

GUIDO CAMPADELLI*, CLAUDIO CICCARONE**

* Istituto di Entomologia «G. Grandi» dell'Università degli Studi di Bologna.

**Istituto di Patologia Vegetale dell'Università degli Studi di Bologna.

Micromiceti isolati da varie specie di larve di Coleotteri e di Lepidotteri evolventisi nel legno di essenze forestali(*).

(Ricerche eseguite con il contributo del M.U.R.S.T. 60%)

INTRODUZIONE

Le osservazioni sistematiche condotte da uno degli AA. sul ciclo biologico compiuto da varie specie di Coleotteri, in grado di scavare gallerie nella cortecchia o nel legno di conifere, ovvero nel legno morto di latifoglie hanno portato a rilevare la presenza di una flora di parassiti e di saprofiti abbastanza tipica e ricorrente sulle larve che vivono in questi ambienti.

L'attenzione si è, in parte, concentrata sulle affezioni di natura fungina osservabili in quegli insetti.

Molto difficile, trovando mummie di larve di Coleotteri e Lepidotteri già infeltrite da un denso manicotto di micelio, è lo stabilire se vi sia stata una infezione micoparassitaria anteriore alla colonizzazione attualmente registrabile (primaria) oppure se lo stato in cui si trovano i reperti sia opera di semplice saprofitizzazione (colonizzazione secondaria).

MATERIALE E METODO

Gran parte dei funghi entomopatogeni non sono facilmente coltivabili in vitro ed ancora più difficile si presenta la separazione da forme che, al contrario, sono molto vivacemente reattive qualora siano coltivate su substrato agarizzato.

Ove possibile, perciò, è stato meccanicamente isolato dall'intrico di ife prodottosi attorno alle larve, in tecnica di micromanipolazione elettronica, il campione mono-oligocellulare osservato.

Successivi accorgimenti consistevano nel coltivare a temperatura differenzia-

(*) Lavoro accettato il 23 aprile 1992.

ta (T=18, 24, 32, 40 °C) campioni di micelio in camera moderatamente umidificata e sigillata. Tentativi indirizzati di coltivazione su substrato sintetico selettivo venivano realizzati a seguito di un primo scrutinio informativo che convinceva circa l'opportunità di sondare la presenza dei seguenti generi:

- 1) *Beauveria*: Emmon's modified Saboraud Agar.
- 2) *Paecilomyces*, *Hirsutella*: Czapek Agar.
- 3) *Metarrhizium*, *Trichoderma*, *Conidiobolus*, *Fusarium*, *Fomes*, *Ceratostomella*, *Melanospora*: PDA*.
- 4) *Coniochaeta*, *Entomophthora*, *Phialophora*: PDY.
- 5) *Oedocephalum-Fomes*: Blakeslee's MEA.
- 6) *Ceratocystis/Grossmannia/Ophiostoma*: [Tartrato di Na] + [Asparagina] + [KH₂PO₄] + [Solfidati di Mn, Zn, Mg] + [Cloruri Ca, Na, Fe] + [Tiamina] + [Piridossina] + [Inositolo] + [Glucosio]. Questo substrato, additivato con Ac-tidione secondo la formula di De Hoog & Scheffer (1984) consente di separare *Ophiostoma* Sydow (= *Grossmannia* Goid.) da *Ceratocystis* Halst. e *Ceratocystiopsis* Upadhyay & Kendrick.
- 7) *Phytophthora*, *Pythium* : V8 (1°trapianto) -> CMA + Pimaricina + Penicillina + PCNB (successivi).

Quasi tutti i substrati selettivi, tuttavia, davano esito dubbio, non interpretabile o poco informativo (eccezion fatta per *Ceratocystis* della quale non si sono, però, ottenute forme perfette), mentre i substrati «general purpose» (PDA, Czapek, MEA) fornivano colonie altamente disturbate dalla prevalenza di *Trichoderma* o di *Fusarium*.

La distruttività dei trapianti su Agar ad esito infecondo non consigliava (stante la modestia volumetrica dei campioni) di insistere con ripetizioni eccessive di quella pratica.

Sicuramente assenti erano le entità ricercate con il mezzo n°7.

Un fungo universalmente isolato dai nostri campioni è *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz (= *T. viride* Pers.: Fr.), ben noto competitore ed inibitore di crescita vs. numerose specie fungine; ciò ha complicato notevolmente le osservazioni.

In alcuni casi, quindi, l'identificazione di funghi, la cui biologia è molto delicatamente concatenata con quella dei parassiti, è stata effettuata per comparazione morfologica di particelle residue frammentarie non coltivabili o non più germinabili.

Quali riferimenti bibliografici principali sono serviti i lavori di Petch (1926-1944) e l'atlante prodotto da Samson, Evans e Latgé nel 1988 per i tipi della Springer-Verlag.

Si chiarisce il significato di alcune abbreviazioni:

V8: Agar la cui frazione alimentare è aggiunta con il frullato di otto vegetali confezionato secondo la formulazione commercializzata dalla Ditta Campbell's (USA).

PCNB: PentaCloroNitroBenzene

CMA: Corn-Meal-Agar

PDA: Potato-Dextrose-Agar
PDY: Potato, Dextrose, Yeast-Agar
MEA: Malt-Extract-Agar

RISULTATI

Si elencano separatamente i reperti provenienti dalla Pineta di S. Vitale (Ravenna) e quelli relativi a legno morto di latifoglie (olmo e faggio) campionati in Riserva Integrale di Sasso Fratino e Foresta della Lama (Forlì). Si mantiene separato anche l'unico campione costituito da larve di Lepidotteri.

A. COLEOPTERA (PINETA DI S. VITALE).

1) *Aropalus* (= *Cryocephalus*) *syriacus* Reitter (Cerambycidae).

Campione di larve allo stato di mummie provenienti da gallerie prodotte entro il legno di *Pinus* sp..

Le mummie si presentavano di consistenza gessoso-farinosa, infeltrita da ife di diversi funghi. Si osservavano, infatti, diffusamente, conidi di *Phialophora hoffmannii* (van Beyma) Schol. Schwarz (stadio conidico di *Coniochaeta ligniaria* (Grév.) Cooke in Gams, Domsch, Anderson, 1980). L'inquinante e micoparassita *T. lignorum* era abbondantemente presente. Anche osservate forme microconidiche e, su alcuni degli esemplari, clamidospore del genere *Fusarium* Lk.

Anche di *Oedocephalum* Preuss, stadio ifale di «basidiomiceti a mensola» quali sono i *Fomes*, si sono trovati alcuni campioni (anche se piuttosto malridotti).

Il parassita vero e proprio (cioè l'agente parassitario cui può essere imputata la morte della larva) variava, essendo rappresentato da *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill., nel caso di mummie bianche gessose, ovvero da un fungo morfologicamente riferibile a *Paecilomyces farinosus* (Holm: Fr.) A.H. Brown & G. Smith nel caso in cui le larve mantenevano una consistenza molle ed il micelio era fioccoso.

2) Su esemplari di una specie di buprestide, non più riconoscibile a causa dello stato di degrado della larva, sono stati osservati bulbilli della medesima *Melanospora* e abbondante micelio di *T. lignorum* (Tode) Harz. Non evidente il parassita, che tuttavia, per il complesso dei sintomi, si ritiene essere *Beauveria*.

3) *Buprestis haemorrhoidalis* ssp. *araratica* Mars. (Buprestidae): *T. viride* avvolgeva in ife spirillari miceli di *B. bassiana* e del micoparassita *Nyctalis asterophora* Fr. Visti frammenti di conidiofori macronematici e conidi flottanti di *Verticicladiella* S. Hughes. In uno degli esemplari si sono osservate due spore secondarie di *Conidiobolus coronatus* (Constantin) Batko (King, 1976 a e b).

4) *Chrysobotrys solieri* C. et G. (Buprestidae). Verticillia connettibili con *Paecilomyces farinosus* (Holm) Brown & Smith. Bulbilli presenti nel campione. Conidi falcati del genere *Phialophora* Medlar.

La larva è stata isolata da residui non meglio identificati di carpofori funghi.

5) *Pissodes notatus* Fabricius (Curculionidae): *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. Presenti due periteci e spore flottanti di *Chaetomium elatum* Kunze: Fr. (Mazzucchetti G., 1965).

6) *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Cerambycidae) : sono stati isolati *T. lignorum* (Tode) Harz (= *T. viride*) e *B. bassiana* (Balsamo) Vuill.

7) *Morimus asper* Sulzer (Cerambycidae) : una unica larva era parassitizzata da: *Aspergillus parasiticus* Speare

Non sono stati trovati altri funghi in questo campione.

B. COLEOPTERA (FORESTA DELLA LAMA E RISERVA INTEGRALE DI SASSO FRATINO).

1) *Oedemeridae* (gen.sp.): si tratta di nuova specie in corso di descrizione, proveniente da legno di faggio quasi marcescente.

La larva si presentava colonizzata secondariamente da *T. lignorum* (Tode) Harz, e recava vestigia di un ifale afferibile ad *Oedocephalum* Preuss.

Il campione conteneva anche un peritecio incompleto e spore flottanti di *Ceratocystis* Halst., oltre a bulbilli, spore e due periteci di *Melanospora parasitica* Tul. (Doguet G., 1955).

Numerosi conidi e clamidospore terminali ed intercalari di *Fusarium oxysporum* Schlecht e conidi «C-bent» di una *Phialophora* afferibile al ciclo di *Coniochaeta ligniaria* (Grev.) Massee (presente in forma di spore: v. Rogers J.D., 1965).

L'inventario conta anche una spora quadrangolare collassata attribuita alla specie *Melanospora barbata* Dur. et Mont. (Doguet G., 1955).

2) *Helops coeruleus* L. (Tenebrionidae) : tracce di *Paecilomyces* Bain. Spore di *Hypocrea* Fr.; registrate infezioni da ife di *Harpella melusinae* Léger & Duboscq (Harpellales, Harpellaceae, Trichomicetes: v. Lichtwardt W., 1960).

Stazione di raccolta è Sasso Fratino (Forlì) in legno morto di faggio.

3) *Pyrochroa coccinea* L. (Pyrochroidae). In questo campione non è stata riscontrata *B. bassiana*. Data l'esiguità del materiale disponibile e la scadente vitalità del reperto, questo è stato morfologicamente e positivamente confrontato con *Hirsutella jonesii* (Speare) Evans & Samson (Stazione di Foresta della Lama, Forlì: reperito tra legno e corteccia di olmo morto).

4) *Synodendrum cylindricum* L. (Lucanidae). Mummia prodotta da *B. bassiana*. Infiltrazioni di *Gliocladium virens* Miller & Al. (Stazione di Sasso Fratino: estratto da legno di faggio morto).

C. LEPIDOPTERA (RISERVA INTEGRALE DI SASSO FRATINO).

Questo campione proveniva da *Fomes fomentarius* 1) Determinazione per comunicazione personale della Dr.ssa A. Bernicchia dell'Istituto di Patologia Ve-

getale di Bologna, accresciutosi su legno morto di *Fagus sylvatica*, dalla stazione di Sasso Fratino.

1) *Scardia boletella* Fabricius (Tineidae): insetto che svolge il ciclo in carpofori *Fomes fomentarius* (L.: Fr.) Fr., denunciava sintomi tipici di calcino da *B.bassiana*. Osservati anche cistidi e clamidospore (Thompson, 1936) di *Nyctalis asterophora* Fries.

CONSIDERAZIONI

Le specie più diffusamente riscontrate sono state le forme ifali dei generi *Trichoderma* e *Gliocladium*, le quali presentavano una accentuata attività micoparassitaria nei confronti di *Beauveria* e *Paecilomyces*.

Beauveria è apparsa la specie entomopatogena dominante.

La presenza di *Hirsutella* rimane sub judice a causa degli scarsissimi elementi per la diagnosi messi a disposizione dal campione. *Chaetomium*, *Fusarium*, *Coniochaeta*, *Ceratocystis*, *Phialophora* si considerano funghi saprofiti o parassiti di *Pinus*, con attività solo indirettamente collegabile alle affezioni entomatiche. *Melanospora* può assumere il ruolo di saprofita sulle vestigia delle larve morte: si può leggere, in Samson, Evans e Latgè (1988) che questo genere sarebbe abbastanza ricorrente in queste consociazioni.

Nyctalis asterophora Fr. è un micete frequentemente infiltrante i grandi carpofori di agarici, di boleti e di altri basidiomiceti (Ingold, 1939) dei quali si trovano frequentemente le forme conidiche di *Oedocephalum*. Probabilmente la sua presenza nei campioni ricevuti è collegabile a quella di *Fomes fomentarius*.

RIASSUNTO

Da larve di Coleotteri (Lucanidae, Curculionidae, Cerambycidae, Tenebrionidae) legni di *Pinus*, *Fagus*, *Ulmus*, provenienti, rispettivamente, dalla Pineta di S.Vitale (Ravenna), dalle Foreste della Lama e Sasso Fratino (Forlì) e da larve di *Scardia boletella* (Lep.Tineidae) raccolte da legno di *Fagus sylvatica* (Stazione: Sasso Fratino, Forlì), sono state osservate e descritte le forme fungine ricorrenti nonchè quelle occasionalmente riscontrate.

Micromycetes isolated from wood-larvae collected from deciduous and coniferous stumps.

SUMMARY

Larval stages of beetles and moths were collected from bark of *Pinus* sp. and *Fagus sylvatica* and set under mycological survey. Bark was carved off adult or senescing individuals settled in S.Vitale (Ravenna) pinewood, or, as to *Fagus*, in Sasso Fratino (Forlì) forest.

Entomopathogenic, other saprobic or mycoparasitic fungi are hence listed.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- DE HOOG G.S. E SCHEFFER. J., 1984. -*Ceratocystis* versus *Ophiostoma*: a reappraisal. -*Mycologia*, 76:292-299.
- DOGUET G., 1955. - Le genre *Melanospora* Biologie, Morphologie, Développement, Systématique. - Imprimerie E.Drouillard, Bordeaux., pp. 313.

- GAMS W., DOMSCH K.H. e ANDERSON T.H., 1980. - Compendium of Soil Fungi. - AP, New York, pp.859.
- INGOLD C.T., 1939. - Note on the distribution of basidia in fruit bodies of *Nyctalis parasitica* (Bull.) Fr. - *Trans.Brit.Mycol.Soc.*,23:29-32.
- KING D.S., 1976 a. - Systematics of *Conidiobolus* (Entomophthorales) using numerical taxonomy.II. Taxonomic considerations. - *Can. Jour. Bot.*, 54: 1285-1296.
- KING D.S., 1976 b. -Systematics of *Conidiobolus* (Entomophthorales) using numerical taxonomy.III.Descriptions of recognized species. - *Can. Jour. Bot.*, 55: 718-729.
- LICHTWARDT W., 1960. - Taxonomic Position of the Eecrinales and Related Fungi. - *Mycologia*, 52: 410-428.
- MAZZUCCHETTI G., 1965. - Microfunghi della cellulosa e della carta. Attività ed inquadramento sistematico: il genere *Chaetomium*.-*Pubblicazioni dell'Ente Nazionale per la Cellulosa e per la Carta, Roma*,365 pp.
- PETCH T., 1926. - Studies in Entomogenous Fungi: X *Verticillium* spp. - *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, II: 251-266.
- PETCH T., 1932. - A List of the entomogenous fungi of Great Britain. - *Trans.Brit.Mycol.Soc.*, 11: 170-178.
- PETCH T., 1937. - Notes on Entomogenous Fungi. - *Trans. Brit. Mycol. Soc.*,21: 250-265.
- PETCH T., 1942. - Notes on Entomogenous Fungi. - *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 10 (Part III): 250-265.
- PETCH T., 1944. - Studies in Entomogenous Fungi. - *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 27 (Parts I, II): 81-93.
- ROGERS J.D., 1955. - The Conidial Stage of *Coniochaeta ligniaria*: Morphology & Cytology. - *Mycologia* 57: 368-378.
- SAMSON R.A., EVANS H.C. e LATGÈ J.P., 1988. - Atlas of Entomopathogenic Fungi. - *Springer-Verlag*, pp.187 *Utrecht*.
- THOMPSON G.E., 1936). - *Nyctalis parasitica* and *N. asterophora* in culture. - *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 38: 223-227.