

DE STRUCTUUR VAN DE KEGELTOP ALS TAXONOMISCH KENMERK BIJ HETERODERA-SOORTEN MET CITROENVORMIGE CYSTEN¹⁾

*With a summary: The structure of the cone top as a taxonomical character
in Heterodera species with lemon-shaped cysts*

DOOR

Dr Ir M. OOSTENBRINK

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

en

Ir H. DEN OUDEN

Instituut voor Rationele Suikerproductie, Bergen op Zoom

INLEIDING

Op het International Nematology Symposium 1951 (1952) werd door de schrijvers melding gemaakt van de taxonomische betekenis van de kegeltop voor het onderscheiden van citroenvormige *Heterodera*-cysten. BOVIEN (1953) en WIESER (1953) bevestigden het voorkomen van opvallende, doorzichtige lip-toppen op de cyste-kegel, doch constateerden geen onderscheid tussen de verschillende *Heterodera*-soorten.

Bij citroenvormige cysten is de vulva-spleet gelegen op deze uitspringende kegel. De kegel is aan de buikzijde van het aaltje ontstaan en heeft de daarachter gelegen anus dus ogenschijnlijk in een dorsale positie gebracht (STRUBELL, 1888). De kegel eindigt in twee afzonderlijke lippen, waarvan de top in zoverre verschilt van de rest van de cyste, dat ze een veel dunnere wand heeft en niet ondoorzichtig bruin is geworden (fig. 1). In een preparaat van een afgesneden cyste-kegel zijn bij doorvallend licht deze liptoppen zichtbaar als ronde tot halvemaaanvormige, lichtgekleurde plekken. Tezamen met de tussenliggende, dikwandige spleet worden ze omringd door een rand, die naar buiten begrensd is door de eerste golvende ringen van de schuine kegelwand (fig. 2). Bij oude, afgerijpte cysten hebben de liptoppen hun kleur, wandpatroon en wandstippeling grotendeels verloren, zodat zij lijken op open gaten (fig. 3, 4, 5).

AALTJESMATERIAAL EN WERKWIJZE

Een 15-tal populaties werd onderzocht van *H. avenae* = *H. major*, *H. schachtii* en *H. trifolii*, drie soorten met op elkaar gelijkende, citroenvormige cysten. Deze populaties werden alle in Nederland verzameld, en wel op zo ver mogelijk uiteenliggende plaatsen, opdat zij het gehele land zo goed mogelijk vertegenwoordigen. Enkele populaties waren van bekende herkomst doordat zij geplukt waren van de wortels van specifieke waardplanten, namelijk resp. granen, bieten en klavers²⁾. De meeste echter werden verzameld uit grond van akkers of weilanden, waar een der bovengenoemde waardplanten aangetast was, doch waar

¹⁾ Ontvangen voor publicatie 1 Maart 1954.

²⁾ De schrijvers zijn er zich van bewust dat klavers (rode zowel als witte) ook aangetast worden door *H. galeopsidis*. Het is de vraag, of *H. galeopsidis* en *H. trifolii* twee namen zijn voor dezelfde aaltjessoort of niet; dit vergt nader onderzoek. Wat betreft de structuur van de kegeltop werd geen verschil geconstateerd.

het voorkomen van cysten van een andere aaltjessoort niet geheel uitgesloten was. Populaties van *H. avenae* konden tevoren op zuiverheid gecontroleerd worden dank zij de karakteristieke, brede cyste, terwijl later de structuur van de kegeltop ook zo kenmerkend bleek, dat er weinig kans is dat met mengsels is gewerkt. Bij *H. schachtii* en *H. trifolii* is deze kans groter, aangezien zij naast elkaar kunnen voorkomen, tot nu toe niet goed van elkaar waren te onderscheiden en het hierna te bespreken verschil afmetingen betreft die elkaar enigszins kunnen overlappen. Het is dus mogelijk, dat dit verschil in werkelijkheid nog iets groter is dan uit de gebruikte populaties blijkt.

Populaties van andere soorten zijn alleen gebruikt voor het beoordelen van een kwalitatief verschil met *H. avenae*. Aangezien dit verschil bij de onderzochte individuen zonder uitzondering aanwezig was, kan een eventuele onzuiverheid van een of meer dezer populaties de conclusies niet beïnvloeden.

Van elke populatie werden enkele cysten genomen, waarbij selectief werken zo goed mogelijk werd vermeden. Het afsnijden van de cyste-kegels geschiedde met een scherpgeslepen naald of chirurgisch mesje bij 10–20-voudige vergroting van een prepareermicroscop. Door de cysten tevoren enkele minuten te weken in hete lactophenol, kon het afsnijden vergemakkelijkt en de helderheid van het preparaat vergroot worden. De afgesneden topjes werden in een preparaat met lactophenol geplaatst, waarbij het dekglas steunt op stukjes van een dikke glasnaald. Na ringen met glyceel werden op deze wijze permanente preparaten verkregen. Het bekijken van de preparaten bleek het beste te geschieden bij 200–400-voudige vergroting van een gewoon microscop. Hierbij werd steeds scherpgesteld op het bovenoppervlak van de cyste-kegel.

Bij de meeste populaties bleken van een deel der cysten de kegels niet bruikbaar, doordat zij gedesintegreerd waren of doordat zij scheef in het preparaat stonden. De bruikbare kegels, als regel ongeveer $\frac{3}{4}$ van het totaal aantal, werden in willekeurige volgorde gemeten; wanneer slechts enkele van de maten opgenomen konden worden, werden deze ook meegerekend.

HET VERSCHIL TUSSEN CYSTEN VAN *H. AVENAE* EN ANDERE CITROENVORMIGE HETERODERA-CYSTEN

Bij onderzoek van vele populaties bleek de kegeltop bij *H. avenae* duidelijk te verschillen van die bij de overige onderzochte soorten (*H. schachtii*, *H. trifolii*, *H. galeopsidis*, *H. glycinis*, *H. goettingiana*, *H. cruciferae*, *H. humuli* en *H. carotae*). De doorzichtige liptoppen zijn van boven gezien bij *H. avenae* relatief langer en smaller; ze sluiten een zeer korte spleet in zodat met deze als raaklijn het beeld van een 8 gevormd wordt (fig. 3). Bij de andere soorten begrenzen de lichte plekken elkaar over een grotere afstand; ertussen ligt een zelfs tot buiten de lichte plekken reikende, duidelijke vulvaspleet (fig. 4 en 5, tabel 1).

De aanwezigheid van de zeer kleine, soms nauwelijks zichtbare spleet bij *H. avenae* verklaart vermoedelijk het feit, dat bij deze aaltjessoort slechts een kleine gelatineuze eierzak wordt gevormd en dat daarin geen eieren worden gelegd. De eieren van $\pm 110 \times 50 \mu$ kunnen de spleet van $\pm 12 \mu$ vrijwel zeker niet passeren. Dit in tegenstelling tot de voren genoemde soorten met een grote spleet, die alle (wellicht met uitzondering van *H. humuli*) een deel van hun eieren in de eierzak leggen (auctores diversi).

Naast enkele andere, reeds vroeger genoemde kenmerken (HIJNER, OOSTENBRINK & DEN OUDEN, 1953) blijkt de vorm van vulva en liptoppen een bruikbaar

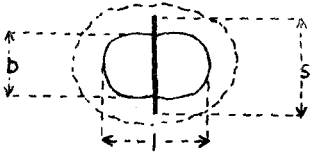
kenmerk voor het herkennen van *H. avenae*. Dit is bijvoorbeeld van belang voor het onderzoek van weilandpopulaties, die als regel bestaan uit mengels van *H. avenae* en *H. trifolii*.

HET VERSCHIL TUSSEN *H. schachtii* EN *H. trifolii*

Na onderzoek van preparaten uit een 15-tal verschillende populaties van elk der beide soorten werd de indruk verkregen, dat de lichte plekken op de liptoppen bij *H. schachtii* korter en smaller zijn dan bij *H. trifolii*. Dit verschil is vermoedelijk van practisch belang voor het onderscheiden van *H. schachtii* en *H. trifolii*, hetgeen tot nu toe een der grootste moeilijkheden was voor het onderzoek van grondmonsters op *H. schachtii* ten behoeve van de bietenteelt.

TABEL 1. Maten in microns (s, l en b) van de kegeltop bij 15 verschillende populaties van *H. avenae* = *H. major*, *H. schachtii* en *H. trifolii*. Gemiddelden van 2-10 kegeltoppen per populatie

Table 1. Mean size in microns (s, l and b) of cone tops in 15 different populations of *H. avenae* = *H. major*, *H. schachtii* and *H. trifolii*. Mean of 2-10 cone tops per population



s = vulva spleet
vulva split
l = grootste lengte van de lichte plekken
maximum length of light patches
b = grootste breedte van de lichte plekken
maximum breadth of light patches

<i>H. avenae</i>				<i>H. schachtii</i>				<i>H. trifolii</i>			
populatie no	gem. s	gem. l	gem. b	populatie no	gem. s	gem. l	gem. b	populatie no	gem. s	gem. l	gem. b
f 32	13	49	21	b 87	50	35	26	d 36	52	45	33
f 33	13	47	23	b 88	52	35	27	d 44	51	47	31
f 40	11	48	22	b 102	48	31	21	d 46	50	44	29
f 54	13	45	22	b 104	49	30	26	d 76	47	46	25
f 57	12	44	19	b 108	46	34	27	d 78	44	46	23
f 66	12	51	21	b 112	43	35	21	d 79	51	40	25
f 88	12	44	18	b 114	49	31	21	d 82	45	45	27
f 89	10	52	23	b 118	45	29	23	d 83	44	41	26
f 90	10	49	24	b 124	42	36	23	d 85	45	39	26
f 91	11	52	19	b 137	47	35	26	d 86	45	44	29
f 92	11	54	24	b 203	43	36	24	d 95	45	41	29
f 96	14	49	21	b 204	44	25	19	d 96	52	49	35
f 101	13	51	22	b 228	47	31	25	d 98	52	51	36
f 102	11	49	23	b 233	41	31	24	d 100	50	49	32
f 103	11	45	19	b 234	51	34	27	d 103	43	52	28
Algemeen gemiddelde van de populatie-gemiddelden . . .											
Uitersten van de populatie-gemiddelden . .											
Uitersten van de individuele maten . . .											
Totaal aantal individuele maten . . .											
Gemiddelde van alle individuele maten .											
Standardaafwijking van het gemiddelde van alle individuele maten											
	11,8	48,6	21,4		46,5	32,5	24,0		47,7	45,3	28,9
	10-13	44-54	18-24		41-52	25-36	19-27		43-52	39-52	23-36
	8-13	40-61	13-29		37-56	21-45	13-35		37-56	32-56	21-43
	65	81	81		73	58	57		63	62	56
						32,1				45,6	
						0,81				0,81	

Vooral de lengte der lichte plekken, als populatie-gemiddelde, blijkt in dit verband bruikbaar. Bij de onderzochte populaties van *H. schachtii* varieerden de populatie-gemiddelden van 25–36 μ , bij *H. trifolii* van 39–52 μ . De populatie-gemiddelden van de ene aaltjessoort overlaptten die van de andere dus niet. Bij een statistische bewerking van de oorspronkelijke gegevens bleek, dat het gebruikte *H. schachtii*-materiaal zowel als het *H. trifolii*-materiaal als homogeen mocht worden beschouwd. De gemiddelden van alle individuele maten waren voor *H. schachtii* 32,1 μ en voor *H. trifolii* 45,6 μ en het verschil van 13,5 μ bleek ook volgens de strengste toets zeer betrouwbaar.

De lengten bij de individuele kegels, waaruit de populatie-gemiddelden zijn berekend, varieerden bij *H. schachtii* en *H. trifolii* resp. van 21–45 en van 32–56 μ en overlaptten elkaar dus wel. Het aantal gemeten kegels per populatie varieerde van 2 tot 10 en was zowel bij *H. schachtii* als *H. trifolii* gemiddeld ongeveer 4. Het is van belang te weten, hoeveel kegels van een populatie er op zijn minst gemeten moeten worden om te kunnen beslissen met welke van de twee soorten men te doen heeft. Een verdere statistische bewerking van het cijfermateriaal toonde aan, dat de grens tussen populatie-gemiddelden van de ene en van de andere soort bij 38,7 μ gelegd kan worden en dat de kans op misklassificatie van een populatie bij het meten van 3 kegels reeds kleiner dan 1:20 en bij het meten van 5 kegels kleiner dan 1:100 moet zijn. Het meten van 5 kegels per populatie zal dus als regel voldoende zijn om te beslissen tussen *H. schachtii*

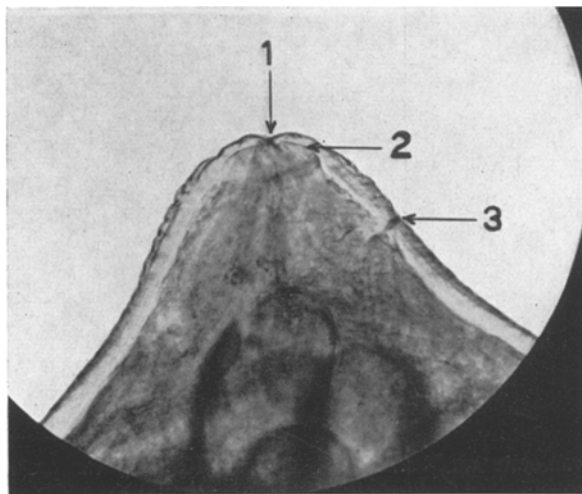


Fig. 1. Cyste-kegel van *H. galeopsidis*, lateraal gezien, $\pm 300 \times$. 1. vulva-spleet; 2. dunwandige top van vulvalip; 3. anus (deze is door het ontstaan van de vulva-kegel op de buikzijde ogenschijnlijk dorsaal komen te liggen).

Cyst cone of H. galeopsidis, lateral view, $\pm 300 \times$. 1. vulva split; 2. thin-walled top of vulva lip; 3. anus (the anus appears to be dorsal on account of the fact that the vulva cone arose on the ventral side of the eelworm body).

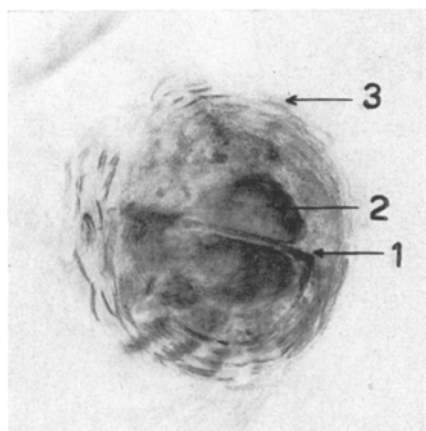


Fig. 2. Kegeltop van jonge cyste van *H. galeopsidis*, bovenaanzicht, $\pm 300 \times$. 1, 2, en 3 (onduidelijk) als in fig. 1.
Cone top of young cyst of *H. galeopsidis*, top view, $\pm 300 \times$. 1, 2, and 3 (indistinct) as in fig. 1.



Fig. 3. Kegeltop van cyste van *H. avenae* = *H. major*, $\pm 300 \times$.
Cone top of cyst of *H. avenae* = *H. major*, $\pm 300 \times$.

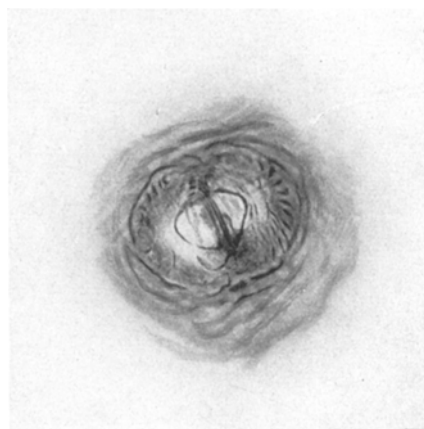


Fig. 4. Kegeltop van cyste van *H. schachtii*, $\pm 300 \times$.
Cone top of cyst of *H. schachtii*, $\pm 300 \times$.

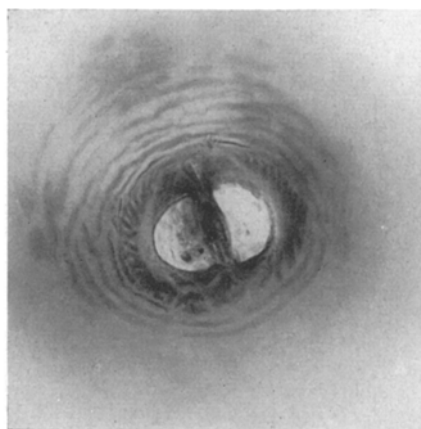


Fig. 5. Kegeltop van cyste van *H. trifolii*, $\pm 300 \times$.
Cone top of cyst of *H. trifolii*, $\pm 300 \times$.

en *H. trifolii*. Doordat men steeds weet welke uitslagen nabij de grens liggen en in deze gevallen alsnog meer individuen gemeten kunnen worden, is de praktische foutenkans veel kleiner dan boven wordt aangegeven. Het meten van 5 kegels per populatie zal dus als regel voldoende zijn om te beslissen tussen *H. schachtii* en *H. trifolii*¹⁾.

Ir S. H. JUSTESEN, lector in de Proeftechniek aan de Landbouwhogeschool, verzorgde de wiskundige bewerking en wij danken hem hiervoor zeer. De volledige en gedetailleerde gegevens zullen verschijnen in een artikel van zijn hand.

SUMMARY

Referring to an earlier communication of the authors additional data are furnished on the taxonomical value of the structure of the vulva cone in lemon-shaped *Heterodera* cysts (figs 1-5, table 1).

In *H. avenae* = *H. major* the transparent lip tops of the cone are narrow and have a very short touching line, forming together the shape of an 8. The vulvar split is extremely short, probably too short to enable the deposition of eggs in the gelatinous egg sac around the cyst vulva which phenomenon normally occurs in other lemon-shaped *Heterodera*-species. These characters are useful, in addition to others, to separate *H. avenae* from mixed populations.

H. schachtii shows smaller transparent patches on the lip tops than *H. trifolii* and this character is probably useful for separating these species in practical advisory work. The average length of the patches (1 in the drawing of table 1) proved to be 32,1 and 45,6 μ . An average of 5 specimens is adequate to place a population below or above 38,7 μ , which is the limiting value between the two species, according to statistical treatment of the presented data.

GEciteerde literatuur

- ANONYMUS - 1952. Proc. Internat. Nematology Symposium (3-14 September 1951). Food & Agriculture Organization United Nations, Agric. Division. Rome, Italy, Jan. 1952.
- BOVIEN, P. - 1953. Om havreålen og resultaterne af nogle forsøg på smittet jord. Tidsskr. Planteavl 56: 581-591.
- HIJNER, J. A., M. OOSTENBRINK en H. DEN OUDEN - 1953. Morfologische verschillen tussen de belangrijkste *Heterodera*-soorten in Nederland. T. Pl.ziekten 59: 245-251.
- STRUBELL, A. - 1888. Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung des Rüben-nematoden, *Heterodera schachtii* Schmidt. Bibliotheca Zoologica 1: 1-52.
- WIESER, W. - 1953. On the structure of the cyst wall in four species of *Heterodera* Schmidt. Statens Växtskyddsanstalt, Meddelande Nr. 65.

¹⁾ Nu bekend is welke eigenschappen bepaald moeten worden, kan de wijze van prepareren en meten voor practisch routine-onderzoek op verschillende wijzen vereenvoudigd worden. Zo voldoen ook waterpreparaten zonder gebruik van een dekglas.