

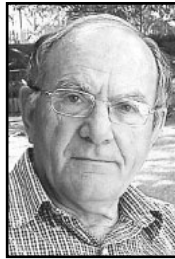
Die suurstofverbruikskoers van verskillende lewenstadia van die endoparasitiese nematode, *Pratylenchus zae* (Nematoda: Tylenchida) tydens nie- en post-anhidrobiose

The oxygen consumption rates of different life stages of the endoparasitic nematode, Pratylenchus zae (Nematoda: Tylenchida) during non- and post-anhydrobiosis

W.J. VAN AARDT¹, SONIA STEENKAMP² & G.C. LOOTS¹

¹Skool vir Omgewingswetenskappe en Ontwikkeling, Noord-Wes Universiteit, Potchefstroom

²Landbounavorsingsraad, Instituut vir Graangewasse (LNR-IGG), Potchefstroom
E-pos: willie.vanaardt@nwu.ac.za;
steenkamps@arc.agric.za;
don.loots@nwu.ac.za



Willie van Aardt



Don Loots



Sonia Steenkamp

<p>WILLIE VAN AARDT is sedert 1961 ononderbroke verbonde aan die Skool vir Omgewingswetenskappe en Ontwikkeling, Noord-Wes Universiteit, Potchefstroom, voorheen bekend as die Departement Dierkunde, Potchefstroomse Universiteit vir CHO. In 1968 verwerf hy 'n DSc graad in Eksperimentele Dierkunde aan die Vrije Universiteit, Amsterdam, Nederland. Hy word in 1978 bevorder tot professor en sy akademiese belangstelling is gerig op die vergelykende dierfisiologie. Willie van Aardt publiseer vervolgens 80 publikasies wat hoofsaaklik handel oor respirasie en die funksies van hemoglobien en hemosianien by vertebrate en invertebrate.</p>	<p>WILLIE VAN AARDT has been affiliated with the Department of Zoology, Potchefstroom University for CHE, presently known as the School of Environmental Science and Development, North-West University, Potchefstroom, since 1961. In 1968 he received the DSc degree in Experimental Zoology at the Free University, Amsterdam, The Netherlands. He was promoted to professor during 1978; with his academic interests being focused on comparative animal physiology. Willie van Aardt published 80 publications on the subjects of respiration and the function of haemoglobin and haemocyanin in vertebrates and invertebrates.</p>
<p>DON LOOTS is sedert 1962 ononderbroke verbonde aan die Departement Dierkunde, Potchefstroomse Universiteit vir CHO, tans bekend as die Skool vir Omgewingswetenskappe en Ontwikkeling, Noord-Wes Universiteit, Potchefstroom. In 1967 verwerf hy die DSc graad met spesialisasie in die mikrofauna wat in Suid-Afrikaanse landbougronde voorkom. Hy word in 1986 bevorder tot professor in Dierkunde en sy akademiese belangstelling verskuif later van grondmikrofauna na plant-parasitiese nematodes wat met landbougewasse geassosieer word. Don Loots publiseer 87 akademiese publikasies tydens sy akademiese loopbaan.</p>	<p>DON LOOTS has been affiliated with the Department of Zoology, Potchefstroom University for CHE, presently known as the School of Environmental Science and Development, North-West University, Potchefstroom since 1962. He obtained the DSc degree with specialization in micro fauna present in pasture soils in South Africa and was promoted to professor in the Department of Zoology in 1986. During the past years his interests shifted from soil fauna to plant-parasitic nematodes that are associated with local agricultural crops. Eighty-seven academic publications were published by Don Loots.</p>

SONIA STEENKAMP is in 1994 aangestel as 'n senior navorsingstegnikus by die Nematologie Eenheid van die LNR-Instituut vir Graangewasse (LNR-IGG), Potchefstroom. Sy word gedurende 2000 bevorder na 'n navorser en verwerf 'n PhD-kwalifikasie in Nematologie aan die Skool vir Omgewingswetenskappe en Ontwikkeling, Noord-Wes Universiteit, Potchefstroom Kampus, Potchefstroom in 2009. Sy word ook in 2009 bevorder na senior navorser en is tans werksaam as 'n nematoloog in die afdeling Plantbeskerming van die LNR-IGG, Potchefstroom.

SONIA STEENKAMP was appointed as a senior research technician in the Nematology Unit of the ARC-Grain Crops Institute (ARC-GCI) in Potchefstroom during 1994. She was promoted to researcher during 2000 and obtained a PhD degree in Nematology during 2009 at the School of Environmental Science and Development, North-West University, Potchefstroom Campus. She has since been promoted to senior researcher and is currently being employed as a nematologist in the Plant Protection Division of the ARC-GCI in Potchefstroom.

ABSTRACT

The oxygen consumption rates of different life stages of the endoparasitic nematode, *Pratylenchus zae* (Nematoda: Tylenchida) during non- and post-anhydrobiosis

Pratylenchus zae, widely distributed in tropical and subtropical regions, is an endoparasite in roots of maize and other crop plants. The nematode is attracted to plant roots by CO₂ and root exudates and feeds primarily on cells of the root cortex, making channels and openings where the eggs are deposited, with the result that secondary infection occurs due to bacteria and fungi. Nothing is known about the respiration physiology of this nematode and how it manages to survive during dry seasons. To measure the oxygen consumption rate (VO₂) of individual P. zae (less than half a millimeter long), a special measuring technique namely Cartesian diver micro-respirometry was applied. The Cartesian divers were machined from Perspex, and proved to be more accurate to measure VO₂ compared with heavier glass divers used in similar experiments on free living nematodes. An accuracy of better than one nanoliter of oxygen consumed per hour was achieved with a single P. zae inside the diver. Cartesian diver micro-respirometry measurements are based in principle on the manometric changes that occur in a flotation tube in a manometer set-up when oxygen is consumed by P. zae and CO₂ from the animal is chemically absorbed. VO₂ was measured for eggs (length: ≤ 0.05 mm), larvae (length: 0.36 mm) and adults (length: 0.47 mm) before induction to anhydrobiosis. P. zae from infected maize roots were extracted and exposed aseptically to in vitro maize root cultures in a grow cabinet at 50 % to 60% relative humidity at 28 °C using eggs, larvae and adults. VO₂ was also measured for post-anhydrobiotic eggs, larvae and adults by taking 50 individuals, eggs and larvae from the culture and placing them in Petri-dishes with 1% agar/water to dry out for 11 days at 28 °C and 50% relative humidity. The VO₂ was measured after the anhydrobiotic eggs, larvae and adults were re-hydrated for 12 hours in a high humidity atmosphere. The average VO₂ value found for ten consecutive measurements during a 50 minute period of one adult using the diver technique was 32.8 nanoliter per hour. The differences between the ten VO₂ values were less than 3.5 %, an indication of the accuracy of the diver measurements. The average VO₂ values from ten measurements per life stage, expressed in nanolitres per hour per life stage of the pre-anhydrobiotes (eggs: 7.96; larva: 6.13; adult: 26.04) were compared with those of post-anhydrobiotes 12 hours after anhydrobiosis. The average VO₂ values of the post-anhydrobiotes for the three life stages (egg: 19.34; larva: 14.17; adult: 32.86) were statistically significantly higher in comparison with the pre-anhydrobiotes. The reasons for the difference are that high concentrations of metabolites, probably in the form of trehalose, accumulate during the anhydrobiosis stage to be utilized during the post-anhydrobiotic revival period. The oxygen consumption rate was also

expressed in nanolitres per hour per microgram adult nematode after applying the following equation taken from the literature: $M = a^2 \times b / 16 \times 1000$ where M = mass (μg) of adult nematode; a = largest body width (μm); b = body length (μm). Using this equation it was found that one gram *P. zae* uses 503 times more oxygen compared with one gram mammal the size of a cow. This high specific oxygen consumption rate (MO_2) is a direct indication of the large metabolic damage this endoparasitic nematode can have on the metabolic substrates provided by the roots of the various plant crops it parasitizes.

KEY WORDS: Oxygen consumption rates, *Pratylenchus zae*, Cartesian diver, microrespirometry, non-anhydrobiotes, post-anhydrobiotes.

TREFWOORDE: Suurstofverbruikskoers, *Pratylenchus zae*, Cartesiese duiker, mikrorespirometrie, nie-anhydrobiote, post-anhydrobiote.

OPSOMMING

Die suurstofverbruikskoers (VO_2) van die endoparasitiese nematode *Pratylenchus zae* versamel vanaf mieliewortelkulture is gemeet met behulp van 'n Cartesiese duiker. Die metings met die duiker wat uit Perspex gemasjineer is, berus in beginsel op manometriese veranderinge van die duiker in 'n flottasiebuis van 'n manometeropstelling.

Die gemiddelde VO_2 van 10 metings per lewenstadium, uitgedruk in nanoliters per uur per lewenstadium van nie-anhydrobiote (eiers: 7.96; jeugstadia: 6.13; volwassenes: 26.04) is vergelyk met dié van post-anhydrobiote, 12 uur na herstel uit anhidrobiose. Die gemiddelde VO_2 van die post-anhydrobiote vir die drie lewenstadia (eiers: 19.34; jeugstadia: 14.17; volwassenes: 32.86) is statisties betekenisvol hoër in vergelyking met dié van nie-anhydrobiote. Die redes vir die verskil in VO_2 waardes word bespreek. Die VO_2 is ook uitgedruk in nanoliter per uur per mikrogram volwasse nematode na toepassing van 'n vergelyking verkry uit die literatuur. Dit is gevind dat die suurstofverbruik per een gram *P. zae* 503 keer meer is as die suurstofverbruik per een gram soogdier die grootte van 'n volwasse bees.

INLEIDING

Pratylenchus zae Graham, 1951 is 'n verpligte wortelendoparasiet wat wydverspreid in tropiese en subtropiese gebiede voorkom.^{1,2} Hierdie nematode is 'n dominante wortelparasiet van verskeie landbougewasse soos mielies (*Zea mays* L.),^{3,4,5} sonneblomme (*Helianthus annuus* L.),⁶ grondbone (*Arachis hypogaea* L.),⁷ sojabone (*Glycine max* L.)⁸ en akkerbone (*Vigna unguiculata* L.).^{9,10} Nematodes word na ontkiemende saad en wortels aangetrek deur CO_2 en eksudate vanaf gasheerwortels.^{11,12} *P. zae* voed hoofsaaklik op selle in die wortelkorteks, wat lei tot openinge en kanale waardeur hulle kan beweeg en waarin wyfies eiers deponeer.¹ Die selle waarop die nematodes voed, asook die openinge en kanale waardeur hulle beweeg, kan nekroties word en dit lei tot sekondêre infeksie deur bakterieë en fungi.^{1,13,14} Daar is bewyse dat *P. zae* ook die morfogenese van 'n gasheerplant manipuleer, waarskynlik om meer voedsel en energie te verkry.¹⁵

Alhoewel water noodsaaklik vir lewe is, oorleef 'n verskeidenheid diergroepe en plantsade^{16,17,18} lang periodes van ontwatering deur in 'n toestand van omkeerbare metaboliese stilstand te gaan. Hierdie vermoë wat as anhidrobiose bekend staan, is ook gevind by vrylewende en parasitiese nematodes^{19,20,21} waar *Tylenchus polyhypnus* tot 39 jaar in anhidrobiose kan verkeer.²² Na induksie van anhidrobiose lyk die volwasse nematode verkrimp en spiraalsgewys inmekaar

gedraai nadat die liggaam 99.9% ontwater is.²³ Die beginstadium van 'n nematode-eier se protoplasma vertoon granulêr met 'n groot deurskynende nukleus en word deur 'n dooiermembraan omring, waarna die eier deur verskeie stadia van ontwikkeling gaan.⁹ Volwassenes verskyn ongeveer 10 dae na eierlegging.⁹

Nematodes besit geen asemhalingsorgane of 'n O₂/CO₂ vervoerstelsel nie.²⁴ Hulle is vir respirasie aangewese op gasdiffusie en dit word aanvaar dat een milimeter die maksimale afstand is waaroor die weefsels en organe van suurstof voorsien, en CO₂ verwyder kan word.²⁵ Respirasiemetinge van hoofsaaklik vrylewende nematodes is met Cartesiese duikers bepaal^{26,25,27,28} maar dit is nog nie gebruik om die suurstofverbruikskoers van *P. zae* en dié van ander plantparasitiese spesies te meet nie.

In hierdie ondersoek is die suurstofverbruik van *P. zae* bepaal met behulp van 'n Perspex-gemaakte Cartesiese duiker. Die suurstofverbruiksmetings van die nie-anhidrobiote wat so verkry is, is vergelyk met dié van die post-anhidrobiote 12 uur nadat hulle uit anhidrobiose herstel het. Hierdie tydsverloop is gekies om vas te stel of anhidrobiose by *P. zae* 'n verhoging of verlaging in metabolisme veroorsaak deur die suurstofverbruik per individu te bepaal.

MATERIAAL EN METODEDES

Nie-anhidrobiote

P. zae is uit grondmonsters geëkstraheer^{23,38,29} wat op natuurlik besmette mielielende in die Vaalharts- en Rustenburgomgewings versamel is. Aseptiese, *in vitro* mieliewortelkulture is met die geëkstraheerde *P. zae* individue gestig.³⁰

Die kulture is in 'n groeikabinet by 28°C en 'n relatiewe humiditeit van tussen 50 - 60% aangehou.³⁰ *P. zae* eiers (lengte: ≤ 0.05 mm, breedte 0.028 mm), jeugstadia (lengte: 0.36 mm; breedte 0.206 mm) en volwasse wyfies (lengte: 0.470 mm, breedte 0.27mm)²⁵ wat gedurende hierdie studie gebruik is, is uit bogenoemde gevestigde kulture³⁸ van minstens ses weke oud geëkstraheer en ewekansig versamel. Die suurstofverbruikskoers (VO₂) van 10 *P. zae* eiers, 10 jeugstadia en 10 volwasse wyfies is binne 15 uur na versameling uit die *in vitro* kultuur bepaal soos later beskryf.

Post-anhidrobiote

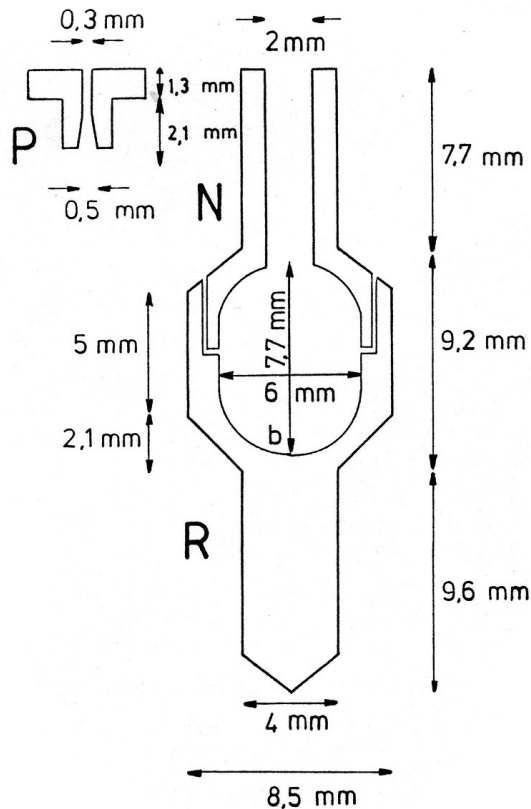
Om eiers, jeugstadia en volwasse nematodes vir anhidrobiose te dehidreer is 50 volwasse nematode wyfies, jeugstadia en eiers onderskeidelik in drie Petri-bakkies wat elk 'n 2 mm laag van 1% water-Agar oplossing bevat het, geplaas. Die bakkies met deksels is rondom die kante verseël met parafilm. Die parafilm is daarna weer op vier plekke oopgesny deur vier een-cm snitte in die parafilm op die rante van die deksels te maak. Die openinge moes verseker dat die vog van die Agar-medium stadig kan verdamp vir induksie van anhidrobiose.³³ Die Petri-bakkies is in 'n klimaatbeheerkabinet vir 11 dae by 28°C en 50-60% relatiewe humiditeit gelaat. Die eiers en jeugstadia is op dieselfde wyse in 1% water-Agar voorberei en aangehou. Volgens hierdie prosedure neem nematodes minstens twee dae om in anhidrobiose te gaan.¹⁸ Omdat die eerste of tweede jeugstadium in die eier waarskynlik nie spiraliseer gedurende die finale fase van anhidrobiose nie, is die eiers ook vir 'n tydperk van 11 dae in die Petri-bakkies, met openinge in die parafilm, aangehou. Na die anhidrobiose tydperk kon die eiers, jeugstadia en volwasse anhidrobiote nie dadelik in die Cartesiese duikers geplaas word vir die suurstofverbruiksmetings nie. Die rede is dat die moontlikheid bestaan dat anhidrobiote afsterf indien hulle direk in gesteriliseerde kraanwater geplaas word.³¹ Daarom is die anhidrobiote binne dieselfde Petri-bakkies vir 12 uur aan die damp van gesteriliseerde water in klein horlosieglase blootgestel. Na

hierdie periode is die Petri-bakkies ondersoek vir bewegende volwassenes, jeugstadia asook lewende eiers onderskeidelik. Tien post-anhidrobiote van elk van die drie lewenstadia is ewekansig gekies uit die aanvanklike 50 eiers, jeugstadia en volwasse *P. zae*. Binne 5 uur na herwinning uit die petribakkies is die VO_2 met behulp van die Cartesiese duikermetode bepaal.³⁴

Die Cartesiese duikers is voor die aanvang van die metings eers geweeg en dan vir 24 uur geweek in 'n beker met 3% NaOH flottasiemedium waardeur daar voortdurend lug geborrel is.³⁴

Werksbeginsel van die Cartesiese duiker

In die respirasiekamer van die Cartesiese duiker neem *P. zae* suurstof op, die gasvolume binne in die respirasiekamer verminder maar dié volume word vervang met die 3% NaOH-oplossing wat in die nekgedeelte voorkom en die CO_2 opneem. Hierdeur word die duiker swaarder en sak in die flottasiemedium af.³⁴ 'n Verhoging in druk op die flottasiemedium herstel weer die neutrale dryfbaarheid van die duiker. Hierdie verhoging in druk wat nodig is om die neutrale dryfbaarheid



Figuur 1: 'n Diagrammatiese tekening van 'n Cartesiese duiker (massa 618.6 mg) wat uit Perspex gemasjineer is. Die nekgedeelte (N) word met silikoon-ghries aan die respirasiekamer (R) bevestig. *P. zae* word in die reaksiekamer (b) geplaas. Die proppe (P) pas stewig in die nekgedeelte.

van die duiker te herstel, word afgelees op 'n manometer en die lesings word gebruik om die VO_2 van die individuele *P. zaeae* te bepaal. Die akkuraatheid van die meetmetode is beter as een nanoliter (1×10^{-9} liter) per uur.^{35,36}

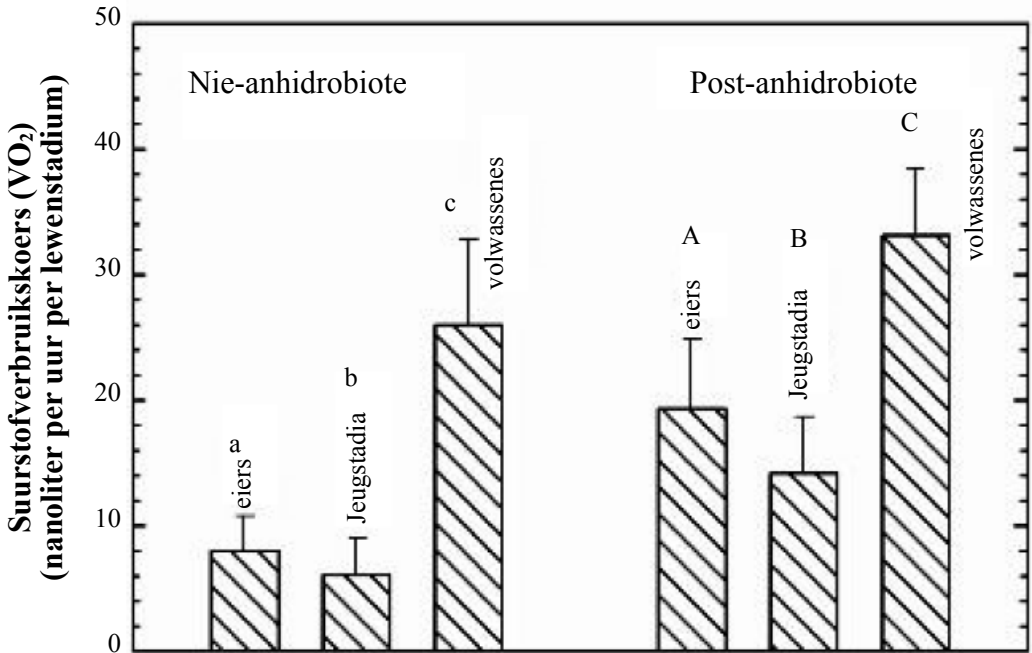
Ter voorbereiding van die drie lewenstadia van *P. zaeae* vir die bepaling van suurstofverbruik is elke lewenstadium (eier, jeugstadium of volwassene) eers in $10 \mu\text{l}$ gesteriliseerde kraanwater met 'n fyn glaspipet vanaf die Petri-bakkies oorgedra na die reaksiekamer (b) van die duiker (Fig. 1). Die nekgedeelte van die duiker is terug geplaas op die respirasiekamer, waarna die duiker oorgedra is na 'n flottasiebuis³⁴ gevul met 'n 3% NaOH oplossing. Die duiker is vir 30 minute in die NaOH oplossing by 'n konstante temperatuur van 25°C gelaat sodat die nematode kan akklimatiseer. Daarna is daar 10 metings met 5 min intervalle van elke eier, jeugstadium of volwassene geneem en die gemiddelde bereken. In totaal is 600 VO_2 metings gemaak van nie-anhidrobiote en post-anhidrobiote elk afkomstig van 10 eiers, 10 jeugstadia en 10 volwasse wyfies, uitgedruk in nanoliters O_2 verbruik per uur per lewenstadium. Die data is onderwerp aan 'n t-toets vir onafhanklike groepe (nie-anhidrobiote en post-anhidrobiote) met behulp van Statistica-sagteware sodat betekenisvolle verskille al dan nie tussen nie-anhidrobiote en post-anhidrobiote stadia aangetoon kan word.

RESULTATE

TABEL 1: Die suurstofverbruik (VO_2) (nanoliter per uur per lewenstadium) van eiers, jeugstadia en volwassenes van *Pratylenchus zaeae* en 12 uur na rehidrering (post-anhidrobiose). Die VO_2 metinge van die 10 eksemplare van die drie lewenstadia is 10 keer per eksemplaar herhaal. *Hierdie kolom is 'n voorbeeld van die VO_2 metinge ($10 \mu\text{l}$ per uur) wat 10 keer van 'n enkele volwasse *P. zaeae* (Nr. 5) herhaal is. \pm : standaardafwyking van die gemiddelde.

Nie-anhidrobiote				Post-anhidrobiote					
Nr.	Eiers	Jeugstadia	Volwassenes	Nr.	Eiers	Jeugstadia	Volwassenes		
1	5.88	6.96	18.96	1	15.24	14.86	30.12 (33.91)*		
2	11.76	2.52	33.48	2	27.60	10.32	42.00 (32.80)*		
3	8.04	9.00	17.4	3	21.72	18.48	23.40 (32.80)*		
4	6.60	3.72	21.48	4	15.96	10.32	30.24 (32.80)*		
5	4.32	6.12	25.80	5	11.64	12.24	32.88 (32.72)*		
6	6.12	8.09	32.76	6	15.72	14.88	36.24 (32.89)*		
7	5.40	9.96	27.84	7	12.96	23.52	34.32 (32.80)*		
8	10.80	8.64	31.68	8	23.88	16.92	36.24 (32.72)*		
9	11.16	2.52	33.72	9	24.48	9.72	37.44 (32.80)*		
10	9.48	3.84	17.52	10	23.88	10.44	28.32 (32.55)*		
Gemiddeld: 7.96 (± 2.76)				19.31 (± 5.60)				14.17 (± 4.49)	(32.86) (± 0.37)

Nie-anhidrobiote se eiers wat direk uit die kultuur geneem is se VO_2 wissel tussen 4.32 en 11.76 nanoliter $O_2 h^{-1}$ per eier met 'n gemiddelde van $7.96 \mu l O_2 h^{-1}$ en 'n standaardafwyking van $2.67 \mu l O_2 h^{-1}$. Vir jeugstadia word tussen 2.52 en $9.96 \mu l O_2$ per uur verbruik met 'n gemiddelde van $6.13 \mu l O_2 h^{-1}$ per uur en 'n standaardafwyking van $2.80 \mu l O_2 h^{-1}$. Vir volwassenes is die onderskeie waardes tussen $17.52 \mu l O_2 h^{-1}$ en $33.72 \mu l O_2 h^{-1}$ met gemiddeld van $26.04 \mu l O_2 h^{-1}$ wat meer as vier keer hoër is as die suurstofverbruik van die jeugstadia. Die VO_2 van die drie lewenstadia (a,b,c, Figuur 2) by post-anhidrobiote was statisties betekenisvol hoër as dit vergelyk word met die suurstofverbruik van die drie lewenstadia (A,B,C, Figuur 2) van die nie-anhidrobiote ($P \leq 0.05$) (Figuur. 2). 'n Gemiddelde VO_2 van $33.12 \mu l O_2 h^{-1}$ per volwasse nematode is by post-anhidrobiote gemeet.



Figuur 2: Die suurstofverbruikskoeers (VO_2) van eiers, jeug- en volwasse lewenstadia van *Pratylenchus zeae* voor en na anhidrobiotiese soos gemeet met 'n Perspex Cartesiese duiker. Die vertikale stafies op die histogramme dui die standaardafwyking aan. Kleinletters a, b, en c se data verskil betekenisvol van hoofletters A, B, en C se data, onderskeidelik.

BESPREKING

Vir hierdie ondersoek kon die massa van *P. zeae* nie met 'n massaskaal bepaal word nie omdat die eiers, jeugstadia en volwasse nematodes te klein is. Daarom kon die VO_2 by hierdie eksperimente slegs uitgedruk word per eksemplaar per tydseenheid. Volgens die literatuur kan egter gebruik gemaak word van 'n indirekte metode om die *P. zeae* se massa te bepaal en toe te pas.³⁷ Die vergelyking vir die massabepaling van 'n nematode is as volg:

$M = a^2 \times b / 16 \times 1000$ waar

M = massa (μg)

a = grootste liggaamsbreedte (μm)

b = liggaamslengte (μm)

Die gemiddelde liggaamslengte van *P. zaeae* is 470 μm en die gemiddelde liggaamsbreedte 27.5 μm .³² Deur 'n vergelyking te gebruik³⁵ kan die gemiddelde massa van volwasse *P. zaeae* op 0.47 mikrogram bereken word. Volgens Tabel 1 is die gemiddelde VO_2 van 10 volwasse nie-anhidrobiote *P. zaeae* 26.04 nanoliter $\text{O}_2 \text{ h}^{-1}$ per individu.

VO_2 uitgedruk per massa eenheid (mikrogram) per uur:

$\text{VO}_2 = 26.04$ nanoliter per individu uur^{-1}

Massa = 0.47 μg

= 26.04/0.47

= 55.4 $\mu\text{l O}_2 \mu\text{g}^{-1} P. zaeae \text{ uur}^{-1}$

= 55.4 $\text{ml O}_2 \text{ g}^{-1} P. zaeae \text{ uur}^{-1}$

As die VO_2 van *P. zaeae* vergelyk word met die VO_2 van byvoorbeeld 'n gemiddelde grootte bees wat slegs 0.11 ml O_2 per gram bees per uur verbruik⁴⁰ dan gebruik *P. zaeae* 503.6 keer (55.4/0.11) meer suurstof per gram bees h^{-1} . Uitgedruk per energie-eenheid, verbruik een gram *P. zaeae* 1.11 kJ h^{-1} en een gram bees 0.0022 kJ h^{-1} . Die suurstof wat *P. zaeae* vir sy metabolisme verbruik, is afkomstig van die metaboliese substrata van 'n gasheerwortel. Die relatief groot hoeveelhede suurstof en energie wat deur hierdie nematode verbruik word, gee 'n indirekte aanduiding van die metaboliese skade wat aan 'n gasheerplant aangerig word deur *P. zaeae* as endoparasiet.

Die relatief groot variasie in die gemiddelde VO_2 -waardes wat in Tabel 1 weergegee is, moet hoofsaaklik toegeskryf word aan die verskillende groottes van elke lewenstadium en waarskynlik ook in ouderdom van die 10 eiers, jeugstadia en volwasse eksemplare van *P. zaeae* wat ewekansig geneem is maar waarvan die massas nie bepaal kon word nie. Die 10 VO_2 metinge per individu wat oor 'n periode van 50 min gemaak is (Tabel 1, kolom aangedui met 'n asterik) verskil egter onderling nie meer as 3.5% van mekaar nie, met 'n gemiddelde van 32.8 nanoliter per uur en 'n standaardafwyking van slegs 0.373 nanoliter per uur. Hierteenoor is die VO_2 verskille van byvoorbeeld die 10 jeugstadia of volwassenes onderling meer as 30 % (Tabel 1). Om variasie in 'n toekomstige ondersoek in die VO_2 -data te verminder, word aanbeveel dat VO_2 -metings van elke eksemplaar van *P. zaeae* se liggaamslengte en -breedte bepaal word sodat die massa van elke individu bereken kan word³⁵ en VO_2 per massa-eenheid uitgedruk word.

Die verhoogde suurstofverbruik van die post-anhidrobiote 12 uur na anhidrobiose (Figuur 2) gee 'n goeie aanduiding dat meer as die normale metaboliet-konsentrasies in die post-anhidrobiote teenwoordig is. Dit is vasgestel³⁸ dat anhidrobiote nematodes, afkomstig van koringgalle, aktief is en reeds suurstof begin verbruik in 'n hoë humiditeitsomgewing, voordat hulle in 'n watermedium geplaas word. Hierdie kennis dui aan dat ensiemwerking op die substraat reeds werkbaar is voordat normale aktiwiteit van die nematode plaasvind. Trehalose word toenemend geproduseer namate induksie tot anhidrobiose toeneem. Hierdie nie-reducerende disakkariëde beskerm membrane en proteïene teen desikkasie en dra by tot die vorming van 'n intrasellulêre organiese glas of ook genoem bio-glas wat nematode-selle se inhoud stabiliseer.³⁸ Omdat trehalose in groot hoeveelhede as metaboliese substraat teenwoordig is by post-anhidrobiose individue is dit waarskynlik die substraat wat gebruik word tydens verhoogde VO_2 van die post-anhidrobiot terwyl glikoëen gesintetiseer word.³⁹

DANKBETUIGINGS

Die finansiële ondersteuning van die Stigting vir Navorsingsontwikkeling (SNO, 1995) en die Skool van Omgewingswetenskappe en Ontwikkeling, Noord-Wes Universiteit word met dank erken.

BIBLIOGRAFIE

- 1 Whitehead, A.G. (1998). Migratory Endoparasites of Roots and Tubers (*Hirschmanniella*, *Pratylenchus*, *Radopholus* and *Scutellonema*). In: Whitehead, A.G. (ed.). *Plant Nematode Control*. CABI Publishing, New York: Wallingford, pp. 108-145.
- 2 Hunt, M.J. Luc, M. & Manzanilla Lopez. (2005). Identification, morphology and biology of plant parasitic nematodes. In: Luc, M, Sikora, R.A. & Bridge, J. (eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. 2nd edition, Oxfordshire, UK: Cabi Publishing, pp.11-52.
- 3 Walters, M.C. (1979). The possible status of parasitic nematodes as limiting factors in maize production in South Africa. *Proceedings of the Second South African Maize breeding Symposium, Pietermaritzburg, 1976*. Tech. Serv. Rep. S. A., 142: 112 – 118.
- 4 Louw, I.W. (1982). Nematode Pests of Maize. In: Keetch, D. P. & Heyns, J. (eds). *Nematology in South Africa*. Pretoria: Government Press, Science Bulletin, Department of Agriculture and Fisheries 400: 67-72.
- 5 De Waele, D. & Jordaan, E.M. (1988). Plant-parasitic nematodes on field crops in South Africa. 1. Maize. *Rev. Nématol.* 11(1): 65-74.
- 6 Bolton, C., De Waele, D. & Loots, G.C. (1989). Plant-parasitic nematodes on field crops in South Africa. 3. Sunflower. *Rev. Nématol.* 12: 69 -76.
- 7 Venter, C., De Waele, D. & Van Eeden, C. F. (1992). Plant-parasitic nematodes in field crops in South Africa. 4. Groundnut. *Fund. Appl. Nematol.* 15: 7-14.
- 8 Fourie, H., Mc Donald, A.H. & Loots, G.C. (2001). Plant-parasitic nematodes in field crops in South Africa. 6. Soybean. *Nematol.* 3(5): 447-454.
- 9 Castillo, P. & Vovlas, N. (2007). *Pratylenchus (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathology and Management*. New York: APS Press.
- 10 Mc Donald, A. H. & Nicol, J. M. 2005. Nematode parasites of cereals. In: Luc, M., Sikora, R. A. & Bridge, J. (eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. 2nd edition, Oxfordshire, UK: Cabi Publishing, pp.131- 191.
- 11 Klinger, J. 1965. On the orientation of plant nematodes and some other soil animals. *Nematologica*, 11: 4 – 8.
- 12 Robinson, A.F. & Perry, R.N. (2006). Behaviour and sensory perception. In: Perry, R.N. & Moens, M. (eds). *Plant nematology*. Oxfordshire, UK: Cabi Publishing, pp. 210-233.
- 13 Weischer, B. & Brown, D.J.F. (2000). Nematode Parasites of Plants. In: Brown, D. (ed.). *An Introduction to Nematodes: General nematology. A student's textbook*. Sofia, Bulgaria: Pensoft Publishers, pp. 37-53.
- 14 Duncan, L.W. & Moens, M. (2006). Migratory endoparasitic nematodes. In: Perry, R.N. & Moens, M. (eds). *Plant nematology*. Oxfordshire, UK: Cabi Publishing, pp. 123-152.
- 15 De Waele, E., Loots, G.C., Orion, T. & Heyns, J. (1988). Histopathological studies of *Pratylenchus zaeae* on excised roots of *Zea mays*. *S. Afr.J. Sci.*94: 418-421.
- 16 Crowe, J.H. & Clegg, J.S. (1973). Anhydrobiosis. In: Gray, P. (ed). *Benchmark Papers in Biological Concepts, vol.1*. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., pp. 51 – 477.
- 17 Browne, J., Tunnacliffe, A. & Burrell, A. (2002). Plant desiccation gene found in a nematode. *Nature* 416: 38.
- 18 Watanabe, M. (2006). Anhydrobiosis in invertebrates. *Appl. Entomol. Zool.* 41:15-31.
- 19 Crowe, J.H. & Madin, K.A.C. (1975). Anhydrobiosis in nematodes: Evaporative water loss and survival. *J. Exp. Zool.* 193: 323-334.
- 20 Saeed, M. & Roessner, J. (1984). Anhydrobiosis in five species of plant-associated nematodes. *J. Nematol.* 16: 119 -124.

- 21 Wright, D.J. & Perry, R.N. (2006). Reproduction, physiology and biochemistry. In: Perry, R.N. & Moens, M. (eds). *Plant nematology*. Oxfordshire, UK: Cabi Publishing, pp. 187- 209.
- 22 Steiner, G. & Albin F.E. (1946). Resuscitation of the nematode *Tylenchus polyhyppnus* after almost 39 years dormancy. *J. Wash. Acad. Sci.* 36: 97-99.
- 23 Crowe, J.H., Hoekstra, F.H. & Crowe, L.M. (1992). Anhydrobiosis. *Ann. Rev. Physiol.* 54: 579-599.
- 24 Kahn, M.R. (2008). Plant nematodes. Methodology, morphology, systematics, biology and ecology. Enfield, USA: Science Publishers.
- 25 Klekowski, R.Z., Wasilewska, L. & Paplinska, E. (1972). Oxygen consumption by soil-inhabiting nematodes. *Nematologica*, 18: 391-403.
- 26 Zeuthen, E. (1950). Cartesian diver respirometry. *Biol. Bull.* 98: 139-143.
- 27 Wieser, W., Ott, J., Schiemer, F. & Gnaiger, E. (1974). An ecophysiological study of some meiofauna species inhabiting a sandy beach at Bermuda. *Mar. Biol.* 26: 235-248.
- 28 Warwick, R.M. & Price, R. (1979). Ecological and metabolic studies on free-living nematodes from an estuarine mud-flat. *Est. Coastal Mar. Sci.* 9: 257-271.
- 29 Jenkins, W.R. (1964). A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis. Rep.* 48: 692.
- 30 Hooper, D.J., Hallmann, J. & Subbotin, S. (2005). Methods for extraction, processing and detection of plant and soil nematodes. In: Luc, M., Sikora, R.A. & Bridge, J. (eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. 2nd edition. Oxfordshire, UK: Cabi Publishing, pp. 53-86.
- 31 Meyer, J.J. (1984). Die *in vitro* aseptiese massateling van *Pratylenchus zae* (Nematoda: Pratylenchinae). *Phytophylactica*, 16: 259 – 261.
- 32 Heyns, J. (1971). A Guide to the Plant and Soil Nematodes of South Africa. Pretoria: Content Solutions.
- 33 Barret, J. (1991). Anhydrobiotic Nematodes. In: Evans, K. (ed.). *Agricultural Zoological Reviews Vol.4*. Andover: Intercept Press, pp. 161-176.
- 34 Van Aardt, W.J. (1991). 'n Plastiek Cartesiese duiker as respirometer. *S.A.Tydskr. Natuurwet. Tegnol.* 10: 169-175.
- 35 Schouten, A.J. (1988). Cartesian diver microrespirometrie voor vrijlewende bodemnematoden. Vrije Universiteit, Amsterdam. (Verhandeling, 78 pp.)
- 36 Holter, H. & Linderstrom-Lang, K. (1951). Micromethods and their application in the study of enzyme distribution in tissues and cells. *Physiol. Rev.* 31: 423-448.
- 37 Andrassy, I. (1954). Die Rauminhalts and Gewichtbestimmung der Fadenwürmer (Nematoden). *Acta Zoöl.* 11: 1-3.
- 38 Bhatt, B.D. & Rohde, R.A. (1970). The influence of environmental factors on the respiration of plant-parasitic nematodes. *J. Nematol.*, 2: 277-285.
- 39 Crowe, J.H., Madin, K.A.C. & Loomis S.H. (1977). Anhydrobiosis in nematodes: Metabolism during resumption of activity. *J. Exp. Zool.* 201:57 - 64.
- 40 Schmidt-Nielsen, K. (1984). Scaling: Why is animal size so important. Cambridge, UK: Cambridge University Press.