

STRUCTURE DU SITE TROPHIQUE INDUIT PAR *TYLENCHULUS SEMIPENETRANS* SUR BIGARADIER OBSERVÉ EN MICROSCOPIE PHOTONIQUE, CONFOCALE ET ÉLECTRONIQUE À TRANSMISSION

S. Kallel, A. Louhichi, M.M. B'Chir et P. Van Oostveldt*

Laboratoire de Nématologie - Institut National Agronomique de Tunisie, 43,
Avenue Charles Nicolle, 1082 Tunis-Mahrajène, Tunisie

*Laboratorium voor Biochemie en moleculaire Cytologie-Universiteit Gent,
Coupure link, 653, 9000 Gent, Belgium

Résumé. Les cellules trophiques induites par l'infestation de *Tylenchulus semipenetrans* dans la région corticale des racines de bigaradier sont profondément modifiées sur le plan cytoplasmique et nucléaire. Les cellules trophiques ainsi que les corticales des racines infestées par le nématode observées en microscopies photonique, confocale et électronique présentent un organelle pecto-cellulosique qui occupe une grande partie du cytoplasme. Les cellules trophiques contenant une importante quantité d'amidon sont reliées entre elles par des formations tubulaires bien visibles en microscopie photonique. Ces structures cellulaires sont présentes même au-delà des cellules adjacentes au nématode. Le nématode des *Citrus* induit un réseau trophique dans la région corticale des racines infestées. En microscopie électronique à transmission et en microscopie confocale, après coloration par le fluorochrome DAPI, l'appareil nucléaire des cellules trophiques se présente sous forme d'une grande vésicule et/ou de plusieurs petites vésicules contenant une faible quantité d'ADN.

Summary. Structure of the feeding site induced by *Tylenchulus semipenetrans* in sour orange observed with light, confocal and transmission electron microscopy. Nurse cells induced by *Tylenchulus semipenetrans* in the sour orange root cortex are heavily modified in both cytoplasmic and nuclear terms. Nurse cells and cortical cells of roots infested by the nematodes were examined with light, transmission electron and confocal scanning laser microscopy. All types of microscopy revealed that a large part of the nurse cell cytoplasm is occupied by pecto-cellulosic organelles. The nurse cells contain a significant amount of starch and are interconnected by tubular structures that are easily visible by light microscopy. The structures are even present in cells beyond those immediately adjacent to the nematode. Thus, citrus nematode induces a trophic network in the cortical area of infected roots. With confocal and transmission electron microscopy, after staining with the fluorochrome DAPI, the nurse cell nucleus appears either as a large vesicle or as numerous small vesicles containing small quantities of DNA.

La réaction des cellules corticales des racines de *Citrus* consécutive à l'infestation par *Tylenchulus semipenetrans* Cobb (1913) a été largement étudiée en microscopie photonique (Van Gundy et Kirkpatrick, 1963; Cohn, 1965; Macaron, 1972; Baines *et al.*, 1978; Ambrogioni et D'errico, 1984; B'Chir et Belkadhi, 1986; Insera *et al.*, 1988a), en microscopie électronique (B'Chir, 1986, B'Chir, 1988, Subbotin, 1990) et en microscopie confocale (Van Oostveldt *et al.*, 1990).

Sur le plan cytoplasmique, la femelle du nématode des *Citrus* induit un site trophique complexe constitué de cinq à dix cellules non hypertrophiées entourant sa région labiale (Van Gundy et Kirkpatrick, 1963; Cohn, 1965a; Ambrogioni et D'Errico, 1984; B'Chir et Belkadhi, 1986). Par une étude ultra-structurale de ces sites trophiques, B'Chir (1986) a montré que les cellules modifiées ne se limitent pas seulement à la région attenante au nématode mais s'étendent à toute la région corticale en formant un réseau trophique. Ce réseau, élaboré grâce aux tubules d'échanges extra-cellulaires, assurerait des échanges de matériaux nutritifs contenus dans le cytoplasme des cellules nourricières (B'Chir, 1986, 1988).

L'étude ultrastructurale du noyau des cellules infestées a montré que, dès le début de l'infestation, ce noyau s'élargit par rapport au noyau des cellules non infestées

(B'Chir, 1988); la chromatine se condense contre l'enveloppe nucléaire qui en se dégradant libère le matériel chromatique dans le cytoplasme qui devient de plus en plus dense suite à l'accumulation des substances granulaires. Le nucléole s'hypertrophie et s'entoure d'une nouvelle membrane à contour lobé. L'ensemble de ces modifications aboutit à la formation de vésicules nucléaires contenant une importante quantité de matériel chromatique. Le dosage d'ADN dans les noyaux des cellules trophiques montre que le nématode induit une réplication endomitotique de l'ADN et que la dégénérescence débute au centre de ces noyaux (Van Oostveldt *et al.*, 1990).

Le but du présent article est de comparer les modifications cytoplasmiques et nucléaires des cellules du site trophique élaboré par le nématode, observées à l'aide de techniques en microscopie photonique, confocale et électronique à transmission.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Technique histologique pour observation en microscopie optique

Les racines de bigaradier (*Citrus aurantium* L.) infestées par *T. semipenetrans* à différents stades de son déve-

loppement ont été prélevées, fixées par la Navachine (Solution d'acide chromique à 1%, Formaldéhyde, Acide acétique, Eau 30:4:2:64 v/v) rincées et déshydratées avant l'inclusion à la paraffine.

Pour l'observation en microscopie photonique, les coupes longitudinales ou transversales de 14 à 20 µm d'épaisseur sont colorées à la solution de Schiff contrastée au picro-indigo-carmin (B'Chir, 1979) ou à la safranine contrastée au liquide de Lugol avant d'être montées entre lames et lamelles dans du baume de Canada. L'observation des différentes coupes histo-pathologiques a été réalisée sous microscope orthoplan LEITZ.

Technique histologique pour observation en microscopie confocale

Pour l'observation en microscopie confocale, les racines sont découpées longitudinalement par un microtome à 20 µm d'épaisseur puis étalées sur lame avec une solution de gélatine à 1% dans laquelle un cristal de chrome potassium sulfate est dissout à chaud. Les coupes sériées sont déparaffinées, hydratées et colorées par le fluorochrome DAPI (4',6-Diamine-2-phenylindole) pendant 15 minutes; quelques gouttes du milieu de montage VECTASHIELD sont ensuite déposées sur les coupes pour préserver l'humidité. Le fluorochrome DAPI forme un complexe fluorescent avec les séquences d'un ADN double brin riche en AT. La coloration de l'ADN par DAPI est brillante et stable. L'absorption maximale est dans l'ultraviolet à 344 nm et l'émission maximale est à 449 nm. La solution mère est préparée en dissolvant 500 µg de DAPI dans 1 ml d'eau distillée. Après utilisation, la solution est conservée à l'abri de la lumière et au congélateur. La solution de DAPI est diluée 50 fois dans du PBS (Phosphate Buffer Salin). Les images digitales sont obtenues par un microscope confocal BioRad MRC 500 (objectif 60x en immersion) équipé d'un scanner laser argon et couplé à une unité informatique. L'image visualisée est le signal détecté par les photomultiplicateurs en épifluorescence confocale et/ou en transmission grâce à une diode TDL avec jeux de filtres. Les images numériques sont obtenues en auto-fluorescence par la procédure (Filtres: IN1 et UBHS; Emissions: 580/32 pour le PMT I et 540/30 pour le PMT II; Mixers A: 100% PMT1, Mixer B: 100% PMT2, Mixer C: 100% TLD 1) et pour le DAPI (Filtres: IN1 et UBHS; Emissions: 585LP pour le PMT I et 455/30 pour le PMT III; Mixer A: 100% PMT1, Mixer B: 100% PMT3, Mixer C: 100% TLD 1).

Technique cytologique

Les radicelles de bigaradier sont fixées à froid dans une solution de glutaraldehyde à 2,5% dans un tampon phosphate (Sörensen) à 0,1 mole. Après un rinçage d'une heure, dans une solution de Sörensen contenant 8% de saccharose, les échantillons sont fixés à l'acide osmique à 0,1%. Les racines sont ensuite rincées et déshydratées avant l'inclusion dans de l'araldite (B'Chir, 1988). Les coupes de 500 à 700 Å d'épaisseur sont obtenues avec un

ultra-microtome L.K.B. III, et recueillies sur des grilles porte-objets. Les coupes sont alors contrastées automatiquement par ordinateur (Utrastainer L.K.B.) dans une solution aqueuse d'acétate d'uranium (à 20 °C pendant 30 minutes) et dans une solution de citrate de plomb (à 20 °C pendant 10 minutes). L'observation des coupes est réalisée à l'aide d'un Philips 201 EM.

RÉSULTATS

Etude histologique des racines de bigaradier

Structure des racines saines. Les cellules corticales des radicelles de bigaradier (*Citrus aurantium*) indemnes de nématodes absorbent très peu le colorant picro-indigo-carmin (Figs. 1A et B) et présentent une forme rectangulaire avec un cytoplasme rétréci, situé entre une vacuole développée et la paroi pecto-cellulosique. Le noyau des cellules corticales est de petite taille et refoulé à la périphérie, contre la paroi cellulaire (Figs. 1D et E).

Structure des racines infestées. Les cellules trophiques initiées par la présence de *T. semipenetrans* sont situées dans la région corticale de la radicelle (Fig. 2A). Elles sont au nombre de cinq après une période d'infestation de trois semaines. Le nématode coloré en jaune-vert par le picro indigo carmin (l'exosquelette est formé par de la chitine) induit des modifications d'abord au niveau du noyau puis dans le cytoplasme des cellules corticales entourant sa partie antérieure (Fig. 2B). Les cellules corticales modifiées par le nématode présentent des noyaux de plus en plus gros avec de larges nucléoles (Fig. 2B). Elles s'élargissent ensuite au delà de la partie antérieure de la femelle du nématode (Fig. 2C).

Les cellules trophiques induites par *T. semipenetrans* présentent un cytoplasme large, dense et coloré en jaune-vert par le picro-indigo-carmin et un noyau large, central et vésiculisé (Figs. 2D et E), coloré en rose par le réactif de Schiff (Fig. 2F) avec un large nucléole (Figs 2B et D). Le cytoplasme des cellules trophiques montre une région périphérique plus dense à proximité de la paroi cellulaire (Fig. 2 F).

Le cytoplasme des cellules nourricières. Les cellules corticales profondément modifiées par le nématode sont situées autour de sa région antérieure (Figs. 3A-C). Toutes les cellules trophiques présentent une région cytoplasmique colorée en bleu par le picro-indigo-carmin (Figs. 3 D-F). Ces structures cellulaires ou organelles sont absents dans les cellules corticales normales des racines indemnes (Figs. 1B-C). Les autres cellules corticales des racines infestées par le nématode d'apparence saine jouxtant les cellules trophiques présentent aussi ces mêmes structures cellulaires (Figs. 3E, G). Les cellules nourricières paraissent interconnectées entre-elles et avec les autres cellules corticales via des tubules inter-cellulaires d'échanges en formant un réseau trophique (Figs. 3G et H). Ces tubules inter-cellulaires d'échange paraissent re-

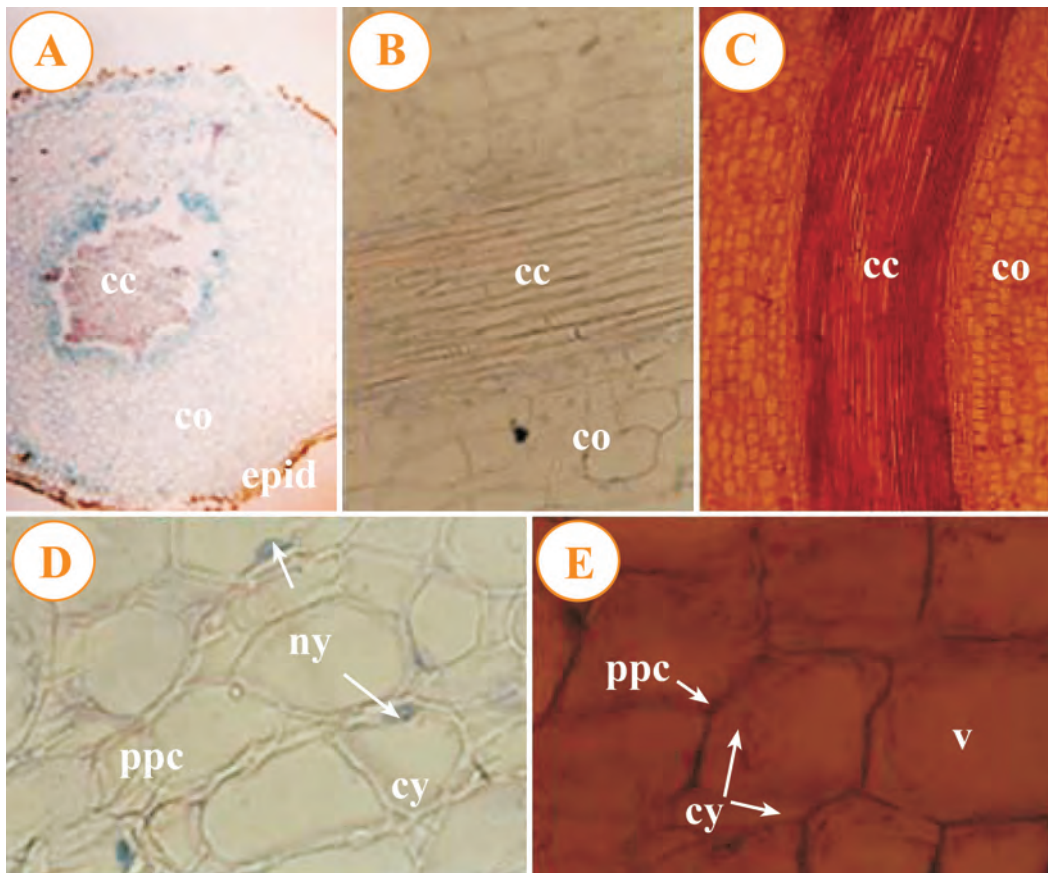


Fig. 1. Coupes transversale (A: x100) et longitudinale (B: x100) d'une racine de bigaradier (*Citrus aurantium*) indemne de nématode, colorée au Schiff et au picro-indigo-carmin. Coupe longitudinale d'une racine saine colorée à la safranine et au liquide de lugol (C: x 100) et aspect des cellules corticales saines (D: x1000 et E: x1000); cc: cylindre central, co: cortex, cy: cytoplasme, epid: épiderme, ny: noyaux des cellules corticales saines, ppc: paroi pecto-cellulosique, v: vacuole.

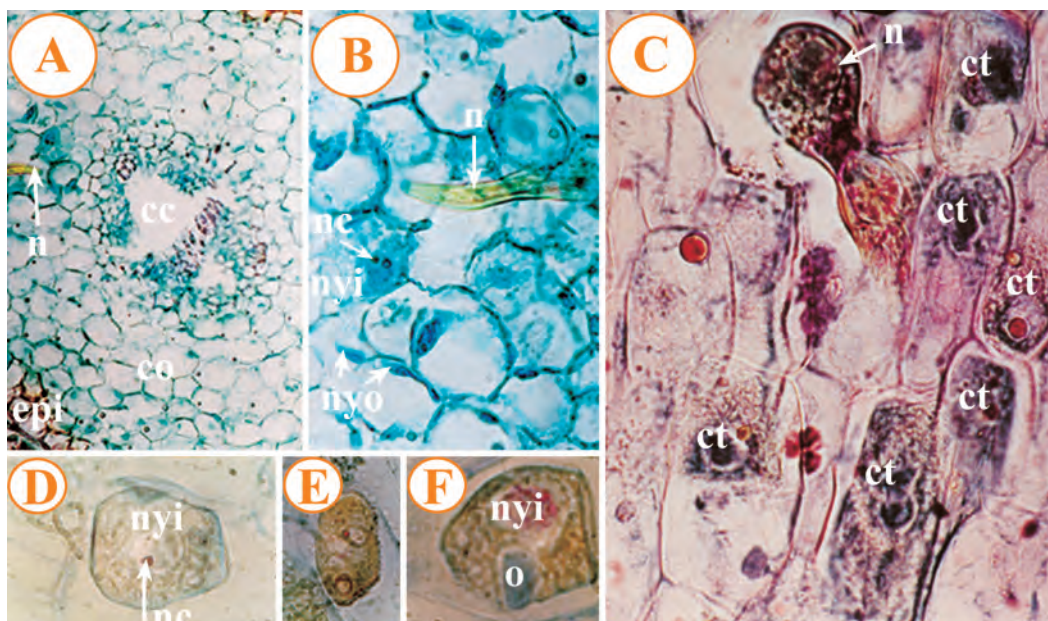


Fig. 2. Coupe transversale de racine de bigaradier (*C. aurantium*) infestée par *Tylenchulus semipenetrans* au bout de trois semaines (A: x100). Disposition des cellules trophiques induites autour de la région antérieures de la femelle du nématode (B: x400): noter le nombre de cellules autour de la femelle (C: x400), la structure des cellules trophiques en cours de formation (D et E: x1000,) et la présence d'une cellule nourricière avec noyau (nyi) et organelle (o) d'échange intracellulaire (F: x1000); cc: cylindre central, co: cortex, ct : cellule trophique, n: nématode, nyi: noyau de cellule modifié, nyo: noyau de cellule non modifié, nc: nucléole.

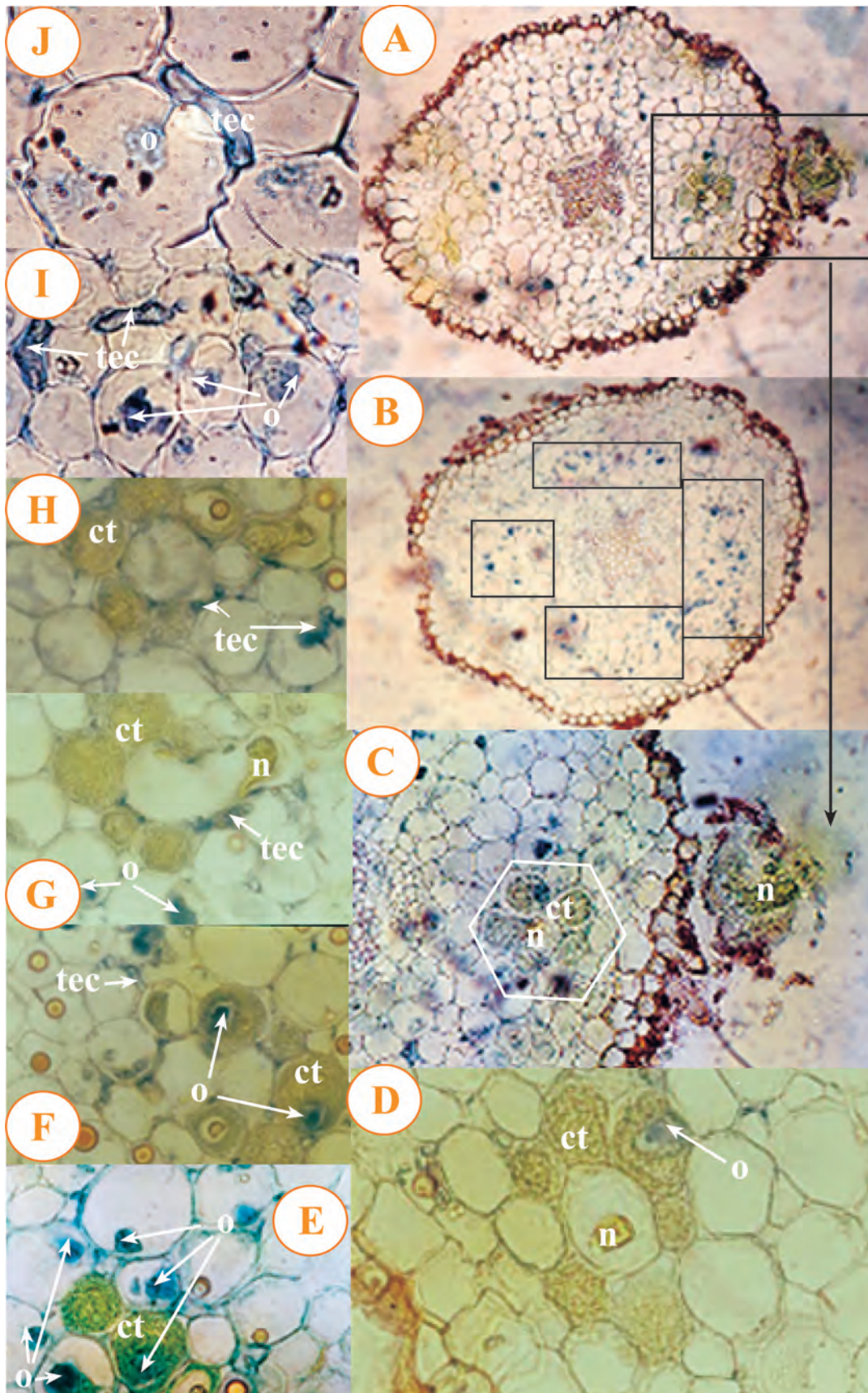


Fig. 3. Coupes transversales de racine de bigaradier (*C. aurantium*) infestée par *T. semipenetrans* (A et B: x100; C: x400). Abondance des organelles dans la région corticale autour des cellules nourricières (C: x400; D: x1000; E: x1000). Interconnexion entre les cellules nourricières induites par le nématode (F: x1000; G: x1000), extension au cellules corticales (H: x1000) et liaison entre les organelles intracellulaire d'échange à l'intérieur des cellules et entre les cellules par les tubules intercellulaire d'échanges (I: x1200; J: x1200); ct: cellule trophique, n: nématode, o: organelle intracellulaire d'échange, tec: tubule intercellulaire d'échange.

lier aussi les autres cellules du cortex radicaire (Fig. 3I). Les organelles et les tubules d'échange sont observés sur des coupes voisines de celles présentant le site trophique induit par le nématode (Fig. 3B). L'interconnexion des cellules corticales par les organelles est située dans le cytoplasme et les tubules (Figs. 3I-J). Les tubules sont colorés comme les organelles qui seraient constitués du même matériau cellulaire. La coloration en brun par le liquide de Lugol des racines infestées par le nématode démontre que les organelles et les tubules sont de nature glucidique (cellulose).

Accumulation des réserves en amidon et aspect du noyau des cellules nourricières. La coloration spécifique de l'amidon par le liquide de Lugol (IKI) montre que les cellules trophiques sont beaucoup plus riches en amidon (Fig. 4A) que les cellules corticales non modifiées (Figs. 1C, E). Le noyau de ces cellules présente une vésicule renfermant le nucléole et plusieurs autres vésicules renfermant une quantité d'acide nucléique (Fig. 4B).

Structure des cellules trophiques en microscopie confocale

L'observation en microscopie confocale par transmission de la région corticale (Fig. 5A) de la racine, infestée par le nématode, montre une région constituée par cinq cellules trophiques entourant la femelle séden-

taire de *T. semipenetrans* (Figs. 5A-B). Le site trophique entourant la région antérieure du nématode présente deux types de cellules (Fig. 5B): les unes vidées de leur contenu et d'autres qui contiennent un noyau irrégulier et un cytoplasme renfermant une formation autofluorescente (Fig. 5C). Ces formations vésiculaires d'aspect variable occupent la plus grande partie du cytoplasme. Cette structure alvéolée pourrait contribuer à augmenter la surface de contact avec le plasmasol (Fig. 5C).

Ces formations cellulaires ne correspondent pas à une structure nucléaire puisqu'elles n'émettent pas dans les longueurs d'onde du fluorochrome et ne sont pas constituées par des lipides solubles dans le xylème. En outre, ces formations présentent une tension de surface faible puisque deux vésicules proches ne fusionnent pas ensemble. Ces structures cytoplasmiques pourraient avoir une structure cellulosique ou pecto-cellulosique similaire à la paroi cellulaire puisqu'en microscopie ordinaire les deux formations sont colorées en bleu par le colorant picro-indigo-carmin.

Le noyau modifié ou appareil nucléaire serait constitué par une vésicule de grande taille excentrée et/ou par plusieurs petites vésicules (Fig. 5D). Ces vésicules nucléaires présentent une faible fluorescence et donc retiennent peu le colorant DAPI en microscopie confocale (Fig. 5E). Cette émission est en rapport avec la faible quantité d'ADN que renferment ces vésicules nucléaires.

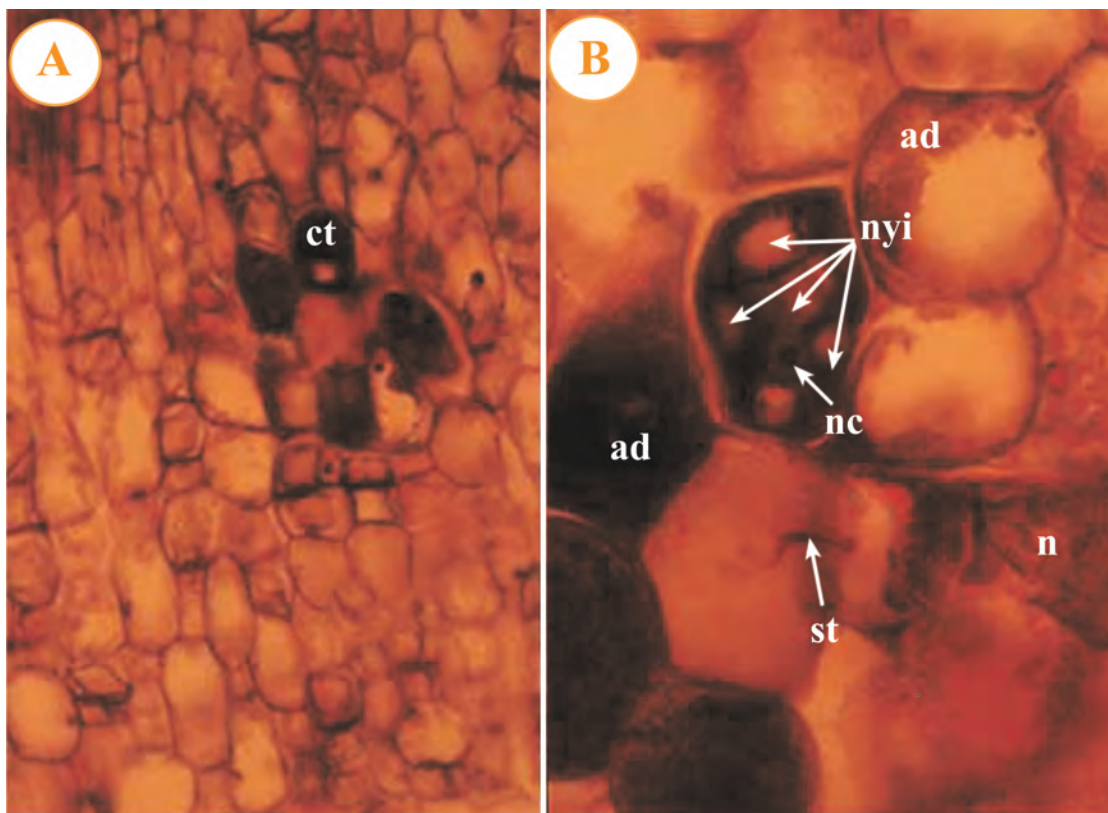


Fig. 4. Coupe transversale de racine de bigaradier (*C. aurantium*) infestée par *T. semipenetrans* (A: x200), colorée à la safranine et au liquide de lugol. Importance des granules d'amidon dans les cellules trophiques induites par le nématode et vésicules dans leur noyau (B: x1000). ad: granules d'amidon, ct: cellule trophique, n: nématode, nyi: noyau des cellules corticales modifiées, nc: nucléole, st: stylet du nématode.

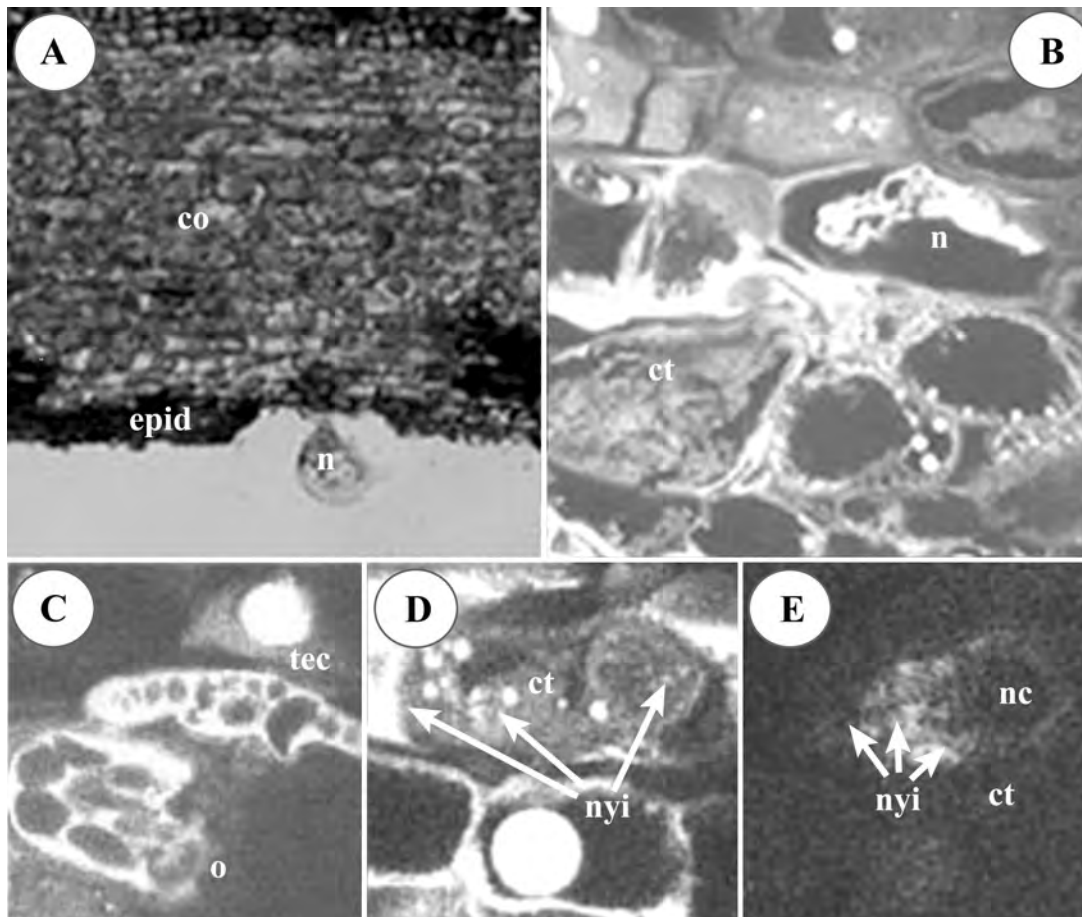


Fig. 5. Racine de bigaradier (*C. aurantium*) infestée par *T. semipenetrans* observée au microscope confocal en transmission (A: x100). Aspect des cellules trophiques entourant la région antérieure du nématode observées en microscopie confocale (B: x200). Aspect interne d'un organelle intracellulaire d'échange et du tubule intercellulaire d'échange observés en microscopie confocale (C: x1000). Appareil nucléaire d'une cellule trophique marqué en autofluorescence (D: x1000), coloré par le DAPI (E: x1000) et observé en microscopie confocale. co: cortex, ct: cellule trophique, epid: épiderme, n: nématode, nyi: noyau des cellules corticales modifiées, o: organelle d'échange intracellulaire, tec: tubule d'échange intercellulaire.

Ultra-structure des cellules nourricières de *T. semipenetrans* étudiée en microscopie électronique à transmission

Les mêmes structures cellulaires au niveau du site trophique induites par *T. semipenetrans* sont observées en microscopie électronique à transmission (Fig. 6). Les cellules nourricières présentent des noyaux diffus avec une partie contenant le nucléole et des vésicules nucléaires contenant une quantité réduite d'ADN (Fig. 6 F).

Les formations observées en microscopie électronique à transmission dans le cytoplasme des cellules corticales des racines infestées par le nématode (Figs. 6C et D) sont appelées par des organelles intracellulaires d'échanges (B'Chir, 1986). Elles sont reliées entre elles par des tubules d'échanges intercellulaires (Fig. 6E). L'ensemble formant un réseau trophique permettrait au nématode de se nourrir à distance des produits de synthèse des cellules lointaines situées dans la région corticale. Ce réseau jouerait également un rôle dans les échanges intercellulaires favorisant la production d'éléments nutritifs indispensables au développement de la femelle de *T. semipenetrans* très peu mobile.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le site trophique induit par *T. semipenetrans* est plus complexe que celui observé chez d'autres nématodes semi-endoparasites sédentaires tels que *Trophotylenchulus* (Jones, 1981; Cohn et Kaplan, 1983; Inserra *et al.*, 1988b). Il évolue dans tout l'espace cortical sur le plan cytoplasmique avec l'élaboration des organelles d'échanges intracellulaires et sur le plan nucléaire avec la modification de la structure du noyau (Van Gundy et Kirkpatrick, 1963; Belkadhi, 1986; B'Chir, 1988). La formation de vésicules dans le noyau, présentant une chromatine peu abondante, pourrait être impliquée dans la production des substances spécifiques du nématode.

Les transformations cytologiques sont très élaborées avec la mise en place des organelles intracellulaires et des tubules intercellulaires d'échange qui relient les cellules entre elles et acheminent les matériaux nécessaires au développement du nématode jusqu'aux cellules trophiques entourant la région antérieure de la femelle de

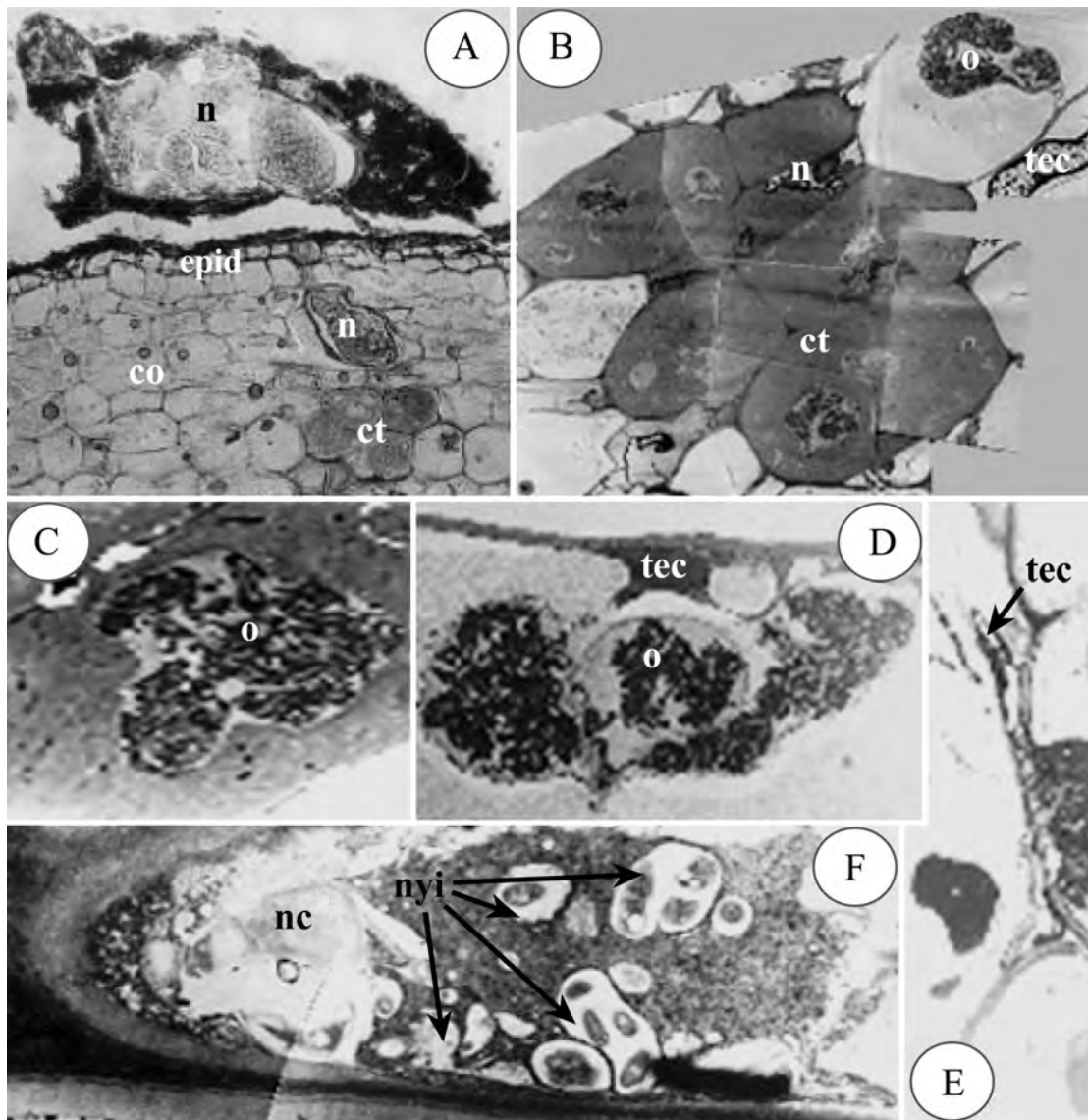


Fig. 6. Racine de bigaradier (*C. aurantium*) infestée par *T. semipenetrans* et observée en microscopie électronique à transmission (A: x200). Cellules trophiques autour de la région antérieure du nématode (B: x500) et organelle intracellulaire d'échange (C: x5000). Tubule intercellulaire d'échange tec (E: x5000) et jonction entre le tec et un organelle (D: x6000). Appareil nucléaire d'une cellule trophique (F: x2000); co: cortex, ct: cellule trophique, epid: épiderme, n: nématode, nyi: noyau des cellules corticales modifiées, nc: nucléole, o: organelle intracellulaire d'échange, tec: tubule intercellulaire d'échange.

T. semipenetrans (B'Chir, 1988; Subbotin, 1990). L'origine des tubules d'échanges intercellulaires et les organelles d'échanges intracellulaires serait identique à celle de la paroi pecto-cellulosique (B'Chir, 1988). En microscopie photonique, Van Gundy et Kirkpatrick (1963) ont observé dans le cytoplasme des cellules induites par le nématode, colorées à l'hématoxyline et contrastées avec de la safranine ou avec le colorant de Johansen, une masse foncée qu'ils n'ont pu ni définir, ni montrer le rôle dans l'organisation du site trophique.

Le noyau perd son individualité et apparaît vésicularisé avec très peu d'acide nucléique (Van Gundy et Kirkpatrick, 1963; B'Chir, 1988; Subbotin, 1990). Ce faible dosage de chromatine suggère que le noyau des cellules ne renferme pas la totalité du génome de la

plante et que ces vésicules nucléaires endomitotiques (Chiboub, 1988; Van Oostveldt *et al.*, 1990) contiennent seulement certains gènes amplifiés (B'Chir et Belkadhi, 1986) impliqués dans les modifications cytoplasmiques qui permettent l'élaboration du réseau cortical trophique et la production des substances organiques nécessaires au développement du nématode.

La richesse en granules d'amidon des cellules trophiques renforce l'hypothèse du rôle nourricier des sucres. En effet, Cohn (1965) a montré l'implication des enzymes obtenues à partir d'homogénats de nématodes dans la digestion de l'amidon en sucres réducteurs. Elle expliquerait en outre le rôle du nématode dans l'altération du bilan énergétique des arbres d'agrumes (Duncan et Eissenstat, 1993; Duncan *et al.*, 1993).

LITERATURE CITEE

- Ambrogioni L. et D'errico F.P., 1984. I nematodi parassiti degli agrumi e loro controllo. Notiziario sulle Malattie delle Piante, (105) 64 p.
- Baines R.C., Van Gundy S.D. et Du Charme E.P., 1978. Nematodes attacking citrus. Pp 321-346. *In: The Citrus Industry* (Reuther W., Calavan E.C. et Carman G.E., eds). University of California, Division of Agricultural Science, California (U.S.A).
- B'Chir M.M., 1988. Organisation ultrastructurale du site trophique induit par *Tylenchulus semipenetrans* dans les racines de *Citrus*. *Revue de Nématologie*, 11: 213-222.
- B'Chir M.M., 1986. Originalité ultrastructurale du site trophique induit par *Tylenchulus semipenetrans* dans les racines de *Citrus* (*Citrus aurantium*). *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*, 51/1: 157-162.
- B'Chir M.M., 1979. Contribution à l'étude morphologique, anatomique, bioécologique de quelques espèces du genre *Aphelenchoides* (Nematoda: Aphelenchoidea). Thèse Doctorat d'état, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France, 206 pp.
- B'Chir M.M. et Belkadhi M.S., 1986. Nouvelles données sur les modifications histologiques induites par le complexe *Fusarium solani*-*Tylenchulus semipenetrans* au niveau des racines de porte-greffes de *Citrus*. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*, 51/3b: 1295-1308.
- Belkadhi M.S., 1986. Contribution à l'étude des problèmes posés par les nématodes associés aux pépinières d'arboriculture fruitière en Tunisie. *Mémoires de fin d'études du cycle de spécialisation. Laboratoire de nématologie. Institut National Agronomique de Tunisie, Tunis*, Tunisie, pp.124.
- Chiboub T., 1988. Contribution à l'étude de l'état d'infestation des pépinières de *Citrus* par *Tylenchulus semipenetrans*: possibilité de production des plants sains. *Mémoires de fin d'études du cycle de spécialisation. Laboratoire de nématologie. Institut National Agronomique de Tunisie, Tunis*, Tunisie, pp. 79.
- Cohn E., 1965. On the feeding and histopathology of the citrus nematode. *Nematologica*, 11: 47-54.
- Cohn E. et Kaplan D.T., 1983. Parasitic habits of *Trophotylenchulus floridensis* (Tylenchulidae) and its taxonomic relationship to *Tylenchulus semipenetrans* and allied species. *Journal of Nematology*, 15: 514-523.
- Duncan L.W., Graham J.H. et Timmer L.W., 1993. Seasonal patterns associated with *Tylenchulus semipenetrans* and *Phytophthora parasitica* in the *Citrus* rhizosphere. *Phytopathology*, 83: 573-581.
- Duncan L.W. et Eissenstat D.M., 1993. Responses of *Tylenchulus semipenetrans* to *Citrus* fruit removal: Implications for carbohydrate competition. *Journal of Nematology*, 25: 7-14.
- Inserra R.N., Vovlas N., O'Bannon J.H. et Esser R.P., 1988a. *Tylenchulus graminis* n. sp. and *T. palustris* n. sp. (Tylenchulidae), from native flora of Florida, with note on *T. semipenetrans* and *T. furcus*. *Journal of Nematology*, 20: 266-287.
- Inserra R.N., Vovlas N. et O'Bannon J.H., 1988b. Morphological and biological characters of diagnostic significance in *Tylenchulus* and *Trophotylenchulus* species. *Nematologica*, 34: 412-421.
- Jones M.G.K., 1981. The development and function of plant cells modified by endoparasitic nematodes. Pp. 255-279. *In: Plant parasitic nematodes vol. III* (Zuckerman B.M. et Rohde R.A, eds). Academic Press, London, UK.
- Macaron J., 1972. Contribution à l'étude du nématode phytophage *Tylenchulus semipenetrans*. Thèse *PbD*, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, (FR).
- Subbotin S.A., 1990. Ultrastructural changes in root cells of *Citrus sinensis* infested with the nematode *Tylenchulus semipenetrans*. *Tsitologiya i Genetika*, 24: 3-8.
- Van Gundy S.D. et Kirkpatrick J.D., 1963. Nature of resistance in certain citrus rootstocks to citrus nematode. *Phytopathology*, 54: 419-427.
- Van Oostveldt P., Bauwens S., Ben Abdallah S. et B'Chir M.M., 1990. Nuclear changes accompanying nematode feeding in roots of *Citrus* plants. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*, 55/2b: 753-760.