

Coltivazione a Napoli di *Sesbania rostrata* Bremek. & Oberm. (Fabaceae) e morfogenesi dei suoi noduli caulinari *

PAOLO DE LUCA, ROBERTO NAZZARO, MARIA ROSARIA BARONE LUMAGA

Dipartimento Biologia Vegetale dell'Università di Napoli
Via Foria 223 — 80139 Napoli, Italy

Summary

The tropical legume *Sesbania rostrata* has *Rhizobium* containing nodules on both roots and stems. Since the double-nodulation system permits to fix nitrogen in large quantities, *S. rostrata* has been used as a biofertilizer in the agriculture of some tropical areas.

Studies on both the cultivation and stem nodule structure of *S. rostrata* have been carried out in the Botanical Garden of Naples, Italy.

As well as in its original areas, *S. rostrata* grown in Naples has a very rapid growth at a rate of up to 4 m in 60 days. Plants cultivated over the first two years flowered only in the greenhouses but in the following two years they also flowered outdoor. Fruiting occurred in the greenhouses every year; early development of fruits occurred in the fourth year outdoor. Stem nodulation was more and more abundant in the course of the four years. Such results show that *S. rostrata* has the ability to be adapted to Mediterranean areas where it might offer considerable potential as a biofertilizer.

Observations on several steps in the stem nodule morphogenesis of *S. rostrata* were carried out.

INTRODUZIONE

Sesbania rostrata Bremek. & Oberm. (Fabaceae) è una leguminosa tropicale annuale che vive in terreni acquitrinosi o abbondantemente irrigati. Come altre leguminose, *S. rostrata* presenta noduli radicali, sede della simbiosi con batteri azoto fissa-

Key words: *Sesbania rostrata*, Cultivation, Biofertilizer, Stem nodules, Morphogenesis.

* Lavoro eseguito con i fondi M.P.I. 60%.

tori del genere *Rhizobium*, ma il carattere che la distingue è la presenza lungo il fusto di abbozzi radicali che possono essere infettati dal *Rhizobium* trasformandosi in noduli. I ceppi di *Rhizobium* responsabili della nodulazione sono due: un ceppo, comune a molte leguminose, induce la nodulazione sul colletto e alla base della radice principale; un secondo ceppo, denominato ORS571, è specifico per *S. rostrata* (DREYFUS *et al.*, 1983) e induce la nodulazione lungo le radici avventizie, alla loro base e lungo il fusto. La nodulazione avviene ad opera esclusivamente del primo ceppo di *Rhizobium* quando la pianta è coltivata in terreno asciutto; in terreno allagato *S. rostrata* viene infettata solo dal ceppo ORS571 (DREYFUS *et al.*, 1983).

La doppia nodulazione sia a livello radicale che caulinare, permette a *S. rostrata* di fissare altissime quantità di azoto. Con il metodo della riduzione dell'acetilene si misura una riduzione circa 5 volte maggiore che per la soja (DREYFUS and DOMMERGUES, 1981). La crescita di *S. rostrata* è inoltre velocissima, potendo la pianta raggiungere la notevole altezza di 4 m al massimo in 60 giorni (DREYFUS *et al.*, 1983). Altra caratteristica peculiare rilevabile in questa leguminosa è l'assorbimento dei sali azotati dal terreno contemporaneamente alla fissazione biologica, che non viene inibita anche quando i sali azotati sono presenti nel terreno in alte concentrazioni (circa 200 Kg N₂/ha) (DREYFUS and DOMMERGUES, 1980).

L'alta capacità azotofissatrice unita alla possibilità di assorbire contemporaneamente sali minerali azotati dal terreno ed alla preferenza per i terreni allagati, hanno suggerito la sperimentazione di *S. rostrata* in Senegal come biofertilizzante nelle risaie. A tale scopo le piante vengono tagliate in pezzi lunghi 10-20 cm e interrate (DREYFUS *et al.*, 1983).

L'utilizzazione di *S. rostrata* permette di ottenere un raddoppio della produzione di riso (DREYFUS *et al.*, 1983).

Presso l'Orto Botanico di Napoli (latitudine 40° 50' N) sono in corso studi per verificare le possibilità di introdurre *S. rostrata* nella pratica agricola di un paese a clima temperato. In questo lavoro vengono presentati i risultati ottenuti in quattro anni di coltivazione di *S. rostrata* a Napoli ed i dati relativi allo studio della morfogenesi dei noduli caulinari. Parte dei risultati riguardanti i primi tre anni di coltivazione sono già stati argomento di una pubblicazione (BOZZINI *et al.*, in stampa).

MATERIALE E METODI

Coltivazione di *S. rostrata*

Nel primo anno di sperimentazione (1983) furono utilizzati semi di *S. rostrata* provenienti dal Senegal e gentilmente forniti dal Dott. H. F. Diara (WARDA-ADRAO, Richard-Toll, Senegal) e dal Sig. W. Baudoin (FAO, Roma, Italia).

Prima della semina i semi vengono immersi per 30 minuti in H_2SO_4 concentrato, quindi lavati molte volte con acqua corrente. Dal 1984 in poi, dopo il trattamento con H_2SO_4 e i ripetuti lavaggi, si è proceduto ad infettare i semi con il *Rhizobium* specifico (ceppo ORS571).

La provenienza dei semi utilizzati nei quattro anni di sperimentazione è la seguente:

1983 — semi provenienti dal Senegal (lotto 1 di semi).

1984 — semi del lotto 1; semi delle piante nate nel 1983 (lotto 2).

1985 — semi del lotto 1; semi del lotto 2; semi delle piante nate nel 1984 dal lotto 2 (lotto 3).

1986 — semi del lotto 1; semi del lotto 2; semi del lotto 3; semi delle piante nate nel 1985 dal lotto 3 (lotto 4).

I semi raccolti non vengono trattati con insetticidi, perché non hanno mai subito l'attacco di insetti, contrariamente a quanto avviene in Senegal (DREYFUS *et al.*, 1983). Nel 1985 e nel 1986 le piante sono state attaccate dal ragno rosso (*Tetranychus urticae* Koch); il problema è stato risolto mediante l'irrorazione delle piante con comuni insetticidi e antiparassitari (Feni della ditta CIFO S.p.a.).

Nel 1983 le semine sono state effettuate nella seconda metà di aprile, nel 1984 ai primi di marzo, nel 1985 e nel 1986 ai primi di giugno.

La semina è stata fatta in terrine di 25 cm × 35 cm × 10 cm contenenti un terriccio composto per il 50% da sabbia e per il 50% da torba.

Nel 1983 e nel 1984 le terrine furono tenute in serra per circa un mese, quindi le piante, alte circa 50 cm, furono in parte trasferite in piena terra, in due parcelle di 60 m² ciascuna, e in parte trapiantate in vasi più grandi. Il terreno delle parcelle fu tenuto costantemente inondato per permettere l'infezione a livello radicale da parte del *Rhizobium* (ceppo ORS571). I vasi

furono tenuti all'aperto in contenitori ricoperti da uno strato di 5 cm di acqua; a metà settembre, al sopraggiungere dei primi freddi, furono di nuovo trasferiti in serra per assicurare la continuazione del ciclo biologico. Nel 1985 e nel 1986 le terrine con i semi furono tenute all'aperto. Dopo circa 20 giorni le piante, alte circa 50 cm, furono trasferite in parte in piena terra e in parte in grossi contenitori di plastica (100 cm di diametro × 100 cm di altezza) con un terriccio composto per il 70% da terreno comune, 20% da terriccio di foglie, 10% da sabbia. Il terreno era tenuto sempre sommerso da almeno 5-10 cm di acqua. Questi contenitori venivano tenuti all'aperto fino a fine ottobre, quindi trasportati in serra per proteggere le piante dal freddo.

Infezione di radici e fusto con il *Rhizobium*.

Il *Rhizobium* (ceppo ORS571) usato per infettare *S. rostrata* è stato gentilmente fornito, come liofilizzato, dalla Dott.ssa C. Elmerich (Istituto Pasteur, Parigi, Francia). Il *Rhizobium* liofilizzato è stato trasferito nel mezzo di coltura YLS liquido (DREYFUS *et al.*, 1983) e tenuto in termostato a 25°C. Per conservare la coltura è stato usato lo stesso mezzo di coltura solidificato con 20 g/l di agar.

Prima della semina i semi sono stati immersi in una coltura liquida di *Rhizobium* la cui densità era di circa 10^8 cellule/ml.

Quando le piante hanno raggiunto l'altezza di circa 80-100 cm, sono state infettate lungo il fusto con una coltura liquida di *Rhizobium* usando un nebulizzatore, secondo il metodo descritto da DREYFUS *et al.* (1983). Ogni anno un piccolo quantitativo di semi non è stato trattato con il *Rhizobium* e le piante nate da essi non sono state nebulizzate.

Dal 1984 in poi sono state usate sempre le stesse parcelle per la coltivazione in piena terra. Per la coltivazione in vaso, al fine di trasferire le piante in terreno già infettato dal *Rhizobium* specifico, sono stati riutilizzati i contenitori di plastica degli anni precedenti contenenti un miscuglio composto in parte da terreno preparato annualmente e in parte dal terreno usato negli anni precedenti.

Anno di coltivazione	Periodo di semina	Coltivazione in vaso (inizialmente all'aperto e ai primi freddi in serra)			Coltivazione in piena terra (all'aperto)			
		Periodo di massima crescita vegetativa	Periodo della fioritura	Periodo della fruttificazione	Periodo di massima crescita vegetativa	Periodo della fioritura	Periodo della fruttificazione	Morte per freddo
1983	Aprile	Agosto	Novembre (serra)	Nov.-Febb. (serra)	Agosto	---	---	Ottobre
1984	Marzo	Agosto	Novembre (serra)	Nov.-Febb. (serra)	Agosto	---	---	Ottobre
1985	Giugno	Agosto	Novembre (serra)	Nov.-Genn. (serra)	Agosto	Novembre	---	Novembre
1986	Giugno	Agosto	Ottobre (aperto)	Ott.-Dic. (serra)	Agosto	Ottobre	Ottobre	Dicembre

Tab. I — Ciclo biologico di *Sesbania rostrata* coltivata a Napoli. Le linee tratteggiate indicano la mancanza di fioritura o fruttificazione.

Microscopia ottica.

Pezzi di fusto con i noduli in vari stadi di formazione sono stati raccolti nel mese di luglio del 1986 e fissati in FAA (formalina - acido acetico - etanolo 50%; 1:1:18), disidratati nella serie etanolo-toluene ed inclusi in Paraplast. Le sezioni seriate, dello spessore di 16 μm , sono state colorate con safranina-O e contrastate con chlorazole black E (Sigma Chemical Company).

RISULTATI

Coltivazione e crescita.

I risultati della coltivazione relativi al periodo 1983-1986 sono riportati schematicamente nella Tabella I.

La percentuale di germinabilità di tutti i semi utilizzati è stata del 85-90%.

Nella Fig. 1 sono riportate le generazioni ottenute per ciascun anno di sperimentazione. Le generazioni si distinguono per la diversa provenienza dei semi (vedi lotti di semi riportati in Materiale e Metodi) e corrispondono alle varie parcelle allestite. Le piante delle parcelle nate dallo stesso lotto di semi hanno presentato ogni anno lo stesso andamento del ciclo biologico. I risultati qui presentati si riferiscono alle piante delle generazioni indicate dalle frecce in grassetto nella Fig. 1.

Nel 1983 e nel 1984 le piante sono cresciute molto lentamente fino a metà giugno, raggiungendo un'altezza di appena 70-80 cm; il ritmo di crescita è aumentato molto con l'innalzarsi della temperatura e a fine agosto le piante erano alte circa 4 m (Bozzini *et al.*, in stampa). Nel 1985 e nel 1986, sulla base di questa osservazione la semina è stata posticipata ai primi di giugno, nell'intento di abbreviare quanto più possibile il ciclo biologico di *S. rostrata* in previsione di un suo uso come biofertilizzante, senza che questo implichi un lungo e inutile impegno dei campi di coltivazione. La semina posticipata non ha determinato alcun effetto negativo sulla germinazione e sulle prime fasi di crescita; le piante, infatti, in circa un mese hanno raggiunto l'altezza di 1-1,5 m e alla fine di agosto misuravano circa 4 m.

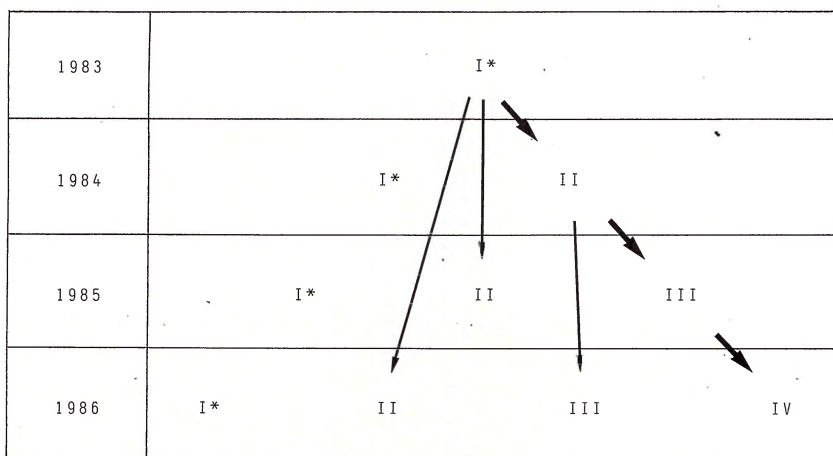


Fig. 1 — Generazioni di *Sesbania rostrata* ottenute in quattro anni di coltivazione presso l'Orto Botanico di Napoli. Le generazioni di piante ottenute da semi raccolti in Senegal sono indicate con un asterisco.

Per assicurare il completamento del ciclo biologico, nei primi due anni le piante in vaso sono state riportate in serra alla fine di agosto, dove, alla fine di novembre, sono fiorite. Nel 1985, al fine di selezionare piante di *S. rostrata* resistenti al freddo, abbiamo prolungato la loro permanenza all'aperto. Il trasferimento in serra è stato effettuato a fine ottobre, quando abbiamo notato la morte di alcune di esse. In serra *S. rostrata* ha continuato normalmente il ciclo biologico, fiorendo agli inizi di novembre. Nel 1986 le piante sono fiorite all'aperto a metà ottobre. I frutti delle piante nel 1983 e nel 1984 hanno completato la loro maturazione agli inizi di febbraio. Nel 1985 la maturazione dei frutti è terminata a metà gennaio (1986). Nel 1986 anche la fruttificazione è iniziata all'aperto. La maturazione dei frutti è proseguita in serra, nella seconda metà di dicembre.

Le piante coltivate in piena terra, hanno presentato una crescita con andamenti simili a quelli sopra descritti per le piante in vaso. Anche per queste piante il massimo accrescimento si è avuto in agosto, con un'altezza massima di 4 m.

Nel 1983 e nel 1984 le piante sono morte a fine ottobre, senza riuscire a fiorire; nel 1985 sono morte a metà novembre dopo che alcune di esse erano riuscite a fiorire; nel 1986 le piante hanno resistito fino agli inizi di dicembre: tutte erano fiorite e alcune avevano anche iniziato a fruttificare.

Formazione dei noduli caulinari e radicali.

Nel 1984, il primo anno in cui abbiamo utilizzato il ceppo ORS571 di *Rhizobium*, la formazione dei noduli caulinari e radicali è avvenuta a 4-5 mesi dalla semina, dopo ripetute nebulizzazioni sul fusto e sul terreno del *Rhizobium* specifico. Nel 1985 e nel 1986 dopo circa 20 giorni dalla germinazione del seme già vi erano i primi noduli radicali, comparsi senza alcun intervento esterno anche sulle piante nate dai semi non trattati con il *Rhizobium*. Questi noduli, come prevedibile (DREYFUS *et al.*, 1983), sono comparsi lungo le radici avventizie e alla loro base (Tav. I, fig. 1). Anche la nodulazione caulinare è avvenuta spontaneamente, ma in modo irregolare e a circa due mesi dalla semina sulle piante non nebulizzate (Tav. I, fig. 2). È da dedurre che l'infezione è avvenuta alla germinazione del seme, quando la plantula è venuta a contatto con il *Rhizobium* presente nel terreno infettatosi negli anni precedenti. Sulle piante nebulizzate i noduli caulinari hanno cominciato a differenziarsi dopo circa 10 giorni dalla infezione; la loro distribuzione sul fusto è stata regolare, con una frequenza di circa 30-40 noduli ogni 20 cm (Tav. I, fig. 3).

Osservazioni morfologiche sui noduli caulinari.

L'osservazione morfologica dei noduli caulinari di *S. rostrata* era stata condotta solo per gli stadi iniziali della morfogenesi e con tecniche di microscopia elettronica (TSIEN *et al.*, 1983). Con le tecniche di microscopia ottica abbiamo indagato sulla morfogenesi dei noduli caulinari, facendo riferimento alla letteratura solo per i primi stadi della infezione, la cui osservazione è possibile solo mediante la microscopia elettronica.

Sul fusto di *S. rostrata* vi sono tre o quattro linee generatrici, leggermente depresse (Tav. II, fig. 1), lungo le quali si notano dei rilievi emisferici, i mammelloni caulinari. Questi, in sezione trasversale, presentano all'apice una zona meristematica e, dall'esterno verso l'interno, un'epidermide, una zona corticale, e una zona vascolare (Tav. II, fig. 2). Dopo alcuni giorni il mammellone caulinare si sviluppa, trasformandosi in un abbozzo radicale (Tav. III, figg. 1 e 2). L'accrescimento del mammellone pro-

voca una lacerazione dell'epidermide; attraverso questa lacerazione, che forma un anello che circonda l'abbozzo radicale (Tav. III, fig. 3), può avvenire la penetrazione del *Rhizobium* con la conseguente formazione del nodulo. Se l'infezione non ha luogo, l'abbozzo radicale può restare quiescente oppure, se è immerso in acqua, sviluppare una radice avventizia.

Il *Rhizobium* penetra nella fessura circolare che si trova alla base dell'abbozzo radicale, aderisce alla superficie delle cellule di questa zona e penetra negli spazi intercellulari, dove si moltiplica (TSIEN *et al.*, 1983). Alcune cellule della corteccia di questa zona riprendono a dividersi, formando un tessuto meristemato (Tav. IV, fig. 1). Il *Rhizobium* penetra in queste cellule per mezzo di cordoni di infezione. L'infezione intracellulare avviene circa una settimana dopo che il *Rhizobium* è penetrato nella fessura basale dell'abbozzo radicale. Nelle cellule infettate il *Rhizobium*, allo stadio di batterioide, si moltiplica, riempiendo completamente il citoplasma cellulare (Tav. IV, fig. 2).

In questa fase il nodulo osservato a fresco comincia a mostrare la caratteristica colorazione rossa dovuta alla leghemoglobina (Tav. V, fig. 1). È possibile osservare inoltre un fascio vascolare che con le sue ramificazioni circonda completamente questa zona (Tav. V, fig. 2). Spesso persiste, all'apice del nodulo, una zona con numerose fibre sclerenchimatiche, residuo dell'abbozzo radicale (Tav. V, fig. 2).

CONCLUSIONI

Sin dal primo anno di coltivazione, *S. rostrata* ha manifestato alta capacità di adattamento alle nostre condizioni ambientali, almeno per quanto riguarda la crescita vegetativa.

Le prime prove di coltivazione condotte nel 1983 e nel 1984 avevano evidenziato la difficoltà di ottenere la fioritura e la fruttificazione all'aperto. I risultati positivi ottenuti nel 1985 e nel 1986, cioè la fioritura e l'inizio della fruttificazione delle piante all'aperto e, inoltre, l'accorciamento della durata del ciclo biologico, passato da 10 mesi nel 1983 a 6 mesi nel 1986, fanno pensare che *S. rostrata* abbia una capacità di adattamento tale da rendere possibile la selezione di cultivar capaci di svolgere l'in-

tero ciclo biologico alla nostra latitudine senza bisogno di ricovero invernale.

Nel 1985 e nel 1986, a differenza dei primi due anni di sperimentazione, la nodulazione è stata abbondante lungo il fusto e le radici infettate artificialmente; si è avuta, addirittura, la nodulazione spontanea sulle piante coltivate in terreno contenente il *Rhizobium* ORS571. Questi dati confermano la capacità di adattamento e le potenzialità applicative di *S. rostrata* alle nostre latitudini. Spesso l'introduzione nei nostri climi di leguminose dimostrate utili nel campo agricolo di altre aree geografiche è stata limitata dalla impossibilità di ottenere l'infezione delle piante con gli specifici *Rhizobium*.

Le ricerche future avranno la finalità di proseguire nella selezione di cultivar di *S. rostrata* a ciclo biologico breve e capaci di portare a maturazione i frutti all'aperto senza particolari cure. Il proseguimento dello studio della morfogenesi dei noduli caulinari sarà rivolto al miglioramento della conoscenza dei fenomeni che sono alla base della formazione dei noduli e delle modalità di infezione, al fine di ottenere nodulazioni più abbondanti e durature nel corso dell'anno.

RIASSUNTO

Sesbania rostrata è una leguminosa tropicale vivente in simbiosi con batteri del genere *Rhizobium* presenti in noduli caulinari e non solo in noduli radicali, come in altre leguminose. L'alta capacità azotofissatrice dovuta al doppio sistema di nodulazione rende *S. rostrata* particolarmente utile nella biofertilizzazione di alcune colture tropicali.

Presso l'Orto Botanico di Napoli *S. rostrata* è stata sottoposta sia a prove di coltivazione sia ad uno studio strutturale dei noduli caulinari.

A Napoli, così come nei suoi luoghi di origine, *S. rostrata* presenta valori di crescita molto elevati, raggiungendo l'altezza di 4 m in soli 60 giorni. La fioritura, ottenuta esclusivamente in serra nei primi due anni di coltivazione, nei due anni successivi è avvenuta all'aperto; nell'ultimo anno la fruttificazione è iniziata all'aperto. La nodulazione caulinare è stata ogni anno sempre più abbondante. Da tali dati si deduce che *S. rostrata* presenta un buon grado di adattamento alle nostre latitudini, così da mostrarsi potenzialmente utilizzabile nella biofertilizzazione di colture di aree temperate. Per quanto riguarda l'indagine strutturale, vengono presentati vari stadi della morfogenesi dei noduli caulinari di *S. rostrata*.

BIBLIOGRAFIA

- BOZZINI A., MORETTI A., NAZZARO R., SINISCALCO GIGLIANO G. & STEVENSON D. W.M., 1983. *Cultivation in temperate climate of Sesbania rostrata Bremek. & Oberm. (Fabaceae), a tropical legume with nitrogen-fixing stem nodules*. Delpinoa, 25-26 in stampa.
- DREYFUS B. & DOMMERGUES Y., 1980. *Non-inhibition de la fixation d'azote atmosphérique par l'azote combiné chez une légumineuse à nodules caulinaires, Sesbania rostrata*. C. R. Acad. Sc. Paris, **291** (D): 767-770.
- DREYFUS B. & DOMMERGUES Y., 1981. *Nitrogen-fixing nodules induced by Rhizobium on the stem of the tropical legume Sesbania rostrata*. F.E.M.S. Microbiology Letters, **10**: 313-317.
- DREYFUS B., RINAUDO G. & DOMMERGUES Y., 1983. *Use of Sesbania rostrata as green manure in paddy fields*. Laboratoire de Microbiologie des Soils, O.R.S.T.O.M., Dakar, Senegal.
- TSIEN H. C., DREYFUS B. L. & SCHMIDT E. L., 1983. *Initial stages in the morphogenesis of the nitrogen-fixing stem nodules of Sesbania rostrata*. J. Bacteriol., **156** (2): 888-897.

TAVOLA I

- Fig. 1 — Noduli di *Sesbania rostrata* lungo una radice avventizia ed alla sua base. Il segmento corrisponde a 0,25 cm. f = fusto; n = nodulo; ra = radice avventizia.
- Fig. 2 — Porzione di fusto di *Sesbania rostrata* non infettato artificialmente con *Rhizobium* ceppo ORS571; si noti la nodulazione irregolare. Il segmento corrisponde a 2 cm. n = nodulo.
- Fig. 3 — Fusto infettato artificialmente con *Rhizobium* ceppo ORS571; si noti la nodulazione regolare. Il segmento corrisponde a 2 cm. n = nodulo.

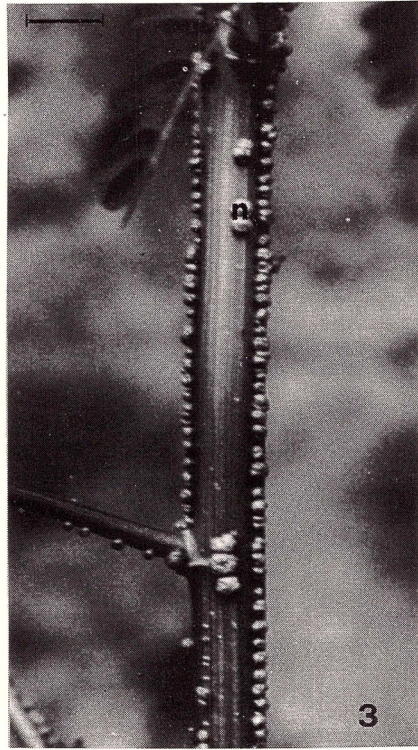
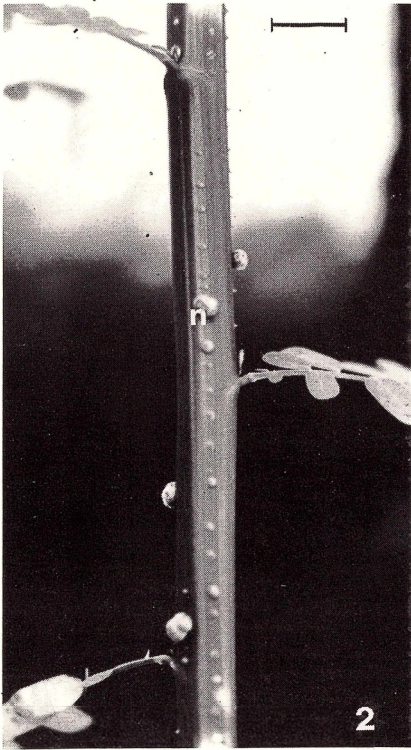
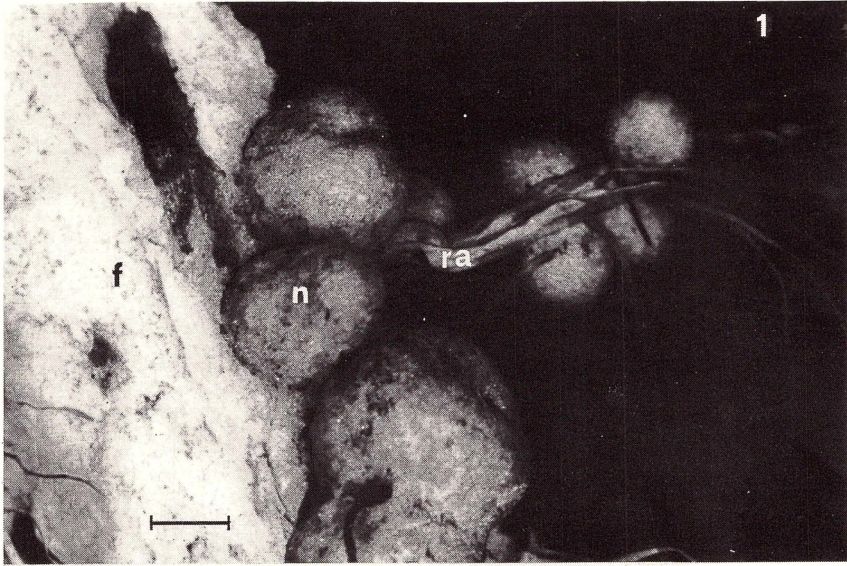


TAVOLA II

Fig. 1 — Porzione di fusto di *Sesbania rostrata* con mammelloni caulinari allineati lungo una delle linee generatrici. Il segmento corrisponde a 1,5 mm. lg = linea generatrice; mc = mammellone caulinare.

Fig. 2 — Sezione trasversale di un fusto di *Sesbania rostrata* mostrante un mammellone caulinare nella depressione della linea generatrice. Il segmento corrisponde a 50 μ m. m = zona meristemica; e = epidermide; fv = fasci vascolari; lg = linea generatrice; zc = zona corticale.

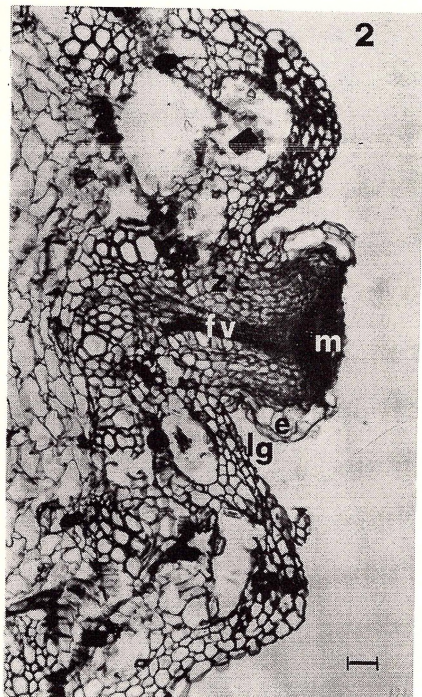
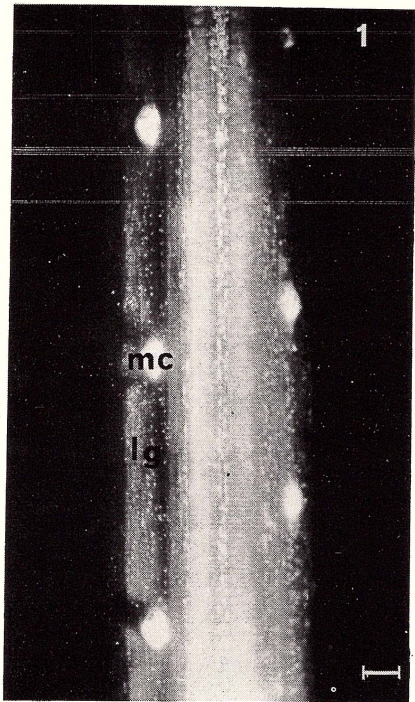


TAVOLA III

- Fig. 1 — Sezione longitudinale mediana di una porzione del fusto di *Sesbania rostrata* mostrante la fase iniziale del differenziamento di un mammellone caulinare in abbozzo radicale. Il segmento corrisponde a 150 μm . e = epidermide; fv = fasci vascolari; zc = zona corticale.
- Fig. 2 — Sez. long. mediana di una porzione del fusto di *Sesbania rostrata* mostrante un abbozzo radicale completamente differenziato. Il segmento corrisponde a 150 μm . e = epidermide; fv = fasci vascolari; zc = zona corticale.
- Fig. 3 — Sez. long. laterale di una porzione del fusto di *Sesbania rostrata* mostrante un abbozzo radicale completamente differenziato intorno al quale si nota la fessura anulare attraverso cui può penetrare il *Rhizobium*. Il segmento corrisponde a 150 μm . e = epidermide; fa = fessura anulare; fv = fasci vascolari; zc = zona corticale.

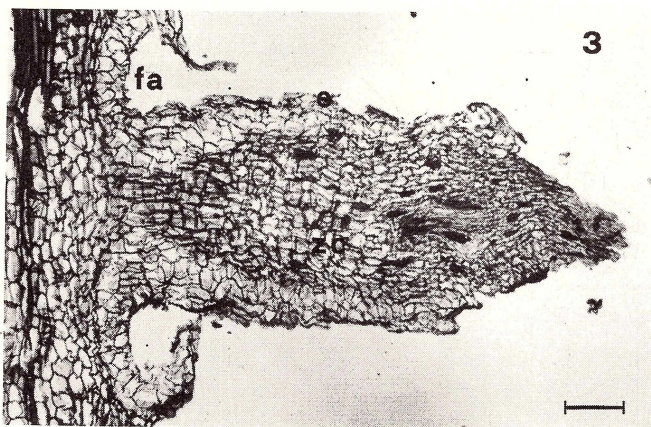
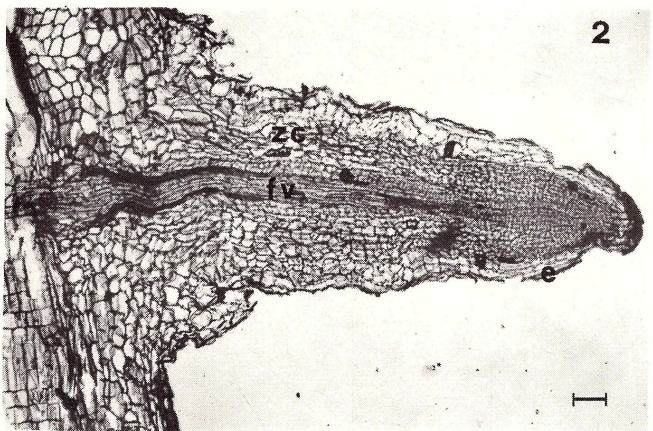
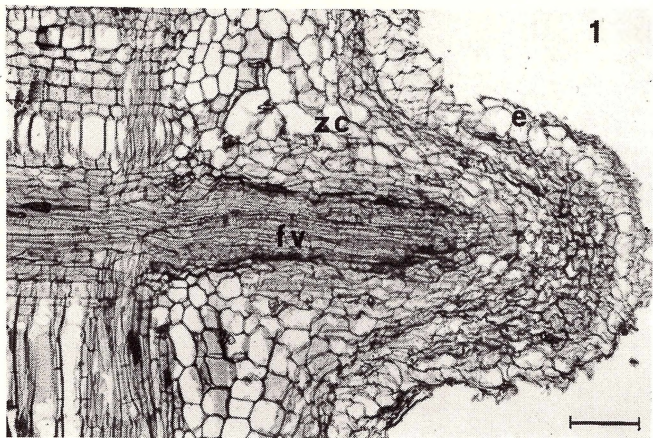


TAVOLA IV

Fig. 1 — Sezione longitudinale di un nodulo caulinare in formazione con un primo nucleo di cellule infettate dal *Rhizobium*. Il segmento corrisponde a 50 μm . e = epidermide; ci = cellule infettate dal *Rhizobium*; zc = zona corticale.

Fig. 2 — Cellule di un nodulo caulinare completamente invase dal *Rhizobium*. Il segmento corrisponde a 50 μm . ci = cellule infettate.

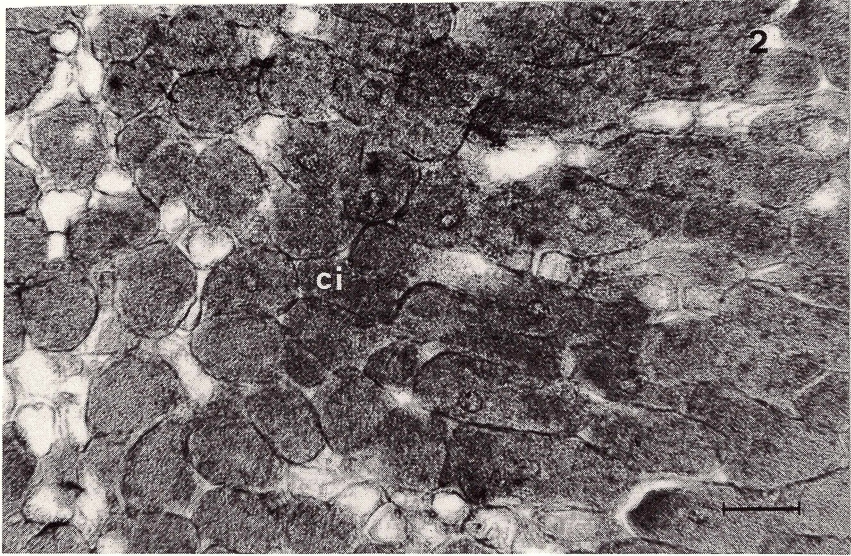
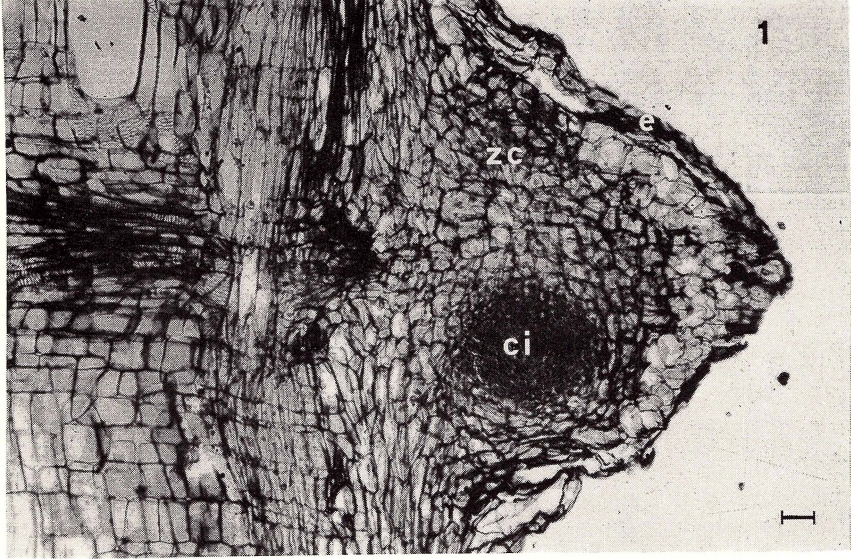


TAVOLA V

- Fig. 1 — Sezione longitudinale a fresco di un nodulo caulinare maturo. La zona infettata appare più chiara per la presenza della leghe-moglobina. Il segmento corrisponde a 0,8 mm. ci = cellule infettate; fv = fasci vascolari.
- Fig. 2 — Sezione longitudinale di un nodulo caulinare maturo con la zona infettata circondata da fasci vascolari. Nella parte distale del nodulo si nota un residuo dell'abbozzo radicale. Il segmento corrisponde a 0,8 mm. ci = cellule infettate; fv = fasci vascolari; rr = residuo dell'abbozzo radicale.

