

CLAUDIO CICCARONE ⁽¹⁾ E GUIDO CAMPADELLI ⁽²⁾

⁽¹⁾ Istituto di Produzioni e Preparazioni Alimentari, Facoltà di agraria di Foggia, Università di Bari

⁽²⁾ Istituto di Entomologia "G. Grandi", Università di Bologna

Larve di *Zeuzera pyrina* L. attaccate da funghi entomopatogeni. (*)

(Ricerche eseguite col contributo M.U.R.S.T. 60 %)

INTRODUZIONE

Severe infestazioni di rodilegno nelle coltivazioni di melo nella zona di Imola (BO) hanno portato all'individuazione di un agente entomatico molto diffuso e noto: *Zeuzera pyrina*. Le larve, catturate in gran numero entro un vasto areale di campionamento, si presentavano molto danneggiate per la presenza di alcuni microfunghi che ne inibiscono la crescita e che, spesso, le attaccano all'interno delle loro stesse gallerie di crescita.

MATERIALE E METODO

I funghi isolati dalle larve sono numerosi, ma due di questi ricorrono più frequenti in casistica: il primo contrae con gli insetti un rapporto di parassitizzazione indiretta (in quanto è portato primariamente da Acari che infestano le larve: Fisher, 1950); l'altro è direttamente parassita, ma è (dal punto di vista accademico) meno interessante perchè ben noto.

1) Negli stadi iniziali, la livrea delle larve (naturalmente gialla) evolve, invece, verso l'ocra. Il colore diviene sempre più intenso, raggiungendo il colore bruno-ruggine e, quindi, le larve si coprono di ife bianche, che evadono, a ciuffi, dalle pseudozampe, dagli gnatiti, dagli stigmi toracici ed addominali.

In un primo tempo, le ife avvolgono l'insetto in una coltre gessosa, poi esse differenziano sinnemi bianco-avorio, rattorti, talora ramificati, lunghi tra i 1 e 5 mm. Questi sinnemi sono inizialmente candidi: maturando, essi virano al bruno-chiaro. La loro simmetria è subcilindrica, rastremandosi nel verso prossimo distale: possono essere semplici, ma spesso sono bifidi od in più ordini ramificati e fortemente rattorti. Apicalmente appuntiti e sterili, essi sono in grado di aderire tenacemente al substrato.

* Lavoro accettato il 12 dicembre 1995.

Il tessuto è formato da un plectenchima di ife parallele, coerenti, ialine, eusetate. Il tratto mediano del sinnema è discontinuamente avvolto da uno strato fertile (pseudo-imenio) dal quale si elevano cellule conidiogene semplici, fiadiliche, ialine, micronematiche. Benchè le cellule conidiogene siano spesso terminali rispetto all'ifa, l'apice del sinnema presenta cellule conidiogene estremamente rarefatte. Il tipo di struttura si qualifica, quindi, come un sinnema ad asse e branche indeterminate (Hawksworth et alii, 1995). Essa è, in letteratura, affine ad *Hirsutella* Patouillard e, localmente, assume la forma di *Akanthomyces* Lebert (non *Acanthomyces* Thaxt.: Samson et alii, 1988). Vedi anche Petch, 1923, 1926, 1942.).

Le cellule conidiogene ed i miceli presentano un certo grado di pleomorfismo (Gams, 1973) e sono inquadrabili, schematizzando, in tre tipi (a, b, c nel testo).

I tipi a e b sono spesso osservabili innestati sul medesimo tratto di ifa od anche composti in verticilli di-trimeri sulla medesima ifa conidioforica:

a) cellule conidiogene fiaschiformi, con parete transitoriamente e lievemente granulata, che presentano uno sterigma aciculare, lungo, eretto. Questo reca apicalmente coppie di piccoli conidi monocellulari, lisci, ovoido-affusolati, biapiculati, inclusi in una sferula di gel.

b) Cellule conidiogene cilindriche, parietalmente granulate, dotate di sterigmi singoli o doppi, apicalmente zigzaganti e recanti conidi analoghi ai precedenti. L'andamento zigzagante, benchè richiami quello tipicamente noto per *Beauveria* Vuill., è proporzionalmente limitato ad un segmento molto distale dello sterigma ed è molto più difficile da evidenziare (sono richiesti ingrandimenti oltre i 2400 X). Queste cellule conidiogene, a differenza di quelle di *Beauveria* sono a produzione apicale e non simpodiale o laterale (De Hoog, 1972). I conidi sono, in entrambi i casi, ialini, monocellulari, fusoidi, inequilaterali, a parete liscia, delle dimensioni di 5-6-7 X 3 micron e coperti da una guaina di gel.

c) Si segnala anche un particolare habitus del micelio che, localmente, assume un aspetto caseoso. La presenza di questo micelio si può accompagnare a quella di *Hirsutella* oppure può esserne isolata. Il micelio è comunque diffuso su quelle larve che sono infestate da Acari (Eriofidi, Taisonemidi). Si tratta di un micelio settato a maglia quadrata (ife diramantesi ortogonalmente) con ife esili, ad andamento retto, non fragile in prossimità dei setti. Lateralmente alle ife si ergono cellule conidiogene micronematiche, mononematiche, cilindriche, non settate, debolmente svasate all'ilo.

Da queste cellule vengono prodotte masserelle mucillaginose di conidi ovali inequilaterali, monocellulari, a parete liscia, ialini od appena grigiastri (dim.= 5-6-8 X 2-2,7-7 micron) singoli in capitoli contenenti 5-10 elementi. Non essendo diverse le colonie ottenute da questa forma, si ritiene che essa sia una struttura polimorfica divergente dalle precedenti.

Trapiantando i conidi su Agar Saccaroso di Patata (PSA) e coltivandoli a 20 C° si osservano i seguenti caratteri delle colture in vitro.

Colture ad incremento lento, propagazione policentrica accorpata, a perimetro tondeggiate, netto; assenza di effusati nell'agar.

Il micelio giovane appare cenocitico, ma, in un secondo tempo, la settazione diviene più evidente. Non si osservano strozzature in prossimità dei setti. Le ife

mature hanno un calibro di circa 2,5 micron, sono ialine, lisce e lucenti. Il rapporto interno di elongazione delle cellule ifali è, mediamente, pari a 20.

Colore del lato retto bianco-roseo. Il micelio forma inizialmente un subicolo stromatico di aspetto mucedinaceo rosa dal quale si elevano o si irraggiano per 2-4,5-10 mm sinnemi bianchi. La capacità di produrre sinnemi viene stimolata incubando le colture al buio e sembra perdersi con i ripetuti trapianti su matrice artificiale.

Lato verso: bianco-cremeo, radialmente solcato.

Il tasso di incremento delle colonie è tale che esse raggiungono un diametro di 20-23-25 mm (h=4 mm al centro) in 14 giorni a 24 °C su PSA. Questo fungo si identifica con:

Hirsutella thompsonii Fisher var. *synnematos*a Samson, McCoy & O'Donnell.

2°: altri esemplari presentano il tegumento rivestito da un manicotto di micelio bianco granuloso dal feltro denso, relativamente secco ed idrofobico che contorna le pseudozampe senza interessarle. Questo micelio, settato, presenta andamento angoloso, genicolato ed incerto, fragilità vitrea in corrispondenza dei setti e differenzia conidiofori zigzaganti che recano grappoli di conidi monocellulari, ialini, globosi (quasi sferici).

Caratteri in vitro delle colture su PSA:

colture molto accentuate levaniformi (quasi sferiche), tonde, a profilo netto. Micelio aereo con fluff denso, alto.

Lato retto candido, vira al cremeo attorno al 10° giorno.

Verso soffusamente, ma intensamente, roseo (il pigmento diffonde nell'agar).

Velocità di crescita: 15-17-18 mm al centro, h= 5,57 mm in colonie di 15 mm di diametro.

Benchè le dimensioni dei conidi siano maggiori di quelle tipiche per quel genere, si diagnostica questo isolato per: *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill.

3° Tufts di micelio polverulento roseo evadono dagli stigmi di alcune larve il cui soma è collassato e mummificato. Le infezioni sono secondariamente sopravvenute in seguito alla parassitizzazione dell'emocele da parte di nematodi: *Arthrobotrys oligospora* Fres.

4° *Aspergillus parasiticus* Speare: lunghissimi stipiti conidioforici che si irradiano dai gnatiti, dalle pseudozampe, stigmi in ciuffi radiati.

5° *Mucor hiemalis* Wehmer, il cui micelio appariva endoparassitizzato da: *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wollenw. emend. Snyder & Hans. che, comunque, era isolabile dall'emocele del 30% delle larve osservate.

6° Pochi individui (4 in tutto) presentano infezioni da: *Aspergillus niger* van Tieghem.

DISCUSSIONE

La morfologia delle fialidi e buona parte dei caratteri megetici, morfologici e colorimetrici indurrebbero a classificare questo deuteromicete nella sezione "Mononematosa" sensu Minter & Brady come *Hirsutella nodulosa* Petch. La quale, tra l'altro, è già nota per essere stata isolata da *Zeuzera* e da *Stenotarsonemus*

pallidus Banks (Acaro: Tarsonemidae) che, per inciso, sono entrambi ospiti ampiamente presenti nell'ambiente dell'Emilia-Romagna.

In realtà, il fatto che il nostro campione formi facilmente i sinnemi sia in "vivo" ed in "vitro" farebbe saltare l'attuale chiave tassonomica delle *Hirsutella* e dei generi ad essa annessi. Inoltre, per alcuni caratteri secondari (es.: lo sviluppo temporale della colorazione delle colonie in "vitro" non è accuratamente descritta per le specie di questo genere) non è preferibile una diagnosi che sia basata sul fattore — morfologia del fialide — (che guiderebbe verso *H. nodulosa*) trascurando l'esistenza delle sezioni *synnematoso* e *mononematoso* per le quali il taxon adatto è quello prescelto di: *H. thompsonii* var. *synnematoso*.

Gli AA. rifuggono dal creare una specie nuova in quanto l'impossibilità di confrontare campioni validi di oltre 240 specie di *Hirsutella* porterebbe a reimpinguare la lista dei nomi di altri vuoti contenuti.

Il reperimento in Italia di questo micete è molto significativo. Esso, infatti, avrebbe, secondo Samson et alii (1980), areale di diffusione pantropicale, ma esisterebbero sporadiche e poco avvalorate segnalazioni della *Hirsutella* in Europa su Aracnidi. Nel loro lavoro (datato, 1980) essi incoraggiano a segnalare la presenza di questa *Hirsutella* da altre zone del mondo. La nostra segnalazione comunica anche il caso dell'invasione di larve di lepidotteri da parte di un fungo che, primariamente, è acaroparassita.

La sezione *Synnematoso* (Mains, 1951) comprende una decina di specie tipicamente aracnidicole che sono infrequenti su larve di lepidotteri: esistono specie considerate transizionali nelle quali i sinnemi rimangono megeticamente iposviluppati: *H. besseyi* Fisher, *H. aphidis* Petch e *H. floccosa* Speare. Vi è, poi la già citata *H. nodulosa* Petch (specie mononematica secondo Minter § Brady, 1980) che è stata isolata in larve di *Zeuzera coffeae* Nietn. (Lep. Cossidae).

Ancora meno frequente è la registrazione su lepidotteri di una specie sinnematica.

Le larve in questione erano, comunque, abbondantemente infettate da Acari e da Nematodi.

Alcuni dei caratteri (es.: colore delle colonie, dimensioni dei sinnemi) di *H. thompsonii* var. *synnematoso* sono, nel nostro caso, lievemente diversi da quelli descritti da Samson et alii, 1980. In particolare, la colorazione grigio-verdastra ottenuta dagli AA. su MEA (malt-extract-agar) è poco evidente nel nostro isolato: però la colorazione rosea che successivamente prevarrebbe, rende conformi i nostri campioni al tipo.

Quanto al megetismo dei sinnemi, gli stessi AA. dicono che la loro formazione ha determinismo fotico tanto in "vivo" quanto in "vitro".

Per gli altri caratteri, tra il nostro esemplare ed il tipo non vi sono differenze. La presenza su queste larve di *B. bassiana* non esce dalla più normale casistica. La sua osservazione, in questo contesto, ci sembra interessante solo perchè essa è il reale parassita di *Zeuzera* ed è mascherata dalla presenza di altri funghi.

Le altre specie fungine citate nel presente lavoro rappresentano qualcosa di poco più che accidentale, ma i fusaria e gli aspergilli elencati sono saprofiti ulteriormente caratterizzanti l'ambiente in cui si sono sviluppate le patologie.

RIASSUNTO

Si descrive una forma fungina di transizione che si colloca tra le sezioni *Synnematosa* e *Mononematosa* di *Hirsutella*. Essa è stata isolata da larve di *Zeuzera pyrina* L. (Lep. Cossidae) già infestate da Acari.

La collocazione di questo isolato nella tassonomia ufficiale è problematica perchè noi non consideriamo la capacità di formare sinsemi quale carattere di elevato valore tassonomico almeno nell'ambito del genere in questione. Riteniamo piuttosto trattarsi di una capacità stimolabile attraverso fattori trofici ed ambientali quali la luce, la temperatura, la presenza di organismi sineconti, l'attività dell'acqua nella matrice, la composizione chimica dell'aria.

Forniamo, quindi, una diagnosi conforme alle chiavi tassonomiche ufficiali (strettamente morfologica: *Hirsutella thompsonii* var. *synnemata*) ed una diagnosi per noi più calzante su base esperta (*H. nodulosa*).

Uncommon entomopathogenous fungi on
Zeuzera pyrina L. (Lep. Cossidae) larvae.

SUMMARY

A transitional form between the *Synnematosa* and *Mononematosa* sections of *Hirsutella* is hereafter described from *Zeuzera pyrina* L. larval stages. The larvae were infested by mites.

Framing of this sample in the official taxonomy is problematical as the capability of developing synnemas may never be considered a character of high taxonomic value: their determinism lies rather on trophic and environmental bases (temperature, light, sinecont organism).

So we give a strictly morphological diagnosis (*Hirsutella thompsonii* var. *synnemata* which meets official taxonomy) and a morpho-ethological response that gratifies our observative instinct (*H. nodulosa*).

BIBLIOGRAFIA CITATA

- DE HOOG G.S., 1972. - The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodontium* ge.nov.- *Stud. mycol.*, 1: 1-41.
- FISHER F.E., 1950. - Two new species of *Hirsutella* Patouillard. - *Mycologia*, 42: 290-297.
- GAMS W., 1973. - Phialides with solitary conidia. Remarks on conidium ontogeny in some hyphomycetes. - *Persoonia*, 7: 161-171.
- HAWKSWORTH D.L., KIRK P.M., SUTTON B.C.M., PEGLER D.N., 1995. - Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi (8th Edition). - *IMI, CAB International, U.K.*, 447-448.
- MAINS E.B., 1951. - Entomogenous species of *Hirsutella*, *Tilachlidium* and *Synnematium*. - *Mycologia*, 43: 691-718.
- MINTER D.W., BRADY B.L., 1980. - Mononematous species of *Hirsutella*.- *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 74: 271-282.
- PETCH T., 1923. - Notes on entomogenous fungi. - *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 9: 108-128.
- PETCH T., 1926. - Entomogenous fungi. Additions and corrections II. - *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 11: 258-266.
- PETCH T., 1942. - Notes on entomogenous fungi. - *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 25: 250-265.
- SAMSON R.A., EVANS H.C., LATGE J.P., 1988. - Atlas of entomopathogenic fungi. - *Springer-Verlag, Berlin*, pp. 187.
- SAMSON R.A., McCOY C.W., O'DONNELL K.L., 1980. - Taxonomy of the acarine parasite *Hirsutella thompsonii*. - *Mycologia*, 72: 359-377.
- SPEARE A.T., 1920. - On certa in entomogenous fungi.- *Mycologia*, 12: 62-76.



Fig. 1. - I sinnemi di *Hirsutella* sulle larve appaiono piuttosto vistosamente.

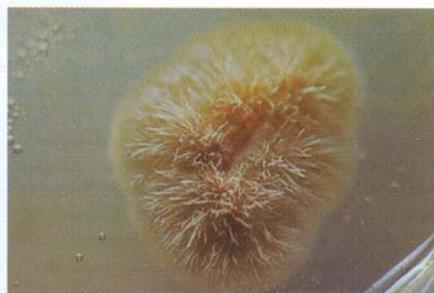


Fig. 2. - Anche nelle colture in "vitro" si differenziano i sinnemi, ma la capacità di formarli decade nel tempo.



Fig. 3. - *Hirsutella* assume talora forme afferribili ad *Akanthomyces*.

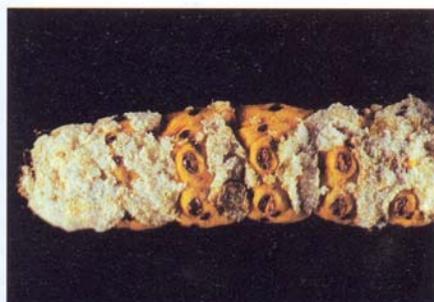


Fig. 4. - Aspetto di una larva micotizzata da *Beauveria*.

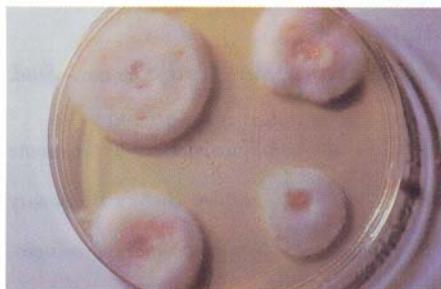


Fig. 5. - Colonie di *B. bassiana*.



Fig. 6. - Cellule conidiogene di *B. bassiana*.



Fig. 7. - Colonizzazione saprofitaria di *Mucor hiemalis*.



Fig. 8. - Infezione secondaria di *Aspergillus parasiticus*.