

**ORGANOGRÀFIA I MALALTIES DEL CECIDI DE DIASTROPHUS RUBI
(BOUCHÉ, 1834) HARTIG, 1840
(HYMENOPTERA: CYNIPOIDEA: CYNIPINAE)
A LA TIJA D'ESBARZER, RUBUS CAESIUS L. (ROSACEAE) ***

Juli Pujade i Villar **

Rebut: setembre de 1983

SUMMARY

Organography and maladies of the gall of *Diastrophus rubi* (Bouché, 1834) Hartig 1840 (Hymenoptera: Cynipoidea: Cynipinae) on stems of the bramble, *Rubus caesius* L. (Rosaceae)

Study of the gall of the bramble stem under the microscope has led us to arrive at the following conclusions:

The epidermis, which in normal conditions is monostratal and cuticular, changes into the polystratal type and becomes suberose. An inversion in the colenchyma and cortical parenchyma. The cortical parenchyma loses its chloroplasts and becomes thickly grouped into two to five layers of cells of the thin and prismatic type, changing into a smaller size and at the same time swelling. The parenchyma tissue located around the gall moves to the outside of the larvarian chambers surrounding the collecting veins. In this zone there are very many punctuations never seen in a healthy stem. The conducting veins lose the centripetal structure of dicotyledonous plants and take on an oval form where a large number of liberian veins surround little groups of woody veins. The sclerenchymatic tissue disappears almost completely, while a parenchymatic tissue appears in the inner part of the larvarian chamber (nutritious tissue) which is very thick. The markedly deformed medular parenchyma surrounds the whole of this structure. We have succeeded in finding for the first time in Europe a fungus belonging to the genus **Phomopsis** (Sphaeropsida), a parasite of the bramble ***Rubus caesius* L.** (Rosaceae), and specifically of the gall of ***Diastrophus rubi* (B.)** (Cynipid).

* Aquest treball és un extret parcial de la tesi de llicenciatura defensada per l'autor el gener de 1983.

** Departament de Zoologia (Invertebrats). Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. 08028 Barcelona.

INTRODUCCIÓ

L'estudi de les deformacions de les plantes ha passat al llarg del temps per interpretacions molt diverses. Però va ésser MALPIGHI (1675, *De Gallis*), el primer autor que va comprendre la verdadera relació existent entre l'insecte i la planta. A partir de llavors es comencen a fer els primers inventaris faunístics dels cecidis i dels insectes que els produeixen.

A mitjans del segle XIX, mercès als treballs d'HARTIG (1840, 1841, 1843) i més tard als de MAYR (1870-71, 1876, 1881, 1882), la classificació racional dels cinípids comença a agafar forma. A partir d'aquesta classificació, l'estudi d'aquest grup d'insectes s'efectua en dues direccions distintes. Per una banda s'estudia el desenvolupament, la histologia i els mecanismes de formació del cecidi; per l'altra, el tipus de reproducció de les diferents espècies. Dins de la primera línia d'investigació cal assenyalar els recercadors següents com a innovadors: LACAZE-DUTHIERS (1853), BELJERINK (1883), FOCKEU (1889) i HOUARD (1903).

Aquest treball és una aportació de les transformacions que succeeixen a la tija en contacte amb el cecidi de *Diastrophus rubi* (B.). La importància d'aquest estudi, a part del problema intrínsec que porta el cecidi, es troba perquè *D. rubi* (B.), malgrat pertànyer a la tribu *Aulacini*, presenta unes característiques cecidològiques intermèdies entre aquella tribu i la dels *rhoditini*. Així, per exemple, els cecidis són pluriloculars i inseparables dels teixits de la planta, cosa característica dels *Aulacini*. Però parasita la família de plantes rosàcies (*Rubus* sp.) característic dels *Rhoditini*. Finalment, la seva reproducció s'apropa a la partenogènes i telítoca, cosa peculiar també dels *Rhoditini*. Aquests fets de similitud han estat ja esmentats anteriorment per KINSEY (1920) i per FOLLIOT (1964).

ALGUNES CONSIDERACIONS SOBRE DOS CECIDIS SEMBLANTS A LES TIGES D'ESBARZER

A grans trets, hom pot dir que *D. rubi* (B.) produeix una clara hipertròfia equilateral de les tiges, més rarament en els nervis principals dels folíols, amb un gran nombre de cambres larvàries a l'interior (fig. 1a). Cal no confondre aquest cecidi

amb un altre d'aspecte semblant produït per *Lasioptera rubi* Heeger (*Diptera: Cecidomyiidae*). El cecidi del dípter, a part d'ésser una deformació seccional de les tiges on les cambres larvàries són molt escasses, presenta uns esclataments longitudinals a

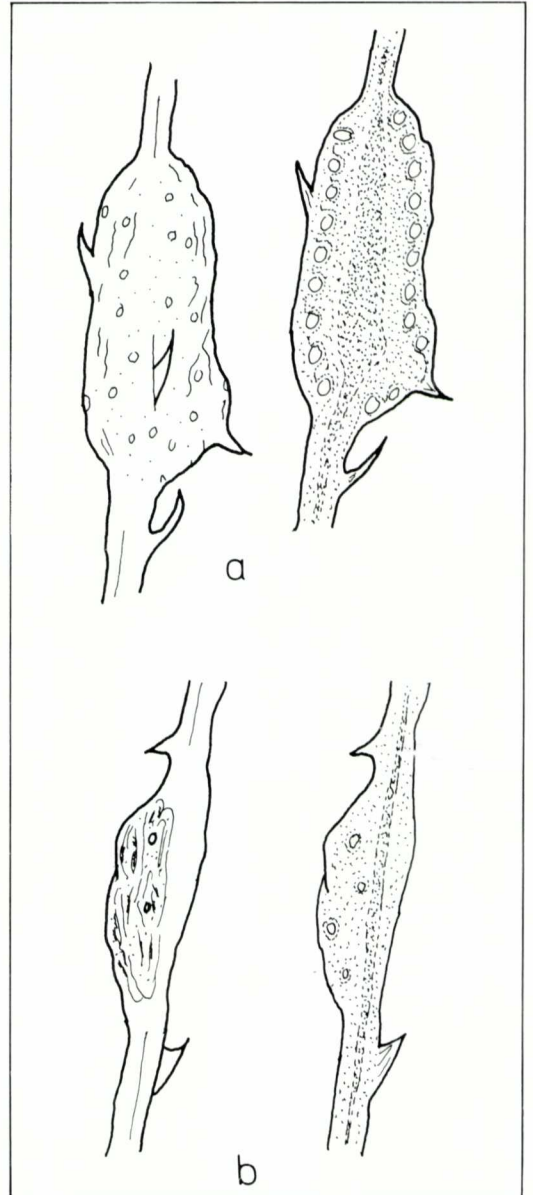


FIG. 1. Comparació de dos cecidis semblants trobats sobre *Rubus* sp. a, de l'himenòpter cinípid *Diastrophus rubi* (B.); b, del dípter cecidomíid *Lasioptera rubi* Heeger.

l'escorça (fig. 1b), fets que mai no succeeixen en la deformació produïda pel cinípid, la qual cosa permet diferenciar-los clarament.

L'organografia de *L. rubi* H. va ésser estudiada per HOUARD (1903). En general els cecidis presenten unes formes característiques de les espècies fitoparasitàries, cosa que permet reconèixer-les sense l'obtenció de l'adult. Això porta com a conseqüència immediata que la reestructuració dels teixits de la planta sigui també diferent. Aquest fet s'acompleix clarament en aquestes dues espècies paràsites de les tiges d'esbarzer si hom compara els resultats d'aquest treball amb els resultats obtinguts per HOUARD (1903) i MAYER (1952) en *L. rubi* H. En síntesi, el dípter no produeix una reorganització dels teixits tan especialitzada com el cinípid, fins a arribar al punt que no es troba cap teixit nutritiu a la cambra larvària, i per això ha d'alimentar-se de les hifes d'un fong simbiòtic que pertany al grup dels Septomicets (MAYER, 1952), i que la femella introdueix quan col·loca els ous a les tiges.

MATERIAL I MÈTODE

Després d'ablanir les tiges inflades amb KOH 1% a la temperatura ambient es practicaren talls amb el micròtom de Ranvier els quals foren habitualment processats per la tècnica de tinció dicròmica de la picrofucsina i posteriorment muntats, prèvia deshidratació, amb bàlsam del Canadà. Els resultats tintorials obtinguts foren: la cel·lulosa, els nuclis i els cloroplasts queden tenyits de color vermell, i la lignina (vasos conductors i esclerenquima) de color groc.

Per a la visualització dels fongs es procedí a fer un raspat que va ésser tenyit amb la solució làctica de blau cotó (20 g d'àcid làctic, 20 g de fenol cristallitzat i 20 g de glicerina; s'agafen 100 ml de glicerina i se li afegeix de 0,01 a 0,05 g de blau d'alanina hidròfil).

HISTOLOGIA DEL CECIDI DE DIASTROPHUS RUBI (B.)

En un començament, els talls es van fer directament del cecidi, però com que aquests són de consistència considerable, no s'obtenien pas prou primos com per a

poder observar clarament els diferents teixits que el formen. Posteriorment hom va veure que si les deformacions se submergien en àcid clorhídric al 0,5% o en hidròxid potàsic a 1%, durant uns dies, els talls obtinguts eren d'un gruix menor. Finalment hom va decidir emprar KOH, ja que els talls obtinguts amb HCl són molt més febles.

Per a saber quines transformacions succeeixen a la tija a nivell microscòpic, hom hi va fer diferents talls per observar-ne l'estructura real abans de la deformació. A la tija també s'ha seguit el mateix procediment de tinció que en el cas del cecidi. D'aquesta manera hom observa, de fora a dins els teixits que s'assenyalen més avall (fig. 2). L'espècie utilitzada d'esbarzer per a fer els talls de la tija ha estat *Rubus caesius* L., ja que és la planta en què hem trobat els cecidis a la Roca del Vallès. D'aquesta forma, si hi poden existir diferències del cecidi d'una espècie produït a diferents plantes, amb el microscopi, no influirà en el resultat. Això, però, no ha estat encara demostrat.

Els teixits de la tija i les seves característiques són:

— Una **epidermis** monostratificada i exteriorment molt cutinitzada (fig. 2a).

— Un **col·lènquima** localitzat a tot el voltant de les tiges joves, amb funció de suport. Es troba després de l'epidermis, i prové del teixit inferior (parènquima cortical clorofil·lic). És format de tres a set capes de cèl·lules. Presenta unes entrades inferiors que són ocupades pel teixit parenquimàtic clorofil·lic. Aquestes cèl·lules tenen una paret molt gruixuda, a causa dels pectats que té la paret cel·lular (fig. 2a).

— Un **parènquima cortical clorofil·lic** format per cèl·lules de secció més o menys circular, amb parets molt primes. Aquestes cèl·lules estan disposades desordenadament. Entren dins del teixit col·lènquimàtic per unes fenèdures que aquest deixa i se separa de l'epidermis, en aquest cas, per tres capes de col·lènquima. Amb aquesta tinció els cloroplasts queden de color vermell fort (fig. 2a).

— Un **teixit esclerenquimàtic** amb posició arquejada que separa els vasos conductors del parènquima clorofil·lic. Queda tenyit de color groc fort. Les cèl·lules que el formen són de petites dimensions. Aquest teixit és format per cèl·lules mortes per la impregnació de lignina. Té la funció de suport de la planta (fig. 2a).

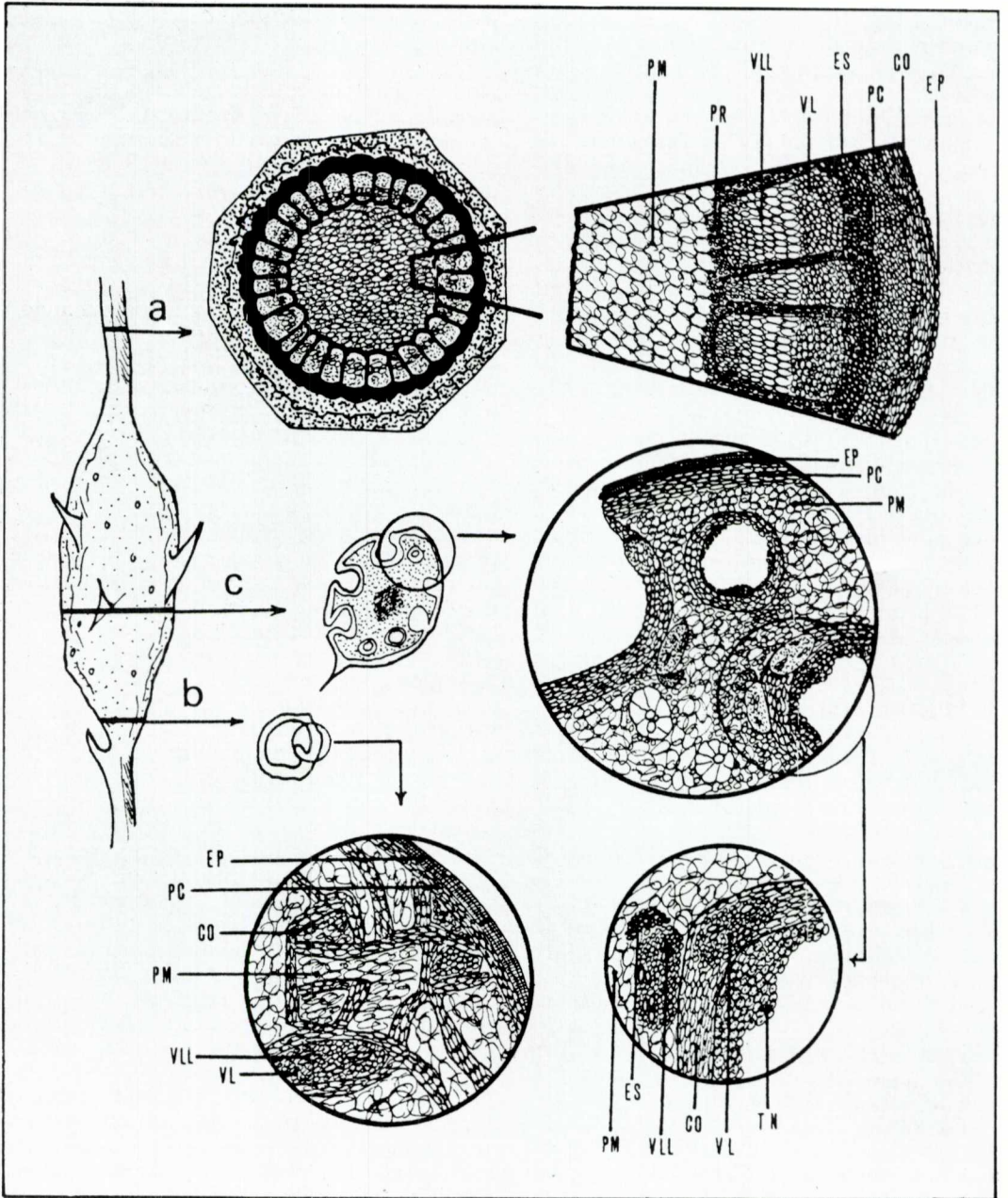


FIG. 2. Estructura microscòpica: (a) de la tija de *Rubus caesius* L.; (b) del cecidi de *Diastrophus rubi* (Bouché) a la part superior o inferior; i (c) del mateix cecidi a nivell de les cambres larvàries. Teixit collenquimàtic (CO), epidermis (EP), esclerènquima (ES), parènquima cortical (PC), parènquima de reserva (PR), parènquima medullar (PM), teixit nutritiu (TN), vasos liberians (VL), vasos llenyosos (VLL).

— Els **vasos liberians** són tenyits de color rosa. Aquests vasos són de diàmetre petit (fig. 2a), de 100-150 μm .

— Els **vasos llenyosos** són de major diàmetre, 360-400 μm , sobretot en acostar-se als vasos liberians (fig. 2a). Queden tenyits de color groc, cosa per la qual es diferencien bé dels anteriors.

— Un **teixit parenquimàtic de reserva** que es col·loca entre els grups de vasos lliures i per sota dels llenyosos. Queda tenyit de color vermell fort, i així es diferencia fàcilment dels teixits conductors. El teixit és format de dues a cinc capes de cèl·lules (fig. 2a).

— Un **parenquima medullar** que es troba localitzat després de l'anell format pel teixit parenquimàtic de reserva. Les cèl·lules són roses, de disposició molt laxa i de parets molt primes. La seva estructura i grandària és variable, però sempre simètrica (fig. 2a).

Aquesta disposició dels teixits i la quantitat difereix de bon tros de la que podem trobar en el cecidi de *Diastrophus rubi* (B.). Els teixits de la tija afectada experimenten un procés de reorganització i redistribució segons fenòmens encara no coneguts.

L'estructura i disposició variarà segons on es faci el tall del cecidi (fig. 2b, 2c). Si aquest tall es fa a la part superior o inferior del cecidi, on es comencen a trobar les cambres larvàries o on encara no hi són, hom pot observar-hi una alta desorganització dels teixits. En primer lloc, hi ha una **epidermis** pluristratificada i suberificada. Després hi ha un **parenquima cortical** no clorofil·lic, format per poques capes de cèl·lules. Posteriorment s'hi troba un **teixit col·lenquimàtic**, format també per poques capes de cèl·lules, i disposat en forma de barres molt anguloses i curtes. A la part interna es col·loquen les cèl·lules del **teixit medullar** molt deformades i de dimensions variables. Tots aquests teixits de nivell superior o inferior del cecidi es troben representats a la figura 2b. L'explicació de cada teixit i les seves característiques es comentaran tot seguit en veure què succeeix si es fan els tallats a nivells intermedis.

Si el tall es fa a nivell de les cambres larvàries, hom troba una gran organització dels teixits, però de distribució molt diferent a la de la tija original. De fora a dins l'estructura és la següent:

— Una **epidermis** que en la tija és mo-

nostratificada, aquí és pluristratificada i suberificada. Això no és estrany, ja que efectes traumàtics de diferents orígens condueixen a un procés de cicatrització, i en aquest un dels fenòmens que s'esdevenen és la suberificació. Aquestes cèl·lules alhora són aplanades (fig. 2c).

— Un **parenquima cortical** format de dues a cinc capes de cèl·lules molt atapeïdes, primes i prismàtiques. Després adopten una estructura globular i són més petites. Es localitza a la part de les cambres properes a l'exterior, sota l'epidermis, i als costats on les cambres es troben més juntes (fig. 2c). (A partir d'aquest teixit s'observen estructures concèntriques, que envolten les cambres.)

— Un **teixit col·lenquimatós**, que és a la part més externa i que es caracteritza perquè té un nombre molt elevat de puntuacions i perquè és de parets molt gruixudes. A la tija i a la part superior del cecidi, aquest col·lenquima no presenta cap puntuació. El seu color esdevé groc. Aquest teixit, a causa de l'afinitat que s'observa amb l'àcid pícric i del gran nombre de puntuacions, sembla que es troba en vies de lignificació. Les cèl·lules són de tendència prismàtica (fig. 2c).

Enclavat dins del teixit col·lenquimatós o just a l'exterior d'aquest, hom pot observar una munió de cèl·lules, de grandàries diferents, que dona una estructura final ovoide, de coloració brunenca, amb què es diferencia fàcilment del teixit col·lenquimàtic que el rodeja. Aquesta munió és formada pels vasos conductors, que perden totalment l'estructura centripeta. Estudiant com són distribuïts els vasos en aquest conjunt, hom hi veu que també difereix molt de l'estructura original de la tija, ja que es troben pocs grups formats per un nombre de tres a vuit **vasos llenyosos** (fig. 2c), rodejats totalment pels **vasos liberians** (fig. 2c).

— Un **teixit parenquimàtic intern** de la cambra larvària. Aquest es caracteritza per la laxitud i perquè és replet de substàncies de reserva, les quals, per la seva disposició sembla que es tracta de sucres. Aquest teixit és el que s'anomena «teixit nutritiu» i és el teixit del qual s'alimenta la larva del cinípid. Les cèl·lules són de tendència prismàtica, amb angles roms. Hom pot observar que el nombre de capes és diferent segons la secció, és a dir, que ha perdut la simetria. Això és degut precisament perquè la larva se n'alimenta. Presenta tres

característiques: primera, una gran riquesa citoplasmàtica i fragmentació vacuolar; segona, una hipertròfia nucleolar i nuclear, i, finalment, una gran riquesa en condriosomes. Aquests fets han estat ja assenyalats per MARESOUELLE & MEYER (1965).

— Un **teixit medullar** que es troba entre el teixit cortical i les cambres larvàries i també la part central del cecidi. Aquest teixit és molt lax, format per cèl·lules de dimensions diferents (al centre més grosses i prop de les cambres més petites). Són molt deformades si hom les compara amb les cèl·lules del teixit medullar de la tija normal. Han perdut la simetria. És com si les haguessin estirat en sentit cap a l'espai. Les parets són molt primes. De vegades, s'hi observen dos o tres vasos conductors rodejats per teixit medullar en forma de corona; això sovinteja més en el centre del cecidi, en què es tornen a veure barres col·lenquimatoses descrites en parlar del tall de cecidi a la part superior. Aquestes cèl·lules no presenten puntuacions.

Finalment, cal dir que prop de l'epidermis s'observen de vegades uns punts vermells a l'exterior i més foscos a l'interior. Aquests, en un primer moment, varen passar-nos desapercebuts, ja que els vàrem considerar artefactes de les preparacions. Posteriorment hem descobert que eren els picnidis d'un fong del qual parlarem tot seguit.

MALALTIES DEL CECIDI DE DIASTROPHUS RUBI (B.)

Hi ha una teoria, encara jove, sobre la formació del cecidi, que diu que la deformació és causada per la unió d'efectes produïts per l'insecte i un fong en simbiosi. En aquest sentit, hom ha fet una sèrie de preparacions per separar els picnidis que es trobaven en la superfície del cecidi en nombre elevat. Aquests picnidis presenten una coloració grisenca i donen un aspecte molt rugós a la part de la branca deformada.

Un cop aïllats i tenyits amb blau cotó, es va trobar que pertanyien al gènere *Phomopsis*, de la família Esferopsidàcies. (Determinació de la doctora Assumpció Moret, Departament de Fisiologia Vegetal, Universitat de Barcelona.) No s'ha pogut arribar a l'espècie per manca de literatura.

Quant a les seves característiques (figura 3): el cos fructífer és isolat amb parets estromàtiques de forma mal definida; inicialment és subcircular, i quan madura fa esclatar l'epidermis de l'esbarzer; el contorn és irregular i tendeix a formar lòculs interiorment; els conidis són hialins i unicel·lulars; aquests presenten dues formes: uns són ovals i fusiformes, i els altres filamentosos i molt allargats; els conidiòfors també són hialins i unicel·lulars però de forma cònica.

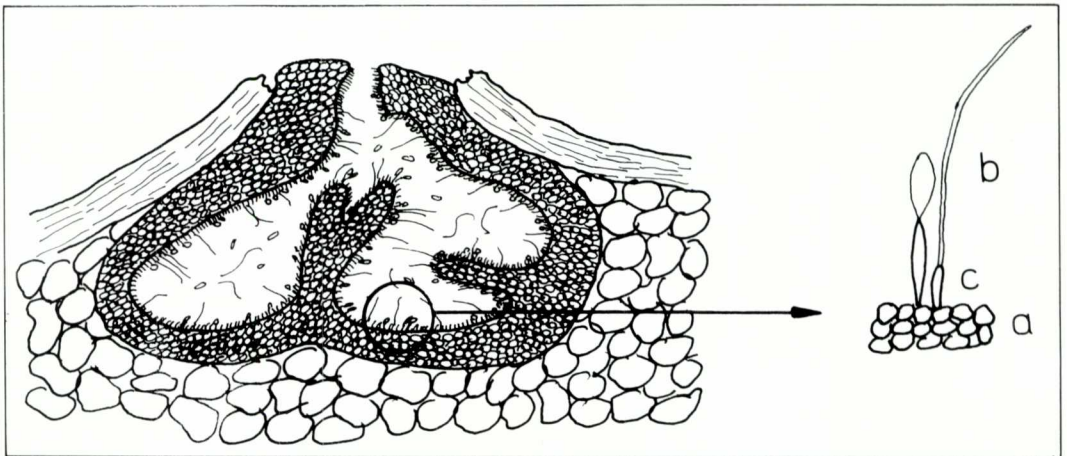


FIG. 3. Detall del picnidi de *Phomopsis* sp. Parets estromàtiques del picnidi (a), conidis (b), conidiòfors (c).

La importància d'aquest fong radica en dos punts. El primer és el fet d'ésser la primera citació a Europa del gènere *Phomopsis* parasitant el gènere vegetal *Rubus*. Només es coneix una espècie que ho faci, la qual es troba als Estats Units (Dep. Agr., 1960). A Europa, aquest treball és la primera citació, segons referències del doctor M. Nadal. També podria ser que hi hagués alguna sinonímia amb el gènere de fongs *Zynthia* o *Phoma*, ja que sovint han estat confosos (SACARDO, 1898); però podem assegurar que amb el gènere *Zynthia* no hi ha sinonímia i que amb *Phoma* tampoc no se n'hi ha trobat. El segon punt que cal tenir en compte és que aquest fong ha estat trobat en tots els cecidis de *Diastrophus rubi* (B.) cercats a la Roca del Vallès. No volem dir, amb això, que aquest fong sigui el causant de la deformació juntament amb l'insecte, però sí que és patent la seva presència al cecidi. Experiències posteriors potser aclariran la causa veritable d'aquesta formació del cecidi.

AGRAIMENTS

A la doctora Mercè Durfort, del Departament de Morfologia Microscòpica de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona, per la seva ajuda en la interpretació dels talls microscòpics dels cecidis. Al doctor Martí Nadal i a la doctora Assumpció Moret, del Departament de Fisiologia Vegetal (Fitopatologia) de la mateixa facultat, per identificar el gènere del fong paràsit dels tipus de cecidis trobats. A la biblioteca del Museu Nacional d'Història Naturelle (Entomologie) de París per haver posat a la meua disposició tota la bibliografia necessària.

BIBLIOGRAFIA

- BEIJERINCK, M. W. 1883. *Beobachtungen über die ersten Entwicklungsphasen einiger Cynipiden-gallen*. Johannes Mueller. Amsterdam.
- DEPARTAMENT OF AGRICULTURE. 1960. Index of plants diseases on the United States. U. S. Dep. Agr. Washington.
- FÖCKEU, H. 1889. *Contribution à l'histoire des galles, étude anatomique de quelques espèces*. C. Roble. Lille.
- FOLLIOU, R. 1964. Contribution à l'étude de la biologie des Cynipides gallicoles (*Hymenoptera*, *Cynipoidea*). *Ann. Sci. Nat., Zool., Paris*, (12) 6: 407-564.
- HARTIG, T. 1840. Ueber die Familien der galwespen. *Zeits. Ent.*, 2: 176-209.
- HARTIG, T. 1841. Erster Nachtrag zur Naturgeschichte Galwespen. *Ibid.*, 3: 322-358.
- HARTIG, T. 1843. Zweiter Nachtrag zur Naturgeschichte der Galwespen. *Ibid.*, 4: 395-422.
- HOUBARD, R. 1903. Recherches anatomiques sur les galles des tiges: pleurocécides. *Bull. Scient. Fr. Belg.*, 38: 140-419.
- KINSEY, A. C. 1920. Phylogeny of Cynipid genera and biological characteristics. *Bull. Am. Mus. nat. Hist.*, 42: 357-402.
- LACAZE-DUTHIERS, H. 1853. Recherches pour servir à l'histoire des galles. *Ann. Sci. Nat. Bot.*, 19: 273-354.
- MARESCUELLE, H. J. & MEYER, J. 1965. Physiologie et morphogenèse des galles d'origine animale (Zoocécidies). *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, XV (2): 280-329.
- MEYER, J. 1952a. Dédifférenciation cellulaire et divage des chondriocotes lors de l'évolution des cellules nourricières des galles de *Diastrophus rubi* Hartig sur la ronce. *C. r. Hebd. Séanc. Acad. Sci.*, Paris, 234: 463-464.
- MEYER, J. 1952b. Cécidogenèse de la galle de *Lasioptera rubi* Heeger et rôle nourricier d'un micélium symbiotique. *Ibid.*, 234: 2556-2558.
- MAYR, G. L. 1870-1871. Die Mittel Europaischen Eichen-Gallen in wort und Bild. *Jahresb. der Wiener Kommunal-Oberrealschule in der Rossau 8, 9 et T. O. Weigel, ed. Leipzig 1907*: 1-70.
- MAYR, G. L. 1876. Die Europaischen Cynipiden-Gallen mit Ausschluss der auf Eichen vorkommenden Arten. *Ibid.*, 15: 1-24.
- MAYR, G. L. 1881. Die genera der Gallenbewohnenden Cynipiden. *Ibid.*, 20: 1-38.
- MAYR, G. L. 1882. Die Europaischen Arten der Gallenbewohnenden Cynipiden. *Ibid.*, 21: 1-44.
- SACARDO, P. A. 1898. *Sylloge fungorum omnium huasque cognitorum*. Sydow., XIII.