electronic contrast enhancement the film shows for the first time the response of protoplasts in root-tip cells of *Ficus carica* to *X. index* feeding. Events in the basal oesophageal bulb, the pumping organ for food ingestion are first shown. The muscular bulb contains three secretory gland cells, of which the dorsal gland produces the saliva injected into the root-tip cells a few

seconds after cell wall perforation and at the beginning of each short ingestion pause. Saliva from the two subventral glands is passed into the intestine every time the wall of a cell has been perforated.

The film then presents details of protoplast responses in root-tip cells. Having perforated the wall of a cell, the stylet-tip stays protruded a few  $\mu\text{m}$  and soon afterwards saliva is injected for the first time to facilitate ingestion by liquefying the cytoplasm around the stylet-tip. After the second injection the cytoplasm of the whole cell and also the nucleoplasm are liquefied. The nucleolus starts to shrink and only a dense core is left when the cell has been emptied after a further 1–2 saliva injections. The stylet is then inserted into the next deeper cell, the contents of which are again degraded within two minutes. The nuclear envelope and plasmalemma are obviously not dissolved, but the membrane of the amyloplasts in root cap cells disintegrates after the first injection of saliva, releasing the starch grains, which, however, are not dissolved. One day after the initial attack emptied cells are surrounded by binucleate cells whose protoplast is degraded in the same way, but not so rapidly as in uninucleate cells.

*Résumé du Film:*

**Réaction des cellules de racinaire au processus de succion du nematode *Xiphinema index*.**

Le film donne à l'aide de renforcement de contraste électronique tout d'abord un aperçu de la réaction des protoplastes dans les cellules méristématiques des extrémités racinaires de *Ficus carica* sur la fonction de succion du nématode racinaire *Xiphinema index* vivant comme parasite. Les prises de vue se concentrent en premier lieu sur les processus dans le bulbe basal de l'oesophage, l'organe de pompage pour l'ingestion de la nourriture. Il contient à côté de muscles, trois glandes salivaires, dont la dorsale produit la salive qui est toujours injectée quelques secondes après la perforation de la paroi cellulaire, ainsi que au début de courtes pauses de pompage, par le stylet dans la cellule racinaire déjà percée. La salive des deux glandes subventrales est forcée dans l'intestin, ceci juste après la perforation d'une cellule.

Le point principal du film porte sur la réaction des protoplastes à l'intérieur de l'extrémité racinaire. Après la perforation d'une cellule, le stylet reste enfoncé de quelques  $\mu\text{m}$  en profondeur et juste après, la salive coule dans la cellule et entraîne une liquéfaction rapide du cytoplasme dans la zone même à l'extrémité du stylet, ce qui facilite l'ingestion alimentaire. A la suite de la seconde injection de salive, le cytoplasme de toute la cellule est liquéfié ainsi que le caryoplasme et le nucléole se rétrécit visiblement. Après une à deux injections de salive supplémentaires, il ne reste de lui qu'une masse épaisse et la cellule est vidée. Le stylet est introduit ensuite dans la cellule suivante située en profondeur qui subit le même sort en l'espace de deux minutes. L'enveloppe nucléaire et le plasmalemma ne sont apparemment pas détruits par la salive. Par contre la membrane des amyloplastes se décompose dans les cellules du calypstre déjà après la première émission de salive. Les grains d'amidon sont libérés mais pas dissous. Un jour après la première agression, les cellules vides sont entourées de cellules binucléaires dont leur protoplaste est détruit de façon semblable mais pas aussi rapidement que chez les cellules mononucléaires.

**Allgemeine Vorbemerkungen**

*Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 gehört zur Familie der Longidoridae innerhalb der Nematodenordnung Dorylaimida. Alle Arten dieser Familie (u. a. mit den Gattungen *Longidorus*, *Paralongidorus*, *Xiphinema*) ernähren sich ausschließlich ektoparasitisch an den Wurzeln ihrer Wirtspflanzen. Sie besitzen einen langen, nadelförmigen Mundstachel, den sie tief in das Wurzelgewebe vorschieben können.

Für viele Longidoridae ist die Wurzelspitze die bevorzugte Parasitierungsstelle, die nach mehrtägiger Saugzeit in eine Galle umgewandelt wird. Bei hoher Populationsdichte wird dadurch, vor allem im Jugendstadium, das gesamte Wurzelsystem derart gestört, daß sich die Pflanze nicht mehr erholt. Schwere Schäden können aber auch durch die Saugtätigkeit weniger Tiere (sogar durch ein Einzeltier) entstehen, wenn diese mit Viruspartikeln (Virionen) „kontaminiert“ sind. 1959 wurde erstmals der Nachweis erbracht, daß Nematoden bodenbürtige Viren übertragen können. Inzwischen steht fest, daß alle durch Longidoridae übertragbaren Viren zur Gruppe der NEPO-Viren (nematodenübertragbare Viren mit Polyederstruktur) gehören. Unter ihnen befinden sich wirtschaftlich wichtige Viren wie z. B. das *Arabid mosaic virus*; *Grapevine fanleaf virus*; *Raspberry ringspot virus*; *Tomato black ring virus*. Die polyedrischen Virionen (28 nm) werden von den Vektoren (nur Arten der Gattungen *Longidorus* und *Xiphinema*) während der Nahrungsaufnahme an spezifische Haftstellen innerhalb des Saugapparates vor dem Darm adsorbiert. Bei der Infektion der Pflanze werden sie durch den Nematodenspeichel von den Haftstellen gelöst und mit diesem in die angestochene Wurzelstelle abgegeben.

Unter den Longidoridae ist *Xiphinema index* die am besten untersuchte Art. Sie ist weltweit in fast allen Weinbaugebieten verbreitet und verursacht dort an Weinreben durch die Saugtätigkeit an Wurzelspitzen und vor allem durch die Übertragung des *Grapevine fanleaf virus* erhebliche Ertragsausfälle. Die Weinrebe (*Vitis vinifera* L.) und die Feige (*Ficus carica* L.) sind die mit Abstand wichtigsten Wirtspflanzen (Lit. [1], [4]), an denen *X. index* in kurzer Zeit hohe Populationsdichten erreicht. Die sich parthenogenetisch fortpflanzende Art läßt sich auch problemlos an Wurzeln ihrer Wirtspflanzen in aseptischer Agarkultur halten und bietet dadurch ideale Voraussetzungen für detaillierte Untersuchungen zur Wirt-Parasit-Beziehung. Ein EC-Film (E 2375) über das Saugverhalten von *X. index* an Sämlingswurzeln der Feige wurde 1977 veröffentlicht (Lit. [13]). Die Analyse des Filmmaterials ergab zusammen mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen Aufschluß über die Struktur und Funktion der dorsalen Speicheldrüsenzelle (Lit. [5]), welche den Speichel synthetisiert, der offenbar in die angestochene Wurzelzelle injiziert wird und damit eine entscheidende Rolle bei der Virusinfektion der Pflanze und der Umwandlung der Wurzelspitze in eine Galle spielt. Die wichtigsten Ergebnisse sind nachstehend zusammengefaßt.

#### Bau und Funktion des Saugapparates, speziell der dorsalen Speicheldrüse

Über den Bau des vorderen Saugapparates von *X. index* informiert Abb. 1A. Er setzt sich zusammen aus dem nadelartigen Mundstachel (Ms), dem Mundstachelträger (Mst), dem schlauchförmigen vorderen Teil des Ösophagus und dem zylinderförmigen muskulösen hinteren Teil, dem Basalbulbus (Bb). Der Mundstachel ist bei Weibchen durchschnittlich 130 µm, der Mundstachelträger 70 µm und der Basalbulbus 100 µm lang. An der Basis des Mundstachelträgers inserieren Protraktormuskeln (Pm), bei deren Kontraktion der Mundstachel aus der Mundöffnung herausgeschoben wird (Abb. 2B). Bei Pumpstätigkeit der radialen Muskeln (RM) im Basalbulbus wird Nahrung durch das Lumen des Mundstachels (Durchmesser ca. 450 nm) und des Ösophagus (Ö) aufgesogen und in den Darm befördert. Der Bulbus enthält neben den Muskelzellen auch Nerven- und drei Speicheldrüsenzellen. Der Kern der dorsalen Drüse (KdB) befindet sich auf der dorsalen Seite am

Vorderende des Bulbus, während die Kerne der beiden subventralen Drüsenzellen (KvD) ungefähr in der Mitte liegen (Abb. 1 A).

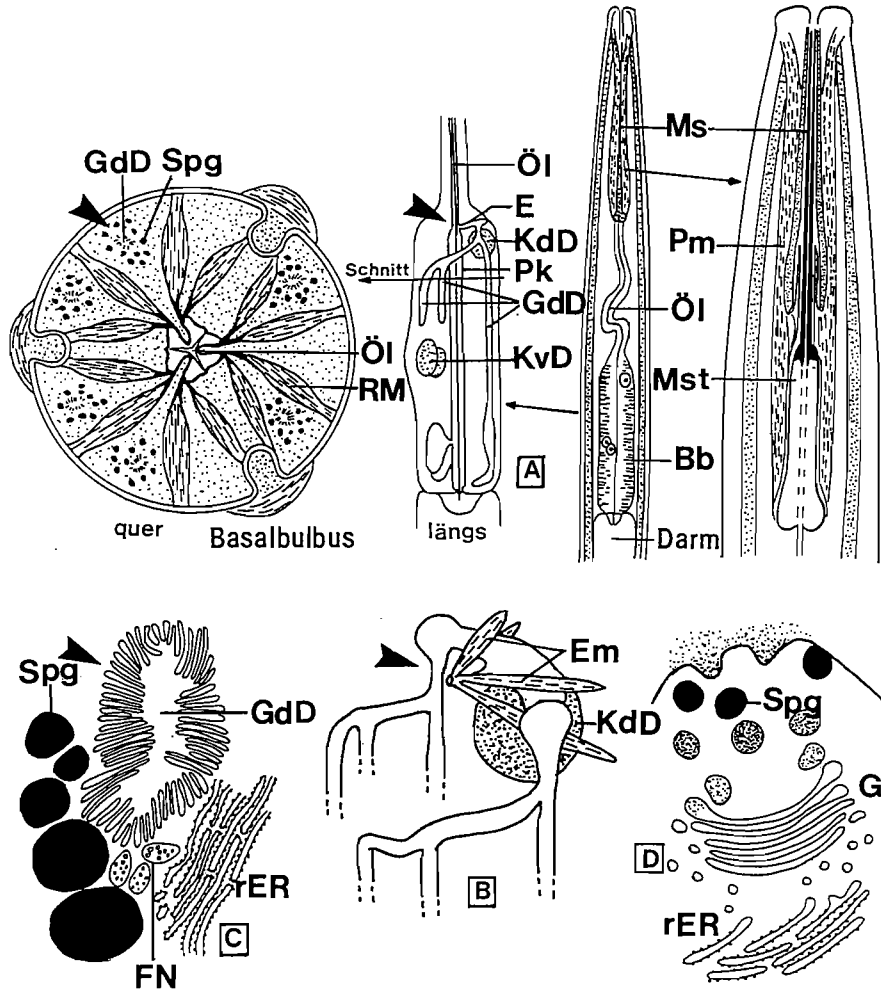


Abb. 1. Bau des vorderen Saugapparates von *Xiphinema index* (1A) und der dorsalen Speicheldrüse im Basalbulbus (1B und 1C). 1D: Weg sekretorischer Proteine vom Syntheseort (rER) zum Exocytoseort (nach KLEINIG & SITTE). Die Pfeile weisen auf entsprechende Vergrößerungen in 1B und 1C. E: Einmündungsstelle des Hauptganges der dorsalen Speicheldrüse in den Nahrungskanal; Em: Erweiterungsmuskeln, welche die Einmündungsstelle in den Nahrungskanal öffnen; FN: Fortsätze von Nervenzellen; G: Golgi-Apparat; GdD: Gänge der dorsalen Speicheldrüse; KdD: Kern der dorsalen Speicheldrüse; KvD: Kerne der beiden subventralen Speicheldrüsen; Ms: Mundstachel; Mst: Mundstachelträger; Öl: Ösophaguslumen; Pk: Pumpkammer; Pm: Protraktormuskeln des Mundstachels; rER: rauhes Endoplasmatisches Reticulum; RM: Radiale Muskeln (erweitern das dreistrahlige Ösophaguslumen im Basalbulbus während Pumpstätigkeit); Spg: Speichelgranula der dorsalen Speicheldrüse

Die Analyse des Forschungsfilms mit ergänzenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigte, daß die dorsale Speicheldrüse den Bulbus zu zwei Dritteln ausfüllt. Die Zelle umgibt in stark gewundenen Konturen die Nerven und radialen Muskeln und ist mit einem komplexen Gangsystem aus tief nach innen ragenden Einfaltungen der Zellmembran (Abb. 1C) durchzogen. Die sechs longitudinal verlaufenden Gänge münden vor dem Drüsenkern in einen fächerförmigen Drüsenhauptgang (Abb. 1B). Seine Einmündungsstelle (E) in das noch runde Ösophaguslumen (Nahrungskanal) vor der dreistrahligem Pumpkammer (PK) hat die Form eines Längsschlitzes (Abb. 1B). Unmittelbar vor der Abgabe von Speichelflüssigkeit in den Nahrungskanal wird der Schlitz durch Kontraktion von vier Erweiterungsmuskeln (EM) geöffnet. Zwei der sechs Drüsengänge erstrecken sich auf der dorsalen Seite über die gesamte Länge des Bulbus und die vier anderen auf der ventralen Seite bis ungefähr zur Mitte (Abb. 1A). Ein Teil des Gangsystems am Vorderende des Bulbus ist in Abb. 2A zu erkennen. Solange die Nematoden nicht hungern sind die Drüsengänge dicht von Speichelgranula (SpG) umgeben. Die Granula sind mit hoher Wahrscheinlichkeit Syntheseprodukte des rauhen Endoplasmatischen Reticulums (rER), das in großer Dichte die Drüsenzelle ausfüllt. Der Weg der sekretorischen Proteine über Primärvesikel des rER zum Golgi-Apparat (G) und von dort über kondensierende Sekretionsvesikel (Zymogen-Granula) zur Membran der Drüsenzelle, wo sie nach Fusion der Granulamembran mit der Plasmamembran durch Exocytose in die Drüsengänge entleert werden, ist in Anlehnung an KLEINIG und SITTE ([2]) schematisch in Abb. 1D dargestellt. Wahrscheinlich sind an diesem Vorgang auch Fortsätze von Nervenzellen (FN) beteiligt, die bei *X. index* häufig in der Nähe der Gänge zu finden sind (Lit. [5]). Eine Entleerung von Speichelflüssigkeit durch die Drüsengänge, unmittelbar nach Kontraktion der Erweiterungsmuskeln an der Einmündungsstelle des Drüsenhauptganges in den Nahrungskanal, erfolgt jeweils kurz nach dem letzten Anstichstoß des Mundstachels in eine Wurzelzelle und in den Intervallen zu Beginn kurzfristiger Pumppausen (Lit. [13]). Die Beteiligung der beiden subventralen Drüsenzellen an der Wirt-Parasit-Beziehung blieb bisher noch ungeklärt.

#### Saugverhalten an Wurzelspitzen und Reaktion der Wurzelzellen auf die Saugtätigkeit

Werden Weibchen oder ältere Larvenstadien (L3–L4) von *X. index* an ein gut wachsendes Wurzelsystem von Feigenpflänzchen in sterilem Agarnährmedium gesetzt, so suchen sie in wenigen Stunden gezielt die Wurzelspitze auf und beginnen aus ihr Nahrung aufzunehmen. Abb. 2C zeigt eine noch wachsende Wurzelspitze, 9 Stunden nach dem ersten Angriff durch eine präadulte Larve (L4). Sie ist im Bereich der Streckungszone bereits leicht angeschwollen. An den noch wachsenden Wurzelspitzen verweilen die Nematoden in der Regel kaum länger als 20 Minuten am gleichen Ort. Nach dem Aufsuchen einer Parasitierungsstelle schieben sie den Mundstachel meist 2–3 Zellen tief vor und erst dann beginnen sie mit der Nahrungsaufnahme, die in einer Zelle selten länger als 2 Minuten dauert. Dann wird die nächst tiefere Zelle angestochen. Weibchen können mit ihrem ca. 130 µm langen Mundstachel nacheinander aus 7–8 meristematischen Zellen Nahrung aufnehmen. Gelegentlich folgt auf den Anstich einer Zelle eine längere Ruhepause (im Durchschnitt ca. 15 Minuten), während der im Basalbulbus, auch bei starker Vergrößerung, keine Aktivitäten festzustellen sind. Im Anschluß an eine Ruhepause ist die Saugzeit in der angestochenen Wurzelzelle beträchtlich verlängert (8–39 Minuten).

Drei bis vier Tage nach dem ersten Angriff hat die Wurzelspitze ihr Wachstum eingestellt, sie ist gallenförmig angeschwollen und wirkt nun auf die Nematoden besonders attraktiv. An der drei Tage alten Galle in Abb. 2D saugen nun vier Weibchen, deren Verhalten im Vergleich zu dem an noch jungen, wachsenden Wurzelspitzen nicht wesentlich verändert ist. Der Mundstachel wird weiterhin sukzessive in tiefere Schichten vorgeschoben, nur die Saugzeiten an einer Stelle sind verlängert. Gelegentlich bleiben auch hier bei vorgeschobenem Mundstachel längere Ruhepausen nicht aus. Die Wurzelspitzenengalle liefert jetzt die Nahrung für die Erzeugung der Nachkommenschaft.

Semi- und Ultradünnschnitte (Lit. [8], [9]) durch parasitierte *F. carica*-Wurzelspitzen und -gallen zeigen, wie die Nematoden durch ihre Saugtätigkeit die Struktur der meristematischen Zellen verändert haben. Ein Tag nach dem ersten Angriff enthalten die leicht angeschwollenen Wurzelspitzen bereits zweikernige Zellen, die sich um fast leere, nekrotische Zellen gruppieren (Abb. 2E). In den nekrotischen Zellen sind meist nur noch der Rest des degenerierten Nucleolus und undefinierbare cytoplasmatische Strukturen zu erkennen (Abb. 2E–F). Die Protoplastendegeneration erstreckt sich nicht auf benachbarte Zellen. Diese sind vielmehr in ihrer Aktivität stimuliert, erkennbar an den hypertrophierten, gelappten Zellkernen, einer Zunahme der Cytoplasmadichte und einer Volumenvergrößerung. Zwei Tage nach dem ersten Angriff sind die stimulierten Zellen vierkernig (Abb. 2G). Die Vielkernigkeit entsteht durch synchrone Mitosen ohne Zellwandbildung (Lit. [8], [9]). Schnitte durch ältere Wurzelspitzenengallen zeigen vielkernige, stark vergrößerte Zellen neben z. T. kollabierten, ursprünglich ebenfalls vielkernigen Zellen (mit mehreren degenerierten Nucleoli), aus denen die Nematoden offensichtlich Nahrung aufgenommen haben.

Über die chemische Natur des Speichels, der vom Nematoden in die Wurzel abgegeben wird und zu den beschriebenen Zellveränderungen führt, ist praktisch noch nichts bekannt. Zwar wurden in aufwendiger Arbeit Hunderte von Bulbi (mit den drei Speicheldrüsen) aus Nematoden herauspräpariert und mit Hilfe der Mikroelektrophorese analysiert, doch das Ergebnis war wenig aufschlußreich. Mit Ausnahme von zwei sauren Glykoproteinen, die in den Bulbi saugender Nematoden stärker angereichert waren als in hungernden, wurden keine wesentlichen Veränderungen festgestellt. Auch in den Wurzelgallen mit den vielkernigen Zellen ließen sich keine neuen Proteine nachweisen (Lit. [3]).

#### Zielsetzung des Films

Aus den allgemeinen Vorbemerkungen wird deutlich, daß zwar verschiedene Fragen zur Wirt-Parasit-Beziehung von *X. index* geklärt sind, aber noch viele offen stehen. So ließ sich z. B. noch nicht beweisen, daß die Speichelflüssigkeit aus der dorsalen Drüsenzelle tatsächlich in die angestochenen Wurzelzellen gelangt, und die Funktion der beiden subventralen Drüsenzellen blieb unbekannt. Mit der herkömmlichen Lichtmikroskopie war es bisher nicht möglich, eine Speichelinjektion in die Wurzelzellen und die damit verbundenen Protoplastenreaktionen direkt zu beobachten, auch wenn die bestmögliche Interferenzkontrastoptik verwendet wurde. Wie einleitend beschrieben, schieben die Nematoden ihren Mundstachel in der Regel zunächst durch 2–3 Zellschichten und beginnen erst dann mit der Nahrungsaufnahme, so daß Vorgänge in den angestochenen



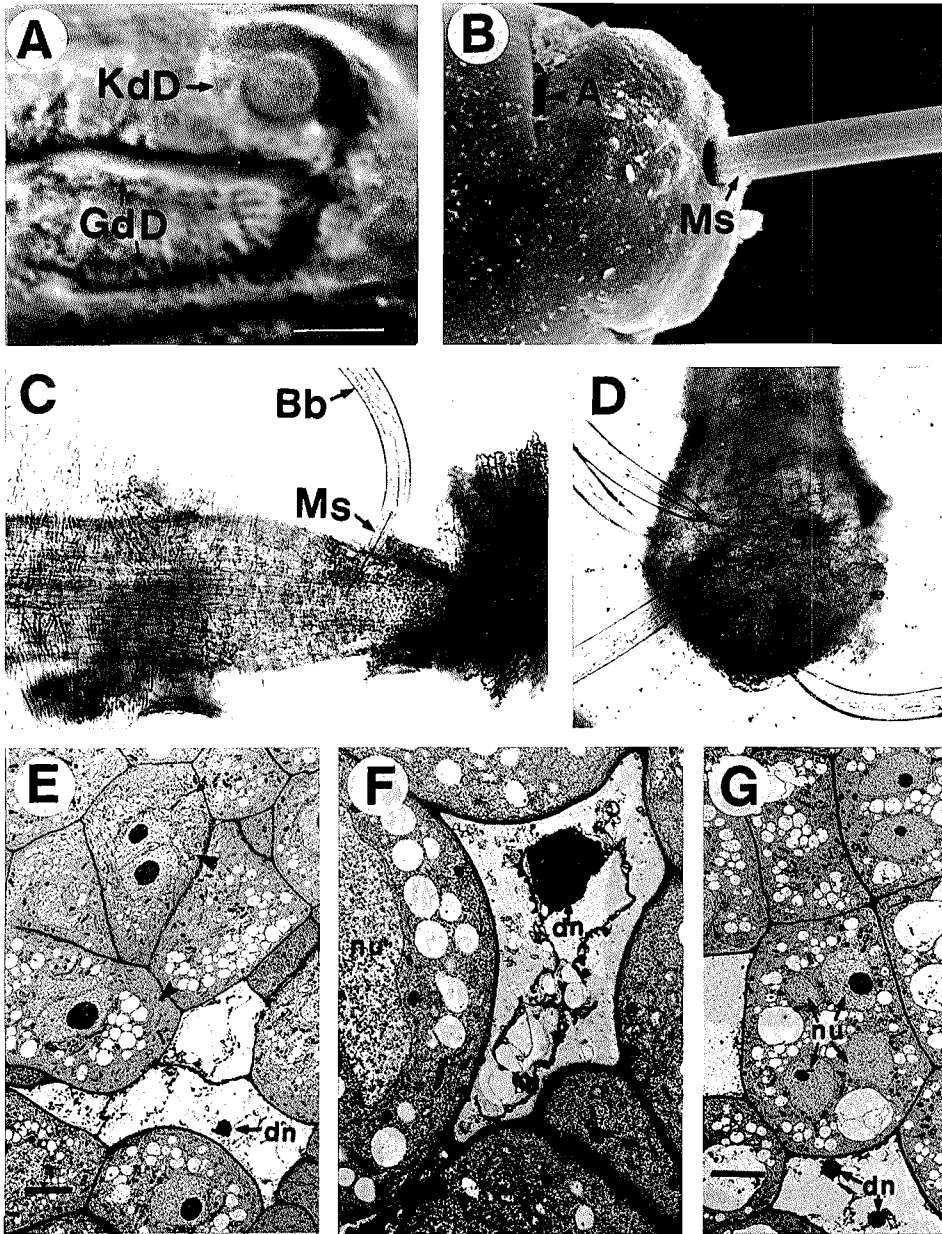


Abb. 2. A: Vorderende des Basalbulbus von *Xiphinema index*. KdD: Kern der dorsalen Speicheldrüse; GdD: Erweiterte Gänge der Drüse, vor der Entleerung von Speichelflüssigkeit. B: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Kopfregion. A: Amphidenöffnung; Ms: Teil des herausgeschobenen Mundstachels. C-D: *X. index* an Wurzelspitzen von *F. carica* saugend; Bb: Basalbulbus; Ms: Mundstachel. E-G: Ultradünnschnitte durch parasitierte Wurzelspitzen; dn: Degenerierte Nucleoli; nu: Zellkerne; Balken = 5  $\mu$ m. (Alle weiteren Erläuterungen im Text)

Wurzelzellen bestenfalls nur schemenhaft zu erkennen sind. Die optischen Grenzen lassen sich inzwischen durch die Kontraststeigerung mit Hilfe der Videoelektronik überwinden, wie dies bereits in einem Film über das Parasitierungsverhalten des Zystennematoden *Heterodera schachtii* im Zentralzylinder der Wurzel dokumentiert wurde (Lit. [14]). Auch das Eindringen eines antagonistischen Pilzes durch die Kutikula von Nematoden und seine Weiterentwicklung im Körper der erbeuteten Tiere konnte mit dieser Technik so deutlich wie noch nie zuvor festgehalten werden (Lit. [12]). Es war somit Ziel des Films, die oben genannten Fragen in der Wirt-Parasit-Beziehung von *X. index* und *F. carica* mit dem gleichen Verfahren zu klären. Nur die direkte Beobachtung ermöglicht eine Aussage über die unmittelbare Wirkung des Nematodenspeichels auf den Protoplasten der Wurzelzelle und liefert Hinweise über seine mögliche chemische Natur.

#### Herstellung des Films

Für die Beobachtung der Reaktion der Protoplasten in *Ficus carica*-Wurzelspitzenzellen auf die Saugtätigkeit von *X. index* wurden die gleichen Kammern wie bei der Herstellung des Films E 2375 verwendet (Lit. [13]). Auch das Verfahren war ähnlich, nur daß dieses Mal keine Sandkörner auf den Agar verteilt wurden (erwies sich als nicht notwendig) und die Nematoden vor der Übertragung an die Wurzeln eine Stunde lang oberflächlich in einer 0,03%igen  $\text{NaN}_3$ -Lösung desinfiziert wurden (Lit. [9]). Die Videoaufzeichnungen erfolgten mit gleicher Technik wie in der Begleitveröffentlichung für den Film E 2904 (Lit. [14]) oder anderswo (Lit. [10]) beschrieben. Alle Einstellungen im Film wurden bei normaler Geschwindigkeit aufgenommen.

#### Erläuterungen zum Film

Die wichtigsten Ergebnisse der Videoaufzeichnungen mit Erläuterung zu den einzelnen

#### Filmsequenzen<sup>1</sup>

Da der Basalbulbus mit den Speicheldrüsen bei *X. index* (und generell bei allen Longidoridae) mehrere Hundert  $\mu\text{m}$  hinter der Mundöffnung liegt (s. Sequenzen 2–4), war es nie möglich, die Vorgänge im Bulbus und die Protoplastenreaktionen in den parasitierten Wurzelspitzen gleichzeitig aufzuzeichnen. Die Analysen über die Funktion des Bulbus und die cytologischen Ereignisse in parasitierten Wurzeln wurden in einer nematologischen Fachzeitschrift veröffentlicht und dort diskutiert (Lit. [11]).

#### Vorgänge im Basalbulbus des Ösophagus

Die Vorgänge im Basalbulbus während der Saugtätigkeit von *X. index* an Wurzelspitzen von *Ficus carica*-Sämlingen wurden in der Begleitveröffentlichung zum Film E 2375 (Lit. [13]) und an anderer Stelle (Lit. [7]) ausführlich beschrieben. Ergänzend dazu wurden nun mit Hilfe der Videoelektronik neue Erkenntnisse gewonnen.

<sup>1</sup> Die Nummern entsprechen den im Wortlaut des gesprochenen Kommentars nummerierten Sequenzen.

Abb. 3 zeigt an einem herausgesuchten Beispiel die charakteristischen Vorgänge im Basalbulbus während der Saugtätigkeit eines *X. index*-Weibchens an einer noch wachsenden Wurzelspitze. Dieses Weibchen nahm hier nacheinander aus vier meristematischen Zellen Nahrung auf, bevor es den Mundstachel in die Mundhöhle zurückzog. Die zahlreichen Analysen ergaben ein klar definiertes Verhaltensmuster, das sich wie folgt zusammensetzt: Beim Vorschieben des Mundstachels in die Wurzel wird der Basalbulbus zwangsläufig mit nach vorne gezogen (s. Sequenz 8). Wenige Sekunden nach dem letzten Stachelstoß streckt sich der Bulbus plötzlich und die Gänge der dorsalen Speicheldrüse sind erweitert, besonders am Vorderende des Bulbus (Abb. 5B). Nur zu diesem Zeitpunkt, kurz vor dem Anstich einer Wurzelzelle, ist ein Zerfall der Speichelgranula an der Peripherie der Drüsengänge zu beobachten. Der Zerfall ist so heftig, daß die Granula regelrecht zu platzen scheinen (s. Sequenz 8). Wenige Sekunden später, zu Beginn der Verengung der Gänge (Abb. 5C), sind viele Granula entlang des gesamten Gangsystems verschwunden. Bei der Verengung fließt Speichelflüssigkeit durch den Hauptgang in den Nahrungskanal. Der Bulbus verbleibt anschließend noch einige Sekunden im gestreckten Zustand, dann verkürzt er sich und unmittelbar darauf setzt die Pumpfähigkeit für die Nahrungsaufnahme ein. Wird zur Zeit der Streckung das Hinterende des Bulbus betrachtet, dann ist zu erkennen, daß fortlaufend Flüssigkeit aus der nicht erweiterten Pumpkammer durch die Ösophagus-Intestinalklappe in den Darm fließt (Abb. 5D, Sequenz 10). Der Fluß hält an, solange der Bulbus gestreckt bleibt (im Durchschnitt 15 s, n = 20). Die Flüssigkeit stammt mit großer Wahrscheinlichkeit aus den beiden subventralen Drüsenzellen, deren Kerne in der Mitte des Bulbus liegen und dicht mit Granula umgeben sind (Abb. 5E).

Die Nahrung wird aus den Wurzelzellen durch schnelle Kontraktionen (mehrere pro Sekunde) der radialen Bulbusmuskeln (s. Sequenzen 3 u. 4) aufgesogen. Nur selten dauert

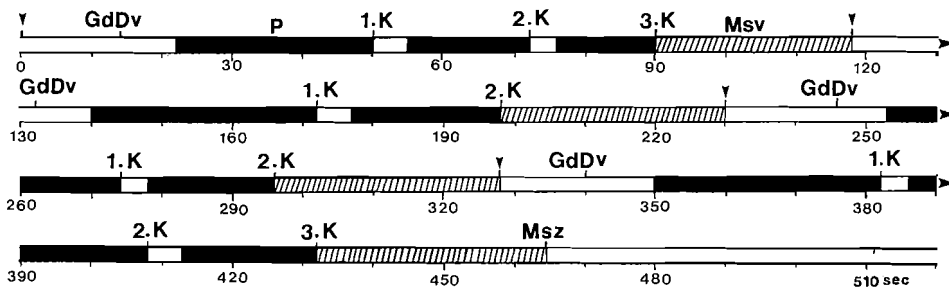
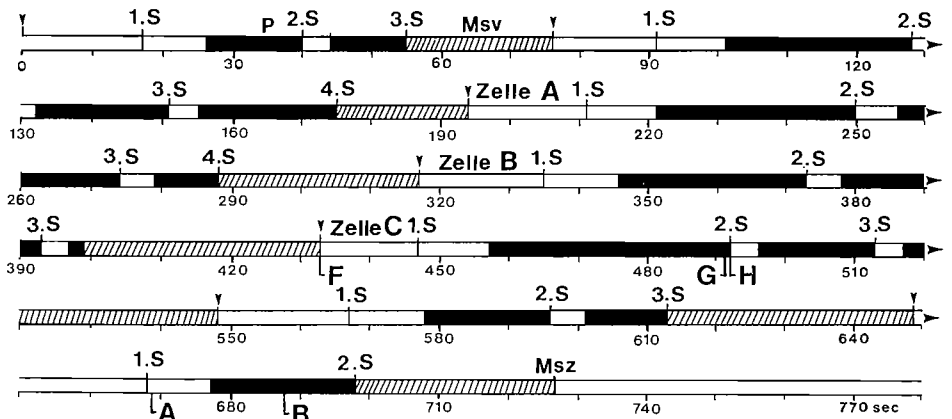


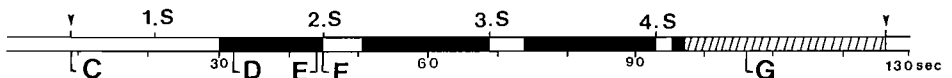
Abb. 3. Charakteristische Vorgänge im Basalbulbus des Ösophagus eines *X. index*-Weibchens während der Saugtätigkeit an einer noch wachsenden Wurzelspitze (mit einkernigen meristematischen Zellen). Pfeil: Mundstachel wird nicht mehr vorgeschoben und Bulbus somit nicht mehr nach vorne gezogen. Bulbus streckt sich, Gänge der dorsalen Speicheldrüsenzelle erweitert, kurz darauf verengen sie sich; GdDv: Gänge der dorsalen Drüse verengt; p: Pumpfähigkeit des Bulbus (Nahrungsaufnahme); K: plötzliche Kontraktionen der Erweiterungsmuskeln, welche die Einmündungsstelle des Hauptganges der dorsalen Drüse in den Nahrungskanal öffnen. Speichelflüssigkeit schießt durch das Gangsystem der Drüse nach vorne und durch den Hauptgang in den Nahrungskanal; Msv: Vorschieben des Mundstachels in tiefere Schichten; Msz: Mundstachel wird in die Mundhöhle zurückgezogen

ein kontinuierlicher Pumpvorgang länger als eine Minute, meist liegt er unter 40 Sekunden (Abb. 2). Während der Pumpfähigkeit erweitern sich in kurzer Zeit die Gänge der dorsalen Drüsenzelle (Abb. 2) und füllen sich mit Flüssigkeit, doch ein Zerfall der Speichelgranula ist dann nie festzustellen. Plötzlich wird die Pumpfähigkeit durch die Kontraktion der vier Erweiterungsmuskeln am Vorderende des Bulbus unterbrochen (s. Sequenzen 6 u. 7), welche die Einmündungsstelle des Drüsenhauptganges in den Nahrungskanal öffnen, so daß die angesammelte Flüssigkeit in ihn hineinschießt (s. Sequenz 7). Aber auch mit Hilfe der Videoelektronik war nicht zu erkennen, ob dann die Flüssigkeit durch den Kanal in Richtung Wurzel fließt. Nach 2–4 Pumpperioden und entsprechend 1–3 Entleerungen der Flüssigkeit aus dem Gangsystem der dorsalen Speicheldrüse sticht der Nematode die nächste Zelle an. In dieser Weise wird Nahrung aus einer Reihe tieferliegender Zellen aufgenommen, bis sich der Mundstachel nicht mehr tiefer vorschieben läßt und darauf zurückgezogen wird.

Zellen Abb. 5 (F-H) u. 6 (A-B)



Zelle Abb. 6 C-G



Zelle Abb. 6 H-K

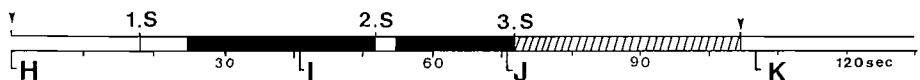


Abb. 4. Charakteristische Vorgänge in einkernigen meristematischen Wurzelspitzenzellen von *F. carica* während der Saugtätigkeit eines *X. index*-Weibchens. 0–770 sec: Vorgänge in sieben Zellen, aus denen nacheinander Nahrung aufgenommen wurde. Zellen A,B,C: dritte, vierte und fünfte Zelle in Abb. 5F–H. Zelle Abb. 6C–G: s. Filmsequenzen Nr. 17–22; Zelle Abb. 6H–K: s. Filmsequenzen Nr. 25–28. Pfeile: Mundstachelspitze bleibt nach letztem Stachelstoß in Zelle vorgeschoben; S: Injektion von Speichelflüssigkeit; p: Pumpfähigkeit des Basalbulbus (in der Zelle erkennbar an Vibrationen der Zellwand oder Oszillationen des Nucleolus); Msv: Vorschieben des Mundstachels in die nächst tiefere Zelle; Msz: Mundstachel wird in die Mundhöhle zurückgezogen

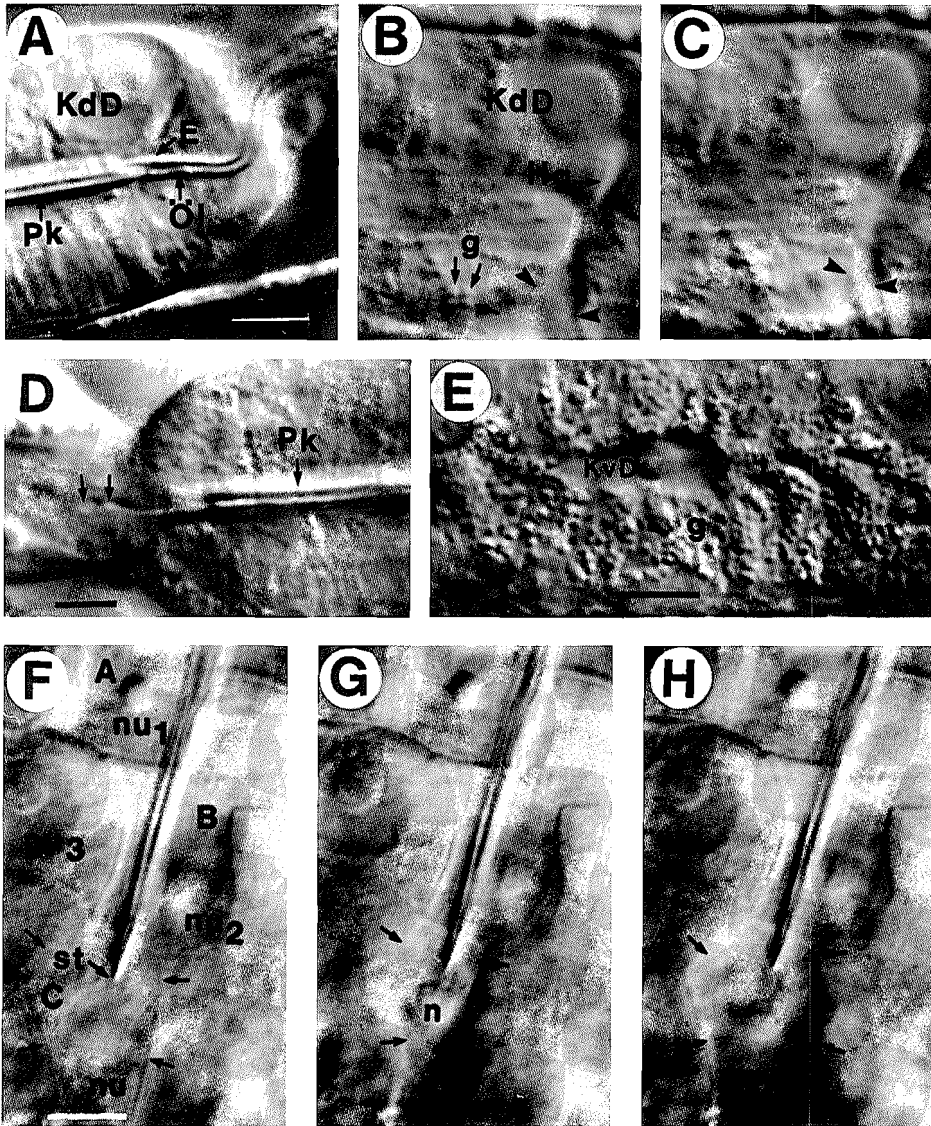


Abb. 5. A–E: Basalbulbus von *X. index*; C: 4 Sekunden nach B; Pfeile in 5B und 5C weisen auf Dimension eines Teils des Gangsystems der dorsalen Speicheldrüse; Pfeile in 5D auf Durchfluß von Speichelflüssigkeit (der subventralen Drüsenzellen) durch Ösophagus-Intestinalklappe in den Darm. E: Einmündungsstelle des Hauptganges (Hg) der dorsalen Speicheldrüse in den Nahrungskanal; g: Speichelgranula der dorsalen Speicheldrüse (5B) und einer der beiden subventralen Drüsen (5E); KdD: Kern der dorsalen Speicheldrüse; KvD: Kern der subventralen Speicheldrüse; Öl: Ösophaguslumen (Nahrungskanal) vor der Pumpkammer (Pk). F–H: Reaktionen von *F. carica*-Wurzelspitzenzellen auf die Saugtätigkeit (Zeitabstände s. Abb. 4). A–C: Zellen in Abb. 4; nu: Nucleolus; st: Mundstachelspitze; Pfeile weisen auf Dimension der Zelle C; 5G: unmittelbar vor 2. Speichelinjektion; 5H: unmittelbar danach; Balken = 5 µm. (Alle weiteren Erläuterungen im Text)

Vereinzelt folgt unmittelbar auf den Anstich einer Zelle eine längere Ruhepause (im Durchschnitt ca. 15 Minuten), während der sich im Basalbulbus die radialen Muskeln nie kontrahieren. Diese Inaktivitätsphasen wurden bei den Videoaufzeichnungen genau untersucht. In der Nähe des Kerns der dorsalen Drüsenzelle sind gelegentlich schwache Zuckungen zu erkennen, das Gangsystem der Drüse bleibt im vorderen Teil des Bulbus leicht erweitert, doch außer einer kaum wahrnehmbaren Bewegung der Speichelgranula ist eine Freigabe ihres Inhalts (Zerfall der Granula) nie zu beobachten. Die Granula der beiden subventralen Speicheldrüsen bewegen sich dagegen wesentlich stärker und einige von ihnen zerfallen auch. Nach einer Inaktivitätsphase ist die Dauer der Nahrungsaufnahme jeweils stark verlängert (8–39 Minuten), doch die Pumpfähigkeit bleibt unverändert, d. h. zwischen kurzen Pumpperioden (20–40 s) wird wie üblich Flüssigkeit aus dem Gangsystem der dorsalen Drüsenzelle entleert.

An jungen Wurzelspitzenzellen, die nun modifizierte zweikernige Zellen mit größerem Volumen und dichterem Cytoplasma enthalten, sind die Saugzeiten an einer Zelle länger (bis zu 8 Minuten) mit entsprechend mehreren Pumpperioden (im Durchschnitt 12, n = 12).

#### Reaktion der Protoplasten der Wurzelzellen auf Speichelabgabe und Saugvorgang

Die Reaktion der Protoplasten in einkernigen meristematischen Zellen verläuft nach zahlreichen Beobachtungen gleichartig. Aus Abb. 4 ist u. a. der Zeitpunkt der Speichelinjektionen in die Zellen zu entnehmen. Da die Injektionen mit der Entleerung von Speichel­flüssigkeit aus der dorsalen Drüsenzelle korrelieren (Abb. 3), steht fest, daß der Speichel mit Sicherheit aus dieser Zelle stammt.

Die Filmsequenzen 12–13 zeigen zunächst die Injektionen und die damit verbundenen Protoplastenreaktionen in einer Zelle, die hier sieben Zellschichten unter der Wurzeloberfläche liegt (Zelle C in Abb. 4 und 5F–H). Zuvor hatte das *X. index*-Weibchen eine Zelle der Wurzelhaube und die darunter liegende Rhizodermiszelle durchstoßen und nahm dann erstmals aus der dritten Zelle Nahrung auf (1. Zelle in Abb. 4). Die nachfolgenden Zellen wurden in ähnlicher Weise parasitiert. Abb. 5F zeigt die degenerierten Nucleoli in der 5. und 6. Zelle (Zellen A und B in Abb. 4).

Wie nun im Film für die 7. Zelle dargestellt, wird die Zellwand jeweils mit wenigen Stachelstößen durchstoßen und die Mundstachelspitze nur wenige µm tief in die Zelle hineingeschoben. Der Protoplast zeigt noch keine Reaktion auf den Eingriff. Wenige Sekunden später (hier nach 15 s) wird deutlich Speichel in die Zelle abgegeben. Dieser

---

Abb. 6. Reaktionen von *F. carica*-Wurzelspitzenzellen auf die Saugtätigkeit von *X. index*. A u. B: Zerfall der Amyloplasten (a) in einer Kalyptrazelle (Zeitabstände s. Abb. 4); da: Degenerierte Amyloplasten; st: Mundstachelspitze. C–G: Protoplastenreaktionen in einer meristematischen Zelle (Zeitabstände s. Abb. 4); n: Nucleolus; nu: Zellkern; st: Mundstachelspitze; Pfeile in 6D weisen auf Bereich des verflüssigten Cytoplasmas; Pfeil in 6E u. 6F zeigt Position des Nucleolus vor 2. Speichelinjektion (E) und unmittelbar danach (F). Pfeile in 6G weisen auf intakt gebliebene Kernhülle. H–K: Reaktionen in einer Zelle direkt unter der Wurzeloberfläche (Zeitabstände s. Abb. 4); n: Nucleolus; st: Mundstachelspitze; Pfeile in 6J weisen auf abgehobenes Plasmalemma. L: Nekrotisierte Zelle (nc), umgeben von zweikernigen Zellen. M: Nahrungsaufnahme aus einer zweikernigen Zelle; n: bereits leicht degenerierte Nucleoli; Balken = 5 µm. (Alle weiteren Erläuterungen im Text)

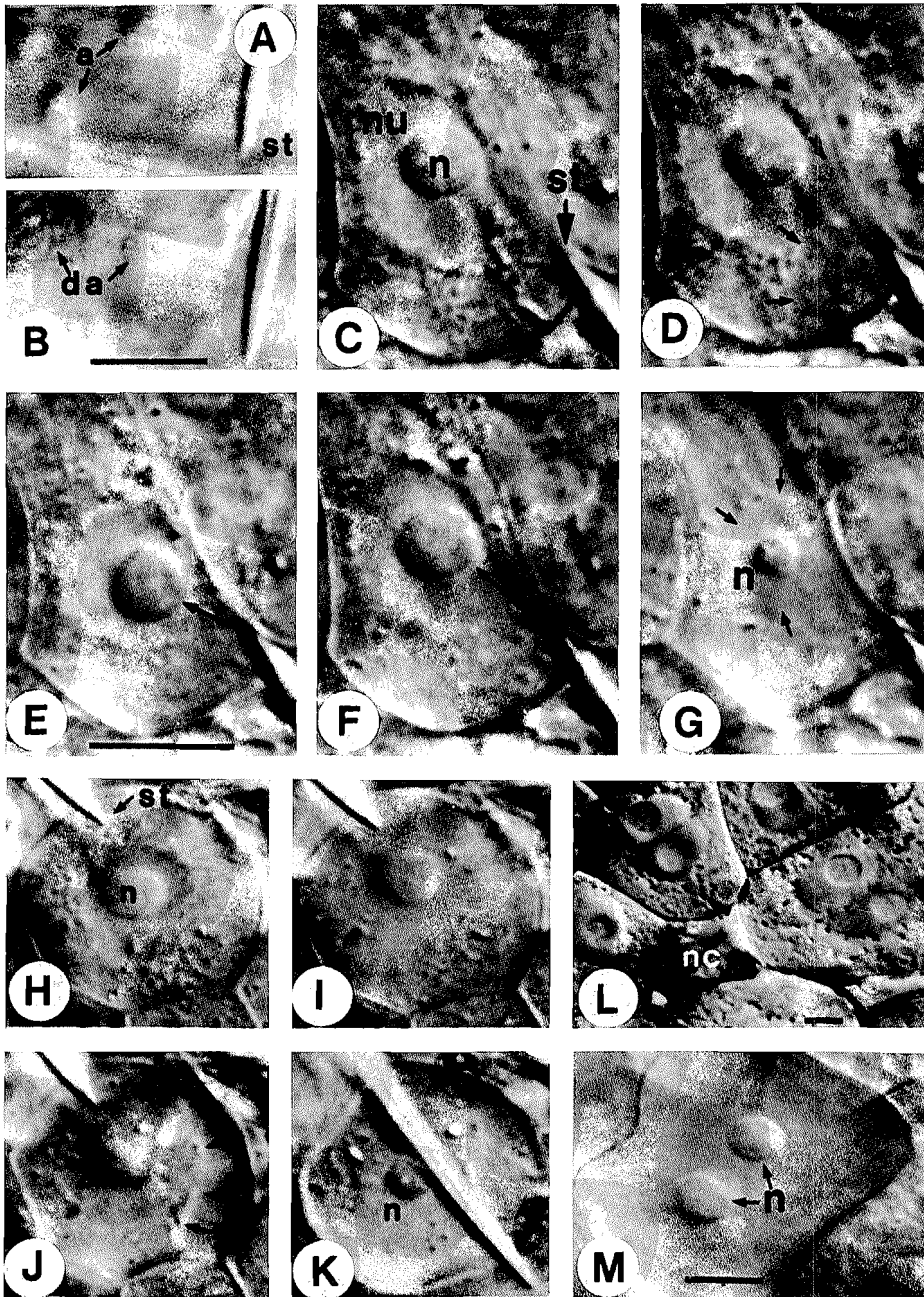


Abb. 6

bewirkt eine schnelle Verflüssigung des Cytoplasmas in der Umgebung der eingedrungenen Stachelspitze. Ca. 10 Sekunden nach der 1. Speichelinjektion beginnt der Nematode Nahrung aufzunehmen (Abb. 4), erkennbar an den Vibrationen der Zellwand, die im gleichen Rhythmus wie die Pumpbewegungen des Basalbulbus erfolgen. Mit zunehmender Dauer der Nahrungsaufnahme schrumpft die Zelle und der Nucleolus wird deutlich sichtbar (Abb. 5G). 45 Sekunden nach der 1. Speichelinjektion erfolgt die zweite, die sehr heftig ist und die Zelle regelrecht „aufbläht“ (Abb. 5H). Oft wird wie hier der meiste Speichel vor der 1. Pumppause in die Zelle hineingespritzt. In diesem Zusammenhang sei noch einmal auf die 7. Filmsequenz verwiesen, die deutlich zeigt, wie schnell Speichelflüssigkeit aus der dorsalen Drüsenzelle zu Beginn der kurzen Pumppausen entleert wird. Nach der 2. Speichelinjektion ist das Cytoplasma verflüssigt. Es folgt noch eine kurze Pumpperiode, dann ist die Zelle  $\pm$  entleert und der Mundstachel wird in die darunter liegende Zelle vorgeschoben (Abb. 4).

Die letzte Zelle, aus welcher der Nematode noch Nahrung entnehmen kann, ist die Kalyptrazelle (Abb. 6A–B) in den Filmsequenzen 14–15. Die Zellen der Wurzelhaube von *F. carica* enthalten Amyloplasten. Wann immer *X. index* in diese Zellen Speichel abgibt, zerfällt kurz darauf die Membran der Amyloplasten und die Stärkekörner werden freigesetzt (Abb. 6A–B), doch nicht weiter abgebaut. Der schnelle Zerfall der Amyloplasten ist noch einmal in der nächsten Filmsequenz (Nr. 16) zu sehen. Hier entsteht der Eindruck, daß ihr Inhalt verflüssigt wird, doch zahlreiche Beobachtungen haben bestätigt, daß die Stärkekörner nicht aufgelöst werden.

In den darauf folgenden Filmsequenzen 17 bis 22 wird vom Anstich bis zum Tieferstechen des Mundstachels die Protoplastenreaktion in einer meristematischen Zelle (s. Abb. 4; Abb. 6C–G) gezeigt, die hier nur wenige Zellschichten unter der Wurzeloberfläche liegt und deshalb die Vorgänge so gut erkennen läßt. Das *X. index*-Weibchen injiziert in diese Zelle insgesamt viermal Speichel (Abb. 4). Bereits 12 Sekunden nach der ersten Injektion ist das Cytoplasma in der Umgebung der nur wenige  $\mu\text{m}$  tief vorgedrungenen Mundstachelspitze verflüssigt (Abb. 1D). Auch das Karyoplasma ist verflüssigt, doch die Kernhülle wird nicht aufgelöst. Der Nucleolus oszilliert nun innerhalb des Zellkerns im gleichen Rhythmus wie die Pumpbewegungen des Basalbulbus und wird durch den Sog zur Mundstachelspitze gezogen (Abb. 1E). Bei der 2. Speichelinjektion wird er durch die eingespritzte Flüssigkeit im Kern nach hinten getrieben (Abb. 6F). Sein Zerfall ist zum Zeitpunkt, in dem sich die Verflüssigung des Cytoplasmas über die gesamte Zelle ausgebreitet hat, noch nicht zu erkennen, doch nach der 3. Speichelinjektion beginnt der Nucleolus zu schrumpfen. Nach Abschluß der Nahrungsaufnahme bleibt von ihm nur noch ein dichter Rest übrig (Abb. 6G). Der Zerfall des Nucleolus erfolgt stets innerhalb der porösen Kernhülle, die offenbar nicht zerstört wird (s. Pfeile in Abb. 6G).

Beim Vorschieben des Mundstachels in die Wurzelspitze werden die Zellen an der Wurzeloberfläche in der Regel nur durchstochen, doch in Ausnahmefällen wird auch aus ihnen Nahrung aufgenommen (s. Filmsequenzen 25–28). Der Protoplast reagiert wie üblich (Abb. 6H–K), doch die Zellwand kollabiert hier nur wenig, so daß beim Aufsaugen der Nahrung das Plasmalemma von der Zellwand abgehoben wird (Abb. 6J). Abschließend läßt sich festhalten, daß injizierter Speichel sehr schnell das Cyto- und Karyoplasma der angestochenen Zellen verflüssigt und dem Nematoden die Aufnahme



von Inhaltsstoffen erleichtert. Nucleolus und Zellorganellen wie Mitochondrien und Plastiden (Lit. [9]) werden zerstört, die Amyloplastenmembran wird aufgelöst, doch Kernhülle und Plasmalemma bleiben offenbar intakt. Die Vielfalt und vor allem die Geschwindigkeit der Reaktionen erschweren z. Z. eine Aussage über die Natur des Speichels, die über eine Spekulation hinausginge. Sie wird noch schwieriger durch die Tatsache, daß die Stoffwechselaktivität der benachbarten nicht direkt zerstörten Zellen derart erhöht wird, daß diese in stark vergrößerte, vielkernige Zellen mit dichtem Cytoplasma umgewandelt werden. Mit diesem Eingriff sichern sich die Nematoden ein Nahrungsangebot, das nicht so schnell wie in den einkernigen meristematischen Zellen ausgeschöpft wird. Ca. 24 Stunden nach dem ersten Angriff auf die Wurzelspitze sind entleerte Zellen von zweikernigen Zellen umgeben (s. 29. Filmsequenz und Abb. 6L), die ein Tag später vierkernig sind (31. Filmsequenz). Wie zu erwarten ist die Protoplastenreaktion in zweikernigen Zellen (s. 30. Filmsequenz und Abb. 6M) nicht anders als in einkernigen, doch es dauert nun länger (s. S. 9) bis die Speichelinjektionen das Cytoplasma verflüssigt haben und die Nucleoli zu einem dichten Rest geschrumpft sind.

Die Reaktion in vielkernigen Zellen war wegen der relativ tiefen Lage dieser Zellen innerhalb der Wurzelgallen schlecht zu erkennen, zweifellos erleiden sie aber nach längerer Saugzeit das gleiche Schicksal wie die zweikernigen. Nicht dargestellt im Film werden Ereignisse, die sich innerhalb der angestochenen Zellen während der längeren Inaktivitätsphasen (s. S. 9) abspielen. Hier war bei den Videoaufzeichnungen zu erkennen, daß sich um die Spitze des in die Zelle hineingeschobenen Mundstachels allmählich ein Pfropfen bildete, der bei Wiederaufnahme der Saugtätigkeit durch die Speichelinjektionen nicht losgelöst wurde. Es dauerte deshalb in diesen Fällen wesentlich länger, bis der Speichel auf den Protoplasten einwirken konnte, woraus sich die langen Saugzeiten (s. S. 10) erklären lassen.

Der Autor bedankt sich bei Dr. JENS AUMANN für die Nematodenkulturen und die Vorbereitungen zu den Videoaufnahmen.

#### Wortlaut des gesprochenen Kommentars

1. Die Wurzelspitze eines Feigensämlings ist angeschwollen als Reaktion auf den Befall durch den Nematoden *Xiphinema index*, einen weltweit gefürchteten Weinbauschädling.
2. Hier ein Weibchen bei der Nahrungsaufnahme. Mundstachel und Stachelträger liegen hintereinander und sind zusammen ca. 200 µm lang. An die Verdickungen des Stachelträgers schließt ein langer Ösophagusschlauch an.
3. Er mündet in den Basalbulbus, der hauptsächlich aus Muskeln und Drüsenzellen besteht. Er ist das Pumporgan für die Nahrungsaufnahme. Einer der langgestreckten Gänge der dorsalen Speicheldrüse ist zu erkennen.
4. Die Pumpfähigkeit des Basalbulbus bei der Aufnahme von Nahrung aus einer angestochenen Wirtszelle. Die Pumpfähigkeit wird in kurzen Zeitabständen von Pausen unterbrochen, in denen Speichel in die Wurzelzelle abgegeben wird.
5. Am Vorderende des Bulbus liegt der hochaktive Kern der dorsalen Speicheldrüse.
6. Ihr Hauptgang entleert sich in jeder Pumppause. Nach der Speichelabgabe nimmt der Nematode wieder Nahrung auf.

7. Speichel der dorsalen Drüse schießt durch einen Gang nach vorne. Die Speichelabgabe während der Pumppause dient der Verflüssigung der Nahrung.
  8. Kurz nach dem Anstechen einer Wirtszelle ist zu erkennen, daß Speichelgranula der dorsalen Drüsenzelle zerfallen. Der Speichel dieser Drüsenzelle wird in die Wurzel abgegeben. Anschließend pumpt der Nematode aus ihr Nahrung ein.
  9. Nach hinten in Richtung Darm liegen zwei subventrale Drüsenzellen. Eine der beiden ist an den Speichelgranula zu erkennen, die sich dicht um den Zellkern gruppieren. Es folgt eine Pumppause. Die aufgenommene Nahrung wird durch die Ösophagus-Intestinalklappe am Hinterende des Bulbus in den Darm befördert.
  10. Jeweils nach dem Anstechen einer Wurzelzelle wird auch Speichelflüssigkeit in den Darm gepreßt. Sie stammt aus den beiden subventralen Drüsenzellen. Danach pumpt der Nematode aus der angestochenen Wirtszelle Nahrung ein.
  11. Zwei *Xiphinema index*-Weibchen saugen an einer Wurzelspitze. Der lange Mundstachel reicht tief in die Wurzel hinein.
  12. Die Mundstachelspitze ist mehrere Zellschichten vorgedrungen und durchsticht eine weitere Zellwand. Die Stachelspitze verhartet in der Zelle. Einige Sekunden später wird der Nematode Speichel in die Zelle abgeben. Jetzt.
  13. Dann entzieht er ihr Nahrung. Die Wand der langsam schrumpfenden Zelle wird dabei im gleichen Rhythmus wie die Pumpbewegungen im Basalbulbus hin- und herbewegt. Das Cytoplasma erscheint inzwischen weniger dicht. Der Nucleolus wird jetzt deutlich sichtbar.
- Wenig später wird während der Pumppause Speichel aus der dorsalen Drüsenzelle in die Zelle hineingespritzt. Jetzt.
- Dann wird wieder Nahrung aufgenommen. Cyto- und Karyoplasma sind nun verflüssigt.
- Nach einer weiteren, hier nicht gezeigten Speichelinjektion, wird der Mundstachel mit kurzen Stößen durch die fast leere Zelle hindurchgeschoben.
14. In eine Zelle der Wurzelhaube wird Speichel abgegeben. Links unten in der Zelle befinden sich Amyloplasten, die durch den Speichel angegriffen werden.
  15. Während der Nematode der Zelle Nahrung entzieht, beginnt sich die Amyloplasmembran aufzulösen. Nach der 2. Speichelabgabe, jetzt, sind die Amyloplasten zerfallen. Der Mundstachel wird nun tiefer vorgeschoben.
  16. Aus der angestochenen Zelle, im Bild unten, wird bereits Nahrung aufgenommen, erkennbar an der Bewegung der Amyloplasten.
- Nach der zweiten Speichelinjektion, jetzt, zerfallen sie schnell.
17. Kurze Zeit später wird eine Zelle mit großem Zellkern angestochen. Die Mundstachelspitze wird, wie meistens, nur wenige Mikrometer tief in die Zelle hineingeschoben.
  18. 12 Sekunden später injiziert der Nematode erstmals Speichel. Dieser verflüssigt das Plasma in der Umgebung der Stachelspitze.
- Die Bewegungen des Zellkerns lassen erkennen, daß der Nematode nun Nahrung aufnimmt.

19. Die zweite Speichelinjektion beschleunigt die Verflüssigung des Cyto- und Karyoplasmas.
20. Nach der dritten Speichelinjektion beginnt der Nucleolus zu schrumpfen.
21. Nach der vierten und letzten Injektion bleibt vom Nucleolus nur noch die geschrumpfte Masse übrig.
22. Der Mundstachel wird nun durch die degenerierte Zelle mit den charakteristischen kurzen Stößen vorgeschoben.
23. Ca. 20 Sekunden später hat der Mundstachel die äußerste Wurzelhaubenzelle durchstoßen. Er wird auf der Suche nach Nahrung noch tiefer vorgeschoben.
24. Schließlich wird er aus der Wurzel heraus und in die Mundhöhle hineingezogen.
25. Hier ist eine meristematische Zelle direkt unter der Wurzeloberfläche angestochen. Um die Stachelspitze herum hat sich das Cytoplasma verflüssigt.
26. Während der Pumpfähigkeit oszilliert der Nucleolus im Karyoplasma. Die Kernmembran bleibt offenbar intakt.
27. Fortgesetztes Aufsaugen des Zellinhalts führt kurz vor der 2. Speichelabgabe dazu, daß das Plasmalemma von der Zellwand abgehoben wird.
28. Dies wird noch deutlicher vor der dritten und letzten Injektion. Nun sticht der Mundstachel auf der Suche nach einer neuen Nahrungsquelle tiefer in die Zelle ein.
29. Einen Tag nach dem ersten Angriff auf die Wurzelspitze sind entleerte und eingefallene Zellen von zweikernigen Zellen umgeben. Die Bildung dieser mehrkernigen Zellen wird durch den Nematoden induziert.
30. *Xiphinema index* hat eine zweikernige Zelle angestochen und entnimmt ihr Nahrung. Die Struktur des Cytoplasmas ist im Vergleich zur benachbarten Zelle rechts kaum mehr zu erkennen. Die Dauer der Nahrungsaufnahme aus zweikernigen Zellen ist verlängert gegenüber der aus einkernigen Zellen.
31. Einen Tag später sind nicht angegriffene zweikernige Zellen vierkernig. Synchrone Mitosen führen zu stark vergrößerten und vielkernigen plasmareichen Zellen.
32. Es entstehen Wurzelspitzengallen. Sie sind für *Xiphinema index* besonders attraktiv. Hier saugen fünf Nematoden an einer sich entwickelnden Galle, die das Nahrungsangebot für die Erzeugung der Nachkommenschaft sicherstellt.

### English Version of the Spoken Commentary

1. The root-tip of a fig seedling is swollen as a response to the attack by the ectoparasitic nematode *Xiphinema index*, a serious pest in vineyards throughout the world.
2. Here is a female feeding from the root-tip. Stylet and odontophore are together about 200 micrometers long. The flanges of the odontophore are attached to a long, slender oesophageal tube.
3. The tube leads to the cylindrical oesophageal basal bulb which contains both radial muscles to pump food into the intestine and three gland cells that produce salivary fluids. One of the elongated ducts of the dorsal gland cell is here clearly visible.

4. The pumping action of the basal bulb while food is withdrawn from the perforated root-tip cell. At short intervals the activity of the bulb is interrupted by pauses during which saliva is injected into the root cell.
5. Here in front of the bulb the highly active nucleus of the dorsal gland cell.
6. The main duct of this gland is emptied during each pumping pause. After the release of saliva food uptake is resumed.
7. Note how salivary fluids of the dorsal gland shoot forward through one of the visible ducts when pumping stops. The injection of saliva serves to liquefy the cytoplasm of the attacked root cell.
8. Shortly after perforation of a root cell, several of the secretory granules of the dorsal gland break down. Only saliva from this gland is injected into the root. Thereafter the nematode starts to remove food.
9. The nuclei of the two subventral gland cells are located in the middle of the bulb. One of the glands can be recognized by the aggregation of secretory granules around its nucleus. An ingestion pause follows. Food withdrawn from the root cell is passed into the intestine via the one-way oesophago-intestinal valve.
10. Whenever a root cell has been perforated, salivary fluids from the two subventral glands are forced into the intestine. Thereafter the nematode starts to withdraw food.
11. Two *Xiphinema index* females feed on the root-tip. The long, needle-like stylets are deeply inserted into the root.
12. Here the tip of the stylet several cell layers below the root surface, as it perforates a cell wall. The stylet-tip now remains protruded inside the cell. A few seconds later salivary fluids are injected. Now.
13. Then the nematode starts to withdraw food. The wall of the slowly shrinking cell vibrates in the same rhythm as the pulsations of the oesophageal bulb. The cytoplasm of the root appears less dense so that the nucleolus becomes clearly visible. A few moments later salivary fluids from the dorsal gland are injected during a pumping pause. Now. The pumping is again resumed. Cyto- and nucleoplasm are now liquefied. After a further injection of saliva, not shown here, the tip of the stylet is pushed forward by short jabs through the nearly emptied cell.
14. Saliva will here be injected into a root cap cell, and the amyloplasts, to the left of the stylet-tip, will disintegrate.
15. While the nematode removes food, the membrane of the affected amyloplasts disintegrates. After the second injection of salivary fluids, now, the starch grains are released. Now the stylet-tip is pushed deeper.
16. From the perforated root cell at the bottom of the picture food is withdrawn, as can be seen by the movement of the amyloplasts. After the second injection of saliva, now, they disintegrate rapidly.
17. Soon afterwards a meristematic cell with a large nucleus is perforated. As in most cases the tip of the stylet is inserted just a few micrometers deep into the cell.
18. 12 seconds later the nematode injects saliva for the first time. Now. The fluids rapidly liquefy the cytoplasm around the stylet-tip. The oscillations of the nucleus indicate that the nematode is now removing food.

19. The second injection of saliva accelerates the liquefaction of the cyto- and nucleoplasm.
20. After the third injection of saliva the nucleolus starts to disintegrate.
21. After the fourth and final injection the nucleolus has shrunk to a dense core.
22. The stylet-tip is now pushed forward through the emptied cell by characteristic short jabs.
23. About 20 seconds later the stylet-tip has perforated the outermost cap cell. It is pushed still deeper in search of food.
24. Finally the stylet is withdrawn from the root into the mouth cavity.
25. Here an epidermal cell has just been perforated. The cytoplasm around the stylet-tip is liquefied after the first injection of saliva.
26. During pumping for food withdrawal the nucleolus oscillates within the nucleoplasm. The nuclear envelope evidently stays intact.
27. Continued food withdrawal pulls the plasmalemma away from the cell wall before saliva is injected for the second time.
28. The detachment of the still intact plasmalemma is most pronounced before the third and last injection of saliva.  
The stylet-tip is now pushed through the emptied cell in search of a new food source.
29. One day after the initial attack, emptied and shrunken root-tip cells are surrounded by binucleate cells. The nematode is obviously responsible for the induction of these cell modifications.
30. *Xiphinema index* is removing here food from a binucleate cell. In comparison to the unaffected neighbouring cell at right, the cytoplasm of the parasitized cell is less dense. Feeding from binucleate cells lasts longer than from uninucleate cells.
31. One day later the not attacked binucleate cells now contain four nuclei. Synchronous mitoses without cytokinesis lead to much enlarged multinucleate cells with dense cytoplasm.
32. Root-tip galls with multinucleate cells are formed, which are very attractive to *Xiphinema index*. Five nematodes feed here on a developing gall, which secures the food supply for reproduction.

#### Literatur

- [ 1 ] COIRO, M. I., and D. J. F. BROWN: The status of some plants as hosts for four populations of *Xiphinema index* (Nematoda: Dorylaimida). *Revue Nématol.* 7 (1984), 283–286.
- [ 2 ] KLEINIG, H., und P. SITTE: *Zellbiologie*. Stuttgart-New York 1984.
- [ 3 ] POEHLING, H. M., and U. WYSS: Microanalysis of proteins in the aseptic host-parasite-system: *Ficus carica*-*Xiphinema index*. *Nematologica* 26 (1980), 230–242.
- [ 4 ] RASKI, D. J., and L. R. KRUSBERG: Nematode parasites of grapes and other small fruits. In: NICKLE, W. R. (Ed.), *Plant and Insect Nematodes*. New York-Basel 1984, pp. 457–506.
- [ 5 ] ROBERTSON, W. M., and U. WYSS: Observations on the ultrastructure and function of the dorsal oesophageal gland cell in *Xiphinema index*. *Nematologica* 25 (1979), 391–396.

- [ 6] ROBERTSON, W. M., and U. WYSS: Feeding processes of virus-transmitting nematodes. In: HARRIS, K. F. (Ed.), *Current Topics in Vector Research*, Vol. 1, New York 1983, pp. 271–295.
- [ 7] WYSS, U.: Feeding phases of *Xiphinema index* and associated processes in the feeding apparatus. *Nematologica* 23 (1977), 463–470.
- [ 8] WYSS, U.: Root and cell responses to feeding by *Xiphinema index*. *Nematologica* 24 (1978), 159–166.
- [ 9] WYSS, U., H. LEHMANN, and R. JANK-LADWIG: Ultrastructure of modified root-tip cells in *Ficus carica*, induced by the ectoparasitic nematode *Xiphinema index*. *J. Cell. Sci.* 41 (1980), 193–208.
- [10] WYSS, U., and U. ZUNKE: The potential of high resolution video-enhanced contrast microscopy in nematological research. *Revue Nématol.* 9 (1986), 91–94.
- [11] WYSS, U., W. M. ROBERTSON, and D. L. TRUDGILL: Oesophageal bulb function of *Xiphinema index* and associated root cell responses, assessed by video-enhanced contrast light microscopy. *Revue Nématol.* 11 (1988), 253–261.

#### **Filmveröffentlichungen**

- [12] NORDBRING-HERTZ, B., U. WYSS, U. ZUNKE, M. VEENHUIS, and INST. WISS. FILM: Trap formation and capture of nematodes by *Arthrobotrys oligospora*. Film C 1622 des IWF, Göttingen 1987. Publikation von B. NORDBRING-HERTZ und U. WYSS, *Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol.*, Ser. 19, Nr. 12/C 1622 (1987), 20 S.
- [13] WYSS, U., and INST. WISS. FILM: *Xiphinema index* (Nematoda) – Saugen an Wurzeln von Sämlingen (Feige). Film E 2373 des IWF, Göttingen 1977. Publikation von U. WYSS, *Publ. Wiss. Film., Sekt. Biol.*, Ser. 10, Nr. 61/E 2375 (1977), 20 S.
- [14] 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.

#### **Abbildungsnachweis**

Abb. 1 bis 4: U. WYSS; Abb. 5 und 6: Einzelbilder aus dem Film.