

Studio triennale sulla contaminazione da deossinivalenolo (DON) nel frumento duro in coltivazione biologica e convenzionale

Aureli G.¹, Quaranta F.¹, Amoriello T.², Melloni S.¹, Desiderio E.¹, D'Egidio M.G.¹

¹ CRA-QCE, Unità di Ricerca per la Valorizzazione Qualitativa dei Cereali

² CRA-RPS, Centro di Ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo

Autore corrispondente

Gabriella Aureli

CRA-QCE, Unità di Ricerca per la Valorizzazione Qualitativa dei Cereali

Via Cassia n. 176, 00191 – Roma

tel. +39 06 3295705 – fax +39 06 36306022;

e-mail: gabriella.aureli@entecra.it

Riassunto . Il contenimento della presenza di micotossine negli alimenti a livelli di assoluta sicurezza è un imprescindibile prerequisito sanitario nella moderna filiera della qualità. Il deossinivalenolo (DON) è il tricotecene predominante dei funghi responsabili della fusariosi della spiga (Fusarium Head blight) del frumento in Europa e in Nord America. Il crescente ricorso a metodi di coltivazione biologica pone una particolare attenzione allo stato sanitario della granella quando privata della difesa chimica. Per valutare il grado di contaminazione da DON nel grano duro (*Triticum durum* Desf.) è stata impostata una ricerca triennale in cui sono state messe a confronto tecniche di coltivazione convenzionale e biologica in sei località rappresentative degli areali di coltivazione italiani (tre al Centro e tre al Sud) e impiegando sei varietà con diversa durata del ciclo vegetativo. I livelli medi di contaminazione da DON sono risultati ampiamente al di sotto del limite di 1750 ppb. Il biologico ha evidenziato una minore incidenza di contaminazione e valori significativamente più bassi di quelli riscontrati in convenzionale, sia nelle località del Sud, dove l'attacco si è confermato molto limitato, ma ancor di più al Centro, dove invece in alcune annate sfavorevoli il rischio potrebbe essere maggiore. Fra i vari fattori esaminati, l'effetto dell'annata è quello che ha inciso in misura predominante sulle possibilità di contaminazione, con un peso di oltre il 50 % sul totale; l'ambiente e il metodo di coltivazione sono risultati altresì molto importanti influenzando per il 25 e il 21%, rispettivamente; mentre la scelta varietale è quella che ha avuto minor effetto (3 % ca.)

*Abstract . The containment of mycotoxins within safety levels in human food represents an essential health pre-requisite of modern food processing chain. The deoxynivalenol (DON) is the predominant trichothecene of causal fungi of Fusarium Head Blight (FHB) of wheat in Europe and North America. The increasing employment of organic agro-techniques focuses attention about health of raw matter due to the absence of chemical treatments in fields. With the aim to investigate in Italy the occurrence of DON in durum wheat (*Triticum durum* Desf.), six cultivars with different length of the growth cycle, grown in organic and conventional fields located in six fields (three in central areas and three in southern areas), were studied over three crop seasons*

(2006-2008). The main levels of contamination of DON were remarkably below the limit of 1750 ppb. Generally the organic cropping system showed lower incidence of contamination than conventional system both in field of South Italy where the presence of DON was very limited and especially in Centre Italy where in adverse years it could really represent a potential risk. Regarding to the risk of grain contamination, statistical analysis of data showed the predominant role of the year (50%) in confront to the environment condition (25%) and cropping system (21%), while the choice of cultivars had a lower effect (3%).

Parole chiave: frumento, deossinivalenolo (DON), agricoltura biologica, Fusarium

Key words: wheat, deoxynivalenol (DON), organic crop, Fusarium

Introduzione

Lo sviluppo dell'agricoltura biologica, iniziato dai primi anni '90 in molti Paesi europei, ha avuto un marcato incremento in questi ultimi anni in particolare in Italia. La rapida crescita in Europa del mercato dei prodotti di origine biologica ha posto la necessità di sviluppare metodi di controllo della qualità e della sicurezza. Nel caso di alimenti biologici, non essendoci la possibilità di intervenire chimicamente con fitofarmaci, una delle principali preoccupazioni riguarda la possibile crescita di muffe produttrici di micotossine responsabili di effetti tossici sia negli uomini che negli animali. Lo studio delle micotossine comincia nel 1881 quando alcuni ricercatori giapponesi dimostrarono che l'estratto etanolic da riso contaminato dalla muffa *P. citreonigrum* era fatale per gli animali da laboratorio. Da quel momento il riso contaminato fu bandito dal commercio. Fenomeni di tossicosi umane dovute al consumo di cereali contaminati da funghi appartenenti al genere *Fusarium*, fra i quali le specie che sono gli agenti eziologici della fusariosi della spiga (*Fusarium* head blight o FHB), sono stati documentati in molti Paesi del mondo con la descrizione dei tipici sintomi (nausea, vomito, ecc.). Fra le micotossine quelle prodotte a seguito di attacchi di fusariosi (fusariotossine), e appartenenti al gruppo dei tricoteceni, come il deossinivalenolo (DON), sono largamente diffuse nel frumento. I tricoteceni rappresentano una classe di micotossine prodotte da diversi generi di funghi non correlati dal punto di vista tassonomico (es.: *Fusarium*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Stachybotrys*, ecc.) e tra questi il genere *Fusarium*, che comprende probabilmente le specie tossigene più prolifiche (Rocha et al., 2005). Tali composti sono molecole con struttura sesquiterpenoide la cui tossicità è dovuta alla presenza di un gruppo epossidico in C-12 e C-13; sono composti non volatili di basso peso molecolare che svolgono la loro azione tossica a livello delle cellule eucariotiche. Il DON (o "vomitosina"), isolato per la prima volta da orzo infettato da *Fusarium* (Morooka et al., 1972), è la micotossina più importante sia in termini quantitativi che di diffusione ed è spesso associata ad altre fusariotossine (Lancova et al., 2008).

In generale i tricoteceni provocano a bassi livelli di esposizione una serie di effetti immunologici negli animali da laboratorio che comportano, fra l'altro, una maggiore suscettibilità verso malattie di natura batterica, virale e fungina. (Bondy and Pestka, 2000). È noto che anche nelle piante questi metaboliti fungini esercitano un effetto dannoso alterando le membrane fino a danneggiarle ed a provocarne lisi cellulare. Analoga alterazione avviene nei globuli rossi degli animali in presenza di un livello di tossina circolante variabile a seconda della specie interessata (Khachatourians, 1990). Alcuni fra i più evidenti effetti patologici del deossinivalenolo negli animali e nelle piante riguardano l'inibizione della sintesi proteica e degli acidi nucleici, l'alterazione della struttura di

membrana e della funzionalità dei mitocondri (Minervini et al., 2004), l'apoptosi (Islam e Pestka, 2003) e l'attivazione delle citochine (Meky et al., 2001). Per il DON è stato stabilito il limite massimo di assunzione giornaliera (TDI) pari a 1 µg/kg (SCF 2002); l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro lo ha classificato nel Gruppo 3: "non classificabile come possibile agente cancerogeno per l'uomo" (IARC, 1993; WHO, 2002). In base alla più recente normativa europea i limiti massimi ammissibili di DON nella granella di frumento sono di 1750 ppb nel frumento duro e di 1250 ppb nel frumento tenero (Reg. CE n. 1881/2006). Tra le fusariosi, quella della spiga nel frumento è causata da numerose specie fungine (Parry et al., 1995) fra le quali quelle più frequentemente riscontrabili sono *F. culmorum*, *F. poae* e *F. graminearum*; fra queste, *F. graminearum* è ritenuta la specie più virulenta (Miller, 2008). La complessità eziologica della malattia ne giustifica, fra l'altro, sia l'ampia diffusione geografica che la variabilità stagionale (Rossi, 2006). Gli effetti della fusariosi nel grano e in altri cereali hanno raggiunto proporzioni epidemiche in tutto il mondo, specialmente nelle aree in cui temperature miti si associano ad alti tassi di umidità nelle fasi fenologiche critiche come la fioritura. La presenza nel polline di sostanze come la betaina e la colina in grado di favorire la germinazione delle spore, consente infatti al fungo di penetrare nella pianta attraverso la spiga. La progressione dell'invasione fungina nei tessuti delle spighe e del rachide provoca il disseccamento di ampie zone della spiga e talvolta dell'intera pianta (Moretti et al., 2002) con conseguente riduzione della produzione e scadimento della qualità. Considerata l'ampia diffusione degli agenti fungini che causano gli attacchi di fusariosi nei cereali, e in particolare nel frumento, è importante considerare alcuni aspetti che in diversa misura possono contribuire a prevenire o a limitare l'insediamento e lo sviluppo dei miceti patogeni. In tal senso può essere di grande aiuto la scelta di tecniche agronomiche che intervenendo sui residui della coltura precedente riducano al minimo l'inoculo naturale di partenza, l'individuazione dell'epoca di semina ottimale anche in funzione della varietà, la fittezza delle piante e la scelta di varietà adatte alle caratteristiche pedoclimatiche degli areali di coltivazione. Inoltre, è nota l'esistenza di meccanismi biochimici di difesa della pianta che tramite l'attivazione di geni specifici producono un'ampia gamma di metaboliti in grado di svolgere vari tipi di azioni tossiche sul fungo. Tuttavia, non è sufficiente la sola presenza di geni di resistenza per determinare i diversi gradi di suscettibilità al patogeno: altri fattori, quali la velocità di trascrizione e la quantità di trascritto accumulato, influenzano questa espressione; infatti l'accumulo dei trascritti di geni codificanti per le proteine taumatine-simili risulta essere maggiore e più precoce, durante l'infezione di *F. graminearum*, nelle varietà di frumento resistenti rispetto a quelle suscettibili (Pritsch et al., 2000). Una classificazione varietale, basata sulla differente suscettibilità delle varie cultivar di frumento sia alle diverse specie di *Fusarium* sia all'accumulo di DON nella granella risulta, di fatto, molto complessa. Infatti, se da un lato è stato evidenziato un diverso grado di resistenza agli agenti fungini fra le diverse specie di frumento (il tenero risulta meno suscettibile del duro) e fra varietà di una stessa specie, dall'altro occorre considerare che, se la componente genetica rappresenta effettivamente un fattore fondamentale per la difesa della pianta, altre variabili, come l'andamento climatico e le scelte di tecnica agronomica, hanno un ruolo importante sui risultati dell'attacco fungino e sull'evoluzione della patologia (Campagna et al. 2005). Alcuni Autori tuttavia ritengono che la diffusione di varietà di frumento suscettibili alla fusariosi è responsabile in larga misura dell'incidenza di *F. graminearum* e che, in condizioni epidemiche, le pratiche agronomiche abbiano un modesto impatto sulla malattia (Miller, 2008; Koch et al., 2006, Hooker et al. 2005).

L'impiego di varietà caratterizzate da buona adattabilità agli ambienti di coltivazione rappresenta un punto fondamentale delle scelte di tecnica agronomica, non solo per quanto riguarda il raggiungimento di elevate rese ma anche per perseguire alti livelli qualitativi dei prodotti, fra i quali l'aspetto igienico-sanitario della materia prima è sicuramente un imprescindibile prerequisito. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare nel triennio 2006-2008 il comportamento di sei varietà di grano duro rispetto alla contaminazione da DON, confrontando, in sei località di prova uguali o paragonabili, i risultati ottenuti con metodi di coltivazione biologico o convenzionale, e di

verificare se e quanto tali fattori (varietà metodo di coltivazione, annata e ambiente) incidano sullo sviluppo delle micotossine.

Materiali e metodi

Le varietà utilizzate nel presente lavoro provengono da alcuni campi sperimentali afferenti alla Rete Nazionale di confronto varietale in convenzionale (Desiderio et al., 2008) e biologico (Quaranta et al., 2008) nel triennio 2006-2008, secondo un protocollo sperimentale invariato negli anni. La scelta dei campi sperimentali considerati ha tenuto conto innanzitutto della rappresentatività delle aree in cui è maggiormente coltivata la specie e di aver ospitato per tutto il triennio le prove con entrambe le metodiche di coltivazione, in situazioni pedoclimatiche analoghe.

Al fine di ottenere risultati confrontabili sono state considerate sei località (Jesi-AN, Pollenza-MC, Papiano-PG, Campobasso, Foggia e S.Stefano Quisquina-AG) in cui erano presenti nei tre anni entrambe le prove in biologico e convenzionale in terreni limitrofi.

Nella descrizione dei risultati le località sono state raggruppate in due macroareali: Centro (Jesi, Pollenza, Papiano) e Sud (Campobasso, Foggia e S.Stefano Quisquina).

Le sei cultivar di grano duro prese in esame in questo studio sono state scelte fra quelle più diffuse nel panorama varietale italiano e presenti nel triennio in entrambe le Reti varietali. Sono di seguito elencate in ordine crescente rispetto alla lunghezza del ciclo biologico (P- precoci, M- medie e T-tardive): Ciccio (P), Simeto (P), Duilio (P), Iride (MP), Claudio (M) e Creso (T).

L'analisi di screening per il DON è stata effettuata nell'ambito del progetto interregionale "MICOCER" per quanto attiene al metodo convenzionale e del progetto "BIOCER" del MiPAAF per quello biologico.

Per l'analisi del DON i campioni di granella sono stati sottoposti a macinazione con mulino Cyclotec (PBI), utilizzando una griglia da 0,5 mm. Sono stati utilizzati 5 g di sfarinato integrale ai quali sono stati aggiunti 25 ml acqua distillata; l'analisi è stata effettuata sull'estratto acquoso mediante metodica immunoenzimatica ELISA utilizzando il kit Ridascreen-DON, R-Biopharm[®]. A tal fine è stato utilizzato il preparatore automatico BRIO (SEAC) ed il lettore per micropiastre SIRIO (SEAC). Il limite di sensibilità del metodo è pari a 18,5 ppb, con un range di linearità fino a 500 ppb, ed il recupero di tossina nei cereali è compreso fra l'85 ed il 110 %. I risultati rappresentano il valore medio di analisi ripetute (n= 2; CV ≤ 10%).

Per investigare quale siano i fattori (varietà, località, anno e tipologia di coltivazione) che hanno inciso maggiormente sui risultati della contaminazione da micotossine sono stati utilizzati i modelli lineari generalizzati. La natura della variabile risposta DON suggerisce un modello basato sulla distribuzione di Poisson, con funzione di link data dal logaritmo. Pertanto il modello utilizzato, che considera solo gli effetti principali, è il seguente:

$$\log(\text{DON}) = \beta_0 + \tau_i + \gamma_j + \delta_l + \zeta_k$$

dove τ_i = varietà; $i=1, \dots, 6$ (1=Ciccio, 2=Claudio, 3=Creso, 4=Duilio, 5=Iride, 6=Simeto)

γ_j = coltivazione; $j=1, 2$ (1=convenzionale, 2=biologica)

δ_l = anno; $l=1, 2, 3$; (1=2006, 2=2007, 3=2008)

ζ_k = località; $k=1, \dots, 6$ (1= Jesi, 2= Pollenza, 3= Papiano, 4= Campobasso, 5= Foggia, 6= S. Stefano Quisquina)

Il contributo dei singoli fattori considerati è stato stimato attraverso il metodo della massima verosimiglianza e la loro significatività (p -value) attraverso la distribuzione asintotica χ^2 .

Risultati

L'andamento climatico è un fattore fondamentale per l'estrinsecazione delle potenzialità produttive delle colture e nello stesso tempo per determinare il livello di virulenza delle fitopatie in generale e della fusariosi in particolare.

Nei primi due anni di prova l'andamento termo pluviometrico è risultato in linea con i valori medi poliennali attesi per un clima di tipo mediterraneo, mentre nel 2008 vi è stata una primavera particolarmente calda e piovosa che ha favorito lo sviluppo dei *Fusarium* soprattutto negli areali dell'Italia centrale.

Le rese medie in granella ottenute nel triennio dalle sei varietà considerate nei sei ambienti rispecchiano le aspettative produttive ottenibili nelle stesse aree sia in convenzionale (5.85 t/ha) che in biologico (4.91 t/ha) (fig 1).

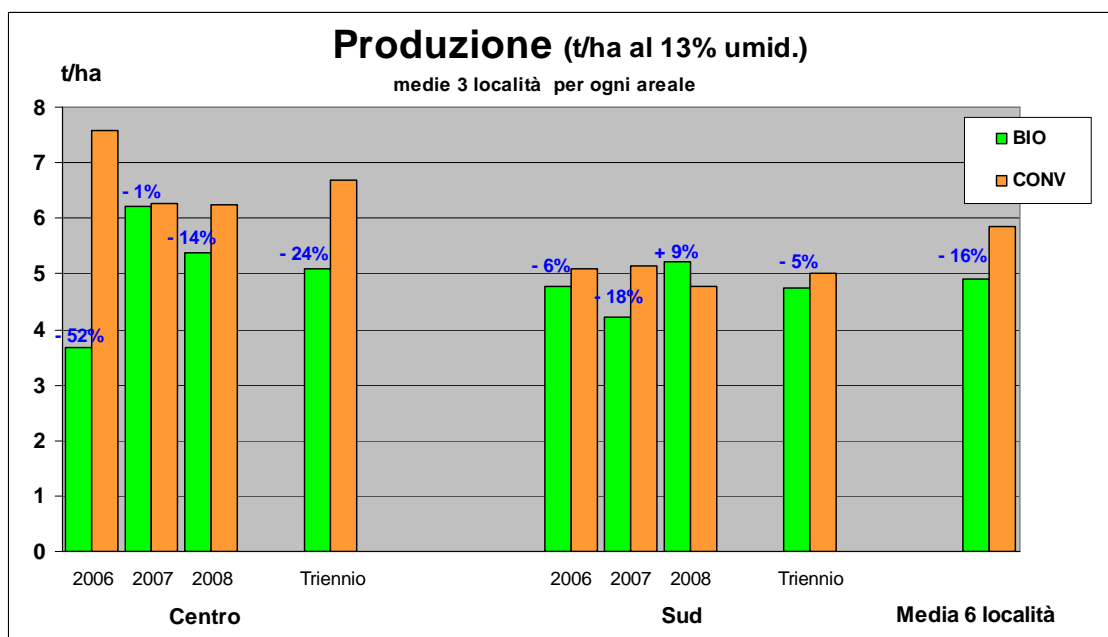


fig.1 – Confronto Reti nazionali frumento duro biologico e convenzionale. Produzione di granella (t/ha al 13% di umidità): risultati medi di 6 varietà raggruppati per due macroareali nei tre anni di prova.

La contrazione di produttività in biologico, rispetto al convenzionale, è stata relativamente omogenea per le sei varietà in prova con un'oscillazione limitata tra un -13 % per Simeto e Duilio ad un -19 % per Iride e Claudio. Le differenze più elevate si sono avute nell'areale Centro con riduzioni medie tra biologico e convenzionale oscillanti tra -19 e -27 % a causa soprattutto delle più elevate rese ottenute in questi ambienti facendo ricorso alle tecniche convenzionali. Al Sud, infatti, le risposte produttive delle diverse varietà sono state abbastanza simili confrontando le due tecniche di coltivazione, in particolare per le tre varietà precoci più adatte al clima meridionale.

Più limitato è risultato il divario tra biologico e convenzionale riguardo al contenuto proteico, principale parametro qualitativo della granella: la mancata possibilità di ricorrere a concimazioni azotate di sintesi nel biologico è notoriamente il punto più critico di questo metodo di coltivazione ma la riduzione percentuale di proteine registrata mediamente nel triennio è stata solo di circa mezzo punto nell'areale Centro e di un punto nell'areale Sud (fig.2), ridimensionando così timori per una granella bio eccessivamente carente.

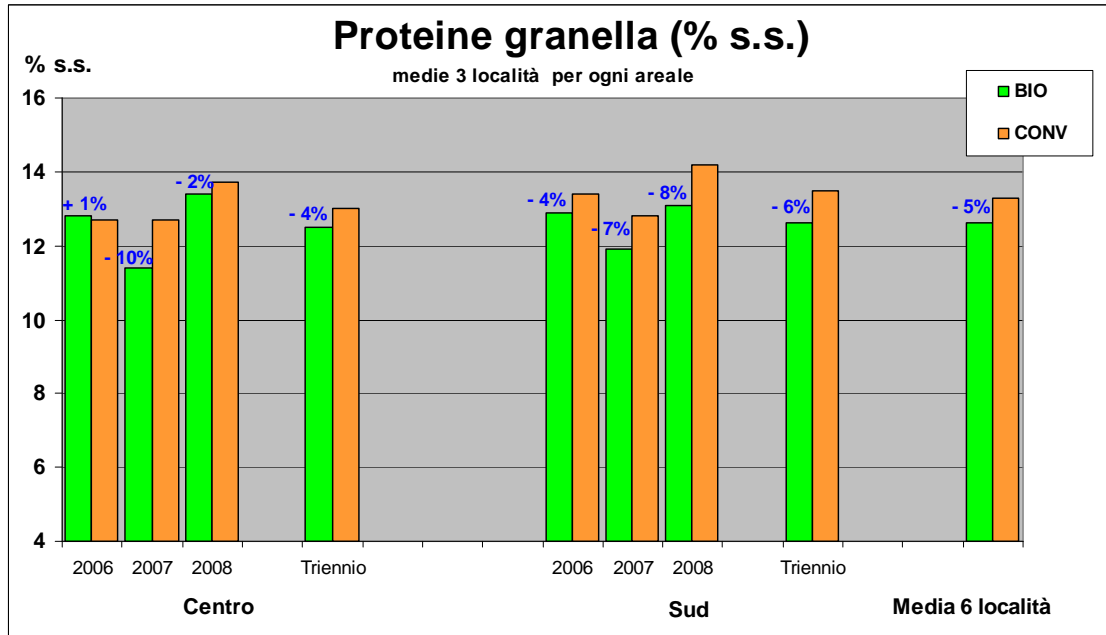


fig. 2 - Confronto Reti nazionali frumento duro biologico e convenzionale. Proteine granella (% s.s.): risultati medi di sei varietà raggruppati per due macroareali nei tre anni di prova.

Relativamente all'indagine analitica per la rilevazione del DON, i risultati ottenuti mostrano che i livelli medi di contaminazione nel triennio esaminato sono stati ampiamente al di sotto del limite di 1750 ppb previsto dal Reg. Ce 1881/2006.

Dal confronto dei due sistemi di coltivazione appare soprattutto evidente la minore incidenza ed il minore livello contaminazione nei frumenti da agricoltura biologica, sia negli anni meno soggetti all'infestazione da *Fusarium* (2006 e 2007) che in quelli più difficili come il 2008 (*fig. 3*)

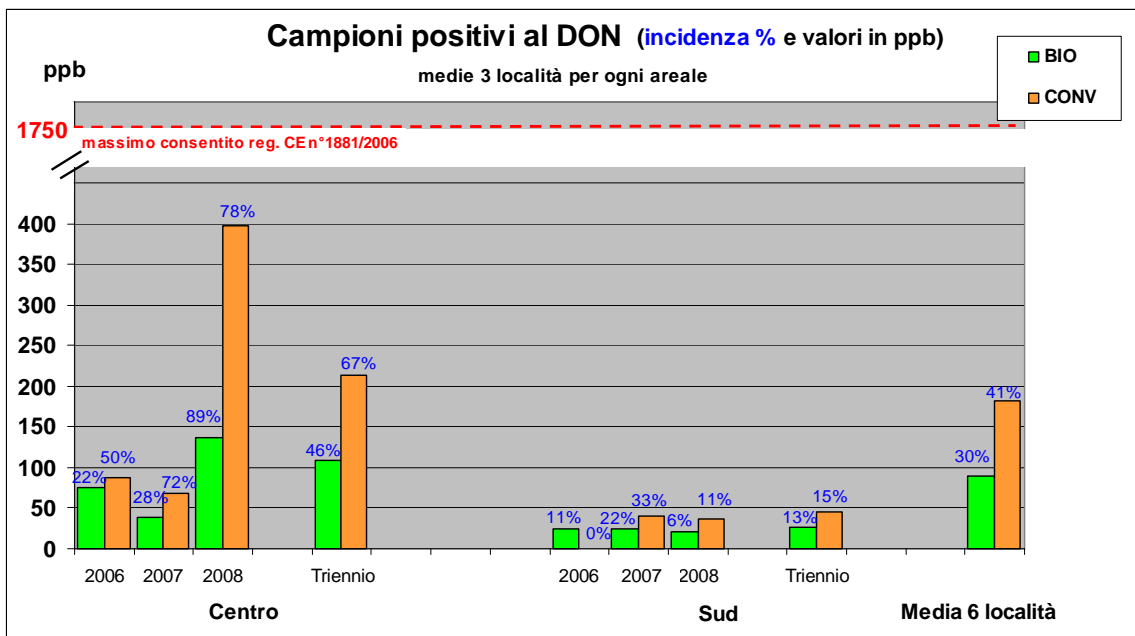


fig.3 - Confronto Reti nazionali frumento duro biologico e convenzionale. Campioni positivi al DON (incidenza % e valori in ppb): risultati medi di sei varietà raggruppati per due macroareali nei tre anni di prova.

In tutte le annate e per tutte le varietà si è registrato nel convenzionale un maggior livello medio di contaminazione da DON nella granella. È interessante osservare come nel 2008, annata più critica per la diffusione della fusariosi del frumento, le condizioni di maggiore gravità della malattia abbiano contribuito a differenziare la risposta delle singole varietà all'accumulo di micotossina, anche se, comunque, apparentemente non connessa alla durata del ciclo biologico (fig.4).

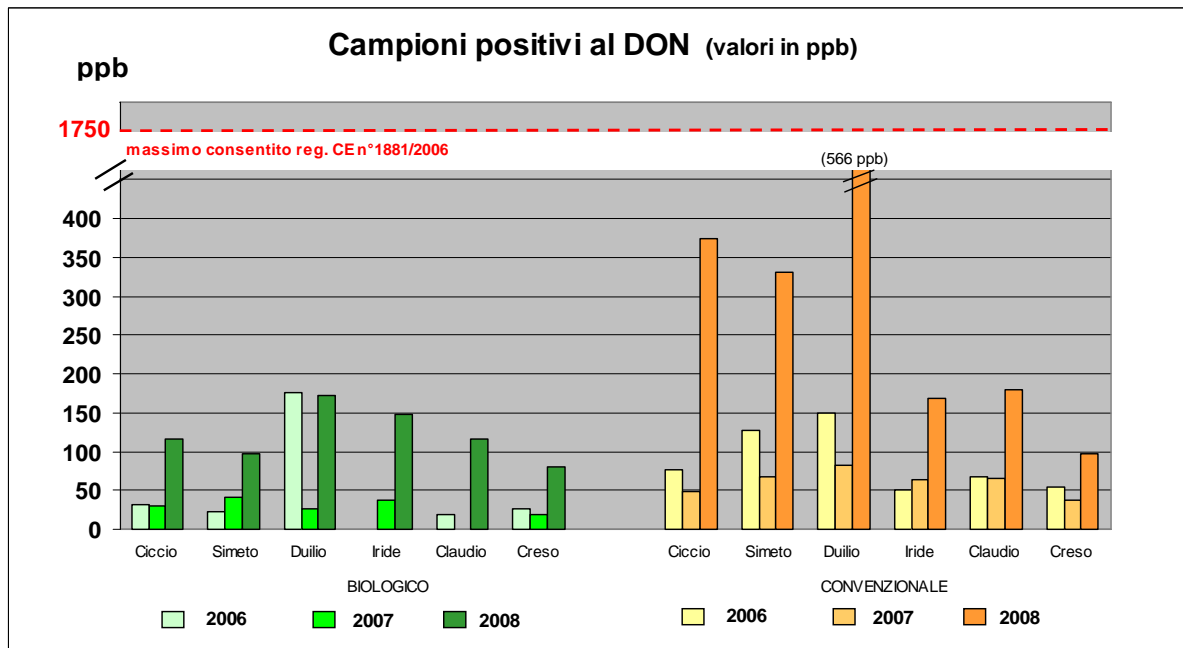


fig.4 - Confronto Reti nazionali frumento duro biologico e convenzionale: risultati medi di sei varietà nei tre anni di prova raggruppati per modalità di coltivazione.

Riguardo agli areali geografici di coltivazione, è stata confermata la scarsissima presenza di DON al Sud, con basse incidenze percentuali e valori di contaminazione in ppb di quei pochi campioni positivi appena al di sopra della soglia di rilevamento del metodo ELISA (18,5 ppb); tale osservazione è valida per entrambi i metodi di coltivazione ma tali livelli sono mediamente più bassi nelle colture biologiche con la completa assenza di DON per tutto il triennio nella località siciliana di S.Stefano Quisquina (AG) (fig. 5).

Al riguardo si può osservare che il grano biologico ha evidenziato in tutte le località risultati nettamente più favorevoli e sicuri, sia in termini di incidenza e, soprattutto, di valori di contaminazione, ben lontani dal limite consentito di 1750 ppb.

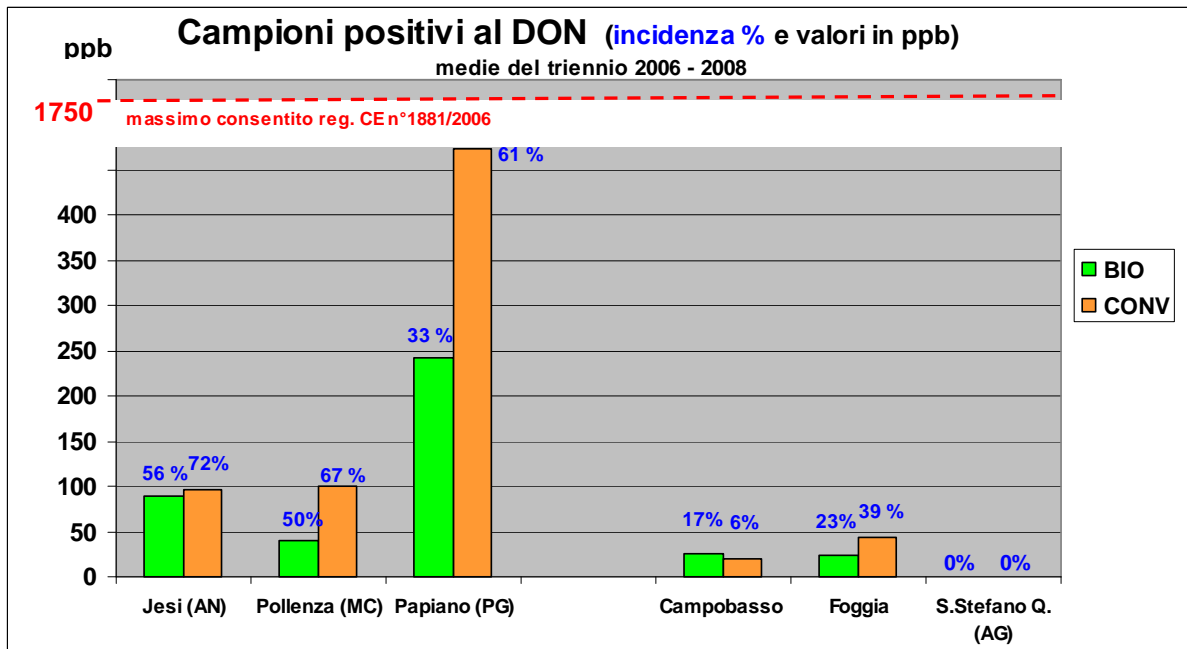


fig.5 - Confronto Reti nazionali frumento duro biologico e convenzionale. Campioni positivi al DON (incidenza % e valori in ppb): risultati medi triennali di 6 varietà raggruppate per le sei località di prova.

Relativamente alle varietà in prova, il diverso grado di incidenza percentuale di positività è risultato anch'esso strettamente legato all'ambiente di coltivazione. Infatti, mentre nelle zone del Centro si sono registrate alte percentuali soprattutto in convenzionale con un massimo di 89 % di campioni positivi nel Simeto, in quelle del Meridione invece la percentuale di positività si è mantenuta su valori modesti intorno al 10-20 % con una tendenza ad una maggiore uniformità tra le varietà provate e un massimo di 33 campioni positivi su 100 per Iride in biologico senza apprezzabili differenze in relazione alla lunghezza del ciclo biologico dei singoli genotipi (fig.6).

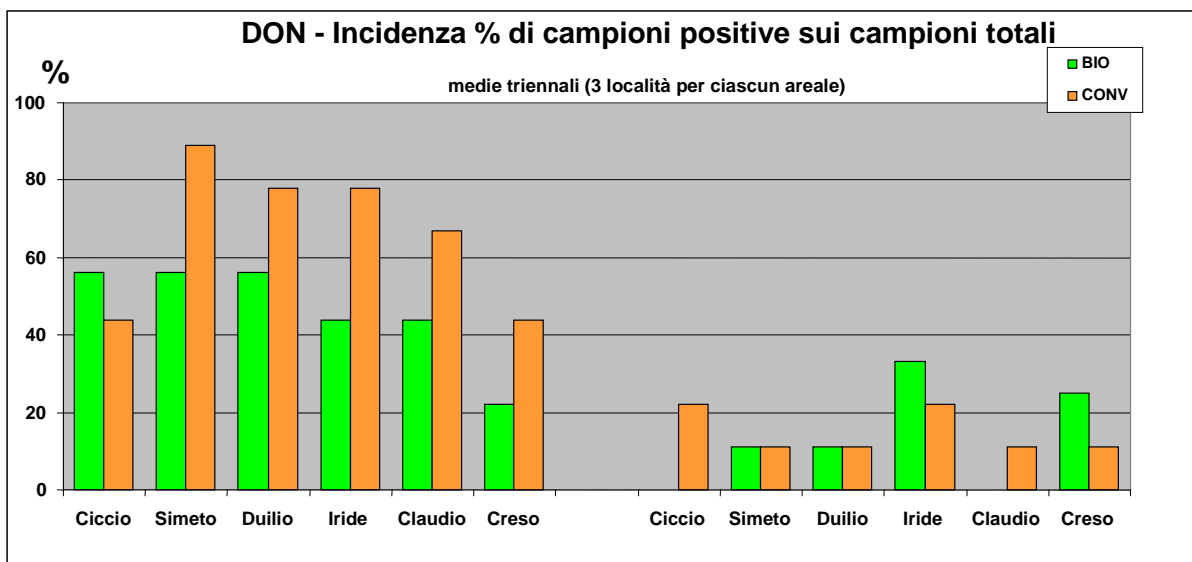


fig.6.- Confronto Reti nazionali frumento duro biologico e convenzionale: incidenza percentuale dei campioni positivi al DON relativa a sei 6 varietà raggruppate per due macroareali in un triennio di prova.

Scendendo nel dettaglio relativo ai valori di contaminazione da DON registrati dalle varietà in prova, emerge con evidenza dalla *figura 7* come al Sud il problema micotossine sia di fatto inconsistente per qualsiasi genotipo, mentre al Centro, sebbene nelle sole annate sfavorevoli, si sono manifestate delle contaminazioni più marcate, in particolare per le tre varietà più precoci (Ciccio, Simeto e Duilio), ma anche in questi specifici casi decisamente ridimensionate se la coltivazione avviene in biologico.

Dal confronto dei due areali, risulta anche evidente che la generale ampia oscillazione dei valori massimi e minimi intorno alla media nei campioni del Centro, indice di situazioni pedo-climatiche eterogenee; tale oscillazione diventa minima nei campioni del Sud i quali mostrano, oltre ad una presenza marcatamente inferiore di DON, anche una generale omogeneità in tutto l'areale.

Limitando l'analisi ai soli campioni positivi, il valore medio più alto di DON (380 ppb) è stato registrato nell'areale Centro per la cv. precoce Duilio (con una singola punta max di 1894 ppb) mentre al Sud non si è andati oltre gli 80 ppb (con un max di 197) per la cv. tardiva Creso (*fig. 7*).

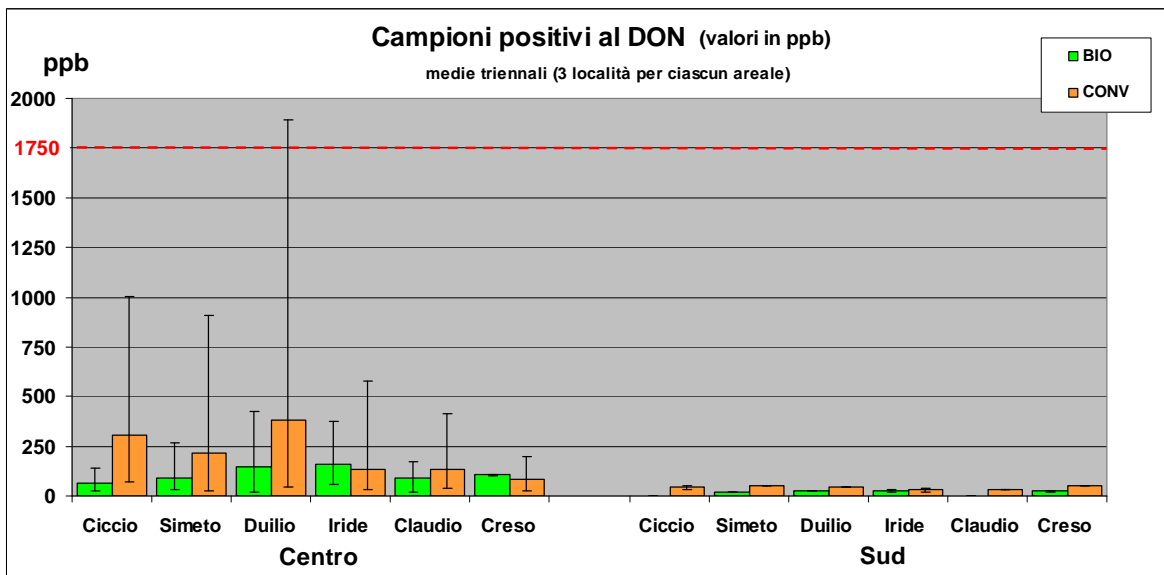


Fig.7- Confronto Reti nazionali frumento duro biologico e convenzionale: risultati medi di sei varietà raggruppate per due macroareali in un triennio di prova.

Per un confronto diretto fra le condizioni di coltura biologica e convenzionale nel Centro e nel Sud-Isole del territorio nazionale, i dati di contaminazione sono rappresentati in forma sintetica nelle *figure 8 e 9* relative, rispettivamente, all'incidenza percentuale dei campioni positivi nel triennio considerato e ai valori medi di contaminazione da DON nel medesimo periodo. Nel primo caso il metodo convenzionale presenta incidenze più elevate del biologico con valori pari al 67 % contro il 46 % nel Centro ed il 19 % contro l'11 % nel Sud. Nel secondo caso i valori medi più elevati sono stati riscontrati nel convenzionale, con 217 ppb contro 108 ppb nel Centro e 55 ppb contro 24 ppb nel Sud. Da notare, inoltre, l'importante ruolo dell'ambiente in entrambi i tipi di coltivazione.

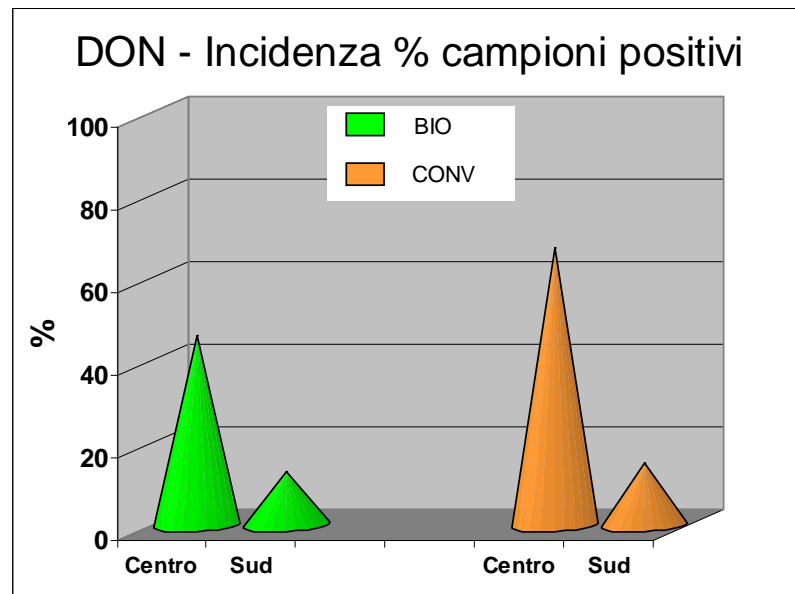


Fig.8 - Confronto Reti nazionali frumento duro biologico e convenzionale: incidenza percentuale dei campioni positivi al DON in un triennio di prova.

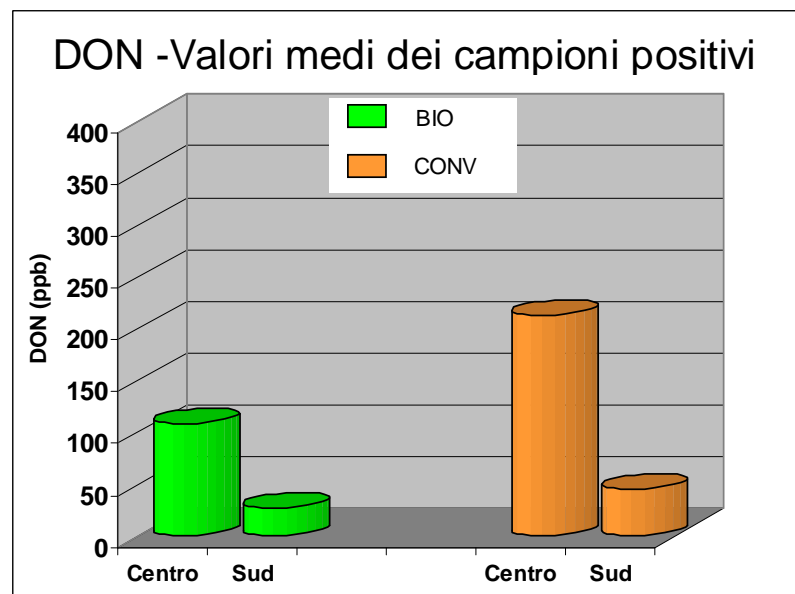


Fig.9 - Confronto Reti nazionali frumento duro biologico e convenzionale: valori medi dei soli campioni positivi al DON in un triennio di prova.

Analisi statistica dei risultati

L'analisi statistica (tab. 1), attraverso l'uso dei modelli lineari generalizzati, conferma l'importanza dei quattro fattori considerati, che risultano tutti altamente significativi ($p\text{-value} < 0.0001$). Tuttavia l'analisi dei singoli χ^2 permette di evidenziare come l'effetto dell'annata incida in modo predominante, con un peso sul totale di oltre il 50 %. Ciò è dovuto al diverso comportamento del

2008 rispetto agli altri due anni: il valor medio del DON nel 2008 è stato infatti pari a 116, nel 2007 a 21 e nel 2006 pari a 15.

L'ambiente e il metodo di coltivazione influiscono per il 25 e 21%, rispettivamente. La località in cui si sono verificati i valori più alti di DON è risultata Papiano, seguita da Jesi, Pollenza e Foggia; mentre praticamente nulli sono stati a Campobasso e S. Stefano Quisquina. Per quanto riguarda il metodo di coltivazione viene confermato che nella coltura convenzionale la presenza di DON è molto più elevata rispetto alla coltura biologica. Infine, il fattore varietà sembra essere l'effetto con il minor peso (circa il 3 %); nell'ambito della percentuale attribuibile alle varietà, anche se minima, le cultivar che risultano essere più sensibili alla presenza di micotossine sono il Duilio e il Simeto; poi Ciccio ed Iride, che presentano valori simili di DON, ed infine le varietà di ciclo più lungo Claudio e Cresò, più adatte agli ambienti dell'Italia centrale dove è anche più frequente riscontrare la fusariosi.

Tab. 1: Analisi della devianza e contributo dei singoli fattori al modello.

Modello globale			
Devianza	27234		
Log-verisimiglianza	39479		
χ^2	48889	Pr> χ^2	<0.0001
Contributo dei singoli fattori			
χ^2 varietà	341	Pr> χ^2 varietà	<0.0001
χ^2 località	3346	Pr> χ^2 località	<0.0001
χ^2 anno	6939	Pr> χ^2 anno	<0.0001
χ^2 coltivazione	2779	Pr> χ^2 coltivazione	<0.0001

Conclusioni

Dai risultati ottenuti in questo triennio di studio comparativo fra sei varietà comuni di frumento duro biologico e convenzionale nei diversi areali di coltivazione dell'Italia centrale e meridionale è possibile formulare le seguenti considerazioni:

- i livelli medi di contaminazione da DON sono stati ampiamente al di sotto del valore di 1750 ppb, limite fissato in ambito comunitario;
- fra i vari fattori esaminati, l'effetto dell'annata è quello che incide in misura predominante sulle possibilità di contaminazione, con un peso sul totale di oltre il 50 %;
- l'ambiente e il metodo di coltivazione sono comunque molto importanti influenzando per il 25 e il 21%, rispettivamente;
- il fattore varietà è quello con il minor effetto (circa il 3 %);
- risulta nettamente evidente la minore incidenza di contaminazione da DON nei frumenti biologici, sia negli anni meno soggetti all'infestazione da *Fusarium* (2006 e 2007) che in quelli più difficili e favorevoli alla diffusione della fusariosi (2008);

- la conferma della scarsissima presenza di DON nelle zone di coltivazione del Sud, con entrambi i metodi di coltivazione, ma mediamente ancora più bassi nelle colture biologiche;
- incidenze percentuali di contaminazione di un certo rilievo sono state registrate al Centro nell'annata più critica (2008) adottando la tecnica convenzionale, anche se, a parte un singolo episodio, i valori si sono mantenuti comunque ben lontani dal limite massimo di legge di 1750 ppb;
- la coltivazione con tecnica biologica consente risultati mediamente migliori sia nelle località dove l'attacco è molto limitato (Sud), ma ancor di più in quelle del Centro della Penisola, dove invece potrebbe rappresentare un potenziale pericolo;
- nell'ambito della pur minima percentuale di rischio potenziale di contaminazione attribuibile alla scelta varietale, il gruppo delle cultivar precoci risulta essere tendenzialmente più sensibile alla presenza di micotossine, quando (2008) e laddove (Centro) presenti; del resto questo gruppo di varietà è stato selezionato negli ambienti più meridionali d'Italia dove la fusariosi è generalmente meno diffusa.

Pertanto, l'ipotesi di maggiori livelli di DON nei campioni di frumento duro delle colture biologiche, fondata soprattutto sulla considerazione di una mancata protezione fitosanitaria (concia e trattamenti fogliari), sembrerebbe non suffragata dai risultati sperimentali ottenuti nelle stesse località nelle stesse annate e per le stesse varietà. Anzi, le evidenze dimostrerebbero il contrario: a parità di varietà e località, una minor contaminazione si verifica sempre sia nelle annate favorevoli al patogeno (2008) che in quelle meno a rischio.

I risultati dello studio, per quanto limitato ad alcune varietà coltivate in un numero circoscritto di località, hanno ampiamente confermato l'importanza della vocazionalità delle zone meridionali ed insulari italiane per la coltivazione del frumento duro, coltura di primaria importanza nell'economia nazionale, tradizionalmente e prevalentemente diffusa in tale zone.

Non potendo intervenire sull'andamento stagionale, che rimane tanto importante quanto aleatorio e imprevedibile, sono allora evidentemente la vocazionalità degli areali e le buone tecniche agronomiche, in primis un'efficace e rinettante rotazione con leguminose (obbligatorie per i disciplinari biologici) a confermarsi come elementi di primaria importanza per il contenimento delle fusariosi e quindi delle relative micotossine.

Bibliografia

Bondy G.S. and Pestka J.J. – Immunomodulation by fungal toxins. *J. Toxicol. Environ. Health.* 2000, B 3: 109-143.

Campagna C., Haidukowski M., Pancaldi D., Pascale M., Ravaglia S., Silvestri M., Visconti A. – Fonti di rischio e gestione delle micotossine nel frumento. *L'Informatore Agrario.* 2005, 1: 39-47.

Desiderio E., Belocchi A., D'Egidio M.G., Fornara M., Cecchi V., Cecchini C., Aureli G., Flavorni A. - Risultati della sperimentazione nazionale 2007-08. Varietà di duro alla prova per le semine 2008. *L'Informatore Agrario.* 2008, 64 (34), (Suppl.): 20-25.

Hooker D.C., Schaafsma A.W.- Agronomic and environmental impacts concentrations of deoxynivalenol and fumonisins B₁ in corn across Ontario. *Canadian Journal of Plant Pathology.* 2005, 27: 347-356.

IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to human. Some traditional herbal medicines, some Mycotoxins, naphthalene and Styrene. Lyon: World Health Organisation/IARC Press.1993, Vol. 82.

Islam Z., Pestka J.J. – Role of IL-1 β in endotoxin potentiation of deoxynivalenol-induced corticosterone response and leukocyte apoptosis in mice. 2003, *Toxicological Science*, 74: 93-102.

Khachatourians G.C.- Metabolic effects of the trichothecene T-2 toxin. *Canadian Journal of Physiology Pharmacology*. 1990, 68: 1004-1008.

Koch H.-J., Pringas C., Maerlaender B.- Evaluation of environmental and management effects on *Fusarium* head blight infection and deoxynivalenol concentration in the grain of winter wheat. *European Journal of Agronomy*. 2006, 24: 357-366.

Lancova K., Hajslova J., Kostelanska M., Kohoutkova J., Nedelnik J., Moravcova H. and Vaniva M. – Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: Milling and baking. *Food Additives and Contaminants*. 2008, 25(5): 650-659.

Meky F.A., Hardie L.J., Evans S.W., Wild C.P. Deoxynivalenol-induced immunomodulation of human lymphocyte proliferation and cytokine production. *Food and Chemical Toxicology*. 2001, 39: 827-836.

Miller J.D.- Mycotoxins in small grains and maize: Old problems, new challenger. *Food Additives and Contaminants*. 2008, 25(2): 219-230.

Minervini F., Fornelli F., Flynn K.M. – Toxicity and apoptosis induced by the mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and fumonisins B₁ in a human erythroleukemia cell line. *Toxicology in vitro*. 2004, 18: 21-28.

Morooka N., Uratsuji N. Yoshizawa T., Yamamoto H. – Studies on the toxic substances in barley infected with *Fusarium* species. *Journal of Food Hygiene Society Japan*. 1972, 22: 368-375.

Moretti A., Corazza L., Balmas V., Santori A., Ritieni A.- Funghi tossigeni e micotossine: filiera cerealicola. *Informatore fitopatologico*. 2002, 12: 17-33.

Parry D.W., Jenkinson P., McLeod L.- *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals: a review. *Plant Pathol*. 1995, 44: 207-238.

Pritsch C., Muehlbauer W.R., Somers D.A., Vance C.P.- Fungal development and induction of defense response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*. *Mol. Plant-Microbe Interact*. 2000, 13:159-169.

Quaranta F., Belocchi A., Camerini M., D'Egidio M.G., Fornaia M., Melloni S. - Le varietà per il grano duro bio. Risultati del 6° anno di prove. *L'Informatore Agrario*. 2008, 64 (37): 66-71.

Rocha O., Ansari K. And Doohan F.M. – Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Additives and Contaminants*. 2005, 22(4): 369-378.

Rossi V.- Fusariosi della spiga, malattia a molte facce. L'Informatore Agrario (Supplemento). 2006, 12 (Suppl.) : 19-23.

SCF (Scientific Committee for Food). Opinion on *Fusarium* toxins. Part. 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol (available at: http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf).

WHO World Health Report: Reducing risks, Promoting Healthy Life. Geneva: World Health Organization. 2002.