

Laboratorio di Nematologia Agraria del C.N.R.
70126 Bari - Italia

ISTOPATOLOGIA DI RADICI DI OLIVO INFESTATE
DA *ROTYLENCHULUS MACRODORATUS* DASGUPTA,
RASKI ET SHER ⁽¹⁾

di

N. VOVLAS e R. N. INSERRA

Le alterazioni istopatologiche causate dalle specie del genere *Rotylenchulus* Lindford et Oliveira, 1940, sui loro ospiti non sono molto conosciute. Solo quelle causate da *R. reniformis* Lindford et Oliveira sono state studiate approfonditamente su alcune piante erbacee. È stato accertato che questa specie si fissa con l'estremità della sua porzione cefalica esclusivamente su una cellula dell'endoderme o del periciclo, la quale si ingrossa assieme alle cellule adiacenti, formando un sincizio (Cohn, 1973; Carter, 1974; Heald, 1975; Oteifa, 1970; Rebois *et al.*, 1975). Recenti studi effettuati da Cohn, 1976 e da Cohn e Mordechai, 1976 utilizzando piante di Quercia (*Quercus calliprinos* Webb.) e di Soia (*Glycine max* L.), hanno messo in evidenza che anche *R. macrodorus* Dasgupta, Raski et Sher si nutre a spese delle cellule dell'endoderme e del periciclo, ma a differenza di *R. reniformis*, esso determina la formazione di una ben definita struttura, costituita da una cellula ipertrofica, con nucleo dilatato e citoplasma molto denso, la quale, a volte, occupa sino ad un quinto del cilindro centrale, visto in sezione trasversale.

Tenuto conto della vasta diffusione di *R. macrodorus* negli oliveti italiani (Inserra *et al.*, 1975), si è ritenuto utile effettuare degli

⁽¹⁾ Histopathology of olive roots infested with *Rotylenchulus macrodorus* Dasgupta, Raski et Sher.

studi sulle alterazioni istopatologiche che questo fitofago induce in radici capillari di Olivo (*Olea europaea* L.).

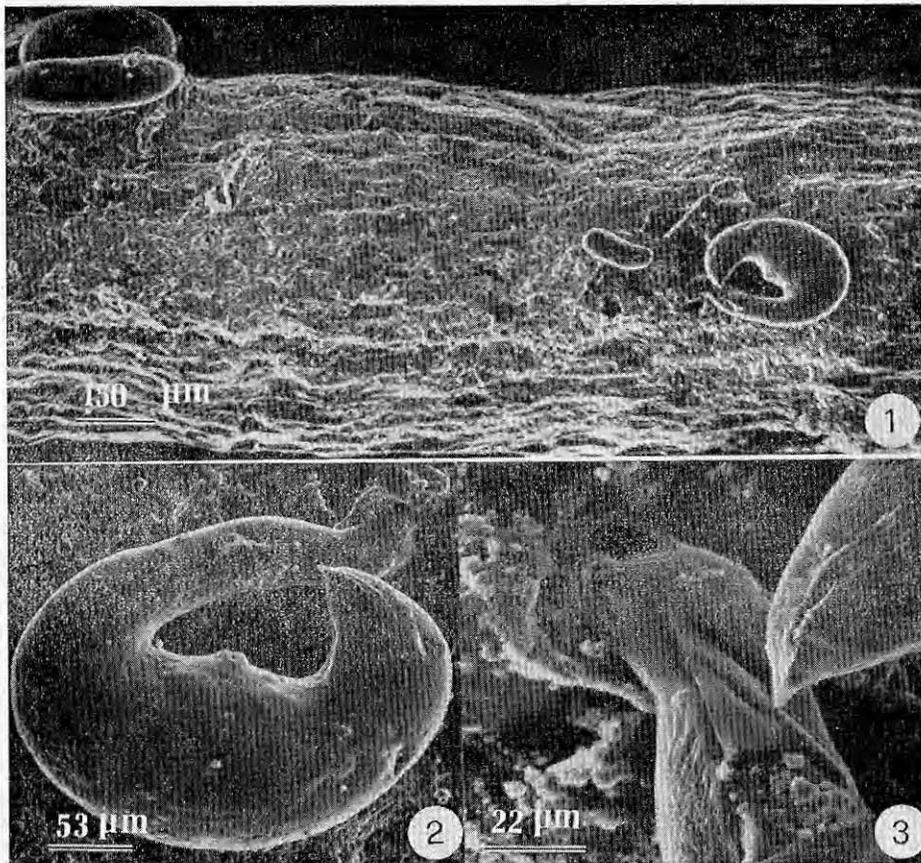
Materiali e metodi

Radici e capillari di Olivo, del diametro di 1-2,5 mm e raccolte da piante infestate da *R. macrodoratus*, sono state lavate in acqua, fissate in CRAF (acido cromico, acido acetico e formalina) per 48 ore e disidratate in soluzioni acquose a concentrazioni crescenti di alcol butilico terziario e incluse in paraffina. Le sezioni trasversali, dello spessore di 15-20 μm , ottenute da queste, sono state poi lavate in xilolo e colorate in safranina e « fast green » ed infine montate in Permound (Johansen, 1940) per l'esame microscopico. Inoltre, piccole porzioni di radici fissate in lattofenolo e metallizzate con oro, dopo essiccamento all'aria, sono state esaminate al microscopio elettronico a scansione per osservare la posizione del nematode in esse infisso.

Risultati e discussioni

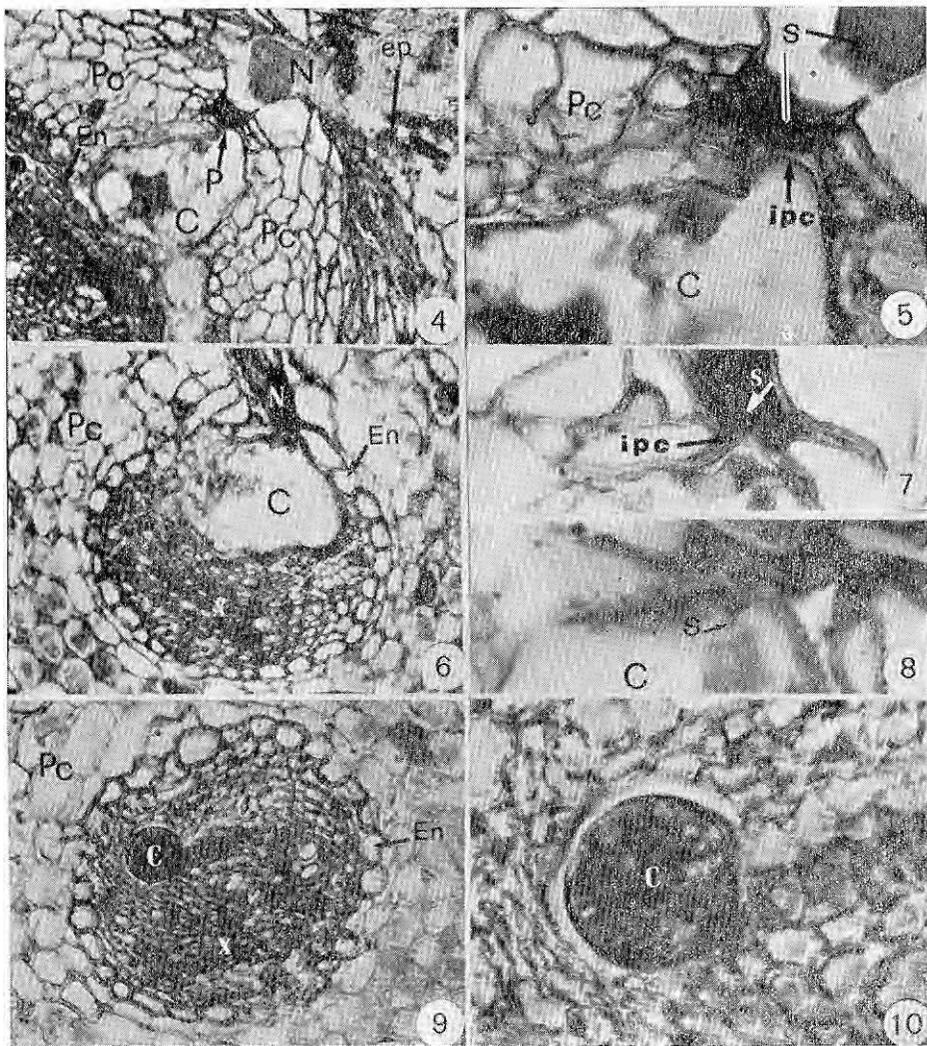
Come nel caso delle altre specie del genere *Rotylenchulus*, anche in *R. macrodoratus* le femmine mature sono sedentarie e rimangono infisse con la porzione anteriore del loro corpo all'interno dei tessuti radicali e con quella posteriore, molto dilatata, sporgente all'esterno della superficie della radice (Figg. 1, 2 e 3).

Sezioni trasversali di radici di Olivo infestate mostrano che le femmine del nematode penetrano con la porzione anteriore del corpo l'epidermide e possono fissarsi direttamente su una cellula del parenchima corticale o attraversarlo ed attaccarsi ad una dell'endodermide. In ambedue i casi, la cellula perforata dal nematode si dilata, assumendo in sezione trasversale aspetto piriforme (Figg. 4 e 6). Con il procedere dell'attività trofica del parassita, la « cellula nutrice » aumenta di dimensioni e, se è originaria del parenchima corticale, si estende sino al cilindro centrale e può incunarsi tra il tessuto vascolare (Figg. 4 e 11). Se, invece, deriva da una cellula dell'endodermide, si estende soltanto tra i tessuti vascolari del cilindro centrale sino ad interessarne oltre 1/4 della sua sezione trasversale (Fig. 6). La parete cellulare, a contatto con la porzione cefa-



Figg. 1-3 - Esemplici di *Rotylenchulus macrodoratus* osservati al microscopio elettronico a scansione: Fig. 1 - Femmine mature e uovo su frammento di radice di Olivo; Fig. 2 - Femmina matura a maggiore ingrandimento; Fig. 3 - Particolare ingrandito del punto di penetrazione del nematode nella radice.

lica del nematode, si inspessisce ed al microscopio appare intensamente colorata per avere assorbito una maggiore quantità di safranina durante il processo di colorazione del preparato (Figg. 5, 7 e 14). A livello del punto di penetrazione dello stiletto può notarsi, sulla faccia interna della parete cellulare, una piccola escrescenza, a sezione coniforme, rivestita da esile membrana (Fig. 14) che, però, non sempre è risultata visibile in tutte le « cellule nutrice » osservate (Fig. 8). Le strutture interne della « cellula nutrice » fanno ritenere che in essa si svolge un'intensa attività metabolica. Infatti, il suo

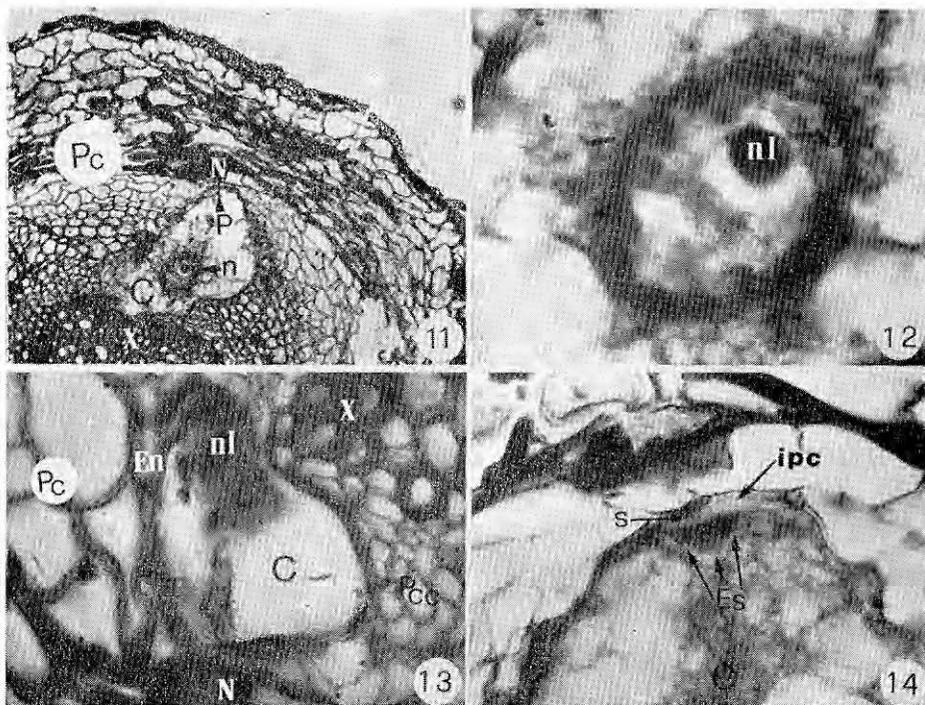


Figg. 4-10 - Sezioni trasversali di radici capillari di Olivo infestate da *R. macrodoratus*: Fig. 4 - «Cellula nutrice» originatasi dal parenchima corticale: si notino le estese necrosi dell'epidermide e del tessuto corticale adiacente al corpo del nematode; Fig. 5 - Particolare molto ingrandito del punto di penetrazione dello stiletto del nematode nella parete della «cellula nutrice»; Fig. 6 - «Cellula nutrice» formata dall'endodermide, incuneata contro i vasi xilematici che appaiono compressi; Figg. 7 e 8 - Particolare della parete della «cellula nutrice» molto inspessita e senza escrescenza interna nel punto di penetrazione dello stiletto; Figg. 9 e 10 - Sezione di una «cellula nutrice» con denso citoplasma, immersa nel cilindro centrale (C = «cellula nutrice», En = endodermide, ep = epidermide, ipc = ispessimento della parete della «cellula nutrice», N = nematode, P = punto di penetrazione dello stiletto, Pc = parenchima corticale, S = stiletto, X = xilema).

citoplasma appare molto denso, ricco di mitocondri (Figg. 9 e 10) ed il nucleo, di forma ovoidale, è di grandi dimensioni e contiene un nucleolo anch'esso molto ingrossato (Figg. 11 e 12).

La presenza della « cellula nutrice » ed il suo progressivo slargamento, determina gravi alterazioni della struttura dei tessuti radicali. Se essa interessa soltanto il parenchima corticale (Fig. 4) la sua dilatazione avviene a spese delle cellule di questo tessuto che si riduce, compromettendo le disponibilità di sostanze di riserva per la pianta. A volte, oltre al parenchima corticale, essa invade anche i tessuti del cilindro centrale (Fig. 11), provocando la rottura dell'anello endodermico, del periciclo, del parenchima del cilindro centrale e del sistema vascolare. Se, invece, la « cellula nutrice » ha origine dall'endoderme (Fig. 6), si notano alterazioni analoghe che interessano, però, solo il periciclo, il parenchima del cilindro centrale ed i vasi floematici e xilematici, i quali risultano compressi e spostati verso la periferia del cilindro centrale stesso. L'insieme di queste alterazioni determina gravi squilibri nel sistema di conduzione dell'apparato radicale infestato. A queste alterazioni, conseguenti al graduale e continuo ingrossamento della « cellula nutrice », si accompagnano generalmente lesioni e necrosi dell'epidermide e del parenchima corticale per effetto dell'azione di penetrazione del nematode e del suo successivo incremento corporeo. Di norma, le cellule a contatto diretto col fitofago risultano necrotiche, sfaldate, schiacciate e con pareti ispessite. Le necrosi si estendono anche alle cellule adiacenti per il sopravvenire di altri agenti patogeni, che aumentano il danno arrecato dal nematode (Figg. 4 e 11). A volte più esemplari, 2-3, possono insediarsi lungo il perimetro ed allo stesso livello della radice, determinando la formazione di più « cellule nutrici » che compromettono definitivamente la funzionalità della radice infestata.

Cohn e Mordechai, 1976, riferiscono che le alterazioni istopatologiche indotte da *R. macrodorus* su Soia differiscono da quelle di *R. reniformis*, perché il primo induce in una cellula del periciclo la formazione di una struttura unicellulare ipertrofica e mononucleata, mentre il secondo determina nello stesso tessuto la formazione di un sincizio. Dall'osservazione delle sezioni trasversali di radici di Olivo, infestate da *R. macrodorus*, è stato notato che anche su questo ospite il nematode determina la formazione di una cellula ipertrofica e mononucleata, ma essa, invece di originarsi dal periciclo, si forma sia dal parenchima corticale che dall'endoderme.



Figg. 11-14 - Sezioni trasversali di radici di Olivo infestate da *R. macrodoratus*: Fig. 11 - «Cellula nutrice» originatasi dal parenchima corticale ed estesa anche nel cilindro centrale: si notino le necrosi molto estese del parenchima corticale; Fig. 12 - Nucleo di una «cellula nutrice» a maggiore ingrandimento; Fig. 13 - «Cellula nutrice» originatasi dall'endoderme, incuneata nel parenchima del cilindro centrale; Fig. 14 - Particolare della parete di una «cellula nutrice» fortemente ispessita e con dentello interno in corrispondenza del punto d'inserzione dello stiletto (C = «cellula nutrice», En = endoderme, Es = escrescenza della parete della «cellula nutrice», ipc = ispessimento della parete della «cellula nutrice», N = nematode, n = nucleo, nl = nucleolo, P = punto di penetrazione dello stiletto, Pc = parenchima corticale, Pcc = parenchima del cilindro centrale, X = xilema).

R. macrodoratus su Olivo, dimostra di avere una maggiore adattabilità ad insediarsi nei tessuti delle radici infestate rispetto a quanto riportato per *R. reniformis*, il quale, su altri ospiti, si insedia soltanto sull'endoderme e sul periciclo. La minore specializzazione di *R. macrodoratus* può far supporre minori dannose conseguenze per l'ospite, ma l'induzione da parte del fitofago della cellula gigante, che con la sua dilatazione sconvolge tutta la struttura della radice, dal parenchima corticale ai tessuti conduttori, sembra accentuare la pericolosità di questa specie.

RIASSUNTO

Osservazioni sulle alterazioni istologiche causate da *Rotylenchulus macrodoratus* Dasgupta, Raski *et* Sher, su radici capillari di Olivo (*Olea europaea* L.) hanno messo in evidenza che questa specie si localizza sia nel parenchima corticale, che nell'endodermide. In questi tessuti, l'attività trofica del nematode avviene a spese di una cellula che si ipertrofizza, dando luogo ad una cellula gigante, con nucleo ingrandito e ad elevata attività metabolica. Inspessimenti e una piccola escrescenza della parete della cellula sono stati osservati a livello del punto d'inserzione dello stileto del nematode. La struttura monocellulare indotta dal nematode si estende nel solo cilindro centrale, se essa è di origine endodermica, e nel parenchima corticale assieme al cilindro centrale, se di origine corticale.

SUMMARY

Histopathology of olive roots infested with Rotylenchulus macrodoratus.

Histopathological studies on olive (*Olea europaea* L.) roots infested with *Rotylenchulus macrodoratus* Dasgupta, Raski *et* Sher, indicate that this nematode is able to feed on both the cortex and the endodermis, where it induces the formation of a giant cell with a dense cytoplasm and a swollen nucleus with prominent enlarged nucleolus. Next to the nematode head, the cell wall forms a small ingrowth at the point of the stylet penetration. Cross sections of roots observed by light microscopy show that this « nurse cell » occupies only the stele area, when originating from a single cell of the endodermis, and both the cortex and the stele area, when originating from a cortical cell. Vascular tissues, and in particular the xylem, are compressed and crushed toward the border of the stelar area by the wall of this feeding structure. Epidermal and cortical cells adjacent to the nematode's body appear necrotic, with thickened walls and crushed because of the nematode penetration.

RÉSUMÉ

Histopathologie des racines d'Oliviers infectées par Rotylenchulus macrodoratus.

Des études histologiques indiquent que *Rotylenchulus macrodoratus* Dasgupta, Raski *et* Sher infecte soit le parenchyme cortical soit l'endoderme des racines d'Olivier (*Olea europaea* L.). L'activité trophique du nématode, dans ces tissus est à la charge d'une seule cellule qui s'hypertrophie et se change en cellule géante, avec le noyau agrandi et une activité métabolique plus élevée. La paroi cellulaire montre au niveau de l'insertion du stylet du nématode de l'épaississement et une petite excroissance. Cette structure monocellulaire intéresse le cylindre central, si la cellule a une origine endodermique, ou le parenchyme cortical et le cylindre central ensemble si elle a une origine corticale.

LAVORI CITATI

CARTER W. W., 1974 - Histological responses of resistant and susceptible *Gossypium arboreum* to *Rotylenchulus reniformis*. *J. Nematol.*, 6: 138.

- COHN E., 1973 - Histology of the feeding site of *Rotylenchulus reniformis*. *Nematologica*, 19: 455-458.
- COHN E., 1975 - Cellular changes induced in roots by two species of the genus *Rotylenchulus*. *Nematologica*, 22: 169-173.
- COHN E. e MORDECHAI M., 1976 - Ultrastructure of hypertrophied cell induced in soybean roots by *Rotylenchulus macrodoratus*. Abstr. 13th Int. Nematol. Symp., Dublin, Ireland, 5-11 Sept., 1976, pp. 17-18.
- HEALD C. M., 1975 - Pathogenicity and histopathology of *Rotylenchulus reniformis* infecting cantaloup. *J. Nematol.*, 7: 149-152.
- INSERRA R., VOVLAS N., LAMBERTI F. e BLEVE T., 1975 - Plant parasitic nematodes associated with declining olive trees in Southern Italy. Summ. 4th Congr. Mediterr. Phytopathol. Union, Zadar, Yugoslavia, 5-11 Oct., 1975, pp. 137.
- JOHANSEN D. A., 1940 - Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York, 523 p.
- OTEIFA B. A., 1970 - The reniform nematode problem in Egyptian cotton production. *J. Parasitol.*, 56: 255 (Abstr.).
- REBOIS R. V., MADDEN PHILIP A. e ELDRIDGE B. J., 1975 - Some ultrastructural changes induced in resistant and susceptible soybean roots following infection by *Rotylenchulus reniformis*. *J. Nematol.*, 7: 122-139.

Accettato per la pubblicazione il 25 settembre 1976.