

ELEKTRONENMICROSCOPISCHE WAARNEMINGEN
OVER DE ZOÖSPOREN UIT DE ZOMERSPORANGIA VAN
SYNCHYTRIUM ENDOBIOTICUM (SCHILB.) PERC.

*With a summary: Electron microscope observations on the soral zoospores of
Synchytrium endobioticum (SCHILB.) PERC.¹⁾*

DOOR

A. P. KOLE

Laboratorium voor Phytopathologie, Landbouwhogeschool, Wageningen

INLEIDING

Naar aanleiding van het werk van MANTON, CLARKE & GREENWOOD (1951), MANTON (1952) en MANTON, CLARKE, GREENWOOD & FLINT (1952) over de structuur van de zweepdraden bij mossen, varens, algen, flagellaten en enkele schimmels (*Saprolegnia*, *Allomyces* en *Olpidium*), werd onderzocht of met de elektronenmicroscopie nadere gegevens konden worden verkregen over de bouw van de zoösporen uit de zomersporangia van *Synchytrium endobioticum*.

WERKWIJZE

Voor het verkrijgen van de zoösporen werd uitgegaan van verse wratten, afkomstig van het aardappelwratziekteonderzoek van de Plantenziektenkundige Dienst.²⁾ De wratten werden onder een krachtige waterstraal goed afgespoeld. Vervolgens werden zes wratjes of gedeelten van wratten, ter grootte van $\frac{1}{8}$ tot $\frac{1}{2}$ cm³, met het snijvlak naar boven, ieder in een druppel gedestilleerd water op een goed gereinigd objectglas gelegd. Na het uitleggen van de wratten begon het onderzoek op de aanwezigheid van zoösporen. Hiertoe werden de wratjes om de vijf minuten naar een druppel water op een volgend objectglas overgebracht. De druppels, waaruit de wratten waren verwijderd, werden dan zonder dekglas met een microscoop bij een objectiefvergroting van 10 × bekeken. Wrattjes, die na ongeveer een half uur nog geen zoösporen hadden geproduceerd, werden door nieuwe vervangen. Indien een wratje een goede sporenleverancier bleek te zijn, werd met een micropipetje een druppeltje met zoösporen naar het formvarvliesje van een preparaathouder voor de elektronenmicroscopie overgebracht. De grootte van de druppel werd zo gekozen, dat de spleet in de preparaathouder er juist door werd bedekt. Vervolgens werden de zoösporen gedood en gefixeerd door de preparaathouders ondersteboven gedurende 30 seconden vlak boven een flesje met 2% osmiumzuur te houden. Daarna werden de preparaathouders in de laboratoriumruimte aan de lucht gedroogd. Bij het bekijken van de preparaten met behulp van de fase-contrast microscoop werd een zeer goede voorlopige indruk van hun kwaliteit verkregen. De preparaathouders werden

¹⁾ Aangenomen voor publikatie 4 december 1957.

²⁾ De auteur is aan Ir. H. VAN LOOKEREN CAMPAGNE, Plantenziektenkundige Dienst, veel dank verschuldigd voor het verlenen van gastvrijheid, het verstrekken van materiaal en het geven van waardevolle adviezen bij het maken van de preparaten.

hierbij met het omlaaggebogen lipje naar buiten langs de rand van een objectglas gelegd. De zoösporen met hun zweepdraden, zomede de aanwezigheid van het meest storende element bij het onderzoek, nl. verontreinigingen afkomstig uit de wratten, waren op deze wijze duidelijk te zien. De beste preparaten werden voor het elektronenmicroscopisch onderzoek gebruikt. Ter beschikking stond een Philips elektronenmicroscop, type voor 100 KV.¹⁾

RESULTATEN

Uit de verschillende waarnemingen kan het volgende beeld van de bouw van de zoöspore worden geconstrueerd. Het lichaam van de zoöspore is dikwijls, vermoedelijk als gevolg van beginnende desintegratie, niet scherp begrensd (fig. 1). Centraal gelegen vindt men een meer substantiële massa, welke waarschijnlijk in hoofdzaak door de kern wordt gevormd. Excentrisch gelegen bevindt zich een kratervormige opening, afkomstig van een, vermoedelijk bij het prepareren opengesprongen, vacuole. In fig. 1 komt de zweepdraad van onder het lichaam van de zoöspore te voorschijn, waardoor de plaats van aanhechting aan het gezicht wordt onttrokken. In de lengterichting van de zweepdraad ziet men soms, zoals in fig. 1, een zwakke streping. Te rekenen van de blefaroplast, de knopvormige verdikking van de zweepdraad op de plaats van aanhechting, af is de zweepdraad over 4/5 van zijn lengte nagenoeg overal even dik (fig. 2). Het laatste deel is veel dunner; aan het uiteinde bevindt zich soms een knopvormige verdikking (fig. 2, pijl). Behalve de hier beschreven geheel intact zijnde flagellen, werden ook zweepdraden aangetroffen die door desintegratie in vezels uiteenrafelden. In fig. 3, welke, zoals aan de aanwezigheid van twee vacuolen en twee flagellen te zien is, op een zygote betrekking heeft, zijn bij de naar rechts liggende zweepdraad de vezels aan het uiteinde van de zweepdraad waaier-vormig gespreid. Een sterkere vergroting (fig. 4) laat zien, dat er in totaal elf vezels in de zweepdraad aanwezig zijn. Van deze elf vezels zijn er negen ongeveer even lang; de overige twee, welke in het midden naast elkaar liggen, zijn wat langer. Van het gedeelte van de centrale vezels, dat buiten de andere uitsteekt, is het uiteinde (beginnende bij de pijl) veel onduidelijker dan de rest. De afzonderlijke vezels in fig. 4 vertonen bij nadere beschouwing, althans in de originele foto, een zwakke overlangse streep. Hieruit zou kunnen worden afgeleid, dat de vezels uit twee componenten zijn opgebouwd.

BESPREKING

Uit het vele onderzoek dat de laatste jaren met behulp van de elektronenmicroscop is verricht naar de bouw van zweepdraden bij plant en dier is gebleken, dat de zweepdraden zijn opgebouwd uit vezels en dat het aantal en de rangschikking dier vezels waarschijnlijk steeds dezelfde is (voor literatuur zie MANTON, 1953 en KOCH, 1956). In het merendeel der gevallen zijn nl. elf vezels gevonden, waarbij een centraal paar door de overige negen vezels wordt omringd. De vezelbundel wordt door een huid omgeven en in bepaalde gevallen is

¹⁾ De auteur is Mej. Dra. C. VAN DER SCHEER, Stichting Landbouw Fysisch-Technische Dienst, zeer erkentelijk voor de hulp bij het onderzoek met de elektronenmicroscop. De Heer S. HENSTRA, eveneens van de S.L.F.T.D., komt een woord van dank toe voor het maken van de foto's.



FIG. 1

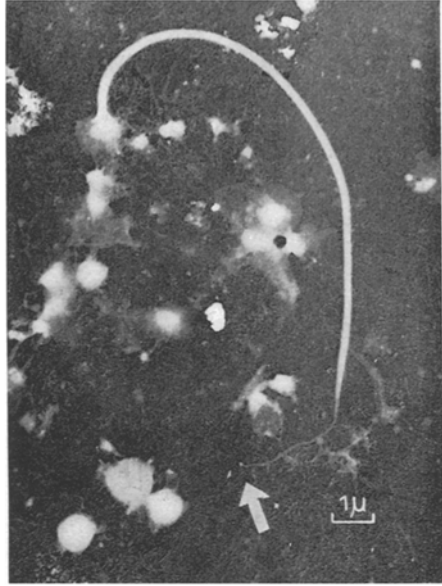


FIG. 2

FIG. 1. Een zoöspore met kernmateriaal, een kratervormige holte en een gedeelte van de zweepdraad, waarin een streepvormige tekening is te zien.
A zoospore showing nuclear substance, a crateriform cavity and part of the flagellum with faint longitudinal striation.

FIG. 2. Losgeraakte zweepdraad met een knopvormige verdikking aan het dunne uiteinde.
A detached flagellum with a slight terminal swelling on the end of the whiplash.

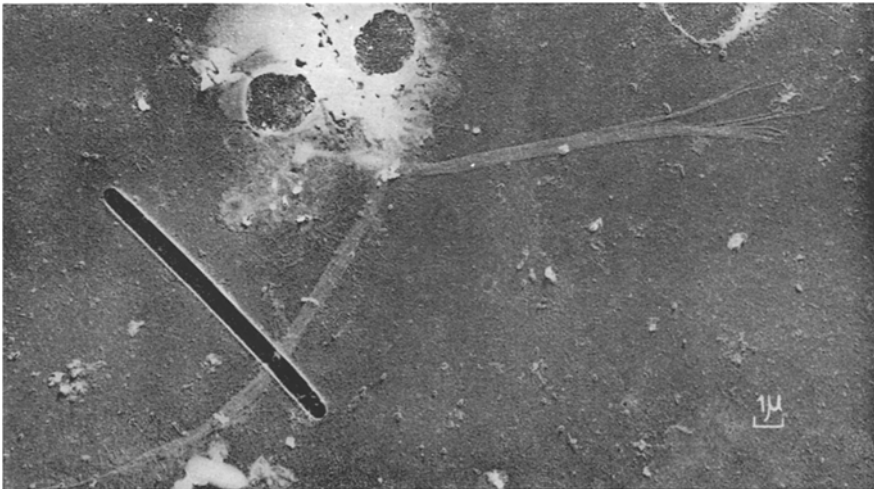


FIG. 3. Een zygote met uiteengerafelde zweepdraden.
A zygote showing fibrillar disintegration of the flagella.

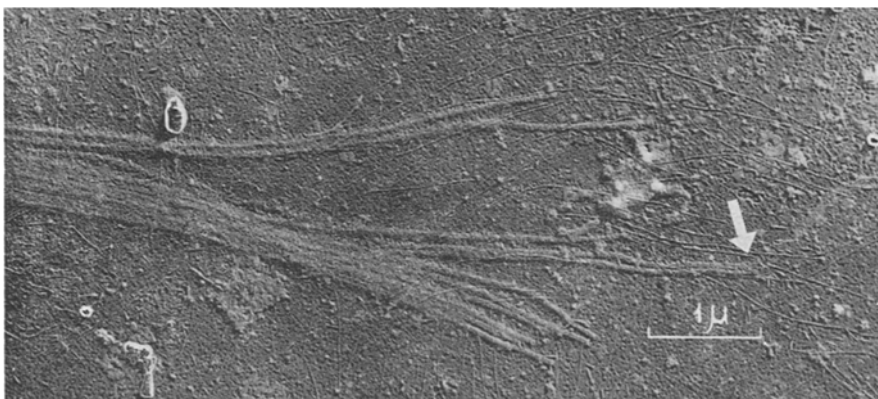


FIG. 4. Een vergroting van het uiteinde van de naar rechts wijzende zweepdraad in de vorige foto.
Enlarged view of the flagellar tip at the right in the preceding photograph.

er een spiraalvormige structuur tussen de buitenste vezels en de kern. Dat de vezels zelf een fijnere structuur konden vertonen, was ook reeds uit de literatuur bekend. In tegenstelling met de rangschikking en het aantal vezels welke, zoals vermeld, vermoedelijk steeds dezelfde zijn, blijkt het aantal componenten van de vezels te variëren. MANTON en medewerkers (zie KOCH, 1956) vonden in die gevallen, waarin de vezels een fijnere structuur vertoonden, twee componenten. Bij schimmels is voor het eerst een onderverdeling der vezels gevonden door KOCH (1956). Bij het onderzoek van enkele vertegenwoordigers der Chytridiales kwam hij tot de conclusie, dat de twee centrale vezels waarschijnlijk uit twee componenten bestaan en de negen overige uit meer dan twee, misschien drie. De resultaten van het eigen onderzoek zijn dus in overeenstemming met de bevindingen van MANTON en medewerkers, die niet meer dan twee componenten vonden. De aanwezigheid van een knopvormige verdikking aan het uiteinde der flagellen bij *Synchytrium* is in overeenstemming met hetgeen door MANTON, CLARKE, GREENWOOD & FLINT (1952) bij *Olpidium* werd gevonden. Door KOCH (1956) werd deze verdikking aangetroffen bij een *Chytridium* sp. en in enkele gevallen bij twee andere leden der Chytridiales. De meningen over de bouw van het dunne uiteinde der zweepdraden lopen nogal uiteen (KOCH, 1956). Wat dit betreft sluiten de resultaten van het eigen onderzoek het beste aan bij hetgeen KOCH voor *Rhizophidium sphaerotheca* heeft gevonden, nl. dat het centrale paar vezels tot het uiteinde van de zweepdraad doorloopt, terwijl de negen andere vezels korter zijn en onderling niet dezelfde lengte hebben. Het vaag afgebeelde uiteinde van de centrale vezels stemt overeen met hetgeen MANTON et al. (1952) en KOCH (1956) respectievelijk bij *Olpidium brassicae* en *Rhizophidium sphaerotheca* hebben gevonden. MANTON et al. (1952) schrijven deze „smoke-like prolongations beyond the apparent ends of the strands” toe aan een „much more destructible condition” van de vezels. Wat de kratervormige holte in het lichaam van de zoöspore betreft, deze correspondeert waarschijnlijk met de vacuole waarin zich bij de levende zoöspore een oliedruppel bevindt.

SUMMARY

Electron microscope observations on the soral zoospores of *Synchytrium endobioticum* revealed, besides nuclear substance, the presence of a crateriform cavity in the zoospore body. Probably this cavity corresponds with the vacuole which contains oil in the living zoospore. The flagella are cylindrical and they have a whiplash tip. Faint longitudinal striations can just be detected in some of the flagella. A slight terminal swelling on the end of the whiplash is occasionally found. Several flagella showed fibrillar disintegration. Making eleven fibres in all, there are two long central strands and nine shorter peripheral strands. A fine line running along the centre of some fibres indicates that probably each fibre contains two subfibres.

LITERATUUR

- KOCH, W. J., - 1956. Studies of the motile cells of chytrids. I. Electron microscope observations of the flagellum, blepharoplast and rhizoplast. *Am. J. Bot.* 43: 811-819.
 MANTON, I., - 1952. The fine structure of plant cilia. Structural aspects of cell physiology. *Soc. exp. Biol. Symp.* 6: 306-319.

- MANTON, I., – 1953. Number of fibrils in the cilia of the green algae. *Nature* 171: 485.
- MANTON, I., B. CLARKE & A. D. GREENWOOD, – 1951. Observations with the electron microscope on a species of *Saprolegnia*. *J. exp. Bot.* 2: 321–331.
- MANTON, I., B. CLARKE, A. D. GREENWOOD & E. A. FLINT, – 1952. Further observations on the structure of plant cilia, by a combination of visual and electron microscopy. *J. exp. Bot.* 3: 204–215.