

COMPORAMENTO DI *ORYZAEPHILUS SURINAMENSIS* L. IN PRESENZA DI
COLTURE DI *FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES* SHERB. CONTENENTI TRICOTE-
CENI.

A. D'AMBROSIO, G. MULE¹, A. LOGRIECO, A. BOTTALICO¹.

Istituto tossine e micotossine da parassiti vegetali del
C.N.R., 70126, Bari. ¹Istituto di Patologia Vegetale dell'Uni-
versità degli Studi, Sassari.

RIASSUNTO

Sono state condotte osservazioni sul comportamento di adulti di
Oryzaephilus surinamensis messi a contatto con una coltura di
Fusarium sporotrichioides su mais, contenente: tossina T-2 (150
ppm), tossina HT-2 (60 ppm), neosolaniolo (60 ppm) e zearaleno-
ne (15 ppm). Sia i cammini preferenziali percorsi dai singoli
individui che i tempi trascorsi dagli insetti a contatto con la
coltura sono stati significativamente diversi dal testimone. Le
micotossine, saggiate alle stesse concentrazioni presenti nella
coltura, sono risultate inattive. L'attività della coltura non
è risultata quindi dipendente dalle suddette micotossine, ma
piuttosto da un metabolita tuttora in fase di identificazione.

SUMMARY

BEHAVIOUR OF *ORYZAEPHILUS SURINAMENSIS* L. IN PRESENCE OF *FUSA-
RIUM SPOROTRICHIOIDES* CULTURES CONTAINING TRICHOTHECENES.

Behaviour of *Oryzaephilus surinamensis* was assayed on *Fusa-
rium sporotrichioides* grinded corn culture containing T-2 toxin
(150 ppm), HT-2 toxin (60 ppm), neosolaniol (60 ppm), and zea-
ralenone (15 ppm). The preferential ways of the single beetle
and the time spent were significantly different from those of
the control. Such beetle behaviour was not related with the
presence of mycotoxins checked in the culture, but it seemed
caused by an unknow metabolite.

INTRODUZIONE.

Fusarium sporotrichioides Sherb. è un fungo ubiquitario e po-
lifago. Diversi isolati, colonizzatori di piante e di derrate
agrarie, sono produttori di micotossine (tricoteceni) ed alcuni
di essi sono stati spesso implicati in casi di micotossicosi
naturali (Marasas et al., 1984).

Le micotossine in generale ed i tricoteceni in particolare

dimostrano numerosissime attività biologiche verso gli animali. Per quanto riguarda gli insetti, l'attività delle micotossine desta attualmente molto interesse per il potenziale impiego di alcune di esse come bioinsetticidi (Wright *et al.*, 1982).

Alcune prove preliminari, condotte con specie di insetti infestanti i granai, avevano indicato un comportamento di rifiuto delle colture di *F. sporotrichioides* su mais da parte di adulti di *Oryzaephilus surinamensis* L..

Tra gli insetti che infestano i granai, *O. surinamensis* occupa un posto rilevante. Si tratta di un piccolo coleottero cosmopolita che si nutre di cereali, legumi, frutta secca, spezie e cacao. L'elevata ovideposizione e l'abbreviamento del periodo larvale, in condizioni di clima caldo-umido, ne fanno un insetto particolarmente temuto nei magazzini di derrate alimentari (Howe, 1956).

Si è creduto pertanto interessante approfondire le osservazioni sul comportamento di *O. surinamensis* in presenza di *F. sporotrichioides*, anche in relazione alle micotossine prodotte dal fungo.

MATERIALI E METODI.

Coltura del fungo. E' stato impiegato un isolato tossigeno di *F. sporotrichioides*, noto produttore di tricoteceni (Visconti *et al.*, 1985). Il fungo è stato accresciuto su un substrato costituito da 100g di cariossidi di mais al 45% di acqua, autoclavato ad 1 atm per 20'. Le colture, dopo l'inoculazione con *F. sporotrichioides* da piastra di agar-patata-destrosio (PDA), sono state prima mantenute a 25°C per quattro settimane, poi seccate a 60°C per 48h ed infine finemente macinate.

Analisi delle micotossine. L'estrazione, l'identificazione e la determinazione quantitativa delle micotossine presenti nelle colture sono state effettuate secondo tecniche descritte in precedenza (Bottalico *et al.*, 1989).

Insetti saggiati. Le osservazioni sono state condotte con adulti di *O. surinamensis* prelevati in natura ed allevati al buio a 27°C ed a 70% U.R., su una dieta mista di noci, mandorle, mais e grano.

Prove di alimentazione. Sono state condotte due prove con tre ripetizioni.

Nella prima prova sono stati impiegati 30 coleotteri adulti dei due sessi mantenuti senza cibo per 12 ore prima della prova. I coleotteri sono stati posti singolarmente in una piastra Petri (10 cm di diametro), dotata nel centro di un foro (3 cm di diametro), comunicante con un'altra piastra Petri (5 cm di diametro) situata sottostante alla prima, riempita con il materiale da saggiare. A confronto con lo sfarinato della coltura di *F. sporotrichioides*, sono stati impiegati come testimoni uno sfarinato del substrato non inoculato e del materiale inerte, costituito da palline di vetro di colore simile allo sfarinato di mais.

Per ogni osservazione è stata impiegata una piastra Petri diversa e ciascun coleottero è stato osservato singolarmente per 10 min con l'ausilio di una videocamera (Handcamera Sony). Il tempo trascorso da ogni insetto sullo sfarinato e i percorsi seguiti dagli stessi insetti nella piastra Petri sono stati rilevati ed opportunamente elaborati al computer (Apple McIntosh).

Nella seconda prova sono stati impiegati 10 coleotteri mantenuti senza cibo per 12 ore prima della prova. Ogni insetto è stato posto su un mucchietto di 4 mg di sfarinato di coltura di *F. sporotrichioides* posto al centro di una piastra Petri (5 cm di diametro) e mantenuto in osservazione per 5 min. A confronto con la coltura del fungo, è stato impiegato uno sfarinato di mais autoclavato contenente le stesse quantità di micotossine presenti nella coltura di *F. sporotrichioides*; cioè 60 ppm di neosolaniolo, 60 ppm di tossina HT-2, 150 ppm di tossina T-2 e 15 ppm di zearalenone. In tal caso lo sfarinato da saggiare è stato immerso nella soluzione standard di micotossine e successivamente posto in stufa ad asciugare, anche per allontanare il solvente.

Come testimoni sono stati usati due sfarinati di mais di cui uno proveniente da mais tal quale e l'altro da mais autoclavato.

RISULTATI E DISCUSSIONE.

I risultati ottenuti dalla prima prova sono illustrati in Fig. 1. Dall'istogramma si rileva che il tempo totale di permanenza dei 30 coleotteri sulla coltura di *F. sporotrichioides* su mais (1724 sec) è stato significativamente inferiore al tempo di permanenza degli insetti sul mais non trattato (5583 sec). Il tempo di permanenza sulla coltura del fungo è stato addirittura inferiore a quello registrato per il materiale inerte (2398 sec).

Nella parte superiore della Fig. 1 sono rappresentate le elaborazioni grafiche dei cammini seguiti dai coleotteri: i disegni derivano dalla sovrapposizione dei tratti relativi ai per-

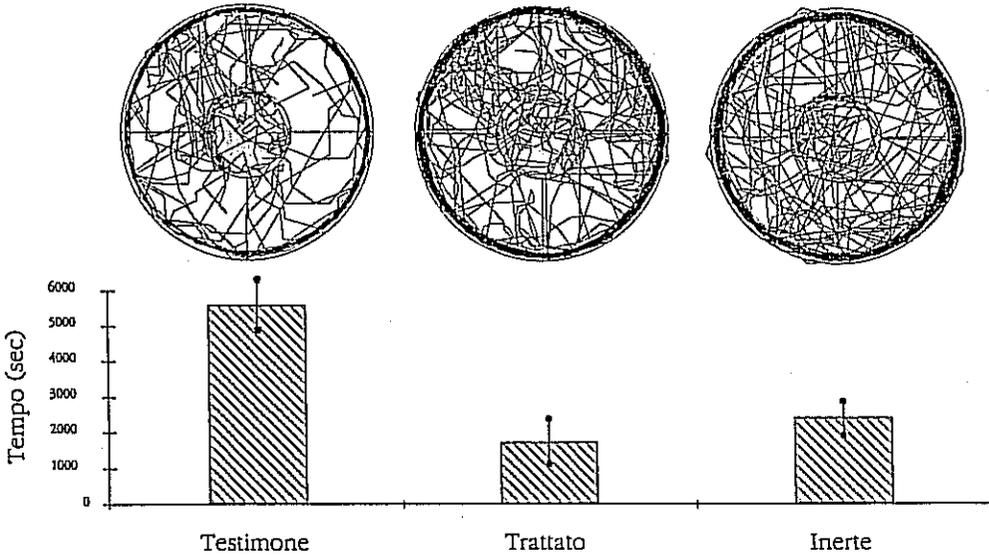


Fig. 1 - Rappresentazione schematica dei percorsi seguiti durante le osservazioni (in alto) e tempi di permanenza degli insetti nelle diverse tesi (in basso). Testimone= substrato di mais autoclavato; Trattato= coltura di *F. sporotrichioides* su mais; Inerte= palline di vetro.

corsi dei 30 animali durante i 10 min della prova. E' possibile rilevare come i coleotteri mantenuti sullo sfarinato di mais colonizzato da *F. sporotrichioides* hanno continuato ad aggirarsi al margine esterno della piastra, contrariamente a quelli posti sullo sfarinato di mais testimone che invece hanno fatto registrare una maggiore concentrazione di percorsi nella parte centrale delle piastre, dove era posto lo sfarinato. Questo diverso tipo di comportamento trova riscontro nel sottostante istogramma della Fig. 1, che illustra il tempo trascorso dai coleotteri a contatto con i diversi substrati nel modo già descritto. Gli insetti posti in presenza di materiale inerte hanno dimostrato un comportamento intermedio.

I risultati ottenuti dalla seconda prova sono illustrati in Fig. 2. Il tempo medio trascorso dai 10 coleotteri sulla coltura di *F. sporotrichioides* (811 sec) è stato in assoluto il più

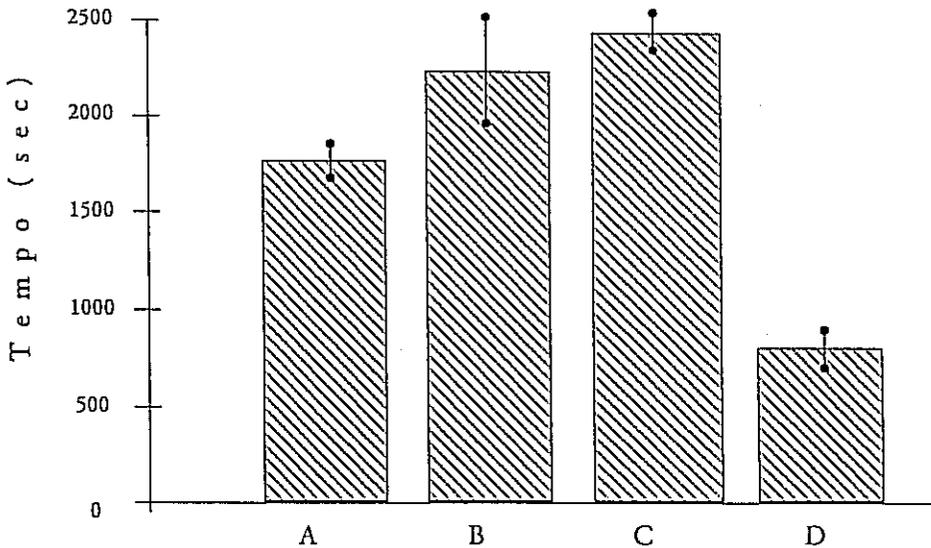


Fig. 2 - Tempi di permanenza dei coleotteri sullo sfarinato di mais: A= mais tal quale, B= mais autoclavato (substrato), C=mais autoclavato e addizionato di tossine (substrato addizionato di tossine), D= coltura di *F. sporotrichioides* su mais.

breve e significativamente inferiore a quelli registrati sia per lo sfarinato di mais tal quale (1770 sec); sia per il mais autoclavato (substrato non inoculato) (2234 sec); e sia per il substrato non inoculato ma addizionato di micotossine (2462 sec) (Tab. 1).

Appare quindi evidente un'attività "repulsiva" da parte dello sfarinato di mais colonizzato da *F. sporotrichioides* nei confronti di *O. surinamensis*, non dimostrata invece dallo sfarinato di mais addizionato delle stesse micotossine ritrovate nella coltura del fungo.

Tab. 1. Permanenza di adulti di *Oryzaephilus surinamensis* L. su coltura di *Fusarium sporotrichioides* Sherb. su mais.

Substrato	permanenza (sec) ^a	% sul tempo totale
mais non autoclavato	1770 A	59
mais autoclavato	2234 A	74
mais autoclavato con micotossine	2462 A	82
coltura di <i>F. sporotrichioides</i> su mais	811 B	27

^a i valori seguiti da lettere uguali non sono tra loro statisticamente diversi per $P = 0,01$.

L'impiego dei due testimoni, e cioè di sfarinato di mais autoclavato e sfarinato di mais tal quale ha consentito di escludere un effetto repulsivo del primo substrato rispetto al secondo, contrariamente a quanto riportato da Wright *et al.* (1980) per *Tribolium confusum* DuVal.

I risultati ottenuti a tal riguardo per *O. surinamensis*, anche se non statisticamente diversi, sono indicativi in tal senso (Tab. 1).

I risultati ottenuti con mais autoclavato ed addizionato di micotossine non sono stati significativamente diversi da quelli ottenuti per i due sfarinati testimoni. Prove di alimentazione condotte su insetti con diete contenenti estratti colturali o micotossine di *F. sporotrichioides*, hanno sempre evidenziato l'attività tossica di questo fungo. In particolare, Strongman

et al. (1990) hanno riportato che l'estratto colturale di *F. sporotrichioides* somministrato nella dieta di larve di *Choristoneura fumiferana* Clem. a concentrazioni di 10 ppm ha causato una mortalità del 23% dopo 14 giorni. Si tratta comunque di prove della durata di diversi giorni che consentono alle micotossine di svolgere i loro effetti tossici.

Nelle nostre prove invece, durate al massimo 5 min, non interessava tanto un effetto tossico da parte delle micotossine aggiunte al substrato di confronto, quanto verificare se erano esse a causare l'attività "repulsiva". I risultati ottenuti hanno chiarito che la capacità di allontanare gli insetti non sembra una prerogativa delle più note micotossine di *F. sporotrichioides*, ma molto probabilmente è causata da metaboliti non ancora identificati presenti nelle colture fresche del fungo. Potrebbe trattarsi di composti volatili, dall'odore fortemente repulsivo (Kaminsky *et al.*, 1974)

L'identificazione di tali composti potrebbe suggerire un loro potenziale impiego nella lotta contro gli insetti delle derrate alimentari in magazzino.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano il Prof. G. Nuzzaci dell'Istituto di Entomologia Agraria dell'Università degli Studi di Bari per la revisione critica del testo ed il Dott. F. Porcelli, dello stesso Istituto, per il materiale entomologico.

BIBLIOGRAFIA

- BOTTALICO A., LOGRIECO A., VISCONTI A. (1989). *Fusarium* species and their mycotoxins in infected cereals in field and in stored grain. In: *Fusarium-Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity*. Chelkowsky, Elsevier, Amsterdam:85-119.
- HOWE R. W. (1956). The biology of two common storage species of *Oryzaephilus* (Coleoptera, Cucujidae). *Ann. Appl. Biol.* 44 (2): 341-355.
- KAMINSKY E., STAWICKI S., WASOWICZ E. (1974). Volatile flavor compounds produced by molds of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fungi Imperfecti*. *Appl. Microb.*, (6): 1001-1004.
- MARASAS W.F.O., NELSON P.E., TOUSSOUN T.A. (1984). *Toxicogenic Fusarium species. Identity and Mycotoxicology*. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania. p. 328.
- STRONGMAN B., STRUNZ G.M., CHAO-MEI YU (1990). Trichothecene mycotoxins produced by *Fusarium sporotrichioides* DAOM 197255 and their effects on spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Jour. Chem. Ecol.* 16 (5): 1605-1609.
- VISCONTI A., MIROCHA C.J., BOTTALICO A., CHELKOWSKI J. (1985). Trichothecene mycotoxins produced by *Fusarium sporotrichioides* P-11. *Mycotoxin Research*, (1): 3-10.
- WRIGHT V.F., HAREIN P.K., COLLINS N.A. (1980). Preference of the confused flour beetle for certain *Penicillium* isolates. *Envir. Entom.* 9:213-216.
- WRIGHT V.F., VESONDER R.F., CIEGLER A. (1982). Mycotoxin and other fungal metabolites as insecticides. In *Microbial and Viral Pesticides*. Ed. Kurstak. M. Dekker, Inc. New York & Basel :559-583.