

**TRICHOMYCETES (FUNGI, ZYGOMYCOTINA)
COMENSALS DE LARVES DE SIMULIIDAE (DIPTERA)
A LA PENÍNSULA IBÈRICA**

Josep GIRBAL¹ & Sergi SANTAMARIA¹

ABSTRACT

Trichomyces (Fungi, Zygomycotina) commensals in Simuliidae (Diptera) larvae from the Iberian Peninsula

The presence of *Trichomyces* is here reported for the first time from the Iberian Peninsula. Four species belonging to the Harpellales and living in the gut of simuliid larvae are here reported as new for the Iberian fungus flora: *Genistellospora homothallica* Lichtw., *Harpella melusinae* L. Léger & Duboscq, *Simuliomyces microsporus* Lichtw. and *Smittium simulii* Lichtw. These species are illustrated, described and discussed.

Key words: Harpellales, Iberian fungus flora, *Simuliidae*, *Trichomyces*.

RESUM

Indiquem per primera vegada la presència de fongs tricomícets a la península Ibèrica. Citem quatre espècies pertanyents a l'ordre *Harpellales* que viuen en l'intestí de larves de simúlids, noves per a la flora micològica ibèrica: *Genistellospora homothallica* Lichtw., *Harpella melusinae* L. Léger & Duboscq, *Simuliomyces microsporus* Lichtw. i *Smittium simulii* Lichtw. Aquestes espècies són il·lustrades, descrites i comentades.

Introducció

L'estudi dels fongs que s'associen amb animals invertebrats o hi interaccionen ha estat l'objecte de diverses publicacions dels autors, per exemple, les referides a l'ordre Laboulbenials (BALAZUC *et al.*, 1982; SANTAMARIA & GIRBAL, 1987; SANTAMARIA, 1989), a l'ordre Entomoftorals (SANTAMARIA & GIRBAL, 1996b), als hifomicets (SANTAMARIA & GIRBAL, 1996a, 1996c), i a d'altres grups (SANTAMARIA, 1995). Amb aquest treball s'enceta l'investigació d'un grup de fongs, els tricomícets, la presència dels quals, fins ara era totalment desconeguda a la península Ibèrica.

Els fongs de la classe *Trichomyces (Zygomycotina)* viuen dintre l'intestí de diferents tipus d'insectes i d'altres artròpodes (ALEXOPOULOS & MIMS, 1985). La seva associació amb l'hoste és estricta i sovint força específica. Malgrat que viuen adherits a les parets internes de l'intestí, no sembla que causin cap mal ni

¹ Unitat de Botànica; Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia; Facultat de Ciències; Universitat Autònoma de Barcelona. E-08193 Bellaterra (Barcelona).

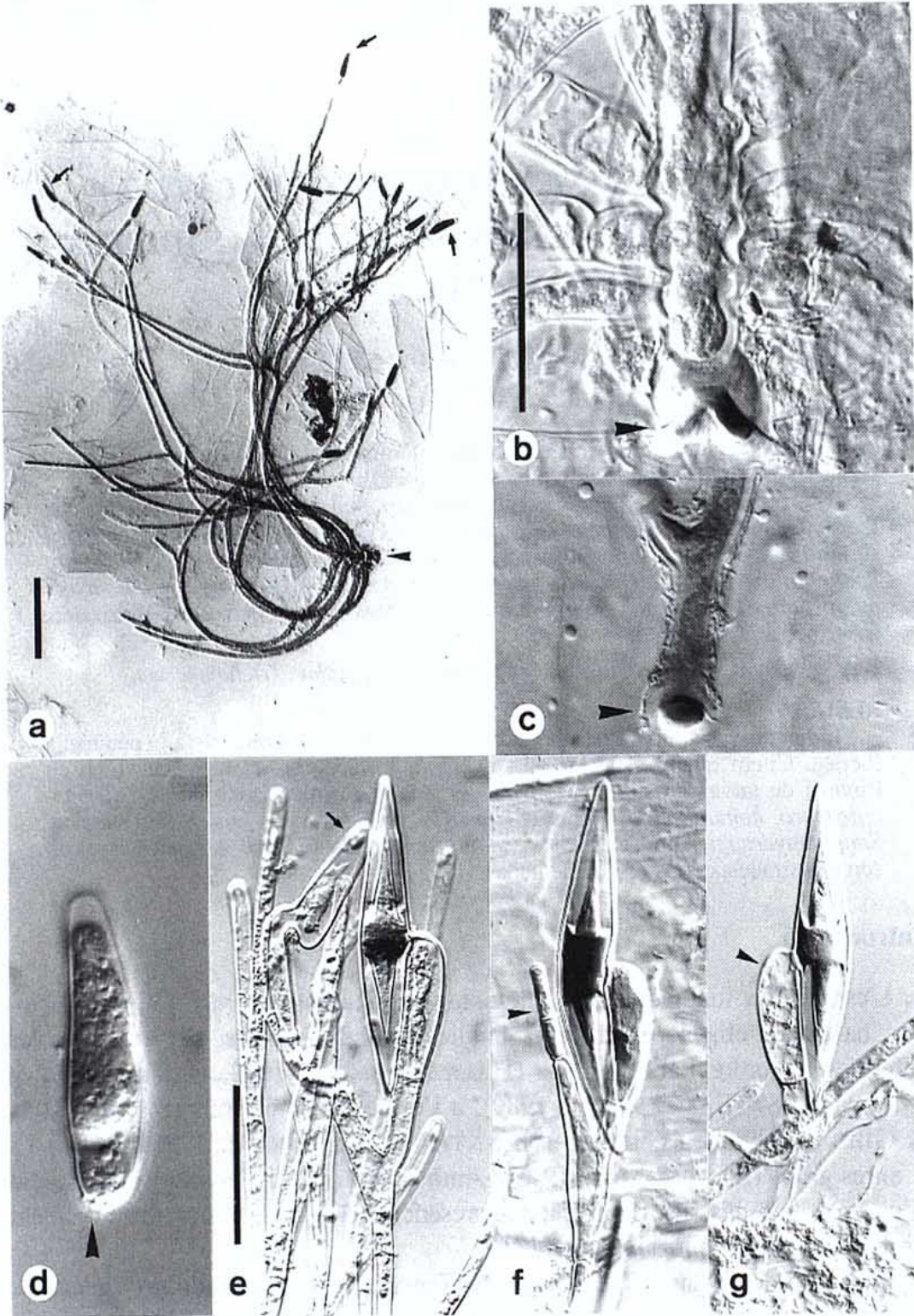


Figura 1. *Genistellospora homothallica*. **a.** Aspecte general del tal·lus amb tricòspores (fletxes) i òrgan de fixació (punta de fletxa) [BCB-Tr0011]. **b-c.** Dos aspectes diferents de l'òrgan de fixació (punta de fletxa), en **b** cuneiforme i en **c** rodó [b, BCB-Tr0005; c, BCB-Tr0069]. **d.** Tricòspora lliure, on la punta de fletxa assenyala tres cicatrius que corresponen, probablement, al punt on s'enganxaven tres dels apèndixs [BCB-Tr0003]. **e-g.** Tres aspectes de zigòspores; en **e** la fletxa assenyala una zigòspora en formació; en **f** la punta de fletxa senyala un apèndix bicel·lular sobre la cèl·lula de suport de la zigòspora; en **g** la punta de fletxa senyala el zigosporòfor [e, BCB-Tr0006; f, BCB-Tr0069; g, BCB-Tr0009]. [Escala: fig. a = 100 μ m; fig. b = 25 μ m, i la mateixa per a les figures c i d; fig. e = 50 μ m, i la mateixa per a les figures f i g.] →

benefici al seu hoste i per aquest motiu se'ls considera comensals. Hi ha però excepcions: s'ha observat l'efecte nociu d'algunes espècies com *Smittium morbosum* A.W. Sweeney (SWEENEY, 1981) sobre mosquits. També, ben al contrari, algunes espècies de *Smittium* semblen afavorir el desenvolupament larvari d'alguns mosquits, subministrant-los, entre d'altres, vitamina B (HORN & LICHTWARDT, 1981). L'aspecte nutricional dels tricomicets no sembla, per tant, encara prou aclarit, ni que segueixi un curs anàleg en el conjunt del grup, però podem dir que, en la majoria de casos, els fongs extreuen els seus nutrients de la matèria en curs de digestió que hi ha dins l'intestí.

La classe *Trichomyces* inclou 4 ordres, 48 gèneres i 189 espècies (HAWKSWORTH *et al.*, 1995). No tenim cap referència sobre la presència d'aquests fongs a la península Ibèrica; per tant, aquesta és la primera nota que es refereix a la troballa d'aquests fongs a l'esmentat àmbit geogràfic.

Material i metodologia

L'estudi dels tricomicets exigeix unes tècniques força específiques. Pel que fa al tipus d'hostes tractats en aquest treball, les larves de simúlids viuen en ambients lòtics, d'aigües netes i amb un flux prou intens, enganxades per la base de l'abdomen a qualsevol suport, filtrant l'aigua i, mitjançant unes mandíbules especialment adaptades, cercant petits organismes per alimentar-se'n.

Hem capturat les larves vives i les hem posat en petits vials amb aigua per que arribin vives al laboratori (en període calorós és convenient conservar els vials entre gel o en una nevera). Per extreure el fong, les larves es dissectionen fins a aïllar l'intestí. Aquest es neteja amb aigua de tot el seu contingut fecal. Si hi ha tricomicets, es veuen, en forma de filaments, amb l'ajut d'una lupa binocular (amb 60x és suficient). El fong es pot intentar desenganxar de la paret de l'intestí. La primera observació és convenient realitzar-la muntant la preparació amb aigua i mantenir-la així el temps suficient perquè les tricòspores siguin deslliurades i poder observar els apèndixs. Posteriorment, per conservar el material, la preparació és fixada amb lactofenol o blau cotó.

Hem centrat la nostra prospecció en unes poques localitats, que són detallades, per a cada espècie, en els apartats de material estudiat. Totes les preparacions esmentades es troben dipositades a BCB-Mycotheca. Les observacions microscòpiques i les fotografies han estat realitzades amb un microscopi Leitz DMRB equipat amb contrast interferencial i de fases.

←

Genistellospora homothallica. **a.** Mature thallus showing trichospores (arrows) and holdfast (arrowhead) [BCB-Tr0011]. **b-c.** Two different appearances of holdfast (arrowhead), cuneate in "b" and rounded in "c" [b, BCB-Tr0005; c, BCB-Tr0069]. **d.** Trichospore, with arrowhead showing three scars that probably indicates the base of three appendages [BCB-Tr0003]. **e-g.** Three appearances of zygospores; in "e" arrow indicates a zygospore in formation; in "f" arrowhead indicates a bicellular appendage above the supporting cell of zygospore; in "g" arrowhead indicates the zygosporophore [e, BCB-Tr0006; f, BCB-Tr0069; g, BCB-Tr0009]. [Scales: fig. a = 100µm; fig. b = 25µm, and the same for figures c and d; fig. e = 50µm, and the same for figures f and g.]

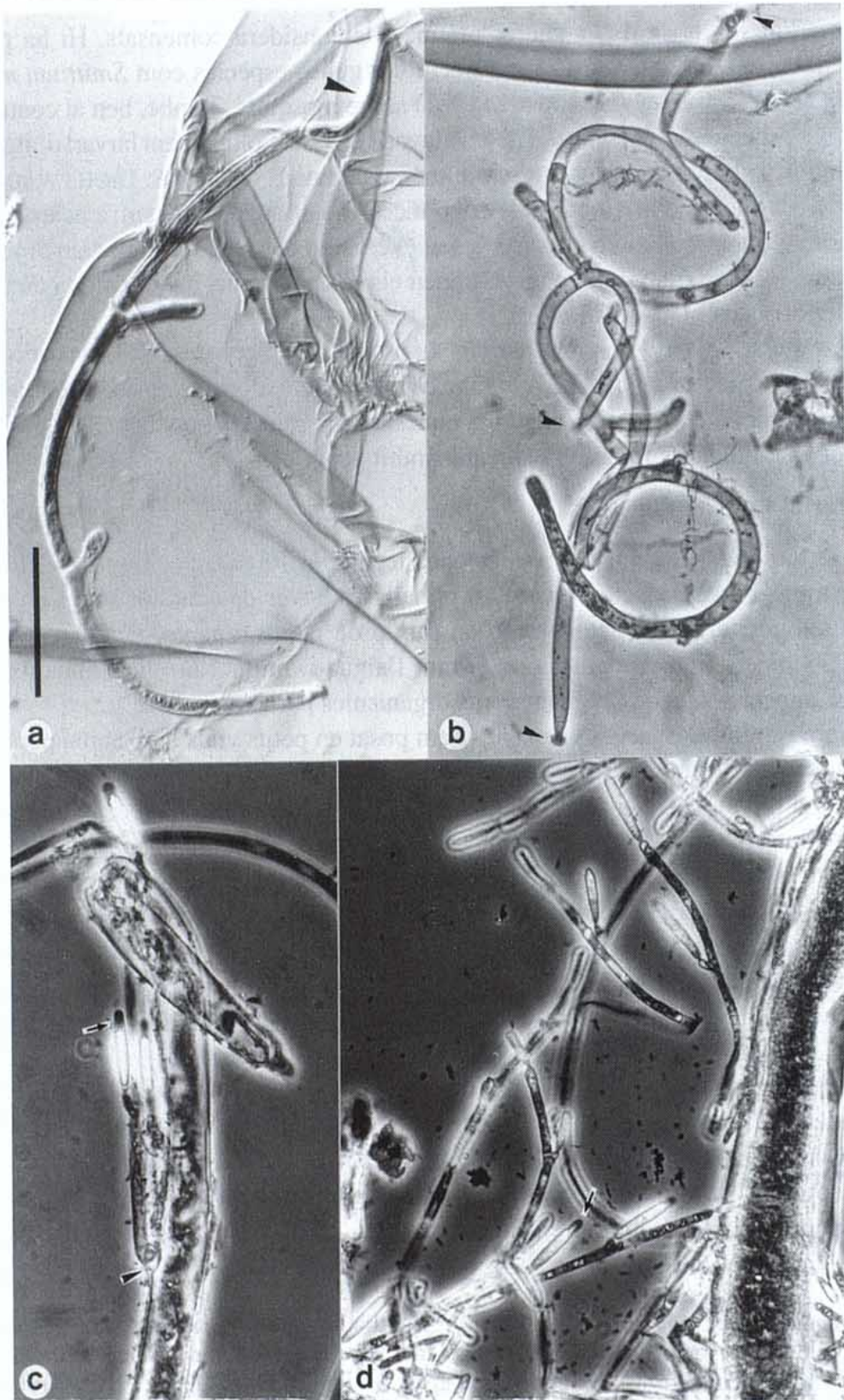


Figura 2. a-b. *Harpella melusinae* [BCB-Tr0089]. a. Aspecte d'un tal·lus amb tres tricòspores, les dues inferiors en formació i la superior (punta de fletxa) pràcticament madura. b. Aspecte de tres tal·lus joves on les tres puntes de fletxa senyalen els òrgans de fixació de cada tal·lus. c-d. *Simuliomyces microsporus*. c. Aspecte d'un tal·lus fixat per l'òrgan de fixació (punta de fletxa) sobre un exemplar de *Paramoebidium*; la fletxa assenyalava l'apex engruixit característic d'una tricòspora [BCB-Tr0070]. d. Aspecte general amb tricòspores (fletxa); el filament gruixut de la dreta correspon a un tal·lus de *Paramoebidium* [BCB-Tr0068]. [Escala: fig. a = 50 μ m, i la mateixa per a la resta de figures.] —

Catàleg d'espècies

Genistellopora homothallica Lichtw.

Material estudiat.- BARCELONA: Gualba; Gualba de Baix, riera de Gualba, en larves de Simuliidae (Diptera), 4-IX-1994, leg. S.Santamaria, BCB-Mycotheca Tr0008, Tr0013. *Ibidem*, 16-IV-1995, leg. S.Santamaria, BCB-Mycotheca Tr0068, Tr0069, Tr0070. Girona: Bescanó; Cal Joga, riu Ter, en larves de Simuliidae (Diptera), 23-VIII-1994, leg. J.Girbal & S.Santamaria, BCB-Mycotheca Tr0001, Tr0002, Tr0003, Tr0004. *Ibidem*, 28-VIII-1994, leg. J.Girbal, BCB-Mycotheca Tr0005, Tr0006, Tr0007, Tr0009, Tr0010, Tr0012, Tr0014, Tr0015. *Ibidem*, 3-IX-1994, leg. J.Girbal, BCB-Mycotheca Tr0011.

Tal·lus d'una longitud màxima d'un mil·límetre, amb ramificació pinnada a prop de la base (figs. 1a, b), habitualment amb un sol eix principal. Totes les branques poden ramificar-se de manera abundant cap a la zona distal. Inserit en l'intestí mitjançant un òrgan de fixació força evident, rodó (fig. 1c) o cuneïforme (fig. 1b) segons l'angle d'observació. Tricòspores llargament ovoides (figs. 1a, d), de $31-42 \times 9-13 \mu\text{m}$, sense collaret, apèndixs no observats (5-7, segons LICHTWARDT, 1986). Cèl·lules generatives molts cops més llargues que les tricòspores, que poden ser apicals o laterals. Zigòspores de $100-119 \times 15-16 \mu\text{m}$, bicòniques, enganxades lateralment i per la zona mitjana al zigosporòfor (figs. 1e-g). Zigosporòfors de $36-44 \times 12-13 \mu\text{m}$ gradualment més amples cap a la zona distal. Cèl·lules de suport bifurcades, que per un cap sostenen la zigòspora i el zigosporòfor i per l'altre un curt apèndix uni o bicel·lular (fig. 1f).

Pel que hem observat en dos anys de mostreigs, aquesta sembla l'espècie de tricomicet que, de forma més comuna, trobem en larves de simúlids. Sovint es veu acompanyada per alguna de les altres tres espècies presentades en aquest catàleg. Creix en l'intestí posterior de la larva i per la seva mida no pot passar desapercebuda. Aquesta espècie és de fàcil identificació per tota una munió de caràcters: mida de les tricòspores, dotades de 5-7 apèndixs, base del tal·lus amb un òrgan de fixació ben definit, i, sobretot, zigòspores, zigosporòfor i cèl·lula de suport ben característics. Les zigòspores són essencials per a la correcta situació genèrica de qualsevol espècie. En aquest cas, com que l'espècie és homotàlica, no són gens difícils de trobar.

Genistellopora homothallica és l'única espècie del gènere. Malgrat ser una espècie molt comuna al nostre país, a la bibliografia només ha estat citada dels Estats Units (LICHTWARDT, 1972) i d'Anglaterra (LICHTWARDT, 1986).

Harpella melusinae L. Léger & Duboscq

Material estudiat.- BARCELONA: Fogars de Montclús; Santa Fe del Montseny, riera de Gualba, en larves de Simuliidae (Diptera), 14-IX-1994, leg. S.Santamaria, BCB-Mycotheca Tr0042, Tr0043, Tr0044. Gualba; torrent de Can Dansa, en larves de Simuliidae (Diptera), 13-IV-1996, leg.

← *Harpella melusinae* [BCB-Tr0089]. **a.** Thallus bearing three trichospores, the two basal are in formation and the upper (arrowhead) is nearly mature. **b.** Three young thalli with three arrowheads showing the respective holdfasts. **c-d.** *Simulium microsporus*. **c.** Thallus attached by the holdfast (arrowhead) on one specimen of *Paramoebidium*; arrow indicates the characteristic thickened apex of a trichospore [BCB-Tr0070]. **d.** General appearance with trichospores (arrow); the broad filament at right is a thallus of *Paramoebidium* [BCB-Tr0068]. [Scale: fig. a = $50 \mu\text{m}$, and the same for remainder figures.]

S.Santamaria, BCB-Mycotheca Tr0086, Tr0087, Tr0088, Tr0089, Tr0090, Tr0091. Sant Llorenç Savall; riera de la Vall d'Horta, en larves de Simuliidae (Diptera), 20-IV-1996, leg. S.Santamaria, BCB-Mycotheca Tr0092, Tr0093, Tr0094, Tr0095.

Tal·lus simple, espiralat (fig. 2b), ondulat o arquejat (fig. 2a), de $350\mu\text{m}$ de longitud màxima. Base constreta i òrgan de fixació que s'eixampla en la zona de contacte amb l'intestí (fig. 2b). Tricòspores més o menys corbades (fig. 2a), a vegades gairebé rectes, 2-3 per tal·lus (fins a 10, segons LICHTWARDT, 1986), de $50 \times 6\mu\text{m}$, amb quatre apèndixs primis (LICHTWARDT, 1986) que nosaltres no hem observat. Zigòspores no observades.

Com que els tal·lus i les tricòspores d'aquesta espècie tenen, sovint, forma recarbolada o corba, les mides que especifiquem representen, tant pel que fa a la longitud del tal·lus com a la de les tricòspores, la mesura de la corba total i mai de la seva corda o diàmetre. Tot i tenint en compte aquest aspecte, les mides són més petites que les indicades a la bibliografia. El motiu d'això és que el nostre material probablement està format per exemplars joves, no plenament desenvolupats. Aquest aspecte és crític per separar les dues espècies d'*Harpella*; *H. leptosa* Lichtw. & S.T. Moss se separa d'*H. melusinae* pels seus tal·lus més petits, d'un diàmetre inferior a les $6\mu\text{m}$. Les nostres mostres presenten un diàmetre més gran, i això ens porta a atribuir-les a *H. melusinae*.

Aquesta espècie viu a la membrana peritròfica de l'intestí mitjà de les larves de simúlids. La seva distribució és probablement cosmopolita, i és una de les espècies de tricomícets més citades (LICHTWARDT, 1986). Fàcil de reconèixer pel seu tal·lus simple i les tricòspores relativament llargues i corbades que sosté. La manca de ramificació del tal·lus és el caràcter que permet separar les dues famílies de l'ordre *Harpellales*: les *Harpellaceae* de les *Legeriomycetaceae*, que el tenen ramificat.

***Simuliomyces microsporus* Lichtw.**

Material estudiat.- BARCELONA: Gualba; Gualba de Baix, riera de Gualba, en larves de Simuliidae (Diptera), 16-IV-1995, leg. S.Santamaria, BCB-Mycotheca Tr0068, Tr0069, Tr0070.

Tal·lus ramificat, sense un eix principal i amb una cèl·lula basal més o menys inflada (fig. 2c). Branques fèrtils dividides en 3-8 cèl·lules generatives. Tricòspores sense collaret, llargament el·lipsoidal, de $22-26 \times 4-5\mu\text{m}$, amb la paret de l'àpex engruixida (figs. 2c-d), apèndixs no observats (2-4, segons LICHTWARDT, 1986). Les tricòspores laterals surten d'una petita expansió de la cèl·lula generativa. Cèl·lules generatives habitualment més llargues que les tricòspores. Zigòspores no observades.

Aquesta espècie que ha estat citada d'Estats Units, Anglaterra, França i Suècia (LICHTWARDT, 1986), pot ser confosa amb espècies de *Smittium*, de les quals es pot diferenciar pel nombre d'apèndixs de les tricòspores (1 en *Smittium*, 2-4 en *Simuliomyces*) o, si no es disposa de material en què es vegi aquest caràcter (com en el nostre cas), es pot observar la morfologia de les tricòspores que, en material muntat en lactofenol, presenten un àpex amb la paret cel·lular engruixida d'una manera molt evident i característica. A més, és de destacar l'ecologia d'aquesta espècie, ja que els tal·lus de *Simuliomyces* viuen enganxats sobre tal·lus

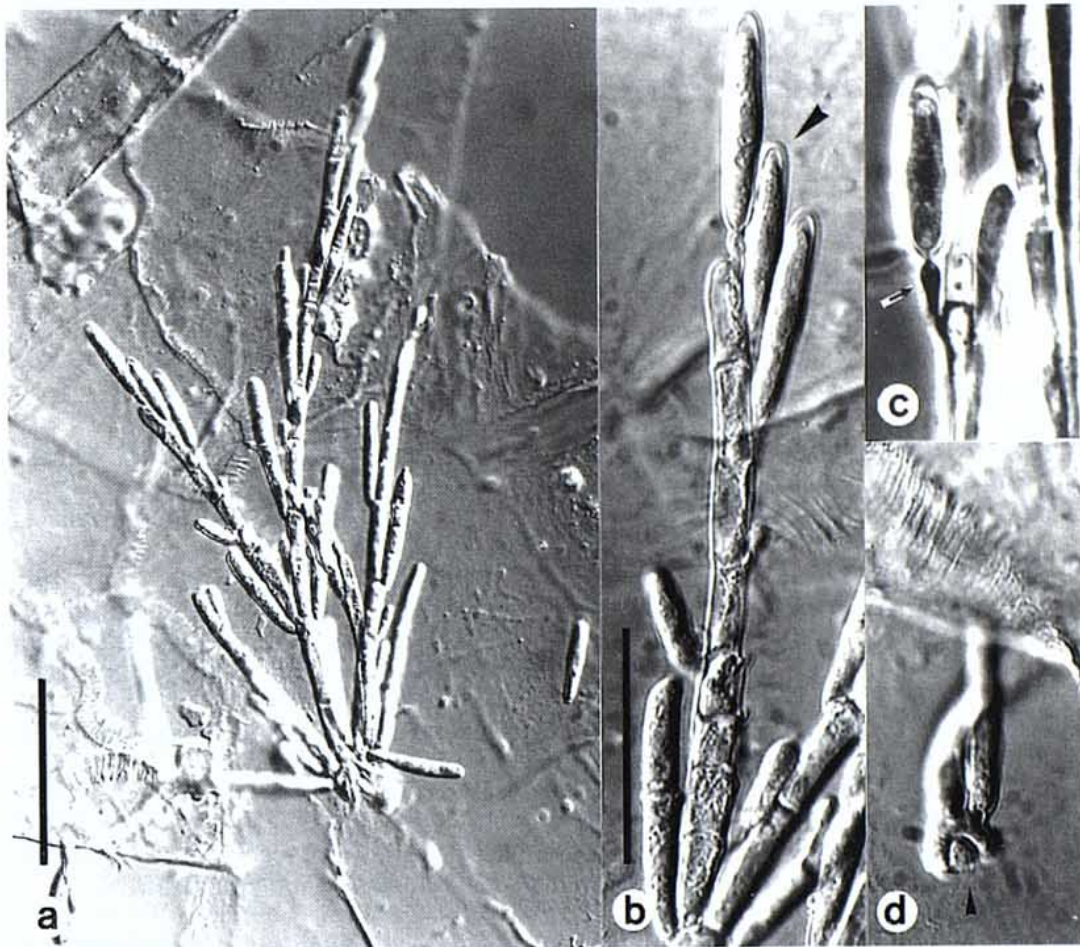


Figura 3. *Smittium simulii*. **a.** Aspecte general del tal·lus [BCB-Tr0066]. **b.** Part apical d'una branca amb tres tricòspores (punta de fletxa) [BCB-Tr0066]. **c.** Tricòspora unida a una branca mitjançant una curta ramificació que acabarà per formar el collaret (fletxa) [BCB-Tr0063]. **d.** Òrgan de fixació d'un tal·lus jove amb la característica forma de ferradura (punta de fletxa) [BCB-Tr0066]. [Escala: fig. a = 50 μ m; fig. b = 25 μ m, i la mateixa per a les figures c i d.]

Smittium simulii. **a.** Mature thallus [BCB-Tr0066]. **b.** Branch apex bearing three trichospores (arrowheads) [BCB-Tr0066]. **c.** Trichospore attached to a filament by means of a short branch that will be the collar (arrow) [BCB-Tr0063]. **d.** Holdfast of a young thallus showing a characteristic horseshoe shape (arrowhead) [BCB-Tr0066]. [Scales: fig. a = 50 μ m; fig. b = 25 μ m, and the same for figures c and d.]

de *Paramoebidium* (fig. 2c), un altra tricomycet pertanyent a l'ordre amoebidials, que hi conviu en el mateix intestí.

Smittium simulii Lichtw.

Material estudiat.- BARCELONA: Fogars de Montelús; Santa Fe del Montseny, riera de Gualba, en larves de Simuliidae (Diptera), 14-IX-1994, leg. S.Santamaria, BCB-Mycotheca Tr0066.

Cèl·lula basal inflada al voltant de l'òrgan de fixació, formant una estructura amb aspecte de ferradura (fig. 3d), d'on surten, directament, diverses branques (fig. 3a). Branques fèrtils terminals, amb 3-6 cèl·lules generatives. Tricòspores cilíndriques, però amb un inflament medial (figs. 3b-c), de 20-24 \times 5-6 μ m, dotades d'un collaret conspicu (fig. 3c) i un apèndix simple (no observat per nosaltres). Zigòspores desconegudes.

Es tracta d'una espècie força comuna, capaç de viure en larves d'altres insectes, com quironòmids, culícids i tipúlids. Es pot considerar cosmopolita (LICHTWARD, 1986). La base del tal·lus, en forma de ferradura, i la ramificació en aquest punt són caràcters útils per separar aquesta espècie d'altres espècies de *Smittium*.

Agraïments

Aquest treball ha estat en part finançat pel projecte "Flora Micològica Ibèrica, III" de la DGES n° PB95-0129-C03-01 a un de nosaltres (S.S.).

Bibliografia

- ALEXOPOULOS, C.J. & MIMS, C.W. 1985 - *Introducción a la Micología*. Omega. Barcelona.
- BALAZUC, J., ESPADALER, X. & GIRBAL, J. 1982 - Laboulbenials (Ascomycetes) ibèriques. *Collect. Bot. (Barcelona)*, 13: 403-421.
- HAWKSWORTH, D.L., KIRK, P.M., SUTTON, B.C. & PEGLER, D.N. 1995 - *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. CAB International. Wallingford.
- HORN, B.W. & LICHTWARDT, R.W. 1981 - Studies on the nutritional relationship of larval *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) with *Smittium culisetae* (Trichomycetes). *Mycologia*, 73: 724-740.
- LICHTWARDT, R.W. 1972 - Undescribed genera and species of Harpellales (Trichomycetes) from the guts of aquatic insects. *Mycologia*, 64: 167-197.
- LICHTWARDT, R.W. 1986 - *The Trichomycetes. Fungal Associates of Arthropods*. Springer-Verlag. New York.
- SANTAMARIA, S. 1989 - El orden Laboulbeniales (Fungi, Ascomycotina) en la Península Ibèrica e Islas Baleares. *Edicions especials de la Societat Catalana de Micologia*, 3: 1-396.
- SANTAMARIA, S. 1995 - Sobre alguns fongs rars recol·lectats en insectes vius. *Rev. Cat. Micologia*, 18: 137-150.
- SANTAMARIA, S. & GIRBAL, J. 1987 - Contribución al conocimiento de los Laboulbeniales (Ascomycotina) ibéricos, II. *Anales Jard. Bot. Madrid*, 44(1): 11-22.
- SANTAMARIA, S. & GIRBAL, J. 1996a - Fongs nematòfags: *Harposporium anguilulae* (Lohde) Karling a la península Ibèrica. *Rev. Cat. Micol.*, 19: 1-3.
- SANTAMARIA, S. & GIRBAL, J. 1996b - Contribución al conocimiento de los Entomophthorales (Zygomycotina) ibéricos. *Rev. Iberoamer. Micología*, 13: 37-43.
- SANTAMARIA, S. & GIRBAL, J. 1996c - *Gibellula pulchra* (Saccardo) Cavara, un fong patògen d'aranyes, a Catalunya. *Orsis*, 11: 179-181.
- SWEENEY, A.W. 1981 - An undescribed species of *Smittium* (Trichomycetes) pathogenic to mosquito larvae in Australia. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 77: 55-60.

Rebut / Received: VII-1996