

CLAUDIO CICCARONE\*, GUIDO CAMPADELLI\*\*

\* Istituto di Produzioni e Preparazioni Alimentari, Università di Bari

\*\* Istituto di Entomologia "G. Grandi", Università di Bologna

## Micromiceti su larve di *Saphanus piceus* Laicharting (Col. Cerambycidae). (\*)

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

### INTRODUZIONE

Le osservazioni sono state effettuate su larve del Coleottero Cerambicide *Saphanus piceus* Laicharting appartenente alla tribù dei Saphaniini, specie diffusa in ambiente di faggeta, particolarmente nell'Appennino Romagnolo, e raramente segnalata anche su conifere.

I nostri campioni provengono, appunto, da ceppi di faggio di 4-5 anni delle Foreste Casentinesi, versante Romagnolo.

### MATERIALE E METODO

Sono state sottoposte ad analisi larve mummificate della specie in questione. Il micelio del patogeno è stato indotto a conidificare adottando accorgimenti quali la bagnatura del micelio con agar-glucosio di patata, ossigenazione dei campioni, esposizione alla luce. Una volta ottenuti i conidi, questi sono stati trapiantati per striscio di porzioni dei feltri conidigeri sulle seguenti matrici artificiali:

- 1) Agar-acqua a pH 6,25 °C.
- 2) MEA (Malt-Extract-Agar) a pH 3,5 a 25 °C.
- 3) MEA a pH 5,5 a 25 °C.
- 4) PGA (Potato-Glucose-Agar) a pH 5,5 a 25 °C.
- 5) PDA (Potato-Dextrose-Agar) a pH 5,5 a 25 °C.
- 6) PSA (Agar-Patata-Saccarosio) portato a pH 5,5 a 25, 30, 35 e 43 °C.

I dati estratti dall'osservazione microscopica delle colture sono stati confrontati con la collezione di dati bibliografici (Petch, 1923, 1926, 1942; Samson, 1974; Samson et alii 1988) e da quelli sperimentali degli Autori.

Data la scarsa diffusione della scala Ridgway, si è preferito associare ai colori descritti nel testo un più moderno standard la cui applicazione è mondialmente riconosciuta in campo informatico: la scala R.G.B.

---

(\*) Lavoro accettato il 4 dicembre 1996.

L'attribuzione delle coordinate di questa scala ai colori delle colture è stata effettuata con un calcolatore per scansione diretta dei preparati (16 milioni di tonalità alla profondità di 1024 x 768 pels, 75 Hz) ed importazione in ambiente di analisi grafica Kodak Precision Color TM.

#### A. Osservazioni *in vivo*.

Le larve di *S. piceus* sono mummificate in rosime di legno ed avvolte da un feltro miceliare bianco di consistenza a tratti farinosa ed altrove caseosa che ingloba le mummie. Queste mantengono, anche dopo lungo tempo, una consistenza elastica e non rinsecchiscono con facilità. Conservando le larve isolate entro "vials" a tenuta stagna, il micelio rimane in stasi metabolica e non si accresce nè vegetativamente nè differenzia strutture riproduttive.

L'ossigenazione anche breve dei campioni, invece, stimola la subitanea crescita di coremi vistosi. Questi, inizialmente, si presentano come abbozzi candidi, appena percettibili e, nello spazio di una giornata, si erigono per più millimetri con deciso tropismo aerofilo verso la bocca del "vial".

Dopo poche ore, lo stipite del coremio assume una colorazione aranciato-nocciola, mentre il capitolo sfioccato mantiene una colorazione candida.

La struttura del coremio è del tipo "intricato" di Seifert (Hawksworth et alii, 1995), piuttosto lasca e costituita da cordoni sinematici minori.

Ad osservazione microscopica il coremio, per un periodo di molti giorni, non manifesta alcuna forma riproduttiva. Il micelio, settato, liscio, ialino, ha portamento necarioide: calibro vario, caratterizzato da fragilità vitrea in prossimità dei setti, dotato di anastomosi.

Benchè l'aspetto del micelio sia ipocreaceo, tuttavia mancano altri elementi tipici delle ipocreaceae quali "cladia", "ampullae", "aleuria", clamidospore, micro (o macro) sclerozi: non si vedono cellule clavate (appressori) nemmeno nelle slide-cultures.

Nel giro di 10 giorni i coremi differenziano le strutture conidioforiche secondo lo schema "determinato" di Seifert.

I conidiofori sono differenziati in numero ridotto come ramificazioni irregolari laterali, subterminali od apicali di lunghe (> 100 µm) ife flessuose chiare.

Le ramificazioni laterali a portamento compatto formano verticilli bini e trini di ramificazioni secondarie e di "metulae" divaricate sterili o fertili: su ognuna di queste ultime in un secondo tempo si formano mazzetti di 1-4 fialidi botriose, lisci, misuranti 5,5-7 x 1,7-2 µm apicalmente acuminati in sterigmi di forma spicarioide (Gams, 1973) e lunghi 2 µm.

Da queste cellule conidiogene vengono prodotti, per conidiogenesi oblastica, conidi monocellulari, ialini, globosi ad asse lievemente flesso, episporio liscio, talora lievemente monoapiculati.

I conidi, tutti molto piccoli, hanno dimensioni 2,5-3,5 x 1,5-2 µm.

Essi non formano nè capitoli nè monilie o catenelle. Su taluni elementi si rilevano vestigia della tunica che possono dare l'impressione di una ornamentazione.

## B. Osservazioni *in vitro*.

Seminando i conidi su substrato agarizzato si ottengono colonie policentriche a margine rotondeggiante netto, cotonose, zonate, levaniformi. Lo sviluppo della colonia è nettamente ossifilo.

Su agar-acqua il micelio si sviluppa lentamente (25 mm in 25 giorni a pH 5,5 a 25 °C) raso, con maglia molto tenue (rimane trasparente ed incolore). Esso sviluppa una corona di ife aeree, vaporose. Si osserva una più spiccata elevazione di fascicoli sinnematici.

Su MEA (Malt-Extract-Agar) a pH 3,5 a 25 °C il fungo non si accresce.

Su MEA a pH 5,5 la crescita è molto stentata.

Su PSA (Agar-Patata-saccarosio) portato a pH 5,5 a 25 °C con una latenza di 2-3 giorni si ha un incremento di ca. 900 µm/giorno. Su questo substrato si ottiene il fanerismo tipico.

Inizialmente candide (RGB: 200/210/230), sia dal lato retto che dal lato verso, le colonie si screziano col tempo di una tenue variegatura giallo-aranciata (RGB: 200/140/115).

A 34-36 °C si hanno rallentamenti vistosi della crescita diametrale delle colonie: diam. < 750 µm/giorno. Su MEA a 43 °C si ha latenza od arresto della crescita: diam. < 70 µm/giorno.

Il micelio è composto di ife a parete liscia, dello spessore medio di 2,25 µm. I conidiofori appaiono più robusti che negli esemplari osservati in vivo. Così le fialidi che assumano dimensioni un poco maggiori (6,5-8 x 2,5-3 µm) e che producono conidi globosi biapiculati delle misure 3x2,5 µm.

All'età di 20 gg. non si osservano ancora corpi fruttiferi, coremi o sinnemi.

Su PGA a 30 giorni, la colonia comincia a differenziare un nucleo cereo rosa (RGB= 170, 150, 130), circondato da tufts cilindrici che assumano in abbozzo il portamento di sinnemi candidi. Si osservano poche, grosse guttule cristalline di essudato. Su questo substrato il micelio produce effimere monilie di decine di elementi conidici divergenti e non raccolte in capitoli (della forma *Mariannaea* Arnaud e Samson). Dal lato verso, la colonia, crenea (RGB = 200/170/150) si tinge di sottili venature color giallo-paglierino (RGB = 250/235/179). Nel substrato non vengono rilasciati altri effusati colorimetricamente rilevabili, ma si osservano molti cristalli ossalatici bipiramidali ialini.

Il prelievo dal substrato di acqua da parte del micelio è modesto e l'accrescimento diametrico è molto lento.

Il fungo è: *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown e Smith (sez. *Isarioidea* Samson, 1974).

Già osservato su larve, pupe, adulti e carcasse di insetti differenti come Coleotteri, Ditteri, Imenotteri, Lepidotteri in ambienti prevalentemente paleartici.

## DISCUSSIONE

Si ricorda che alcune delle 41 specie del genere *Paecilomyces* sono antropopagogene essendo in grado di produrre dermatomicosi: il trattamento in laboratorio deve perciò essere condotto nella osservanza di tutte le precauzioni del caso.

Si è scelta la diagnosi di *P. fumosoroseus* contro quella di *P. coleopterorum*



Fig. I - Coremi di *Paecilomyces* sulle larve di *Saphanus piceus*.



Fig. II - Conidiofori di *Paecilomyces fumosoroseus*.

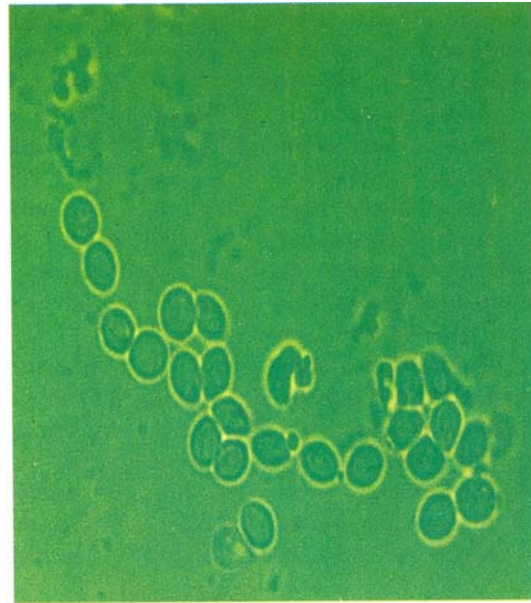


Fig. III - Cellule conidiogene del tipo *Spicaria*.

Fig. IV - Conidi prodotti su matrice naturale.



Fig. V - Colonie su PGA di *P. fumosoroseus*.

Samson e Evans (peraltro anche più strettamente aderente ai caratteri del nostro campione: vedi Samson, 1974), in forza delle esigenze termometriche di questo, nonché della collocazione eco-geografica delle due specie.

Il nostro isolato, a differenza di molte altre specie di *Paecilomyces*, ha le esigenze di un mesotermofilo, è tenuamente colorato, non produce in nessuna condizione pigmenti bruni o verdi ed, inoltre, produce catenelle di conidi divergenti anche lunghissime fragilmente permanenti solo su agar-patata-glucosio.

Sugli altri substrati i capitoli conidici hanno consistenza troppo esigua per poterne valutare le modalità di aggregazione, ma, in alcuni casi essi si rapprendono in masserelle di gel cristallizzato incoerentemente (non in sferule, cioè, inglobate da uno pseudoperidio).

Quest'ultimo dato di estremo dettaglio potrà essere di qualche interesse per gli specialisti del genere *Penicillium* e delle sue specie o sottogeneri emendati (v. *Mariannaea*, *Syngliocladium*, *Spicaria*, *Sesquicillium*, *Chlonostachys*, *Gliocladium*).

Sul materiale osservato era presente, in dosi significative, il deuteromicete *Aspergillus niger*. Nelle colonie di *P. paecilomyces* latente inquinate da *A. niger* si osservavano effusati giallo aranciati prodotti da quest'ultimo.

L'emocele delle larve era infestato da nematodi.

#### RIASSUNTO

Si descrive la forma spicarioide di *Paecilomyces fumosoroseus* isolata da larve mummificate del Coleottero *Saphanus piceus* (Cerambycidae) in ceppaie di faggeta dell'Appennino-Romagnolo e già infestate da nematodi.

Si approfitta dell'occasione per descrivere il portamento di un fungo la cui posizione tassonomica è segregata dal gruppo *Penicillium* per caratteri morfo-etologici esilmente delineati e, talora, non molto stabili.

#### Mitosporic fungi on longhorn-beetles' larval stages

#### SUMMARY

The longhorn-beetle *Saphanus piceus* Laichrting (Col. Cerambycidae) is, while at larval stage, a beech wood-borer. Sometimes it has been found also on coniferous host-plants in the Italian mountain forest environment. We found in beech-stumps on the Appennini Mountains some mummified larvae as a new entomotic host-species for *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown e Smith.

Hyphal habitus was interesting enough as it demonstrated some uncommon phenetic characters: the facies of this *P. fumosoroseus* strain is surprisingly close to *P. coleopterorum*. Also its long conidialchains fleetingly assume *Penicillium* or *Mariannaea*-like habitus.

#### BIBLIOGRAFIA CITATA

- GAMS W., 1973.- Phialides with solitary conidia. Remarks on conidium ontogeny in some hypomycetes.- *Persoonia*, 7: 161-171.
- HAWKSWORTH D.L., KIRK P.M., SUTTON B.C., PEGLER D.N., 1995.- Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi.- *IMI, C.A.B. International U.K.*, 447 pp.
- PETCH T., 1923.- Studies in 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: 250-256.
- SAMSON R.A., 1974.- *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes.- *Stud.Mycol.*, 6: 181-191.
- SAMSON R.A., EVANS H.C., LATGÈ J.P., 1988.- Atlas of Entomopathogenic Fungi.- *Springer-Verlag, Berlin*, 187 pp.