



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

SCUOLA DI DOTTORATO

SCIENZE DEI SISTEMI AGRARI E FORESTALI E DELLE PRODUZIONI ALIMENTARI

XXI CICLO

Indirizzo

AGROMETEOROLOGIA ED ECOFISIOLOGIA DEI SISTEMI AGRARI E FORESTALI

Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro

Direttore della Scuola: Prof. Pietro Deidda

Cordinatore di Indirizzo: Prof. Donatella Spano

Docente guida: Prof. Antonino Spanu

**Tesi di dottorato
Dr.ssa Cristina Pilo**

ANNO ACCADEMICO 2008-2009

ABSTRACT	5
1. INTRODUZIONE	7
1.1. Notizie storiche	15
1.2. Aspetti botanici	19
1.2.1. Caratteri morfologici della pianta	20
1.2.2. Fasi fenologiche	25
1.3. Coltivazione	29
1.3.1. Avvicendamento	29
1.3.2. Scelta della varietà	29
1.3.3. Preparazione del terreno per la semina.	30
1.3.4. Semina	30
1.3.5. Concimazione	31
1.3.6. Lotta contro le erbe infestanti	33
1.3.7. Raccolta e conservazione del prodotto	33
1.4. Usi alimentari del frumento	35
1.4.1. Il frumento nella dieta mediterranea	36
1.4.2. Sicurezza alimentare	37
1.4.3. La normativa sulle <i>fusarium</i> -tossine nei cereali	38
1.5. La fusariosi della spiga	43
1.5.1. Sintomi	43
1.5.2. Danni	44
1.5.3. Biologia ed epidemiologia	44
1.5.4. Monitoraggio	49

1.5.5.	Suscettibilità	50
1.5.6.	Tecniche agronomiche per limitare la diffusione della malattia	50
1.6.	Micotossine	53
1.6.1.	Fattori influenzati lo sviluppo di funghi e la formazione di micotossine	54
1.6.2.	Tossinogenesi	57
1.6.3.	Effetti delle micotossine sulla salute umana	58
1.6.4.	Il deossinivalenolo (DON)	59
2.	MATERIALI E METODI	62
2.1.	Prova realizzata nel 2006-07	62
2.2.	Prova realizzata nel 2007-08.	70
2.3.	Metodica analitica	73
3.	RISULTATI	75
3.1.	Anno 2006.07	75
3.1.1.	Analisi del terreno	75
3.1.2.	Andamento meteorologico	77
3.1.3.	Analisi dei fattori meteorologici	77
3.1.4.	Risultati agronomici	87
3.2.	Anno 2007-08	92
3.2.1.	Analisi del terreno	92
3.2.2.	Andamento meteorologico	93
3.2.3.	Analisi dei fattori meteorologici	93

3.2.4.	Risultati agronomici	104
3.3.	Analisi tossicologiche della granella	111
4.	CONCLUSIONI	112
5.	BIBLIOGRAFIA	115

ABSTRACT

Le malattie fungine nei cereali rappresentano una seria minaccia dal punto di vista produttivo e qualitativo in quanto colpiscono la pianta durante tutto il suo ciclo. All'azione diretta sulla riduzione della resa delle colture, spesso si associa anche un'azione sulla qualità e sulla salubrità della granella. Numerose specie fungine, infatti, sono note come tossigene e in grado, quindi, di fare accumulare micotossine nel seme.

Nei cereali autunno-vernini, in particolare in frumento duro, la micotossina maggiormente riscontrata è il deossinivalenolo (DON), prodotta dai funghi responsabili della fusariosi della spiga (*F. graminearum* e *F. culmorum*), detto anche *vomitossina*, una micotossina che nei mammiferi può causare effetti neurotossici e immunotossici e responsabile nei mammiferi della sindrome emetica, caratterizzata da vomito, rifiuto di alimento e riduzione del peso corporeo.

Per assicurare la libera circolazione delle merci e per tutelare la salute pubblica l'Unione Europea ha emanato dei regolamenti per stabilire i livelli di contaminazione massima da micotossine.

La presente ricerca aveva lo scopo di verificare come in un ambiente a clima tipicamente mediterraneo le condizioni meteorologiche e l'agrotecnica potessero influire sulla contaminazione da funghi del genere *Fusarium*, responsabili dell'insorgenza della Fusariosi della spiga, e sul conseguente accumulo di micotossine nella granella di frumento duro.

Le prove sono state realizzate nelle stagioni colturali 2006-07 e 2007-08, presso il campo sperimentale di S. Lucia (OR), rappresentativo di molti areali di coltivazione della Sardegna.

Mediante una stazione agro-meteorologica automatica sono stati rilevati i valori giornalieri dei principali parametri meteorologici influenzanti l'infezione da parte dei funghi tossigeni e la diffusione della malattia.

Le prove sperimentali riguardanti l'agrotecnica hanno analizzato come la scelta varietale, la concimazione azotata, la preparazione del terreno, la precessione colturale e il trattamento fungicida potessero influire sull'accumulo di micotossine nella granella.

I campioni di granella sono stati analizzati con il metodo ELISA per il contenuto di deossinivalenolo (DON). In totale sono stati analizzati 192 campioni, rispettivamente 128 nel primo anno di prova e 64 nel secondo.

I risultati delle analisi hanno dimostrato che le condizioni climatiche dell'areale di coltivazione non sono favorevoli allo sviluppo della Fusariosi della spiga e alla contaminazione da micotossine. Infatti nei due anni sono stati registrati livelli di contaminazione sempre al di sotto dei limiti fissati dall'unione Europea pari a 1.750 ppb.

Il fattori meteorologici, quali vento, precipitazioni, temperatura e umidità relativa dell'aria hanno mostrato essere fondamentali nel determinare l'attacco da parte dei funghi tossigeni e nel conseguente accumulo di DON nella granella di frumento duro, se si verificano in concomitanza delle fasi fenologiche della pianta più sensibili all'attacco della malattia, in particolare della fioritura..

La scelta di una varietà poco sensibile alla malattia e il trattamento con prodotti fungicidi efficaci contro la Fusariosi della spiga, hanno mostrato essere efficaci nel contenimento della contaminazione.

1. INTRODUZIONE

Il frumento duro (*Triticum turgidum* (L.) ssp. *durum* (Desf.) Husn) è forse la coltura che più di ogni altra caratterizza l'agricoltura italiana, in quanto alla base della filiera della pasta, universalmente riconosciuta come uno dei capisaldi del "made in Italy" alimentare. La filiera frumento duro – pasta riveste un'importanza strategica per l'economia italiana.

L'Italia detiene l'indiscusso primato mondiale in fatto di produzione di pasta secca e fresca. È prodotto in Italia il 26% dell'intera produzione mondiale di pasta (che nel 2008 ha raggiunto i 13 milioni di tonnellate) e il 75% della produzione nei Paesi dell'Unione europea. Come dire che tre piatti di pasta su quattro, consumati nel vecchio continente, sono di origine italiana. Quindi la coltivazione del frumento duro in Italia genera sia a monte (industrie sementiere e dei mezzi tecnici) che a valle (centri di stoccaggio, industrie di prima e seconda trasformazione) un vasto indotto da cui deriva l'importanza strategica di questa coltura.

I Paesi del mondo maggiori produttori di frumento sono la Cina (109 milioni 298 mila tonnellate), l'India (75 milioni 800 mila tonnellate), gli Stati Uniti d'America (55 milioni 823 mila tonnellate) e la Federazione Russa. In Europa il primato spetta alla Francia (32 milioni 770 mila tonnellate) seguita dalla Germania, dalla Gran Bretagna e dalla Polonia. L'Italia si attesta al diciottesimo posto a livello mondiale e al quinto posto in Europa con 7 milioni 260 mila tonnellate prodotte nel 2007 come riportato nelle *figure 1 e 2* (FAO, 2009).

Le Regioni italiane maggiormente vocate alla coltivazione della specie sono quelle meridionali: Puglia, Sicilia e Basilicata. Nell'ultimo decennio la coltura si è andata diffondendo in modo significativo anche nelle Regioni del Centro, come Toscana e Marche, seguite da Lazio e Sardegna (D'Egidio e Desiderio, 2006).

Dal Bollettino AGRIT 2008 del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali si rileva che le superfici investite a frumento duro nel 2008

si sono attestate in 1.479.594 ha, di cui 366.258 ha in Puglia, 291.788 in Sicilia, 121.910 ha in Basilicata seguite dalle Marche con 168.716 ha e dalla Toscana con 146.679. In Sardegna la superficie investita a frumento duro è stata di 57.333 ha.

La produzione di frumento duro in Italia nel 2008 è stata di 54 milioni di quintali con una resa media di 35,5 q/ha. Il primato produttivo spetta alla Puglia, con 11,1 milioni di quintali, seguita dalla Sicilia con 8,8 milioni di q.li, dalle Marche con 7,7 milioni di quintali e dalla Toscana con 5,3 milioni di quintali (Bollettino agrit 2008).

Figura 1: graduatoria mondiale dei paesi produttori di frumento duro (2007)

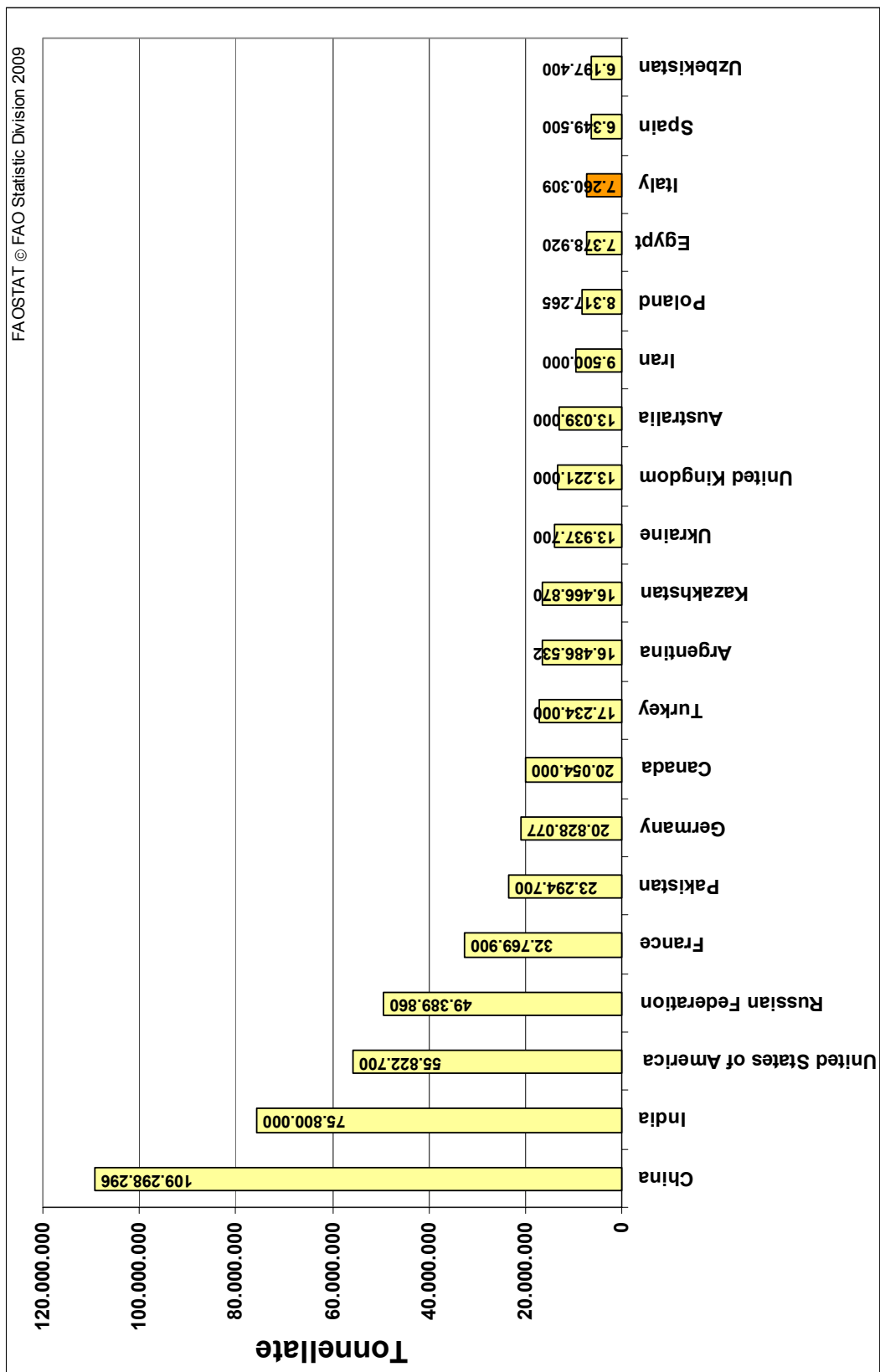
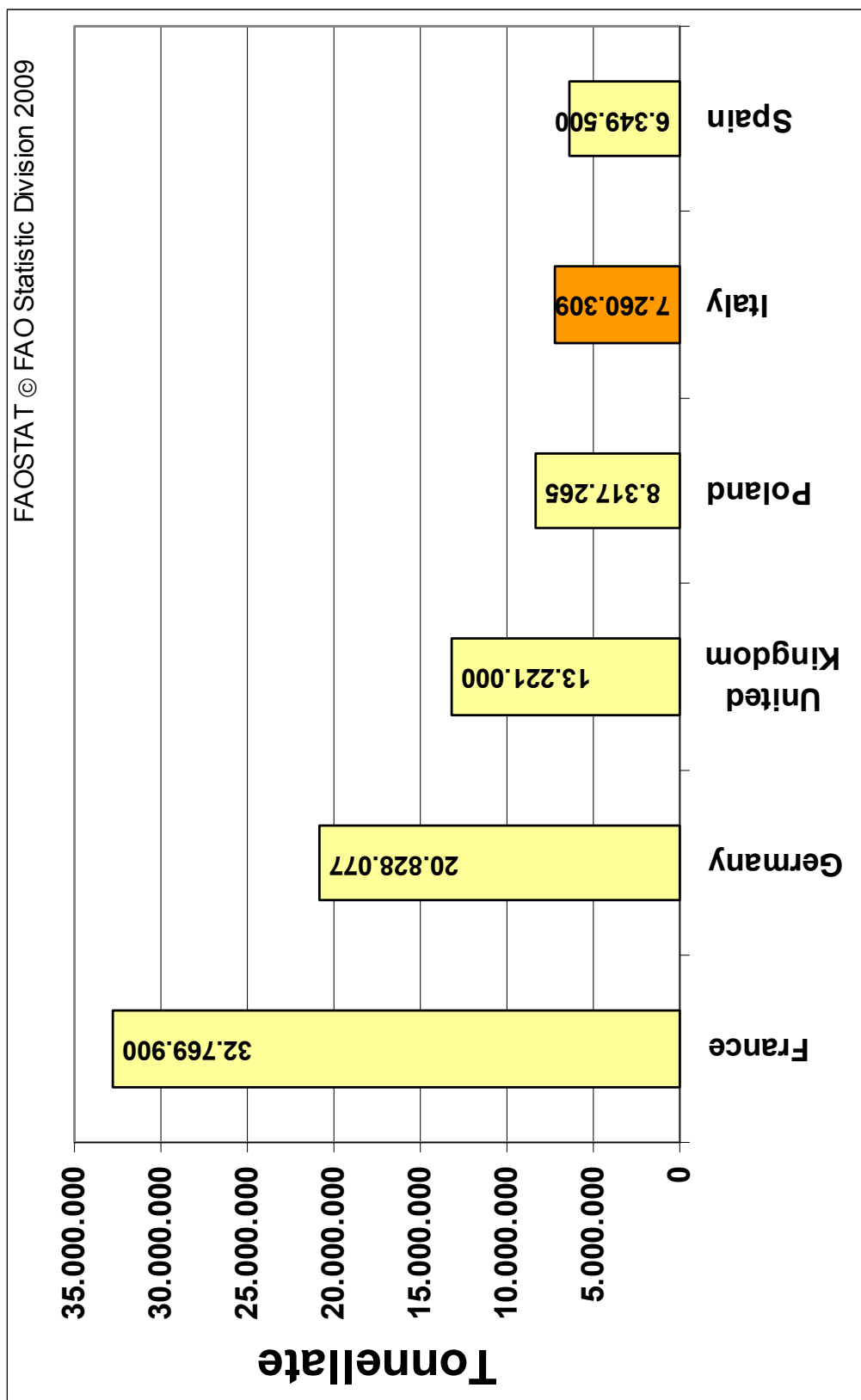


Figura 2: graduatoria europea dei paesi produttori di frumento duro (2007)



Per quanto riguarda la trasformazione del frumento duro, l'Italia è il primo paese produttore di pasta nel mondo, con oltre 3 milioni di tonnellate, con circa 140 imprese pastarie di medie e grandi dimensioni e con un export di 1,4 milioni di tonnellate. La leadership dell'industria italiana della pasta nel mondo è associata dunque in modo imprescindibile alla materia prima, il frumento duro, la cui qualità deve rispondere ai requisiti dell'industria di trasformazione.

La qualità di un prodotto è un concetto complesso che coinvolge diversi aspetti tra i quali preliminare è quello igienico-sanitario legato alla sicurezza d'uso; tra gli aspetti più specifici emergono quello tecnologico, legato alla destinazione d'uso, quello nutrizionale, legato alla composizione chimica dell'alimento, e quello organolettico, maggiormente recepito dal consumatore.

In questi ultimi anni sempre maggiore attenzione viene posta ai temi legati alla sicurezza alimentare, sia a livello nazionale che internazionale, in considerazione del fatto che il frumento con i suoi prodotti derivati, pane e pasta, è alla base della nostra alimentazione. L'Italia, infatti, è al primo posto, tra i paesi economicamente avanzati, come consumo di cereali (162 kg/persona/anno) che apportano circa il 32% del fabbisogno energetico e il 33% del contenuto proteico dei consumi alimentari (Cannella e Piredda, 2006). Recenti ricerche hanno dimostrato che il consumo di cereali (pane e pasta) è una delle componenti salutistiche della dieta mediterranea più importante nella prevenzione delle patologie cardio-degenerative.

Il consumo di cereali può comportare però effetti nocivi nei seguenti casi:

- 1 se consumati prevalentemente integrali per l'effetto "antinutriente" dell'acido fitico che, a livello intestinale, interferisce nell'assorbimento dei cationi bivalenti (zinco, calcio, ferro, magnesio, ecc...);
- 2 per la presenza di glutine non tollerato dai soggetti celiaci;
- 3 se contaminati da funghi microscopici capaci di produrre micotossine (Cannella e Piredda, 2006).

La presenza di micotossine nelle materie prime, in seguito a contaminazione fungina di colture in pieno campo e/o di derrate in fase di conservazione o trasformazione, rappresenta tuttora un grave problema sanitario.

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

1.1. Notizie storiche

Dai risultati di studi su cariossidi fossili ritrovate in vari Paesi del Medio Oriente, si desume che l'inizio della coltivazione del frumento si possa fare risalire ad alcuni millenni a. C. Il frumento e altri cereali erano di primaria importanza già per i protoagricoltori dei villaggi nel neolitico.

Nell'Europa occidentale i frumenti si diffusero nell'età della pietra. È certo che nell'Italia preistorica ne erano già coltivati diversi tipi e che nel periodo pre-romano il frumento costituiva uno degli elementi più importanti dell'economia (Baldoni e Giardini, 2006). L'importanza primaria assunta dal frumento nel mondo romano è testimoniata dalle leggi frumentarie emanate all'età dei Gracchi, nel 200 a. C. (AA. VV. 2007), con le quali si disponeva il commercio di una certa quantità di grano a costi ridotti verso le classi meno abbienti. Le terre conquistate attraverso l'espansione militare di Roma venivano suddivise in "centurie" e affidate a coloni. Col progredire delle conquiste la piccola proprietà agraria entrò in crisi in quanto i contadini venivano arruolati nell'esercito e vi rimanevano per lungo tempo; essi abbandonavano le proprie terre o le restituivano alle autorità. In questo modo molte piccole proprietà vennero accorpate formando i latifondi, coltivati prevalentemente a frumento, sulle quali venivano relegati a lavorare gli schiavi, cioè i prigionieri catturati durante le conquiste militari. I latifondi, in Età repubblicana, erano diffusi soprattutto in Sicilia. In Età imperiale, con la conquista dell'Africa settentrionale, che divenne il granaio dell'impero, le colture di frumento italiane entrarono in crisi e la maggior parte di latifondi furono trasformati in pascoli per gli ovini. Con l'invasione delle coste mediterranee da parte dei Vandali, tra il IV e V secolo d.C., l'impero non poté più contare sulle scorte di grano. Le città iniziarono a spopolarsi, e le persone a rifugiarsi nelle campagne dove era più facile procurarsi cibo. Ma il calo demografico causato da epidemie e carestie portò anche ad un conseguente calo della manodopera nei campi. Per molte generazioni le terre coltivate a frumento furono abbandonate e nel corso dei secoli successivi si trasformarono in terreni degradati e in paludi dove si

diffusero malattie come la malaria (lungo le coste tirreniche laziali e toscane). L'agricoltura ebbe un drammatico crollo e con essa la coltura del grano. Finì così il sistema agrario romano e si perse il sapere che lo aveva caratterizzato: l'uomo entrò nel Medioevo e cominciò l'economia feudale alla cui base vi fu il latifondo. Nel 1300 la peste cancellò comunità intere, facendo diminuire la disponibilità di manodopera, i terreni meno fertili vennero abbandonati e, visto il calo di domanda di derrate, quelli più fertili vennero destinati a colture specializzate quali il riso, la vite, l'olivo e il gelso. La coltura del frumento tornò ad avere importanza a partire da metà del Quattrocento allorché la popolazione europea ricominciò a crescere vertiginosamente, in virtù del miglioramento delle condizioni sanitarie. Tuttavia i secoli successivi furono funestati da ripetute epidemie e carestie, che sfociarono in rivolte del pane, come quella citata dal Manzoni, spesso trasformate in vere e proprie guerre civili. Una delle cause principali delle ripetute carestie che funestarono la vita sociale era riconducibile alla scarsa produzione di granella di frumento rispetto alla quantità di granella stessa impiegata per la semina; questo rapporto, che nell'età romana aveva raggiunto anche 20:1, nell'alto medioevo era sceso a 3:1 o 4:1. Una parte consistente del raccolto doveva essere accantonata per seminare nuovamente i campi l'anno successivo; tale quantità era considerevole e doveva sopperire alla scarsa germinabilità della granella seminata, principalmente dovuta alle rudimentali operazioni di preparazione del letto di semina e alle malattie che compromettevano la semente durante la conservazione. Inoltre la coltura era alla completa mercè di piante infestanti e di agenti patogeni. A fronte di questa situazione, la costante necessità di aumentare le produzioni stimolò l'attività di studiosi e appassionati di agricoltura che si dedicarono alla ricerca di nuovi metodi di produzione e di nuovi strumenti. Gli studi sulla coltivazione del frumento si moltiplicarono nei secoli successivi e videro un particolare sviluppo nel corso del '700 ad opera di molti studiosi europei.

Verso la metà del '700 una parte cospicua della superficie europea coltivata a frumento cedette il posto alla coltura della patata, importata dall'America a metà del '500, che a parità di superficie occupata produceva una quantità di cibo superiore a quella prodotta da frumento. Ma verso la metà

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

dell'800 le colture di patate furono quasi distrutte, nel giro di qualche anno, dalla peronospora e si verificò una carestia terribile che provocò, solo in Irlanda, un milione di morti e più di tre milioni di persone emigrarono verso le Americhe.

Agli inizi dell'800 il frumento era ancora la coltura più diffusa in Europa, seppure con vecchie varietà. Sono di questi anni le ricerche di varietà più basse (a quei tempi il grano era alto anche fino a due metri), da poter concimare e coltivare in modo ottimale, senza temere che le maggiori dimensioni delle spighe, così ottenute, facessero piegare i culmi sotto l'azione del vento o della pioggia. In questo periodo le maggiori produttrici di grano erano: Polonia, Ungheria, Egitto e l'Italia con la Sicilia, la Calabria e la Puglia.

Durante l'800 l'economia europea legata al frumento ha determinato uno dei più grandi flussi migratori che si ricordi nella storia dell'uomo. Negli anni '70 di questo secolo, anche per sopperire alla mancata produzione di patate, ci fu una massiccia importazione di grano dalla Russia e le Americhe (dove il frumento era arrivato una trentina di anni dopo la scoperta di Cristoforo Colombo), anche grazie alle migliorate condizioni delle vie di comunicazione e dei mezzi di trasporto, che fece crollare il prezzo del cereale europeo a danno dei coltivatori, mentre i consumatori videro salire il prezzo in virtù dei dazi messi dai governi per cercare di arginare il fenomeno. Ci fu una crisi agraria di grandi proporzioni che costrinse milioni di europei, dall'Italia, dalla penisola iberica, dai Balcani, dall'Austria e dalla stessa Russia, a emigrare verso le Americhe, prevalentemente Stati Uniti e Argentina. Il fenomeno fu aggravato dall'imposizione di tasse sul grano prodotto in Europa; in Italia le conseguenze furono tragiche e sfociarono in vere e proprie rivolte popolari, come quella del pane nel 1868 che scoppiò in seguito all'imposizione della tassa sul macinato.

Anche all'inizio del '900 in Italia la coltivazione del frumento continuava a costituire la principale fonte di reddito degli agricoltori. L'Italia agricola allora era divisa in due grandi areali. Nel centro-nord, climaticamente avvantaggiato rispetto al meridione, specialmente per una maggiore disponibilità di acqua, l'agricoltura si era affrancata dal feudo già durante l'epoca dei Comuni; oltre al

frumento, che rimaneva una coltura estensiva, si stavano affermando anche altre colture intensive.

Il meridione era, invece, ancora costellato di feudatari padroni di estesi latifondi confiscati dopo l'Unificazione ed entrati in possesso dei baroni subito dopo; questi latifondi, anche per le condizioni climatiche siccitose e l'arretratezza delle tecniche colturali, erano coltivati in prevalenza con frumento e in parte adibiti a pascoli. Questo stato di cose fece sorgere, subito dopo l'Unificazione, la "Questione Meridionale" nella quale il Paese prese coscienza del fenomeno e cominciò a studiare le opportune contromisure.

La "Questione Meridionale" fu negata successivamente dal governo fascista, così che le cose non migliorarono nemmeno all'inizio del secolo successivo, nonostante le bonifiche e le espropriazioni negli anni compresi fra le due guerre mondiali. La situazione peggiorò alla fine della seconda guerra mondiale anche in conseguenza dei danni bellici. L'aumento della povertà portò molti operai ad occupare abusivamente molte terre dei latifondi, vi furono rivolte sedate spesso con la forza, che posero le basi della "Riforma Agraria", la quale portò, nel 1950, a espropriazioni su larga scala (circa 750.000 ettari) di terreni di latifondi che furono distribuiti ai contadini più bisognosi.

1.2. Aspetti botanici

I frumenti coltivati fanno parte del complesso tassonomico *Triticum-Aegilops*. Si tratta di graminacee annuali, con centro di origine primario e massima diversità nelle aree steppe del Mediterraneo centro-orientale, regioni caucasiche e Medio Oriente.

La sistematica dei frumenti è tuttora controversa ed ha subito, nel tempo, successivi rimaneggiamenti, conseguenti all'evoluzione dei criteri tassonomici da quelli puramente morfologici a quelli gnomici, fino all'impiego delle moderne tecniche di genetica molecolare, con l'intento di stabilire una classificazione quanto più possibile naturale, basata cioè anche sulle affinità filogenetiche delle diverse specie.

Storicamente, la classificazione linneana manteneva distinti i generi *Aegilops* e *Triticum*, riconoscendo in quest'ultimo sette specie. In entrambi i generi individuabile una serie genomica poliploide con un numero cromosomico base $n=7$ e presenza di specie diploidi ($2n=14$) tetraploidi ($2n=28$) ed esaploidi ($2n=42$), chiaramente originatesi in seguito a fenomeni di ibridazione naturale ed allopoliploidia.

Attualmente i due approcci principali nella sistematica dei frumenti riuniscono rispettivamente i due generi in uno solo, *Triticum* o li mantengono separati. Quest'ultimo tende ad essere il criterio più seguito; distingue infatti due linee evolutive differenti: quella del genere *Aegilops*, che comprende esclusivamente specie ad habitus selvatico, e quella del genere *Triticum*, con le forme coltivate ed i loro più diretti progenitori; per questo risponde meglio al concetto di pool genetico primario (gen. *Triticum*) e secondario (gen. *Aegilops*) dei frumenti coltivati, molto utile nel miglioramento genetico.

Il genere *Triticum* è compreso nella famiglia delle Graminacee, della quale fanno parte anche molte altre piante coltivate come il mais, l'orzo, la segale e il riso, detti comunemente cereali in onore di Cerere, la dea latina delle coltivazioni.

1.2.1. Caratteri morfologici della pianta

La pianta adulta del frumento si compone di 4 strutture fondamentali: radice, culmo, foglie e spiga. Da ogni fiore della spiga si origina un frutto chiamato cariosside; i fiori e a maturità le cariossidi sono riuniti in piccoli gruppi per formare un agglomerato detto spighetta; le spighette, a loro volta, sono riunite in una infiorescenza detta spiga.

— *Radice.*

Alla nascita, la piantina emette una radichetta principale che, a sua volta, forma 2 paia di radici secondarie che insieme costituiscono le radici seminali, destinata a perdere importanza a scapito delle radici avventizie, emesse successivamente dalla base del culmo principale e di quelli secondari. La radice del grano è di tipo fascicolato, formata da un fascio di radici, generalmente in numero di 5 ma possono essere anche 7, che si dispongono a raggiera intorno al fusto e si approfondiscono per circa 70-80 cm, ma in condizioni particolari possono raggiungere anche profondità notevoli (2 m). restano vitali per tutto il ciclo della pianta e contribuiscono all'assorbimento di acqua e di elementi nutritivi. Lo sviluppo complessivo dell'apparato radicale è generalmente superiore nelle varietà più alte rispetto a quelle più basse, ma questo dipende anche dalle condizioni ambientali in cui cresce la pianta.

— *Culmo.*

Il culmo del frumento è eretto, fistoloso, ha sezione cilindrica ed è formato da 5 a 8 nodi e internodi, a seconda della specie e varietà. I nodi sono pieni di tessuto spugnoso, mentre gli internodi sono generalmente vuoti: per questo il fusto è chiamato anche culmo. In realtà però, nel grano duro il canale centrale del fusto è pieno di tessuto spugnoso nell'internodo apicale che porta la spiga, o completamente pieno in alcune varietà.

Le vecchie varietà di grano, in prossimità della maturazione, avevano un culmo alto anche fino a due metri. L'altezza del culmo è un carattere molto importante perchè è correlato inversamente con la resistenza del fusto stesso all'azione del vento, della grandine e delle piogge che tendono a piegarlo,

provocando il fenomeno noto come *allettamento*. Nei casi più gravi di allettamento, quando il fenomeno interessava vaste superfici, si formavano grovigli di piante in cui era ostacolata la circolazione dell'aria necessaria a eliminare l'umidità che favoriva lo sviluppo di muffe e di altre malattie crittogame. In queste condizioni erano intralciate anche le operazioni di raccolta. Per evitare o ridurre questi inconvenienti, attraverso miglioramento genetico si sono ottenute le varietà attuali, la cui altezza generalmente è compresa tra 70 e 100 cm. Del culmo, oltre che l'altezza, sono importanti lo spessore e la elasticità, caratteri correlati positivamente con la resistenza della pianta all'allettamento. Caratteristica dei culmi del frumento e dei cereali affini è la cosiddetta *ginocchiatura* delle piante. Essa consiste in una proliferazione di cellule meristematiche presenti nei nodi che permette il raddrizzamento del culmo di piante allettate in corrispondenza di un nodo.

— *Foglie.*

Le foglie sono formate da due parti: una inferiore, la *guaina*, che nasce da un nodo e inguaina l'internodo sovrastante, e una superiore libera, detta *lamina*. Dove confluiscono guaina e lamina si trovano una piccola linguetta detta *ligula* e due estroflessioni della guaina dette *auricole* o *orecchiette*.

Il numero che può variare da 5 a 8, è correlato con la durata del ciclo vegetativo delle piante, ma dipende anche dalle condizioni ambientali e nutrizionali in cui esse vivono.

Il colore è verde più o meno intenso, o glaucescente, quando è presente un sottile strato ceroso. In condizioni di carenza o eccesso di sostanze nutritive, di temperatura o umidità del terreno, il lembo fogliare può assumere colore verde giallognolo o altre colorazioni che possono aiutare, come elementi diagnostici, ad individuare squilibri nutrizionali o condizioni di stress delle piante di altra natura.

La guaina fogliare avvolge completamente il culmo per buona parte nella lunghezza dell'internodo soprastante il nodo di inserimento della foglia sul culmo.

La lamina o lembo ha forma lineare-lanceolata appuntita, con nervature parallelinervie, portamento patente o eretto, con superficie pubescente o glabra a seconda della specie e della varietà. Notevole è l'importanza dell'ultima foglia, *foglia bandiera*, nella fase di riempimento delle cariossidi.

La ligula è ben sviluppata, abbraccia il culmo impedendo la penetrazione dell'acqua piovana, del pulviscolo, polline all'interno della guaina e ha margine frastagliato provvisto di peli sottili.

Le auricole sono sempre presenti, bene evidenti e provviste di peli sottili.

— *Infiorescenza*

È una spiga formata da un asse principale o *rachide*, sul quale sono inserite spiglette solitarie e sessili. La lunghezza del rachide varia da specie a specie e da varietà a varietà. Esso è costituito da nodi e da internodi molto brevi, disposti a zig-zag. Il rachide è fragile, cioè alla trebbiatura si rompe nei punti di inserzione delle spiglette, in alcuni frumenti che non hanno più interesse o ne hanno su superfici molto ridotte per la coltivazione (*T. monococcum*, *T. dicoccon*, *T. spelta*); non è fragile invece negli attuali frumenti coltivati di importanza maggiore. Nei farri coltivati anticamente, le glume e i rivestimenti della cariosside non cadevano facilmente neanche a maturità; in essi, inoltre, il rachide della spiga si frammentava e lasciava cadere prematuramente la granella. Ciò costituiva un ostacolo alla loro coltivazione a causa delle perdite di granella per disseminazione naturale; inoltre liberare dai rivestimenti le poche cariossidi che si riusciva a raccogliere costituiva un onere. Nel corso dei millenni, sfruttando mutazioni ed incroci naturali attraverso le pratiche di selezione naturale, queste caratteristiche negative sono state eliminate, fino ad ottenere gli attuali frumenti, duro e tenero, con un rachide che non si rompe e delle *glume* facilmente asportabili durante le operazioni di trebbiatura, in cui la granella viene liberata dai rivestimenti che vanno poi a costituire la *pula*.

Spigletta

Le *spighette* sono inserite ad ogni nodo del rachide, in posizione alterna su due file opposte. Nei frumenti tenero e duro sono mediamente 18-20 per spiga; nel frumento turgido possono superare anche la trentina.

Ogni spighetta è costituita da un breve asse chiamato *rachilla*, non ramificato, sul quale sono inseriti uno o più fiori, protetti dalle *glume*, che nei frumenti tenero e duro variano da 3 a 8 in funzione della varietà, della posizione della spighetta sulla spiga e di fattori ambientali e nutrizionali; le spighette mediane della spiga portano più fiori di quelle basali e di quelle apicali. Solo in alcune varietà di frumento turgido la rachilla è ramificata. La spiga riunisce circa una ventina di spighette, disposte ai lati di un asse detto rachide.

Le *glume* poste alla base di ogni spighetta hanno lunghezza, forma e colore che variano a seconda della specie e della varietà. Possono avere superficie glabra, pubescente, villosa e colore verde o glauco quando la pianta non ha ancora raggiunto la maturazione.

Fiori.

I fiori del frumento sono protetti da due formazioni membranacee, *glumette* o *glumelle*, che racchiudono l'androceo e il gineceo. Delle due glumette quella inferiore o basale o *lemma*, nel frumento duro e turgido è provvista di una *resta* lunga fino a 20 cm, mentre nel tenero può essere mutica o provvista di una resta più o meno lunga (3-8 cm). Le reste in prossimità della maturazione, possono assumere colorazione rossastra, nera o paglierina. La glumetta superiore, la *palea*, si incastra con il lemma per proteggere il fiore.

L'androceo è costituito da tre stami provvisti di antere voluminose, dorsofisse. Il gineceo è formato da un pistillo con ovario supero monocarpellare e con stilo provvisto di stigma bifido e piumoso. È provvisto di perigonio ma alla base presenta due piccole squame (*lodicole*) che all'antesi idratandosi si gonfiano, determinando la divaricazione delle glumette che permette la fuoriuscita delle antere.

Cariosside

Nella cariosside di frumento si distinguono una parte ventrale e una dorsale. Osservata dorsalmente la cariosside può presentare forma ellittica, ovale, ovoidale. Osservata lateralmente può mostrare forma regolare o gibbosa come nei grani turgidi. Nella parte ventrale della cariosside si nota un solco più o meno accentuato.

Il colore del *pericarpo* può essere chiaro (comunemente si dice bianco) o rosso bruno o di gradazioni intermedie; è violaceo o nerastro in talune varietà di grano duro di nessun interesse per la coltivazione.

L'*endosperma* può avere struttura farinosa, come nei frumenti teneri, turgido, spelta, oppure struttura vitrea e colore ambraceo come nel frumento duro, oppure semivitrea come in alcune varietà di frumento tenero. Nelle cariossidi di grano duro si possono individuare zone farinose, biancastre. Questo fenomeno noto come *bianconatura*, costituisce un difetto qualitativo del prodotto. L'*endosperma* costituisce la parte principale della cariosside e si compone di un insieme di sostanze di riserva che la pianta immagazzina durante la formazione e la maturazione della cariosside, in previsione di nutrire l'embrione durante la fase di germinazione. L'*endosperma* è costituito per gran parte da amido, ma contiene anche un certo tenore di proteine.

La dimensione della cariosside varia a seconda della posizione nella spiga e notevolmente in funzione della specie, della varietà delle condizioni ambientali e nutrizionali in cui la pianta vegeta. Nel frumento tenero il peso medio di una cariosside può variare da 30 a 40 mg, nel frumento duro da 30 a 55 mg.

La superficie della cariosside è liscia, ma quando la maturazione non avviene regolarmente ed è affrettata per improvvisi squilibri idrici della pianta, la cariosside diventa più o meno striminzita e grinzosa.

L'*embrione* è posto nella parte dorsale e basale della cariosside, della quale occupa da 1/4 a 1/6 della lunghezza o anche di più. Nella estremità della cariosside opposta a quella in cui è localizzato l'embrione si nota la presenza di un ciuffo di brevi e sottili peli.

Nell'embrione la *piumetta* è avvolta da una guaina (*coleoptile*); la *radichetta* è avvolta da una specie di cuffia (*coleoriza*). Unito al fusticino o asse embrionale è il cotiledone del seme o scutello, interposto tra l'embrione e l'endosperma.

1.2.2. Fasi fenologiche

Il grano può essere seminato dall'autunno alla primavera. Negli ambienti italiani la semina avviene di solito in autunno, tra la fine di ottobre e l'inizio di dicembre, mentre nell'Europa centro-settentrionale, a causa dell'inverno più rigido, la semina è quasi sempre primaverile. Dopo la semina, il seme nel terreno germina, da origine a una piantina che cresce modificando il suo aspetto e la sua forma fino al momento della raccolta, che in Italia avviene verso l'inizio dell'estate, passando per le seguenti fasi vegetative: germinazione, nascita o emergenza, accostamento, levata, botticella, spigatura, impollinazione-fioritura, fecondazione, viraggio e maturazione.

— Germinazione.

Dopo la semina nella seconda metà di ottobre in buone condizioni di umidità e di temperatura (tra 4 e 37 ° C, con l'ottimo a 20-25 ° C), la cariosside assorbe umidità fino a 45% del suo peso secco rigonfiandosi. Le sostanze di riserva che formano l'endosperma vengono mobilitate e, attraverso lo scutello, arrivano all'embrione che così comincia ad accrescersi, evidenziando un asse ipocotile che si risolve nella radichetta e un asse epicotile verso la piumetta; i due assi confluiscono in una zona chiamata colletto, che si renderà evidente quando la piantina sarà nata.

Entrambi gli assi cominciano ad allungarsi; la radichetta rompe la *coleoriza*, si allunga in una radice principale che si ramifica e sviluppa altre quattro radichette secondarie e tutte cominciano ad approfondirsi nel terreno. Subito dopo anche la piumetta, spinta dall'epicotile comincia ad allungarsi e, protetta dal coleotile, si dirige e raggiunge la superficie del terreno. In questa fase è molto importante che il coleotile sia abbastanza lungo da proteggere la piumetta che si fa strada fra le particelle di terreno; questo tragitto è tanto più

semplificato quanto più è corto e senza ostacoli, pertanto è necessario che il seme sia interrato alla profondità giusta (2-3 cm nei terreni argillosi, 3-5 in quelli sciolti).

— *Emergenza.*

Dopo circa dieci giorni dalla semina, la prima fogliolina che si origina da un nodo alla sommità dell'epicotile rompe il coleotile ed emerge dal terreno, cominciando a svolgere , se le condizioni ambientali sono favorevoli, alcune delle sue funzioni: la fotosintesi clorofilliana per ricavare energia da impiegare nella crescita.

La giovane piantina, in condizioni favorevoli di umidità e temperatura , entra in piena attività dopo l'emissione delle prime 2-3 foglie; infatti, se fino a questo stadio le condizioni ambientali sono sfavorevoli, la piantina continua a trarre nutrimento dall'endosperma. Tenendo presente che a 0 °C ogni attività vegetativa della piantina viene sospesa, occorre programmare bene l'epoca di semina in modo da non far coincidere la nascita delle piantine con i periodi più freddi.

— *Accestimento.*

Quando ancora in autunno la piantina ha emesse 3-4 foglioline alla base del fusticino, dal nodo, formatosi alla nascita sulla sommità dell'ipocotile, si generano ramificazioni (culmi di accestimento) che, similmente al culmo principale, emettono proprie foglie e originano radici avventizie dai nodi basali. L'architettura della pianta cambia vistosamente: dal solo culmo con foglie si evolve un cespo ricco di culmi e foglie. La quantità di nuovi culmi emessi dipende , tra gli altri fattori, innanzi tutto dalla varietà ed è influenzata particolarmente dalla densità di investimento delle piante che sussistono su una certa superficie. In genere un buon accestimento si verifica con l'emissione di 2-3 culmi secondari da ogni culmo principale: un numero maggiore di culmi, nelle nostre condizioni ambientali, causerebbe problemi di competizione fra le piante, con perdite di produzione anche gravi. La fase di accestimento dura tutto l'inverno e parte della primavera (potenzialmente quasi fino alla fioritura delle

piante) e si esaurisce gradualmente, tanto che l'emissione di culmi secondari diviene scarsa già all'inizio della levata.

— *Levata, botticella e spigatura.*

Verso la metà di marzo, considerando l'epoca di semina ottimale che negli ambienti mediterranei va da metà novembre a metà dicembre, quando le temperature cominciano ad aumentare e si portano su valori superiori ai 7-8 °C, i nodi basali si distanziano e il culmo comincia ad allungarsi, e la pianta aumenta in altezza. Questa è la fase di levata. Con l'inizio della levata si ha la differenziazione meristemica dell'apice da vegetativo a riproduttivo. In detta fase si formano gli abbozzi della spiga appena visibili con la lente d'ingrandimento. La spiga, crescendo si rigonfia all'interno della guaina della foglia apicale come una piccola botte, perciò questa fase è detta botticella. Col procedere della stagione, la guaina dell'ultima foglia comincia ad aprirsi e intanto l'ultimo internodo della pianta si allunga ulteriormente e dapprima mostra appena la spiga dai bordi della lamina fogliare, poi la spinge fuori (spigatura).

— *Impollinazione e fioritura.*

Qualche giorno dopo la spigatura, nei singoli fiori della spiga avviene l'impollinazione, cioè le antere si aprono e rilasciano in parte del polline in esse contenuto, che va a depositarsi sullo stimma piumoso alla sommità dell'ovario. A impollinazione avvenuta, le lodicole del fiore assorbono acqua, si ingrossano e, mediante pressione, distanziano la lemma dalla palea in modo che, circa una settimana dopo la spigatura, gli stami fuoriescono all'esterno e la pianta fiorisce. La fioritura, dura circa una decina di giorni cominciando delle spighette centrali della spiga, segue quella delle spighette basali e poi quella delle spighette apicali.

— *Fecondazione, viraggio e maturazione della cariosside*

Uno dei granelli di polline, dopo 1-2 ore dalla deposizione sullo stimma, germina ed emette il tubulo pollinico che si approfondisce fino a raggiungere l'ovulo maturo. Il tubulo pollinico si rompe e lascia fuoriuscire i suoi nuclei che

vanno a fecondare quelli dell'unico ovulo: è questa la fase di fecondazione. Attraverso meccanismi, che si svolgono in circa 40 giorni, nell'ovulo fecondato comincia a formarsi l'embrione e nell'endosperma si accumulano sostanze di riserva; segue poi la formazione della cariosside. In un primo momento le sostanze di riserva assumono la consistenza di un liquido biancastro, maturazione latte, che pian piano, perdendo umidità, si condensa, inizialmente in una massa cerosa, maturazione cerosa, quindi, alla fine del processo, quando l'umidità della granella è di circa 15-18%, assume consistenza farinosa o vitrea, maturazione fisiologica, fino alla caduta delle cariossidi in corrispondenza della maturazione di morte.

In condizioni normali la perdita di umidità procede lentamente durante la maturazione, ma in condizioni ambientali avverse tale processo può essere accelerato, specie nell'Italia meridionale, se all'inizio della maturazione si verificano alte temperature causate da venti caldi: in questi casi la cariosside va incontro alla cosiddetta stretta, cioè perde acqua rapidamente e raggrinzisce. Verso al fine di giugno la cariosside è matura e il grano è pronto per la raccolta. Il processo di maturazione della cariosside si svolge all'interno delle spighe e perciò non può essere osservato direttamente, tuttavia è possibile notarlo perché durante questa fase tutta la pianta cambia colore e, gradualmente, vira dal verde classico al tipico colore paglierino del fusto e della foglia; inoltre la spiga assume colorazione diversa a seconda delle varietà. In questa fase anche la consistenza della pianta cambia: da erbacea diventa fistolosa, perde acqua prestandosi a essere imballata e utilizzata per diversi scopi. Dopo la raccolta sul terreno rimangono le stoppie.

1.3. Coltivazione

L'evoluzione della tecnica di coltivazione del frumento ha trovato supporto nel lavoro di miglioramento genetico, nell'affermarsi della meccanizzazione agricola, nella maggiore disponibilità di fertilizzanti e nella messa a punto di prodotti diserbanti, insetticidi e anticrittogamici.

1.3.1. Avvicendamento

Il frumento è coltura che sfrutta la fertilità residua dei suoli per cui segue e precede le colture sarchiate o le leguminose foraggere. Sono buone precessioni colturali per il frumento le specie da rinnovo (barbabietola mais, bietola, pomodoro, patata, tabacco, girasole, fava, cotone, canapa, sorgo colza), le leguminose e le civaie (fava, pisello, lupino, ceci) poiché questo cereale è in grado di utilizzare molto bene il residuo di fertilità che tali colture normalmente lasciano nel terreno.

Nelle aree meridionali d'Italia è frequente la pratica del ristoppio anche per più anni. Ottima e tradizionale in ambienti cerealicoli di zone aride o semi-aride è la successione del frumento al maggese nudo. Dopo il maggese nudo il cereale trova il terreno pulito da malerbe, buona disponibilità di elementi nutritivi derivanti dalla mineralizzazione della sostanza organica e, nei climi aridi, una migliore riserva d'acqua.

1.3.2. Scelta della varietà

La scelta della varietà da coltivare è di primaria importanza per ottenere le migliori rese quantitative e qualitative di prodotto.

Nelle singole zone è opportuno impiegare le varietà che dalla sperimentazione risultano più adatte, utilizzando sementi certificate dall'ENSE (Ente Nazionale Sementi Elette) che offrono garanzie di purezza genetico-varietale, germinabilità, energia germinativa.

Delle molte varietà di frumento ognuna ha infatti peculiari caratteristiche che la rendono adatta ad essere impiegata in taluni ambienti e non adatta ad

altri. La scelta va fatta perciò considerando le caratteristiche della pianta in funzione delle esigenze imposte da condizioni pedoclimatiche, fitosanitarie, di infestazione di malerbe, dei mezzi tecnici impiegati nella produzione, di eventuali problemi di resistenza della pianta verso trattamenti di difesa e della quantità del prodotto che si vuole ottenere.

1.3.3. Preparazione del terreno per la semina.

Le lavorazioni preparatorie alla coltura del frumento sono molto varie e sono condizionate dalla natura dei suoli. L'aratura a media profondità con l'impiego dell'avanvomere per l'interramento completo dei residui della coltura precedente è auspicabile nel caso di ristoppio o quando la coltura segue i medicaia o i prati in genere e colture sarchiate quali mais, tabacco, soia. Alla prima lavorazione normalmente ne seguono altre per completare lo sminuzzamento del terreno, con attrezzi quali l'estirpatore, frangizolle, fresa, erpice a dischi e erpice a denti, per interrare eventuali prodotti, quali diserbanti o concimi, fino all'ottenimento delle condizioni per poter effettuare una buona semina.

Nelle aziende moderne si tende a rendere rapidi ed a ridurre gli interventi (minimum tillage). Infatti oggi sono disponibili ottime seminatrici per la semina su terreno poco o non lavorato che danno buoni o ottimi risultati.

1.3.4. Semina

La semina si effettua a 3-5 cm di profondità, impiegando nelle regioni settentrionali 400-500 semi germinabili m⁻², corrispondenti a seconda del peso specifico e della germinabilità a 160-220 kg ha⁻¹. Nelle regioni meridionali per il grano duro sono sufficienti 350 cariossidi a m².

L'epoca ideale di semina per le regioni settentrionali varia dalla metà alla fine di ottobre, nel centro Italia si posticipa di 15 giorni circa, mentre nel meridione è utile seminare dalla metà di novembre ai primi di dicembre.

La semina può essere eseguita a spaglio o a file, ma oggi è fatta a file con l'impiego di seminatrici. Il lavoro di semina del frumento va completato con una

leggera rullatura nei terreni soffici o asciutti. La rullatura fa aderire meglio le cariossidi al terreno e quindi facilita l'assorbimento di acqua necessario perché avvenga la germinazione.

1.3.5. Concimazione

La produzione del frumento è fortemente influenzata dalla disponibilità di elementi nutritivi nel suolo. La quantità di elementi nutritivi necessari alla pianta varia in funzione di fattori genetici e di condizioni ambientali. Più alte sono le rese di prodotto, maggiori sono le quantità di sostanze nutritive assorbite.

L'assorbimento di elementi nutritivi avviene in quantità notevoli durante la fase della levata, al termine della quale la pianta ha assorbito non meno del 70-80% delle sue esigenze totali.

Concimazione azotata

L'azoto è l'elemento determinante la produzione in quanto stimola la crescita della pianta e migliora la qualità del prodotto. L'eccesso di azoto provoca l'allettamento, la diffusione delle malattie, la stretta. La carenza riduce lo sviluppo vegetativo, si manifesta con la clorosi ed influenza notevolmente la produzione.

La quantità di azoto da apportare alla coltura con i concimi azotati varia però da caso a caso, in funzione di diversi fattori.

Rilevante è l'influenza delle condizioni climatiche sulla dose di concime azotato da distribuire alla coltura. Nelle zone semiaride ed aride la quantità di azoto deve essere contenuta, per evitare che il lussureggiamento della pianta comporti un alto consumo idrico, così che nella fase di maturazione l'acqua disponibile nel terreno sia insufficiente.

La concimazione azotata deve essere adeguata come quantità alle esigenze varietali e deve essere eseguita in momenti precisi. Generalmente vengono eseguiti tre interventi: prima della semina con concimi ammoniaci o ureici; alla fine dell'inverno con nitrato ammonico o con concimi nitrici; all'inizio della levata con concimi nitroammoniacali o ureici.

Nelle condizioni dell'Italia settentrionale e centrosettentrionale può ritenersi media una dose di azoto di 120-150 kg ha⁻¹, ma si arriva anche ai 200 kg ha⁻¹. Nell'ambiente caldo arido del Mezzogiorno e delle Isole non si superano invece i 100-200 kg ha⁻¹.

Concimazione fosfatica

Il fosforo interviene come equilibratore dell'assorbimento e dello sviluppo della pianta ed è indispensabile fin dalle prime fasi, ma l'assorbimento più intenso si verifica durante la levata. La fosfocarenza riduce l'accrescimento e si manifesta anche con pigmentazione antociana delle foglie.

La dose di concime da distribuire varia in funzione degli stessi fattori già ricordati parlando della concimazione azotata, ma la loro influenza nel caso della concimazione fosfatica è meno marcata.

Tenendo presenti le asportazioni di fosforo di una coltura di frumento, si può ritenere che la distribuzione di una quantità di fosforo in pre-semina espressa in P₂O₅ pari a 70-100 kg ha⁻¹ possa essere sufficiente a soddisfare le asportazioni e a mantenere nel tempo la dotazione in fosforo del terreno su livelli di sufficienza.

A differenza di quanto si ha per l'azoto, un eccesso di concime fosfatico non influisce negativamente sulla quantità di prodotto.

Concimazione potassica

Il potassio agisce come stimolante della fotosintesi e conferisce resistenza al freddo ed alla siccità. La sua carenza si manifesta con un'alterazione della colorazione delle foglie e con l'essiccamento degli apici fogliari.

Nelle zone mediterranee caratterizzate da piovosità scarsa e da terreni argillosi, la concimazione potassica del frumento ha mediamente minore importanza in quanto i terreni sono normalmente ricchi di potassio assimilabile, per il basso dilavamento e per l'alto contenuto di minerali argillosi. Il frumento non è tra le

piante a più elevate esigenze in potassio per cui in questi terreni non è necessario concimare con il potassio.

La determinazione del contenuto in potassio scambiabile del terreno è di significativo interesse per valutare l'opportunità di eseguire la concimazione potassica o meno.

Si può ritenere che una dose di concime che apporti una quantità di potassio, espressa come K_2O , di 100-150 kg ha⁻¹ possa ritenersi sufficiente nei terreni poveri di questo elemento, mentre nei terreni ben dotati possono essere sufficienti 50 kg ha⁻¹.

1.3.6. Lotta contro le erbe infestanti

Nonostante l'alta densità di piante a metro quadro, notevole è la diffusione di infestanti che riducono la produzione del frumento. Il calo della resa di granella dovuto alle malerbe in colture non diserbate, è compreso tra poche unità percentuali fino a 70-80%, con valori molto frequenti fino al 20-30%.

La pratica del diserbo chimico è ormai generalizzata in quanto la sarchiatura meccanica è oggi impossibile per la piccola distanza fra le file. Allo stato attuale si dispone di una gamma di diserbanti che copre bene tutte le esigenze. I prodotti erbicidi specifici per il frumento sono numerosi ed in molti casi, per aumentare lo spettro d'azione, si impiegano miscele di principi attivi graminicidi e dicotiledonici.

Contro le specie graminacee si ottengono buoni risultati con trattamenti pre-emergenza con prodotti ad azione graminicida. Risultati altrettanto buoni si hanno con i trattamenti in post-emergenza con un solo prodotto o con l'associazione di due diversi prodotti per controllare anche le dicotiledoni..

1.3.7. Raccolta e conservazione del prodotto

In Italia la raccolta del frumento inizia nella terza decade di maggio nelle zone più calde della Sicilia, della Sardegna, della Calabria, della Puglia; nella seconda metà di giugno nell'Italia centrale; a fine giugno inizio luglio nell'Italia settentrionale.

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Attualmente la raccolta del frumento avviene con le mietitrebbiatrici. Nei terreni declivi la mietitrebbiatura ha trovato una buona soluzione tecnica nell'uso delle mietitrebbia autolivellanti con le quali è possibile operare anche in terreni con il 15-20% di pendenza.

La mietitrebbiatura viene eseguita quando le piante hanno raggiunto la fase di maturazione di morte e la granella presenta un umidità inferiore al 14%, grado di umidità tale da permettere la conservazione senza dovere procedere all'essiccazione artificiale del prodotto.

Nel lavoro di mietitrebbiatura è molto importante il corretto impiego delle mietitrebbia per rendere minime le perdite di granella in campo.

Dalla mietitrebbiatura del frumento si ottengono anche la *pula*, che rimane sul campo, e la *paglia* che viene raccolta con pressaraccogliatrici per balle parallelepipedo o con rotopresse per balle cilindriche. Qualora la paglia non trovi utilizzazione in azienda o conveniente collocazione sul mercato viene bruciata o interrata.

L'interramento migliora le condizioni fisiche del terreno, soprattutto nei terreni argillosi, e favorisce inoltre il contenimento di quelle malattie in cui agenti di moltiplicazione si conservano nella paglia stessa.

In Italia le rese unitarie più elevate si hanno nella Pianura Padana, dove si ottengono medie aziendali che superano $6-7 \text{ t ha}^{-1}$ e nelle zone di pianura dell'Italia centrale, in cui si registrano rese di $5-6 \text{ t ha}^{-1}$. Le rese più basse, fino a $1,5-2 \text{ t ha}^{-1}$, si hanno in comprensori delle regioni meridionali e insulari dove sono limitanti le condizioni di clima semiarido.

1.4. Usi alimentari del frumento

I cereali sin dall'antichità hanno svolto un ruolo importante nell'alimentazione umana. La loro coltivazione è largamente diffusa in tutto il mondo grazie soprattutto alle loro caratteristiche:

- possono essere coltivati in un'ampia fascia di condizioni climatiche ed ambientali;
- danno una buona resa di sostanze nutritive per unità di territorio coltivato;
- i semi raccolti hanno un'umidità relativamente bassa (13-16%) in confronto agli altri alimenti di origine vegetale (80-90%) e quindi si conservano anche per lunghi periodi senza richiedere particolari trattamenti.

La cariosside di frumento risulta costituita da tre parti fondamentali: l'embrione (17% del peso totale), l'endosperma (75-83%) e il pericarpo (8-10%). Delle sostanze nutritive presenti nella cariosside intera, l'endosperma contiene quasi tutto l'amido, il 90-92% delle proteine, il 43% della vitamina B5 (acido pantotenico), il 32% della vitamina B2 e il 12% della vitamina B3 (o PP). Nell'embrione troviamo gran parte dell'olio e dei grassi della cariosside (complessivamente ne costituiscono circa il 2-3%), ma anche l'8% delle proteine, il 64% della vitamina B1 (tiamina) e il 21% della vitamina B6 (piridossina). Durante la molitura i sei strati che compongono il pericarpo, lo strato più esterno dell'endosperma (aleurone) e gran parte dell'embrione vengono rimosse andando a costituire la crusca che rappresenta circa il 14-20% della cariosside. Delle sostanze nutritive presenti nella cariosside intera, la crusca contiene il 19% delle proteine, l'86% della vitamina B3, il 50% della vitamina B5, il 42% della vitamina B2 (riboflavina) e il 33% della vitamina B1, oltre a gran parte dei Sali minerali. Ovviamente queste sostanze nutritive non vanno perse quando la crusca è macinata insieme all'endosperma per produrre farina integrale. Bisogna però ricordare che il processo di raffinatura

migliora la conservabilità nel tempo e la sicurezza d'uso della farina rendendo questo processo nel complesso favorevole e quindi conveniente per la nostra salute.

1.4.1. Il frumento nella dieta mediterranea

Nelle abitudini alimentari mediterranee il frumento soddisfa per circa 1/3 il fabbisogno giornaliero di energia e di proteine di un adulto (~2.400 kcal/die). Da un punto di vista nutrizionale la farina di frumento è un alimento che fornisce circa 320 kcal/100 g, con un valore energetico che proviene per l'80% da carboidrati a lento assorbimento e per il 15% da proteine con un valore nutritivo non elevato (per la ridotta quantità di lisina e treonina), scarso è il contributo da parte dei lipidi, soprattutto nelle farine raffinate. Per questo motivo il frumento è un alimento di base che necessita di altri alimenti per il completamento delle potenzialità nutrizionali della frazione proteica, come ad esempio l'abbinamento con leguminose. Questa usanza tradizionale trova una spiegazione nella complementarità tra le composizioni aminoacidiche delle proteine di questi due alimenti. Quelle del grano completano la loro carenza di lisina e di treonina con il surplus di questi aminoacidi nelle proteine dei legumi e queste ultime compensano la loro carenza in aminoacidi solforati (metionina e cisteina) con le proteine del grano (Cannella, Pogna, 2007).

Questa complementarità è alla base della tradizione gastronomica mediterranea che vede per esempio il formaggio completare il valore nutritivo della pasta, del pane e della pizza.

L'apporto nutritivo del frumento cambia in conseguenza del processo di raffinazione. Infatti con la crusca viene allontanata quella frazione non digeribile che viene comunemente chiamata *fibra* ed è stato dimostrato che l'alimentazione a base di cereali raffinati deve essere integrata con un adeguato consumo di frutta e ortaggi per assicurare un apporto di fibra sufficiente alle necessità del nostro intestino (20-25 g/die) (Cannella, Pogna, 2007).

1.4.2. Sicurezza alimentare

A livello mondiale milioni di persone si ammalano e muoiono per malattie trasmesse dagli alimenti o da acqua contaminata. I rischi per la salute pubblica sono dovuti a rischi di tipo microbiologico, chimico o fisico. Una persona su tre nei paesi industrializzati può essere affetta ogni anno da malattie trasmesse da alimenti. Negli Stati Uniti ad esempio circa 76 milioni di infezioni legate al consumo di alimenti comportano 325.000 ospedalizzazioni e 5.000 morti ogni anno (Pasini, 2006).

Contaminanti chimici possono essere tossici naturali come le micotossine e le tossine marine, metalli pesanti come il mercurio, il piombo o il cadmio, i radionuclidi e le diossine. Additivi chimici e nutrienti come le vitamine e i minerali essenziali o gli agrofarmaci impiegati per aumentare la produzione di cibo devono sempre garantire sicurezza.

La contaminazione chimica dei cibi può creare problemi dopo una singola esposizione o più spesso dopo una esposizione di lunga durata.

La maggior parte delle malattie trasmesse per via alimentare colpisce generalmente i singoli individui e spesso non viene riportata all'autorità nazionale, ma altre volte esse si manifestano in forma epidemica, come nel caso delle infezioni da salmonellosi ed epatite A, comportano in certi casi il coinvolgimento di centinaia di migliaia di persone.

Recentemente si è assistito allo sviluppo di nuovi agenti responsabili di malattie trasmesse per via alimentare o alla recrudescenza di agenti conosciuti (malattie emergenti o riemergenti). Tra questi *Escherichia coli*; la *Listeria monocytogenes*, l'encefalopatia bovina spongiforme e l'influenza aviaria.

Tra le cause della comparsa di infezioni emergenti vi è la globalizzazione economia che può comportare minori controlli per abbattere il costo degli alimenti o l'allungamento dei tempi di conservazione degli alimenti, l'introduzione di patogeni con i viaggi internazionali, il cambiamento delle caratteristiche dei microrganismi e la crescente resistenza ai farmaci come gli antibiotici, l'invecchiamento della popolazione e il cambiamento degli stili di vita.

A causa dei drammatici casi di inquinamento e contaminazione degli alimenti si è registrata un'accresciuta sensibilità verso la qualità degli alimenti, il benessere animale e il rispetto dell'ambiente. La sicurezza alimentare viene attualmente percepita come un diritto inalienabile da parte dei consumatori e, per perseguirla, vengono richiesti adeguati controlli che assicurino la qualità organolettica, igienica e nutrizionale. La reazione ai problemi alimentari sopra ricordati ha altresì determinato una forte attenzione verso i prodotti ottenuti con metodi di coltivazione biologica (La Torre et al., 2004).

1.4.3. La normativa sulle *fusarium*-tossine nei cereali

Le produzioni cerealicole presentano un'alta probabilità di contaminazione da funghi, che, a loro volta, possono produrre micotossine con conseguenze negative sia di tipo economico che di sicurezza per la salute del consumatore (D'Egidio, Desiderio, 2006).

Le micotossine che con più frequenza si riscontrano nel frumento, sia tenero che duro, sono le tossine prodotte da alcuni funghi del genere *Fusarium*. Le cariossidi infette determinano seri problemi di sicurezza alimentare, poiché diverse specie di *Fusarium*, in condizioni ambientali favorevoli, possono produrre micotossine che si accumulano nelle cariossidi. In particolare *F. graminearum* e *F. culmorum* producono il deossinivalenolo (DON), detto anche *vomitossina*, una micotossina che nei mammiferi può causare effetti neurotossici e immunotossici ed è responsabile negli allevamenti zootecnici di sindromi ematiche e anoressiche caratterizzate da vomito, rifiuto di alimento e riduzione del peso corporeo (Campagna et al., 2005).

Per assicurare la libera circolazione delle merci e per tutelare la salute pubblica, mantenendo i contaminanti a livelli accettabili sul piano tossicologico, è stato emanato il regolamento (CE) n. 315/93 del 08/03/1993. Questo regolamento è stato adottato dalla Commissione Europea allo scopo di stabilire procedure comuni armonizzate che si possano applicare ai contaminanti presenti nei prodotti alimentari (Collauto, 2006).

L' articolo 1 di questo regolamento dà la definizione di contaminante, inteso come:

“ogni sostanza non aggiunta intenzionalmente ai prodotti alimentari, ma in essi presente quale residuo della produzione (compresi i trattamenti applicati alle colture e al bestiame e nella prassi della medicina veterinaria), della fabbricazione, della preparazione, della trasformazione, del trattamento, del condizionamento dell'imballaggio, del trasporto o dello stoccaggio di tali prodotti o in seguito alla contaminazione dovuta all'ambiente”.

L'articolo 2 stabilisce che un prodotto alimentare non può essere commercializzato se contiene un contaminante in quantitativi inaccettabili sul piano tossicologico. Pertanto esse prevede che vengano fissati livelli per ogni contaminante a seconda dei diversi prodotti alimentari. Allo stesso tempo devono essere individuati i metodi di campionamento e di analisi da applicare per verificare la conformità degli alimenti a tali livelli;

L'articolo 5 prevede la possibilità per gli Stati membri di adottare, qualora reputino opportuno, misure diverse da quelle stabilite a livello comunitario, previa notifica alla Commissione Europea di tali misure e delle motivazioni connesse alle stesse.

Al fine di garantire un elevato livello di protezione della salute pubblica, in virtù dell'articolo 2 del Regolamento (CE) 315/93, la Commissione europea ha emanato il Regolamento (CE) n. 466/2001, che fissa i tenori massimi ammessi nelle derrate alimentari per alcuni contaminanti. Tale regolamento riporta nell'allegato, 4 categorie di contaminanti:

- nitrati;
- aflatossine;
- metalli pesanti, quali piombo, cadmio e mercurio;
- 3-monocloropropandiolo.

L'elenco dei contaminanti sopra elencati e relativi tenori massimi ammissibili sono stati più volte modificati sulla base dei progressi compiuti in

campo scientifico e tecnico, dei miglioramenti delle pratiche agricole e dei risultati di studi effettuati dagli stati membri che hanno messo in luce la necessità di limitare la presenza di nuovi contaminanti e di regolamentare nuove tipologie di prodotti alimentari.

A seguito dei pareri espressi dal Comitato scientifico dell'alimentazione umana (SCF), organo tecnico della Commissione europea, e dei risultati degli studi condotti dagli Stati membri, la Commissione europea ha fissato con il Regolamento (CE) n. 856/2005 i tenori massimi ammissibili anche per le fusariotossine, inizialmente non comprese nel campo di applicazione del regolamento del 2001 (*tabella 1*).

Infatti i dati raccolti dagli Stati membri in merito al livello di contaminazione delle *Fusarium*-tossine negli alimenti hanno evidenziato che tali micotossine sono ampiamente diffuse nella catena alimentare e in particolare nei prodotti a base di cereali (frumento e mais).

Di fatto il regolamento (CE) n. 856/2005 aggiorna l'elenco dei contaminanti di cui al Regolamento (CE) n. 466/2001 stabilendo tenori massimi ammissibili per il deossinivalenolo (DON), lo zearalenone (ZEA), le fumonisine e le tossine T-2 e HT-2.

La maggior parte dei tenori massimi ammissibili per il DON e lo ZEA sono entrati in vigore a partire dal luglio 2006, ad eccezione dei limiti fissati per alcune tipologie di prodotti alimentari che sono entrati in vigore dal luglio 2007.

I tenori massimi fissati per le *Fusarium*-tossine si riferiscono ad una serie di prodotti alimentari a base di cereali, tra cui sono compresi anche i prodotti destinati all'alimentazione dei lattanti e dei bambini, come definiti dal DPR n. 128 del 07/04/1999.

I metodi di campionamento, preparazione del campione e analisi per il controllo ufficiale dei tenori massimi ammissibili di *Fusarium*-tossine nei prodotti alimentari sono stabiliti dal Regolamento (CE) n. 401/2006 del 23/02/2006. Tale regolamento detta le modalità generali da seguire per il prelievo dei campioni, il numero di campioni elementari da prelevare in funzione del peso della partita di

cereali e i criteri a cui devono conformarsi i metodi di analisi analogamente a quanto già fissato per il controllo ufficiale delle altre micotossine.

Il Regolamento (CE) 1831/2003 del 22 settembre 2003 definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti, fra cui le micotossine, nei prodotti alimentari. I limiti (tenori massimi) vengono espressi in microgrammi per chilogrammo ovvero in parti per bilione (ppb). Il Regolamento prende in considerazione anche le tossine T-2 e HT-2 non fissandone un limite massimo, ma richiamando la necessità di raccogliere altri dati e svolgere ulteriori ricerche (Baccarini et al., 2007).

Tabella 1: Normativa comunitaria sui contaminanti alimentari e sulle micotossine.

Anno	Provvedimento	
1993	Regolamento (CE) n. 315/1993	Stabilisce procedure comunitarie relative ai contaminanti nei prodotti alimentari
2001	Regolamento (CE) n. 466/2001	Definisce i tenori massimi di taluni contaminanti presenti nelle derrate alimentari.
2005	Regolamento (CE) n. 856/2005	Modifica il regolamento (CE) n. 466/2001 per quanto riguarda le <i>Fusarium</i> -tossine
2006	Regolamento (CE) n. 401/2006	Metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di micotossine nei prodotti alimentari
2006	Regolamento (CE) n. 1881/2006	Definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari

1.5. La fusariosi della spiga

La fusariosi della spiga è una delle principali malattie del frumento in tutti gli areali di coltivazione; è infatti diffusa in Europa, Sud Africa, Sud America, Stati Uniti, Canada, Australia e Asia dove può colpire oltre il frumento, numerose graminacee. In Italia è stata segnalata sin dal 1900 ed è sempre più frequentemente segnalata nelle principali aree cerealicole italiane.

Si tratta di una malattia complessa dato che ne sono responsabili numerose specie fungine appartenenti soprattutto al genere *Fusarium*. Le specie fungine associate alla malattia sono numerose, ma quelle prevalenti sono: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, e *F. poae*.

1.5.1. Sintomi

Nel frumento la malattia causa il disseccamento delle spighe, che appaiono sbiancate rispetto alla parte sana della spiga, che rimane di colore verde. La differenza di colore fra parti infette e parti sane è un importante aspetto diagnostico che va però attenuandosi con il progredire della maturazione. Il disseccamento può essere parziale o totale.

Se l'attacco è particolarmente grave, oltre che a disseccare completamente la spiga, il patogeno può infettare la parte terminale del culmo, immediatamente sotto l'inserzione della spiga, che appare imbrunita. Se il clima è particolarmente umido, possono comparire sulle glume cuscinetti di spore (sporodochi) di colore arancio-salmone. Le cariossidi si presentano striminzite e di colore scuro tendente al rossastro. Lo striminzimento non è però un sintomo costante della presenza di funghi micotossigeni, in quanto le cariossidi infettate tardivamente, in uno stadio avanzato di maturazione, possono presentarsi di dimensioni normali. Nel grano duro le cariossidi spesso perdono il loro aspetto traslucido e appaiono opache.

1.5.2. Danni

La fusariosi determina il disseccamento prematuro delle spighe. In caso di gravi infezioni l'effetto sulla produttività dei cereali può essere devastante. Il quadro dei danni causati dalla malattia è comunque articolato; si possono avere:

- riduzione della produzione (dovuta al minor numero di cariossidi, alla riduzione delle dimensioni e del loro peso unitario e specifico);
- peggioramento delle caratteristiche qualitative della granella (distruzione delle pareti cellulari con alterazione della frazione lipidica e riduzione di quella proteica);
- diminuzione della germinabilità e del vigore germinativo di semi;
- accumulo di micotossine.

L'accumulo delle micotossine ha inizio in campo e può modificarsi nelle successive fasi di raccolta, stoccaggio e trasformazione. Il problema coinvolge quindi l'intera filiera produttiva. È stato dimostrato che alla presenza di deossinivalenolo (DON), che è la micotossina più importante per diffusione e concentrazione nelle cariossidi di frumento, è correlata la presenza delle altre fusariotossine; pertanto, nella pratica, la determinazione del DON definisce in modo sufficientemente corretto il livello di rischio di una partita (Rossi V., 2006).

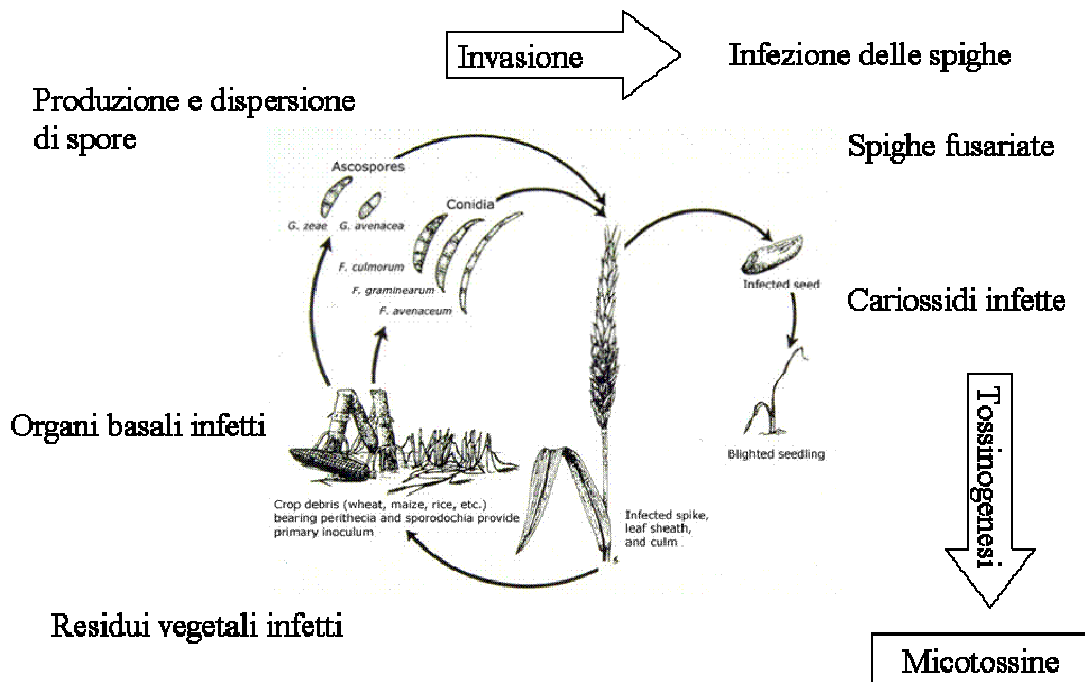
1.5.3. Biologia ed epidemiologia

Il ciclo della fusariosi della spiga (*Disegno 1*) è stato studiato a fondo per *F. graminearum* ma è comune ai diversi agenti causali della malattia. I patogeni responsabili possono conservarsi nel suolo o come clamidospore (spore durevoli), nelle specie capaci di produrle, e/o come micelio nei residui colturali infetti, nei culmi e nelle cariossidi cadute al suolo, qualora le condizioni climatiche non siano troppo proibitive. Per le specie che infettano anche il mais, e segnatamente per *F. graminearum*, i residui colturali svolgono un ruolo molto importante per la quantità e la longevità dei residui nel suolo in quanto su di essi può formare i periteci (corpo fruttifero gamico) e resistere più a lungo alle

avverse condizioni climatiche. Anche i residui colturali di frumento rappresentano una principale fonte di inoculo, in quanto diversi agenti responsabili della fusariosi della spiga sono anche coinvolti nella sindrome del 'mal del piede' che interessa le parti basali del culmo, fra questi *F. culmorum* e *F. graminearum*.

Su residui e organi vegetali infetti i funghi producono le spore che, diffuse nell'ambiente, tramite il vento o la pioggia, causano le infezioni a carico delle spighe. Il genere *Fusarium* è, da questo punto di vista, polimorfico. Alcune specie producono solo spore agamiche, in forma di macro e/o microconidi, mentre altre producono anche ascospore all'interno di aschi contenuti nei periteci.. Queste differenze hanno importanti risvolti sugli aspetti epidemiologici. I macroconidi (*F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae*, *F. avenaceum*), prodotti in ammassi gelatinosi di colore rosato-aranciato, detti sporodochi, necessitano della pioggia per essere dispersi nell' ambiente; le distanze percorse da queste spore sono generalmente limitate alle traiettorie degli schizzi e si misurano nell'ordine di decimetri e/o metri. I microconidi (*F. poae*) non presentano questo tipo di aggregazione e possono essere quindi allontanati dalle correnti d'aria. I periteci sono strutture tondeggianti aperti alla sommità, di colore nerastro, che espellono le ascospore quando vengono umettati da piogge o forti bagnature; le ascospore entrano così nelle correnti d'aria e vengono diffuse anche a grandi distanza. Risulta pertanto evidente che alcuni funghi si diffondono a distanze considerevoli anche indipendentemente dalle piogge (patogeni detti *air-borne*), mentre altri hanno diffusione limitata e strettamente legata alle piogge (*splash-borne*). Questi ultimi, fra i quali *F. culmorum* e le forme conidiche di *F. graminearum*, possono pertanto raggiungere le spighe solo in occasione delle piogge; affinché le spore possano giungere dai residui sul terreno o dalle parti basali delle piante alle spighe. Più le piogge sono prolungate e a intermittenza maggiore sarà la quantità di inoculo presente sulle spighe.

Disegno 1: Tappe fondamentali del ciclo della fusariosi della spiga.



Una volta che le spore arrivano sulle spighe, in presenza di condizioni termoigrometriche favorevoli, germinano e producono tubetti germinativi che penetrano ed infettano i tessuti della spiga; ascospore e conidia hanno la stessa capacità di causare infezioni. Anche in questo caso le specie fungine hanno differenti esigenze ecologiche, per quanto concerne i cardinali termici, la durata della bagnatura degli organi vegetali e il tenore igrometrico dell'aria. (tabella 2).

La pioggia svolge un ruolo determinante anche nel bagnare le spighe, in modo da favorire l'avvio del processo d'infezione. A infezione avvenuta, il fungo non rimane localizzato nel sito d'infezione, ma diffonde le proprie ife nei tessuti della spiga, invadendoli progressivamente. La velocità di questa invasione dipende dalla temperatura, secondo valori diversi da specie a specie, e dalla disponibilità di acqua nei tessuti vegetali (acqua libera o a_w). Durante la fase di invasione, i funghi capaci di sintetizzare micotossine accumulano questi composti tossici nei tessuti vegetali. Le condizioni che determinano la sintesi di

micotossine ed in particolare di DON sono ancora la temperatura e la a_w , ma con limiti più ristretti rispetto alla crescita miceliare. (*tabella 2*).

Tabella 2: principali caratteristiche ecologiche ed epidemiologiche delle più importanti specie fungine agenti della fusariosi della spiga su frumento (Rossi, 2006).

Agenti	Conservazione dell'inoculo	Diffusione dell'inoculo	Infezione delle spighe	Invasione	Sintesi di micotossine
<i>F. avenaceum</i>	residui infetti; terreno	Splash-borne (macroconidi) Air-borne (microconidi)	LW prolungata RH elevata T 27°C (ampio range)	T 20-25°C	
<i>F. culmorum</i>	residui infetti; terreno; mal del piede	Splash-borne	LW anche breve bassa 28-30°C	RH T $a_w > 0,90$ T 20-24 °C	$a_w > 0,95$ T 20-25 °C
<i>F. graminearum</i>	residui infetti (mais); terreno	Splash-borne (macroconidi) Air-borne (ascospore)	LW prolungata RH elevata 25-30°C	T $a_w > 0,90$ T 22-24 °C	$a_w > 0,95$ T 25-30 °C
<i>F. poae</i>	residui infetti; terreno	Splash-borne (macroconidi) Air-borne (microconidi)			T 20-30 °C

Legenda: Splash-borne indica la diffusione delle spore attraverso gli schizzi e gli aerosol generati dalle gocce di pioggia che impattano sulle sedi di produzione delle spore; Air-borne indica la disseminazione delle spore attraverso le correnti d'aria; LW indica la bagnatura degli organi vegetali; T la temperatura, RH l'umidità relativa dell'aria, a_w l'acqua libera.

I sintomi della malattia compaiono alcuni giorni dopo l'infezione; e in condizioni particolarmente umide, i funghi possono produrre sulle spighe disseccate ammassi di sporodochi.

Nel periodo compreso fra la spigatura e la raccolta possono susseguirsi più infezioni. Nel frumento lo stadio di maggiore suscettibilità è la fioritura, ma anche le spighe in stadio più avanzato di maturazione possono però essere infettate. Le infezioni più precoci generalmente impediscono la formazione della cariosside nel sito d'infezione, quelle che colpiscono le cariossidi nelle prime fasi di sviluppo ne determinano lo striminzimento, mentre quelle tardive, dopo che la cariosside si è formata, non precludono il normale sviluppo, ma ospitano comunque il patogeno e possono pertanto contenere quantità rilevanti di micotossine. La gravità delle infezioni dipende quindi dal numero di infezioni stagionali, dal numero di spighe infette, dal loro stadio di sviluppo al momento dell'infezione e dalla velocità di invasione della spiga da parte dei funghi. Il contenuto di DON dipende, oltre che dai suddetti elementi, dal tempo che il fungo ha avuto a disposizione per invadere le cariossidi e sintetizzare il composto chimico (Rossi V., 2006).

1.5.4. Monitoraggio

Il monitoraggio in campo della fusariosi della spiga viene comunemente effettuato mediante la stima dell'incidenza e della gravità della malattia. L'incidenza, intesa come numero di spighe malate sul totale, può essere stimata visivamente sull'intero campo o parcella o, più praticamente, su uno o più sottocampioni rappresentativi dell'intero campo, avendo cura di evitare le zone di bordo.

La gravità tiene conto dello sviluppo della malattia sulla singola spiga, che può essere valutata contando il numero di spighe infette per ciascuna spiga su un campione rappresentativo di 100-200 spighe. Più praticamente, si fa ricorso all'uso di scale di valutazione mediante le quali le spighe con diversi livelli di infezione vengono assegnate a classi corrispondenti a percentuali di infezione crescenti. A seconda della scala adottata, il numero di classi può variare da 5 a 10.

Il monitoraggio della specie fungine associate alla fusariosi della spiga rappresenta un importante strumento di prevenzione per approntare idonei metodi di lotta. Esso viene effettuato in laboratorio, mediante l'utilizzo di tecniche sia convenzionali sia molecolari.

I metodi convenzionali più utilizzati per il monitoraggio della micoflora fitopatogena sono quelli che prevedono l'incubazione della semente, in quanto permettono di individuare infezioni sul seme altrimenti non evidenziabili con la semplice osservazione al microscopio o con il lavaggio superficiale della semente. I metodi più utilizzati prevedono l'utilizzo di diversi substrati di crescita (carta, agar) per i quali variano sia la durata sia la temperatura di incubazione a seconda del tipo di seme e di patogeno. L'identificazione delle più importanti specie di funghi tossigeni è basata principalmente su caratteristiche morfo-colturali. In generale i metodi convenzionali sono economici e la loro esecuzione non richiede attrezzature particolarmente costose. Tuttavia essi richiedono tempi lunghi e una notevole esperienza per il riconoscimento delle specie fungine (Infantino, Mulè, 2006).

L'identificazione basata su metodi molecolari presenta notevoli vantaggi rispetto a quella morfotassonomica, tra i quali: elevata specificità e ripetibilità, semplicità di esecuzione e rapidità di risposta, assenza di variabilità legata al ciclo di sviluppo del fungo da identificare e alle condizioni ambientali, possibilità di analisi contemporanea di diversi loci in un ceppo d'analizzare, indipendentemente dalla loro espressione fenotipica che è legata a una particolare fase del ciclo vitale o a particolari strutture stomatiche.

Tra le diverse tecniche attualmente a disposizione per la messa a punto di marcatori molecolari per l'analisi qualitativa e quantitativa della contaminazione fungina si ricordano: l'analisi delle sequenze degli acidi nucleici, la PCR (reazione di polimerizzazione a catena), l'analisi dei polimorfismi di restrizione (AFLP-Amplified fragment length polymorphism) e la PCR Real-Time (Mulè *et al.*, 2002; 2004).

1.5.5. Suscettibilità

Monitoraggi eseguiti su cultivar di frumento duro hanno consentito di evidenziare un diverso grado di suscettibilità varietale nei confronti della fusariosi della spiga. In particolare, alcune varietà largamente diffuse nel territorio, quali Simeto e Duilio, hanno mostrato un elevato grado di suscettibilità, al pari di Verdi, Varano e Gianni. Di contro, Cresco, Colorado, Neodur, Lloyd e Giotto hanno evidenziato un limitato grado di suscettibilità (Balmas *et al.*, 1999).

1.5.6. Tecniche agronomiche per limitare la diffusione della malattia

Il manifestarsi di questa sindrome è strettamente correlata alla presenza di inoculo nel terreno e di particolari condizioni ambientali (temperature alte ed elevate piovosità) durante le fasi di maggiore sensibilità del cereale (dalla spigatura alla maturazione latteo-cerosa). Siccome non è possibile intervenire sull'andamento climatico, possiamo agire solo nel ridurre il potenziale di inoculo nel terreno. Con i metodi agronomici di lotta si interviene sulle pratiche colturali che tendono a ridurre il potenziale di inoculo nel terreno. Il fattore principale dell'incremento dell'inoculo nel terreno è, infatti, la presenza dei residui colturali

infetti in relazione con la specie vegetale in precessione e il tipo di lavorazione del terreno adottato. I residui colturali costituiscono un substrato di conservazione e moltiplicazione degli agenti patogeni responsabili della fusariosi della spiga; per tale motivo dovranno essere eliminati o quantomeno interrati profondamente. La tecnica colturale di semina su sodo lascia in superficie i residui colturali permettendo ai patogeni presenti in essi di svilupparsi e diffondersi qualora le condizioni ambientali lo permettano. È quindi consigliabile, nelle zone a rischio di fusariosi della spiga, evitare tale tecnica colturale. Un altro accorgimento da adottare è quello di effettuare ampi avvicendamenti, evitando la monosuccessione o rotazioni tra cereali autunno-vernini e soprattutto evitando la successione con mais. Infatti questo cereale è sensibile agli stessi patogeni responsabili della fusariosi della spiga, soprattutto a *Fusarium graminearum* agente causale anche del marciume del culmo e della spiga di mais. L'impiego di seme sano e conciato contribuisce a diminuire la carica patogena nel terreno, in quanto sul seme si possono ritrovare numerosi patogeni responsabili della fusariosi della spiga. Tuttavia la concia per essere efficace dovrà essere effettuata con sostanze attive che siano in grado di agire nei confronti delle specie di *Fusarium* responsabili della fusariosi della spiga. Prove di concia effettuate con diverse sostanze attive hanno evidenziato che sia 'tebuconazolo' sia 'procloraz' sono in grado di proteggere il frumento da *F. culmorum* soprattutto nelle prime fasi di sviluppo (Balmas, 2006).

I metodi chimici di lotta, basati sull'impiego di prodotti da applicare sulla spiga, sono consigliati qualora si sia accertato il reale rischio di infezione e l'effettiva efficacia del prodotto chimico verso il patogeno o i patogeni responsabili della fusariosi. Prove di confronto di efficacia di diverse sostanze attive hanno dimostrato come 'procloraz', 'tebuconazolo' e 'bromoconazolo' siano in grado di ridurre la presenza della malattia. Tuttavia una buona sostanza attiva, oltre a ridurre l'infezione sulla spiga, deve essere in grado di ridurre la contaminazione da micotossine. Prove effettuate in Francia hanno mostrato come 'metconazolo' e 'tebuconazolo' riducono la presenza di DON rispetto al testimone non trattato. La sostanza dovrà essere applicata in

prossimità dell'evento infettante e nel momento di maggiore sensibilità del cereale.

1.6. Micotossine

Le micotossine sono prodotti tossici del metabolismo secondario di varie specie fungine, in particolare del genere *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Il termine metabolita secondario significa che non si è in grado di attribuire loro alcun ruolo evidente nella crescita dell'organismo che le produce (Haouet *et al.*, 2003). La presenza di micotossine in prodotti di origine vegetale destinati sia all'alimentazione umana che animale è continuamente segnalata in indagini condotte in tutto il mondo, anche a concentrazioni tali da indurre micotossicosi (Bottalico, 2002).

Le micotossine, pur risalendo a tempi remoti, sono state scientificamente oggetto di studio, specie nel campo veterinario, solo a partire dal 1850 quando si è dimostrata l'associazione tra l'ingestione di segale contaminata con sclerosi di *Claviceps purpurea* e la comparsa di casi di ergotismo. Uno degli esempi meglio documentati di micotossicosi umana risale agli anni '40, nel distretto di Oremberg in Russia, dove fu descritta l'insorgenza di una tossicosi alimentare correlata all'ingestione di cereali colonizzati da *Fusarium sporotrichioides* e da *F. poae*. L'inizio della moderna micotossicologia è databile al 1960, anno in cui vennero identificati le *aflatossine*, prodotte da *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, e la loro presenza correlata alla "malattia X" del tacchino.

Le micotossine oltre ad essere molto diverse tra loro dal punto di vista chimico, mostrano una notevole gamma di effetti biologici dovuti alla loro capacità di interagire con diversi organi e/o sistemi bersaglio. Per tale ragione, esse sono classificate in immunotossine, dermatossine, epatotossine, nefrotossine oppure sulla base del loro effetto cronico in mutagene, cancerogene e teratogene. Tutte queste attività biologiche sono dovute ad interazioni delle micotossine e/o i loro derivati con DNA, RNA, proteine funzionali, cofattori enzimatici, costituenti di membrana (Haouet *et al.*, 2003).

Gli effetti tossici possono dare origine a fenomeni patologici di tipo acuto ed il rischio maggiore risiede nel loro accumulo che può originare sintomatologie di tipo cronico. Gli effetti tossici osservati consentono di

classificare le patologie in micotossicosi acute primarie, croniche primarie e croniche secondarie. Il primo gruppo comprende patologie, talvolta mortali, dovute all'introduzione di micotossine in quantità molto elevate in un periodo di tempo molto limitato. Al contrario le micotossicosi croniche primarie sono fenomeni meno pericolosi sul breve termine, difficilmente diagnosticabili e di conseguenza comportano notevoli danni economici (Haouet *et al.*, 2003). Le micotossine causano seri danni alla salute umana e possono provocare notevoli danni economici negli allevamenti e negli impianti zootecnici dovuti ad un calo nelle fasi produttive e riproduttive.

Le micotossine non costituiscono una classe chimica ma hanno tra loro strutture molto diverse. Il metabolismo primario è fondamentalmente lo stesso, mentre quello secondario dipende invece dalla specie e talvolta dal ceppo fungino. Da ciò la gran diversità di molecole prodotte, anche se per famiglie di prodotti simili. Attualmente sono note più di 300 micotossine e sono stati elencati numerosi generi di funghi produttori di micotossine, anche se la maggior parte delle ricerche sono concentrate su aflatossine, ocratossine, tricoteceni, zearalenone e fumonisina. Solo il 7% delle oltre 300 micotossine identificate si ritrovano negli alimenti a livelli significativamente elevati tali da costituire un pericolo per la salute umana. Tra le micotossine meglio conosciute e studiate che creano maggiori preoccupazioni per la salute umana si riportano le famiglie delle aflatossine prodotte soprattutto dall'*Aspergillus*, delle ocratossine e patulina prodotte da *Penicillium* e degli zearalenoni, fumonisine e tricoteceni prodotti dal *Fusarium*.

1.6.1. Fattori influenzati lo sviluppo di funghi e la formazione di micotossine

- Umidità ambientale o acqua libera (aw)

L'aw è un parametro cui prestare molta attenzione. Infatti la colonizzazione fungina degli alimenti si verifica più frequentemente di quella batterica a livelli di aw inferiori a 0,85; questo non perché i funghi non possano crescere a tenori più elevati, ma piuttosto perché i batteri sono fortemente

competitivi e diventano la microflora predominante a valori di aw compresa tra 0,85 e 1,00, in particolare con livelli superiori a 0,90-0,93. Con un'aw compresa tra 0,85 e 0,93, solo alcuni batteri possono moltiplicarsi rapidamente, in particolare i batteri lattici e cocchi, per cui l'invasione da parte di muffe e lieviti prende il sopravvento.

In base alle loro differenze di comportamento in funzione delle disponibilità di acqua, le specie fungine sono state classificate in:

- igrofile: le spore germinano solo a valori di aw superiori a 0,90 e la crescita ottimale si colloca a 1,00;
- mesofile: le spore germinano a valori compresi tra 0,80 e 0,90 di aw; la crescita ottimale si osserva tra 0,95 e 1,00;
- xerofile: le spore germinano a valori di aw inferiori a 0,80 e la crescita ottimale si osserva intorno a 0,95.

Il valore di aw minimo al quale è stata osservata una crescita fungina è di 0,61. tuttavia, non si conoscono specie tossigene in grado di crescere con valori di aw < 0,78, inoltre, i livelli minimi richiesti per la sintesi delle micotossine sono generalmente superiori a quelli necessari per la crescita fungina.

A valori di aw bassi (0,25-0,30), l'acqua è fissata al substrato con legami energetici forti, ma man mano che questi livelli aumentano, cresce il suo grado di disponibilità (o libertà) ed i suoi legami con il substrato diventano più deboli.

Non va dimenticato che la disponibilità di acqua dipende anche da fattori ambientali; così l'aw limite per la tossinogenesi è tanto più bassa quanto più la temperatura si avvicina a quella ottimale per una determinata specie fungina.

La relazione fra aw e umidità non è lineare e ogni tipo di derrata ha una sua propria curva di assorbimento, o curva di equilibrio acqua-substrato, detta isoterma di assorbimento dell'acqua; questo fattore spiega come il tenore in acqua corrispondente al valore di aw da non superare (0,65 circa) per assicurare una buona conservazione sia diversa in funzione dell'alimento. Ad esempio, a temperature di 25°C, l'umidità non deve superare il 13-13,5% per i cereali, e il 7-8% per i semi oleaginosi.

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

- Temperatura

Generalmente le temperature ideali per lo sviluppo di un microrganismo fungino sono comprese tra 15 e 30 °C, con un optimum di 20-25 °C.

Tuttavia alcune specie, quale *Cladosporium herbarium*, presentano una crescita apparente a -6°C ed altre quali alcune specie di *Penicillium*, possono manifestarsi su pesce congelato a -20°C. Ad alte temperature generalmente il micelio non si manifesta se si escludono alcune specie patogene, quale *Aspergillus fumigatus* che alle temperature corporee infestano visibilmente le prime vie respiratorie e che tollera temperature pari o superiori ai 50°C.

Ben oltre i 35-40°C sopravvivono invece le forme di riproduzione di alcune specie, quale il *Monilia sitophila*, tipico contaminante ambientale dei panifici, che causa l'ammuffimento arancione del pane, o l'*Aspergillus flavus*, abitante indesiderato dei tunnel di essiccamento delle paste alimentari in cui produce una flora molto abbondante.

Altre muffe ancora possono crescere a temperature sia basse che elevate; è il caso del *Botrytis cinerea*, ospite indesiderato delle colture in serra e agente di ammuffimento di frutta frigo conservata; questa si sviluppa benissimo a 20°C ma la sua crescita resta veloce anche a 5°C.

- pH e ossigeno

Lo sviluppo del micelio avviene a valori di pH compresi fra 4 e 8; tuttavia, alcuni microrganismi fungini possono manifestarsi anche a valori più bassi o più elevati, modificando opportunamente l'acidità del mezzo, man mano che il micelio si sviluppa. Le muffe sono generalmente organismi aerobi che si sviluppano sulla superficie dei substrati. Diverse specie tuttavia possono crescere anche in profondità, come lo *Stachybotrys*, o in mezzi liquidi, con basso tenore di ossigeno, assumendo un aspetto levuliforme o gelatinoso, o ancora in atmosfera modificata con CO₂ e N₂ (Haouet *et al.*, 2003).

1.6.2. Tossinogenesi

Se sussistono le condizioni ambientali sopra descritte, lo sviluppo delle muffe negli alimenti è poco influenzato dalla natura del substrato. Non è invece il caso della produzione delle loro micotossine, dove il tipo di substrato e le condizioni ambientali assumono dei limiti molto più delineati.

Infatti la tossinogenesi è favorita da livelli di aw dei substrati superiori a quelli richiesti per lo sviluppo fungino, e comunque sempre vicino a 0,90. L'umidità del substrato, espresso come aw è pertanto il vincolo principale per prevenire la tossinogenesi in un alimento, per cui il suo controllo è diventato indispensabile, per esempio in mangimistica.

Relativamente alle condizioni termiche, i diversi funghi producono le tossine entro valori che possono variare a seconda del tipo di fungo e della tossina prodotta. È pertanto difficile generalizzare dei limiti di contenimento, se si esclude la produzione di aflatossine che non sono mai state isolate al di sotto dei 10 °C, neanche in substrati fortemente ammuffiti.

Il tenore di ossigeno e l'acidità del substrato rappresentano fattori irrilevanti per il potenziale tossinogenico delle muffe.

Il tipo di substrato è invece l'elemento che probabilmente più di ogni altro influenza la tossinogenesi. È ormai noto che i vegetali favoriscono la produzione di micotossine, più dei substrati animali; la presenza soprattutto di amido sembra incrementare la micotossinogenesi e, in particolare, la presenza di zinco limitatamente alla sintesi delle aflatossine. I cereali, i semi oleaginosi e la frutta secca sono al vertice degli alimenti più frequentemente contaminati da aflatossine, tra i quali il mais, arachidi e semi di cotone rappresentano i prodotti più a rischio. La frutta e i loro succhi sono invece i principali veicoli di patulina, mentre i cereali quelli di ocratossina. Tra gli alimenti di origine animale, il latte è uno degli alimenti i cui la migrazione di aflatossine è più evidente, qualora le vacche siano alimentate con prodotti zootecnici molto contaminati. Essendo legate alle proteine, le aflatossine si possono trovare anche nei prodotti lattiero-caseari. Va considerato che nei formaggi è possibile ritrovare, oltre le aflatossine, altri prodotti tossici elaborati dalle muffe presenti sulla crosta.

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Per quanto riguarda la carne, è ormai stabilito che applicando basse temperature nella produzione e nella conservazione, il rischio di micotossinogenesi è estremamente limitato. Anche la contaminazione delle uova da micotossine è rara; può eventualmente derivare dalla contaminazione dei mangimi utilizzati per l'alimentazione delle galline ovaiole. Per la migrazione delle aflatossine è stato calcolato un fattore di conversione pari a 2200, occorrono cioè 2200 ppb di aflatossine nei mangimi per ritrovare 1 ppb nelle uova deposte (Haouet *et al* 2003).

1.6.3. Effetti delle micotossine sulla salute umana

Le micotossine presenti negli alimenti possono provocare varie patologie a danno sia di animali che di persone.

Le aflatossine possono provocare danni al fegato, diminuzione della produzione di latte e di uova e carenza immunitaria in animali che abbiano consumato anche basse quantità di alimento contaminato senza che vi siano manifestazioni cliniche evidenti. Sebbene solitamente siano i giovani animali i più suscettibili, tutte le età possono essere colpite. I segni clinici tipici sono: disfunzioni gastroenteriche, riduzione della riproduzione, inappetenza, anemia e ittero. Gli animali da latte possono essere contaminati a loro volta da metaboliti di aflatossine presenti nel latte.

Le micotossine tricotecene, fra cui il deossinivalenolo, rappresentano un vasto gruppo che causa necrosi ed emorragie in tutto il tratto digestivo, riduzione dei processi rigenerativi del sangue, del midollo e della milza ed inoltre mutazioni agli organi riproduttivi. Le affezioni sono manifestate da calo del peso, scarsa assunzione del cibo, temporanea inappetenza, vomito, diarrea emorragica, aborto spontaneo e morte. La diminuzione delle difese immunitarie è un significativo sintomo di assunzione di micotossine tricotecene.

Lo zearalenone determina uno sconvolgimento delle attività ormonali legati alla riproduzione che portano a ipofertilità e iperestrisimo. Concentrazioni elevate possono causare problemi al concepimento dovute ad un mancato impianto degli ovuli e conseguente sviluppo fetale.

L'ocratossina-A danneggia i reni degli animali domestici e selvatici che abbiano consumato cibo contaminato da questa micotossina. Alte concentrazioni di alimenti contenenti ocratossina-A possono causare danni al fegato, necrosi e emorragie intestinali.

Almeno tre micotossine (aflatossina, ocratossina e sterigmatocistina) sono conosciute come induttori di tumori in una o più specie animale. Il cancro può svilupparsi nel fegato, reni, sistema urinario, tratto digestivo e polmone.

Il comportamento di queste micotossine, la loro diffusione e patogenicità, rende questo gruppo di tossine naturali un costante rischio per la contaminazione dei cibi e un conseguente pericolo per la salute animale ed umana (Haouet *et al*, 2003).

1.6.4. Il deossinivalenolo (DON)

Il deossinivalenolo, che in ragione dei suoi effetti sul bestiame è conosciuto anche come *vomitossina*, si presenta come una tra le più recenti micotossine isolate nelle farine, insilati, granaglie in generale. Gli effetti più evidenti sul bestiame ed in particolare nei suini, sono: inappetenza, scarsa ritenzione del cibo, vomito, perdita del peso corporeo, irritazioni cutanee, lesioni emorragiche, depressione immunitaria e diarrea nei lattonzoli. Nell'uomo, il deossinivalenolo è un contaminante soprattutto di cariossidi di riso e di frumento nonché di prodotti di seconda trasformazione quali fiocchi di avena e di riso, destinati all'alimentazione dei bambini. È stata ormai accertata l'interdipendenza tra la leucopenia tossica alimentare, che ha colpito più volte la popolazione della Russia orientale, e il consumo di cereali ammuffiti in cui sono stati isolati tricoteceni e altre micotossine prodotte da specie del genere *Fusarium* (Haouet *et al* 2003).

Indagini condotte a livello internazionale hanno evidenziato un grado di contaminazione da DON pari al 57% dei campioni di frumento analizzati provenienti da tutto il mondo, mentre per l'Europa il grado di contaminazione del frumento è risultato essere pari al 61% dei campioni analizzati (FAO, Who; 2001; Schothorst e Van Egmond, 2004).

La contaminazione di cereali e prodotti derivati da deossinivalenolo è quindi un problema di rilevanza internazionale, con gravi ripercussioni socio-economico-sanitarie, anche in ragione dei limiti di legge che la Commissione europea ha fissato. Infatti a seguito dei pareri del Comitato Scientifico dell'alimentazione umana (SCF), organo tecnico della Commissione europea, e dei risultati degli studi condotti dagli Stati membri, la Commissione europea ha fissato con il Regolamento (CE) n. 856/2005 tenori massimi ammissibili anche per le fusariotossine, inizialmente non comprese nel campo di applicazione del Regolamento(CE) n. 466/2001. Infatti, i dati raccolti dagli Stati membri in merito al livello di contaminazione delle *Fusarium*-tossine negli alimenti hanno evidenziato che tali micotossine sono ampiamente diffuse nella catena alimentare e in particolare nei prodotti a base di cereali. La maggior parte dei limiti fissati per il DON è in vigore dal mese di luglio 2006, come riportato in *tabella 3*.

Tabella 3– Tenori massimi fissati per il deossinivalenolo (DON).

	DON (µg/kg)
Cereali non trasformati diversi da grano duro, avena e mais	1.250
Grano duro e avena non trasformati	1.750
Mais non trasformato	1.750(*)
Farina di cereali, inclusa la farina e la semola di mais	750
Prodotti di panetteria, pasticceria, biscotteria, merende a base di cereali e cereali da colazione	500
Pasta (secca)	750
Alimenti trasformati a base di cereali destinati a lattanti e bambini e alimenti per l'infanzia	200
(*) Tale tenore è entrato in vigore il 1° luglio 2007	

Come si può notare i valori massimi fissati per il DON per il frumento duro sono diversi a seconda del livello di trasformazione e della destinazione

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

d'uso. Infatti il frumento duro viene utilizzato generalmente solo dopo trasformazione. Come noto, due sono le tappe fondamentali nella trasformazione del frumento nei principali prodotti finiti pasta e pane: la molitura e la pastificazione o panificazione. Il processo di molitura o macinazione elimina gli strati tegumentali della cariosside di frumento e permette l'ottenimento degli sfarinati che poi verranno impiegati per le trasformazioni successive, riducendo significativamente al tempo stesso sia composti utili (vitamine, fibre, composti bioattivi, ecc.), che sostanze dannose (ad esempio micotossine) di cui gli strati periferici della cariosside sono ricchi (D'Egidio e Desiderio, 2006). A tal riguardo, dati recenti riportati da Campagna *et al.* (2005), mostrano che posto pari a 100 il livello di DON in cariossidi di frumento duro non pulite, il livello nelle stesse cariossidi scende al 76% dopo le semplici operazioni di pulitura, si riduce fino al 36% nella semola, al 33% nella pasta secca e al 20% nella pasta cotta, quest'ultima diminuzione dovuta alla lisciviazione nell'acqua di cottura della pasta, essendo il DON una molecola idrosolubile.

Parallelamente, gli stessi dati mettono in rilievo un aumento considerevole del livello di contaminazione da DON nei sottoprodotti della macinazione, crusca, pertanto particolare attenzione deve essere posta nell'utilizzazione degli stessi sia nell'alimentazione animale che umana.

2. MATERIALI E METODI

Al fine di valutare l'influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla contaminazione da DON nella granella di frumento duro sono state svolte prove sperimentali nel biennio 2006/07 e 2007/08 nel campo didattico-sperimentale di Santa Lucia (OR) del Dipartimento di Scienze Agronomiche e Genetica Vegetale Agraria dell'Università degli Studi di Sassari.

Il campo sede delle prove è ubicato nella Sardegna centro-occidentale e ricade nel comprensorio irriguo del Campidano di Oristano; esso è localizzato a 39°59'N e 8°40'E, a 15 m s.l.m. Nelle aree circostanti il campo sono attuate normalmente sia colture in irriguo quali riso, mais, erba medica, ed ortive varie che in asciutto come frumento e cereali minori e colture foraggere da destinare alla fienagione.

I terreni sono di origine alluvionale classificati come *Typic Eutric Haplic Fluvisol* (WRB). Sono in generale terreni profondi, a tessitura sabbio-argillosa; sotto l'aspetto chimico sono a reazione neutra, poveri in sostanza organica, carbonati ed azoto totale, sufficientemente dotati di fosforo assimilabile e ricchi in potassio scambiabile. Come caratteristiche idrologiche presentano una buona dotazione di acqua disponibile per l'elevata capacità idrica di campo.

Nel campo didattico-sperimentale, oltre a tutte le attrezzature specifiche per condurre le prove, è ubicata, in un prato irriguo di festuca della superficie di circa 3000 m², una stazione agro-meteorologica automatica per il rilevamento dei principali parametri meteorologici.

2.1. Prova realizzata nel 2006-07

Nel primo anno di prove, adottando uno split-split-split-plot con quattro replicazioni, sono state messe a confronto le seguenti tesi:

- due precessioni colturali: ringrano e mais ceroso in secondo raccolto;
- due modalità di preparazione del terreno: minima lavorazione con eliminazione e non dei residui colturali dopo cereale;

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

- due varietà di frumento duro scelte in funzione della maggiore o minore suscettibilità nei confronti della fusariosi: Colosseo (bassa suscettibilità) e Simeto (elevata suscettibilità);
- due concimazioni azotate: N1=100 kg ha-1 e N2=150 kg ha-1 ;
- trattamenti fungicidi, due tesi: T1= non trattato e T2= trattato;
- trattamento della semente, due tesi: conciato con fungicida specifico e non conciato.

Il campo è stato suddiviso in quattro parti uguali contraddistinte con le lettere A, B, C e D come da *figura 3*

Figura 3: suddivisione del campo in quattro parti contraddistinte con le lettere A, B, C e D (prova S. Lucia – Oristano).

B Con residui colturali di frumento INCOLTO	C Senza residui colturali di frumento INCOLTO
A Con residui colturali di frumento MAIS	D Senza residui colturali di frumento MAIS

Nelle aree A e B sono stati lasciati i residui colturali del frumento mentre nelle aree C e D sono stati asportati. Nelle parti contraddistinte con A e D è stato seminato il mais, un ibrido di classe 600. In *tabella 4* sono riportati le

principali tecniche agronomiche riguardanti la coltivazione del mais nelle aree A e D.

Tabella 4: Scheda agronomica relativa alla coltivazione del mais nei settori del campo contraddistinti con le lettere A e D (S. Lucia – Oristano).

Coltura precedente	Frumento duro
Irrigazione pre-semina (m^3ha^{-1})	250
Concimazione pre-semina (kg ha^{-1})	
- N_2 da urea agricola	125
- P_2O_5 da supertriplo	90
Semina su terreno lavorato mediante fresatura	26 giugno 2006
Diserbo in pre-emergenza con <i>pendimethalin</i>	30 giugno 2006
Emergenza	3 luglio 2006
Concimazione in copertura (kg ha^{-1})	
- N_2 da urea agricola	100
Irrigazione per aspersione (m^3ha^{-1})	~ 4.500
Raccolta a maturazione cerosa	27 settembre 2006

Dopo la raccolta del mais, eseguita il 27 settembre per trinciato, in ciascun settore sono stati prelevati campioni di terreno per le analisi fisico-meccaniche e chimiche degli strati di terreno 0-20 e 20-40 cm i cui risultati sono riportati nella *tabella 8*. Successivamente, nei settori A e D, si è provveduto alla preparazione del letto di semina mediante fresatura ed erpicatura.

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Prima della semina del frumento è stata effettuata una concimazione differenziata per i settori A-D (precedente colturale mais) e B-C (precedente colturale frumento) ed una preparazione del letto di semina, in tutti e quattro i settori, con una erpicatura con erpice rotante e successiva rullatura con rullo scanalato.

Il frumento è stato seminato in tutti e quattro i settori, come rappresentato nella *figura 4*, utilizzando due varietà scelte in funzione della maggiore o minore suscettibilità nei confronti della fusariosi: Colosseo (bassa suscettibilità) e Simeto (elevata suscettibilità). Metà della semente, inoltre, è stata concia con Procloraz.

Le tesi sono state confrontate in diverse combinazioni di precessione colturale, ringrano (B e C) e mais ceroso in secondo raccolto (A e D), e modalità di preparazione del letto di semina, minima lavorazione con eliminazione e non dei residui colturali dopo il frumento (B e C).

La semina è stata eseguita con una seminatrice parcellare adottando un investimento di 350 semi germinabili m⁻².

Figura 4: semina del frumento nei quattro settori contraddistinti dalle lettere A, B, C e D.

B Ringrano con residui colturali Frumento	C Ringrano senza residui colturali Frumento
A Precedente colturale mais ceroso Frumento	D Precedente colturale mais ceroso Frumento

Le principali informazioni sulle modalità di esecuzione, sulle lavorazioni e rilievi fenologici della prova sono riportate in *tabella 5*.

Tabella 5: scheda agronomica della prova S. Lucia – Oristano 2006-07

Settori	A, B C e D
Lavorazione terreno	
- Fresatura	16 ottobre 2006
- Erpicatura con erpice rotante	6 novembre 2006
Concimazione pre-semina	6 novembre 2006
- Erpicatura con erpice rotante	7 novembre 2006
Superficie parcella (m ²)	10,08
Semina	8 novembre 2006
- Rullatura con rullo scanalato	8 novembre 2006
Diserbo	16 gennaio 2007
- <i>Thifensulfuron + tribenuron</i> (Marox DF) (g ha ⁻¹)	30
Concimazione azotata in copertura	
Data	14 febbraio 2007
- Tesi N1 (kg ha ⁻¹)	27
- Tesi N2 (kg ha ⁻¹)	52
Data	09 marzo 2007
- Tesi N1 (kg ha ⁻¹)	27
- Tesi N2 (kg ha ⁻¹)	52
Trattamento fungicida alla spigatura	19 marzo 2007
<i>Epossiconazolo</i> (Opus) (g ha ⁻¹)	1000
<i>Procloraz</i> (Sportak 45 EW) (g ha ⁻¹)	1300
Rilievi sulle principali malattie fungine	26 marzo 2007

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Raccolta	21 giugno 2007
----------	----------------

Per compensare l'asportazione minerale dovuta al precedente mais, si è differenziata la concimazione in pre-semina nei settori A-D e B-C così come descritto nella *tabella 6*.

Tabella 6: scheda della concimazione pre-semina nei diversi settori. S. Lucia (OR) 2006-07.

Settori	A e D – intercalare di mais A – con residui colturali frumento D – senza residui colturali frumento	B e C – ringrano B – con residui colturali frumento C – senza residui colturali frumento
Concimazione pre-semina (kg ha ⁻¹)	6 novembre 2006	6 novembre 2006
- N ₂ da urea agricola	46	46
- P ₂ O ₅ da supertriplo	180	90
- K ₂ O da solfato di potassio	100	50

Per studiare il diverso effetto della concimazione azotata sono state eseguite due concimazioni in copertura, la prima il 14 febbraio e la seconda il 9 marzo 2007. In entrambe le date sono stati distribuiti 27 kg ha⁻¹ per le tesi N1 e 52 kg ha⁻¹ per le tesi N2.

In totale, fra concimazione pre-semina e concimazione in copertura, sono stati somministrati 100 kg ha⁻¹ per le tesi N1 e 150 kg ha⁻¹ per le tesi N2.

Per quanto riguarda il trattamento fungicida, sono state messe a confronto le tesi "trattato" (T1) e "non trattato" (T2). Per le tesi "trattato" è stato eseguito, il 19 aprile 2007, un trattamento fungicida con prodotti specifici contro le principali malattie fungine del frumento duro.

È stata impiegata una miscela di due prodotti, *Epossiconazolo* (Opus) e *Procloraz* (Sportak 45 EW), che presentano uno spettro d'azione complementare.

Epossiconazolo della famiglia dei triazoli, è efficace contro Septoria, Ruggini, e Oidio mentre *Procloraz*, è efficace verso *Fusarium* e gli agenti causali del complesso del Mal del Piede.

I rilievi eseguiti per parcella hanno riguardato: le date delle principali fasi fenologiche, emergenza, numero di piante m⁻² all'emergenza, levata, accestimento, botticella, comparsa delle reste, spigatura, antesi, maturazione latte e cerosa, percentuale di piante allettate, il numero di spighe m⁻² alla raccolta e l'altezza delle piante.

Sette giorni dopo il trattamento fungicida è stata verificata, in tutte le tesi e repliche, la presenza di malattie fungine, ruggine bruna, septoria, fusariosi, e la loro incidenza.

La raccolta con mietitrebbia parcellare, è stata eseguita il 21 giugno 2007 e sulla granella sono stati determinati per ciascuna parcella: la produzione, l'umidità della granella alla raccolta, il peso ettolitrico, il peso di 1000 cariossidi, la percentuale delle cariossidi bianconate.

Su un campione di 300 g di granella di tutte le tesi e repliche, sono state effettuate le analisi relative alle contaminazioni da micotossine (DON). I campioni sono stati analizzati presso l'Unità di Ricerca per la Valorizzazione Qualitativa dei Cereali (CRA-QCE) di Roma con test immunoenzimatico (ELISA). Le analisi sono state effettuate con il sistema automatico ad alta velocità per la preparazione di micropiastre (BRIO).

2.2. Prova realizzata nel 2007-08.

Sulla scorta dei risultati delle prove dell'anno precedente si è deciso di modificare il piano sperimentale. Sono state confrontate le seguenti tesi:

- due varietà di frumento duro scelte in funzione della maggiore (Simeto) o minore (Colosseo) suscettibilità nei confronti della fusariosi;
- due concimazioni azotate: N1=100 kg ha⁻¹ e N2=150 kg ha⁻¹;
- trattamenti fungicidi, due tesi: T1= non trattato e T2= trattato.

È stato adottato uno schema sperimentale a blocco completamente randomizzato con otto ripetizioni.

La prova è stata realizzata nello stesso campo utilizzato per la prova del 2006-07 e per evitare errori di effetti residui dovuti alle tesi dell'anno precedente (precedente colturale, dose di azoto, trattamenti fungicidi) la semina è stata eseguita rispettando la posizione delle parcelle come nell'anno precedente.

Sono state effettuate le analisi fisico-meccaniche e chimiche- degli strati di terreno a 0-20 e 20-40 cm.

Nel mese di novembre si è provveduto alla preparazione del letto di semina mediante eliminazione dei residui colturali, rippatura ed frangizollatura.

Prima della semina del frumento è stata effettuata una concimazione pre-semina seguita da erpicatura con erpice rotante.

La semina è stata eseguita con una seminatrice parcellare adottando un investimento di 350 semi germinabili m⁻².

Le principali informazioni sulle modalità di esecuzione, sulle lavorazioni e rilievi fenologici della prova sono riportate in *tabella 7*.

Tabella 7: scheda agronomica prova S. Lucia – Oristano 2007-08.

Lavorazione terreno - Rippatura - Frangizollatura	4 novembre 2007 5 novembre 2007
Concimazione pre-semina (kg ha ⁻¹) - N ₂ da urea agricola - P ₂ O ₅ da supertriplo - K ₂ O da solfato di potassio	20 novembre 2007 46 90 50
- Erpicatura con erpice rotante	20 novembre 2007
Superficie parcella (m ²)	10,08
Semina	21 novembre 2007
Rullatura con rullo scanalato	21 novembre 2007
Diserbo <i>mefenpir-dietile e Iodosulfuron-metil-sodio</i> (Hussar) (l ha ⁻¹) <i>dioxaottodecilsolfato di sodio, dioxaeicosilsolfato</i> (Biopower) (l ha ⁻¹)	9 gennaio 2008 1,25 1,00
Concimazione azotata in copertura con nitrato di ammonio Data - Tesi N1 (kg ha ⁻¹) - Tesi N2 (kg ha ⁻¹) Data - Tesi N1 (kg ha ⁻¹) - Tesi N2 (kg ha ⁻¹)	18 gennaio 2008 27 52 11 aprile 2008 27 52
Trattamento fungicida - <i>Epossiconazolo</i> (Opus) (g ha ⁻¹) - <i>Procloraz</i> (Sportak) (g ha ⁻¹)	24 aprile 2008 1000 1300

Raccolta	23 giugno 2008
----------	----------------

Per studiare il diverso effetto della concimazione azotata sono state effettuate due concimazioni in copertura, la prima eseguita il 18 gennaio e la seconda il 11 aprile 2008. In entrambe le date sono stati distribuiti 27 kg ha⁻¹ per le tesi N1 e 52 kg ha⁻¹ per le tesi N2.

In totale, fra concimazione presemina e concimazione in copertura, sono stati somministrati 100 kg ha⁻¹ di azoto per le tesi N1 e 150 kg ha⁻¹ per le tesi N2.

Per quanto riguarda il trattamento fungicida, sono state messe a confronto le tesi "trattato" (T1) e "non trattato" (T2). Per le tesi T1 è stato eseguito, il 24 aprile 2008, un trattamento fungicida con la stessa miscela di prodotti utilizzati nell'anno precedente.

Anche per il secondo anno di prova sono stati effettuati in ciascuna parcella tutti i rilievi riguardanti le principali fasi fenologiche, la presenza di malattie fungine e i dati produttivi.

La raccolta con mietitrebbia parcellare, è stata eseguita il 23 giugno 2008 e sulla granella raccolta di tutte le tesi e repliche, sono state effettuate le analisi relative alle contaminazioni da micotossine (DON).

2.3. Metodica analitica

Per le analisi dei campioni di granella sono stati utilizzati i kit Elisa che si basano su reazioni immunoenzimatiche.

La procedura prevede la macinazione accurata di 300g di granella di ciascun campione. Da un campione della farina così ottenuta viene estratto, con acqua mediante agitazione, il deossinivalenolo (DON), in quanto tale micotossina è idrosolubile. L'estratto così ottenuto viene filtrato e inserito all'interno di pozzetti che "catturano" la micotossina. Nei pozzetti viene inserito l'enzima coniugato, l'estratto dal campione e l'anticorpo che avvia la reazione. Durante l'incubazione che dura circa 10 minuti, il DON presente nell'estratto e l'enzima coniugato competono per il legame con l'anticorpo, che a sua volta si fissa alle pareti del pozzetto. A termine del periodo di incubazione il liquido in eccesso viene eliminato e il pozzetto lavato accuratamente in modo che tutte le tossine non legate vengano rimosse. Quindi vengono inserite nei pozzetti delle sostanze colorimetriche che producono variazioni sensibili di colore blu alla soluzione presente nel pozzetto, in proporzione alla quantità di micotossine "catturate" in precedenza. Dopo 5 minuti la reazione è completa e la variazione di colore viene rilevata per ciascun pozzetto mediante uno spettrofotometro UV/VIS. Il livello di contaminazione da DON su ciascun campione in analisi è derivato attraverso il confronto del colore di ciascun campione con il colore della taratura. Il limite di rilevabilità del metodo risulta pari a 18,5 ppb.

Il metodo immunoenzimatico (test ELISA), a fronte di un alto grado di sensibilità e rapidità di esecuzione anche su un gran numero di campioni, mostra in linea generale un minore accuratezza e precisione rispetto all'analisi cromatografia ad alta prestazione (HPLC). Tali caratteristiche vanno tuttavia valutate considerando alcuni dei fattori che condizionano la specificità e la sensibilità del test, come ad esempio il rilevamento di tossina sia libera che legata alla matrice, l'interferenza di composti correlati alla tossina principale e l'effetto dei componenti della matrice stessa (effetto matrice); tali fattori, nell'insieme possono avere una ricaduta sul dato quantitativo finale con

possibile sovrastima o sottostima dello stesso. Di conseguenza, il dato quantitativo ottenuto con l'impiego del metodo immunoenzimatico può non avere una completa rispondenza con quello reale, dando dei risultati "falsi positivi" o più rari "falsi negativi". Nonostante questo il test ELISA per la determinazione della contaminazione da DON nel frumento duro è risultato affidabile per uno screening rapido di un elevato numero di campioni (Desiderio *et al.*, 2008).

3. RISULTATI

3.1. Anno 2006.07

3.1.1. Analisi del terreno

Nel primo anno di prova sono state effettuate le analisi del terreno per ciascuno dei quattro settori di prova.

Il prelievo dei campioni per le analisi è stato effettuato l'11 ottobre 2006, dopo la raccolta del mais e prima della preparazione del letto di semina per il frumento.

In ciascun settore sono stati prelevati 9 subcampioni di terreno a una profondità compresa fra 0-20 cm e 9 subcampioni a 20-40 cm. Le analisi hanno riguardato le caratteristiche fisiche e chimiche.

Dalla *tabella 8* si può vedere come tutti e quattro i settori risultano a tessitura sabbio-argillosa. Lo scheletro è circa il 5% del totale con la maggior parte delle particelle con un diametro compreso fra 2 e 5 mm.

Sotto l'aspetto chimico non si riscontrano marcate differenze per i quattro settori. I terreni sono a reazione neutra, con un pH fra 6,4 e 7,5, poveri in sostanza organica, carbonati ed azoto totale. Risultano però ricchi di fosforo assimilabile e di potassio scambiabile.

Il precedente colturale mais nei settori A e D, e la presenza o meno dei residui colturali di frumento nei settori B e C non sembra aver influenzato in maniera determinante il contenuto elementi nutritivi nel terreno.

Tabella 8: Caratteristiche fisico-meccaniche e chimiche degli strati di terreno 0-20 e 20-40 cm. S. Lucia (OR) 2006-07.

Prova	Settore A		Settore B		Settore C		Settore D	
	0-20	20-40	0-20	20-40	0-20	20-40	0-20	20-40
Località: S. Lucia								
Comune: Zeddiani								
Anno di prova 2006-07								
Profondità (cm)								
Scheletro totale (%)	4,53	4,46	5,22	5,86	5,28	5,43	5,19	5,41
> di 10 mm: %	0,12		0,55	0,12	0,95	1,26	0	0,1
da 5 a 10 mm: %	0,58	0,61	4,67	0,92	4,33	4,17	0,64	0,5
da 2 a 5 mm: %	3,83	3,84	94,78	4,82	94,72	94,57	4,56	4,82
Terra fine (%)	95,47	95,54	42,37	94,14	43,32	42,72	40,02	94,59
Sabbia : %	42,89	43,75	19,62	42,25	20,49	42,72	21,63	41,06
Limo: %	19,64	19,38	38,01	19,99	36,19	20,68	38,35	21,27
Argilla: %	37,47	36,87	7,14	37,76	7,15	36,6	6,36	37,67
pH	6,86	7,25	7,14	7,39	7,15	7,5	6,36	6,84
Carbonati totali (%)	5,35	4,53	4,94	3,29	4,12	2,88	4,94	4,12
Azoto totale (‰)	0,94	0,69	0,82	0,73	0,88	0,72	0,92	0,74
Carbonio organico (%)	0,75	0,6	0,79	0,68	0,83	0,68	0,79	0,53
Sostanza organica (%)	1,29	1,03	1,36	1,16	1,42	1,16	1,36	0,91
P ₂ O ₅ assimilabile (ppm)	48,4	31,4	55,2	44,6	63,3	41,2	83,3	52,7
K ₂ O scambiabile (ppm)	209,5	142,1	197,5	122,8	180,6	110,8	168,6	115,6
Settore A = precedente mais con residui colturali								
Settore B = ringrano con residui colturali								
Settore C = ringrano senza residui colturali								
Settore D = precedente mais senza residui colturali								
Azoto totale metodo Kjeldhal; P ₂ O ₅ metodo di estrazione al molibdato di ammonio; K ₂ O metodo di estrazione con acetato di ammonio								

3.1.2. Andamento meteorologico

L'andamento termopluviometrico registrato durante il periodo delle prove, ottobre 2006 – giugno 2007 è riportato in *figura 5*

Nel primo anno di prova le temperature minime sono state sempre superiori a 5°C durante il periodo invernale, mentre è risultata compresa tra 15 e 18°C in ottobre e giugno. Le temperature massime sono risultate anch'esse elevate con un picco di 31°C registrato nella seconda decade di giugno. Rispetto ai valori medi poliennali, le precipitazioni, come quantitativo totale stagionale è risultato di poco al di sotto della media, con scarsa piovosità nel periodo autunno-vernino e con piogge di discreta entità nei mesi di marzo fino alla prima decade di maggio, in corrispondenza della fase di fioritura e di inizio maturazione. Le alte temperature di questo periodo in corrispondenza delle piogge, agronomicamente utili per l'accumulo di sostanze nutritive, possono aver innescato lo sviluppo di attacchi fungini sulle spighe.

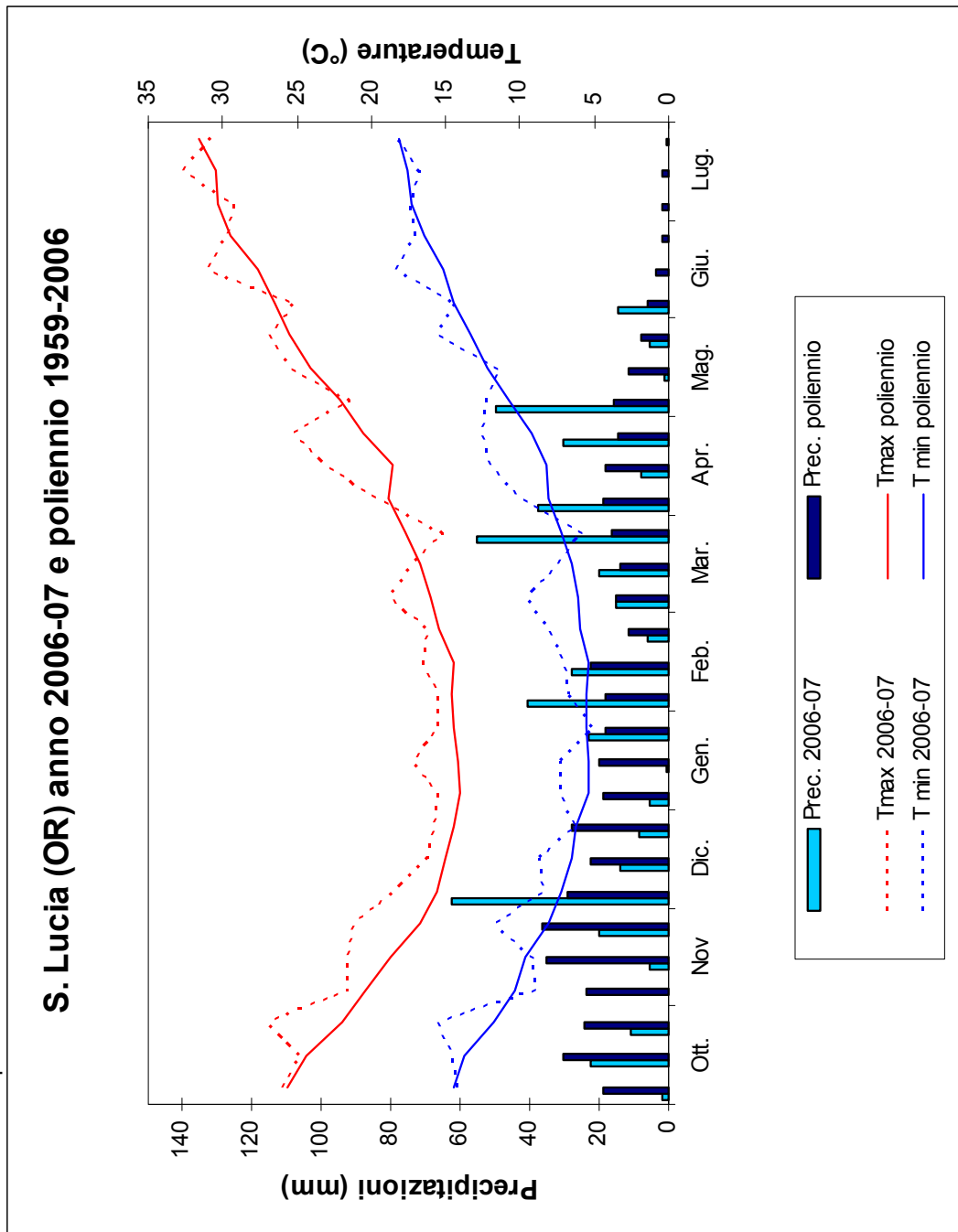
3.1.3. Analisi dei fattori meteorologici

I fattori meteorologici che maggiormente influenzano l'attacco di specie fungine agenti della fusariosi della spiga sono le precipitazioni, il vento, l'umidità relativa dell'aria e la temperatura. Le prime tre sono importanti soprattutto nella fase d'infezione per la dispersione delle spore e la penetrazione del fungo nei tessuti della spiga mentre la temperatura è importante sia nella fase di infezione che nella fase di invasione della spiga da parte del fungo.

Le spighe possono essere infettate nel periodo che va dalla spigatura fino alla maturazione fisiologica. La fase di maggiore suscettibilità risulta la fioritura.

Come visto nel Paragrafo 2.5.3 alcune spore fungine possono diffondersi attraverso le correnti d'aria (Air-borne: microconidi e ascospore), mentre altre (Splash-borne: macroconidi) necessitano delle piogge per essere liberate e trasportate a breve distanza attraverso gli schizzi.

Figura 5 – Santa Lucia (OR) – Valori decadali delle precipitazioni e temperature minime e massime relative al 2006-07 e al poliennio 1959-2006.



Le specie coinvolte nella sindrome della fusariosi della spiga possono presentare spore di entrambi i generi, quindi per la loro diffusione possono essere veicolate sia dalle precipitazioni che dalle correnti d'aria.

Nella *figura 6* si riporta la velocità del vento giornaliera registrata nei mesi di aprile-maggio 2007, arco di tempo in cui sono state rilevate le fasi dalla spigatura alla maturazione fisiologica. Possiamo vedere come durante le fasi dalla spigatura fino alla maturazione cerosa la velocità del vento ha registrato quasi sempre valori molto bassi compresi fra 0,3 e 1,5 m s⁻¹, bava di vento. Il vento ha superato i 1,5 m s⁻¹, brezza leggera, solo in tre periodi: nelle giornate del 13 e 14 aprile con velocità rispettivamente di 1,6 e 1,5 m s⁻¹ in corrispondenza dell'inizio della fioritura; il giorno 17 maggio con velocità di 1,5 m s⁻¹ in corrispondenza dell'inizio della maturazione; e i giorni del 28 e del 29 maggio con valori rispettivamente di 2,0 e 2,1 m s⁻¹ a maturazione avanzata. Sicuramente di questi tre periodi il più rischioso per l'infezione da parte di spore di *Fusarium* risulta essere il primo in corrispondenza dell'inizio della fioritura.

Per quanto riguarda le precipitazioni invece si può vedere dalla *figura 7* come nei mesi aprile-maggio 2007 le precipitazioni si siano concentrate in quattro periodi: il primo fra il 3 e il 6 aprile, in corrispondenza dell'inizio della spigatura, con piogge anche intense, con un picco di 26,4 mm il 3 aprile; il secondo fra l'11 e il 15 di aprile, all'inizio della fioritura, con un massimo di 4,6 mm il 13 aprile; il terzo dal 26 aprile al 07 maggio in piena fioritura con piogge abbondanti e costanti con un picco di 18,4 mm il 04 maggio; il quarto il 28 maggio (fine maturazione) con un valore pari a 4,8 mm. I periodi più rischiosi per l'infezione da parte di *Fusarium* risultano essere il secondo e il terzo, in corrispondenza della fioritura, ma ciò non toglie che infezioni possano essersi verificate anche in corrispondenza degli altri due periodi.

L'umidità relativa e la temperatura dell'aria sono anch'essi fondamentali durante la fase di infezione da parte del fungo. Tutte le specie di *Fusarium* interessate richiedono valori termoigrometrici elevati affinché le spore, una volta deposte sulle spighe, possano germinare e produrre i tubetti germinativi che penetrano e infettano i tessuti della spiga.

Le specie di *Fusarium* responsabili della fusariosi della spiga hanno l'optimum di sviluppo compreso fra 20 e 30 °C. In *figura 8* si può vedere come nel primo anno di prova le temperature massime registrate nei mesi di aprile – maggio 2007 hanno più volte raggiunto valori favorevoli allo sviluppo di infezioni fungine da parte di *Fusarium*.

A metà del mese di aprile, quando le piante erano in piena spigatura ed in corrispondenza dell'inizio della fioritura, le temperature hanno raggiunto valori massimi fra i 20-24 °C favorevoli allo sviluppo dei funghi.

Durante il periodo della fioritura, la fase più suscettibile, le temperature massime hanno oscillato intorno ai 22°C, superando i 25°C in due periodi: dal 22 al 25 aprile e dall'11 al 14 maggio con un massimo registrato il 14 di maggio di 30,7 °C.

Temperature elevate sono state registrate fra il 19 e il 25 maggio con valori massimi fra i 25 e i 34 °C.

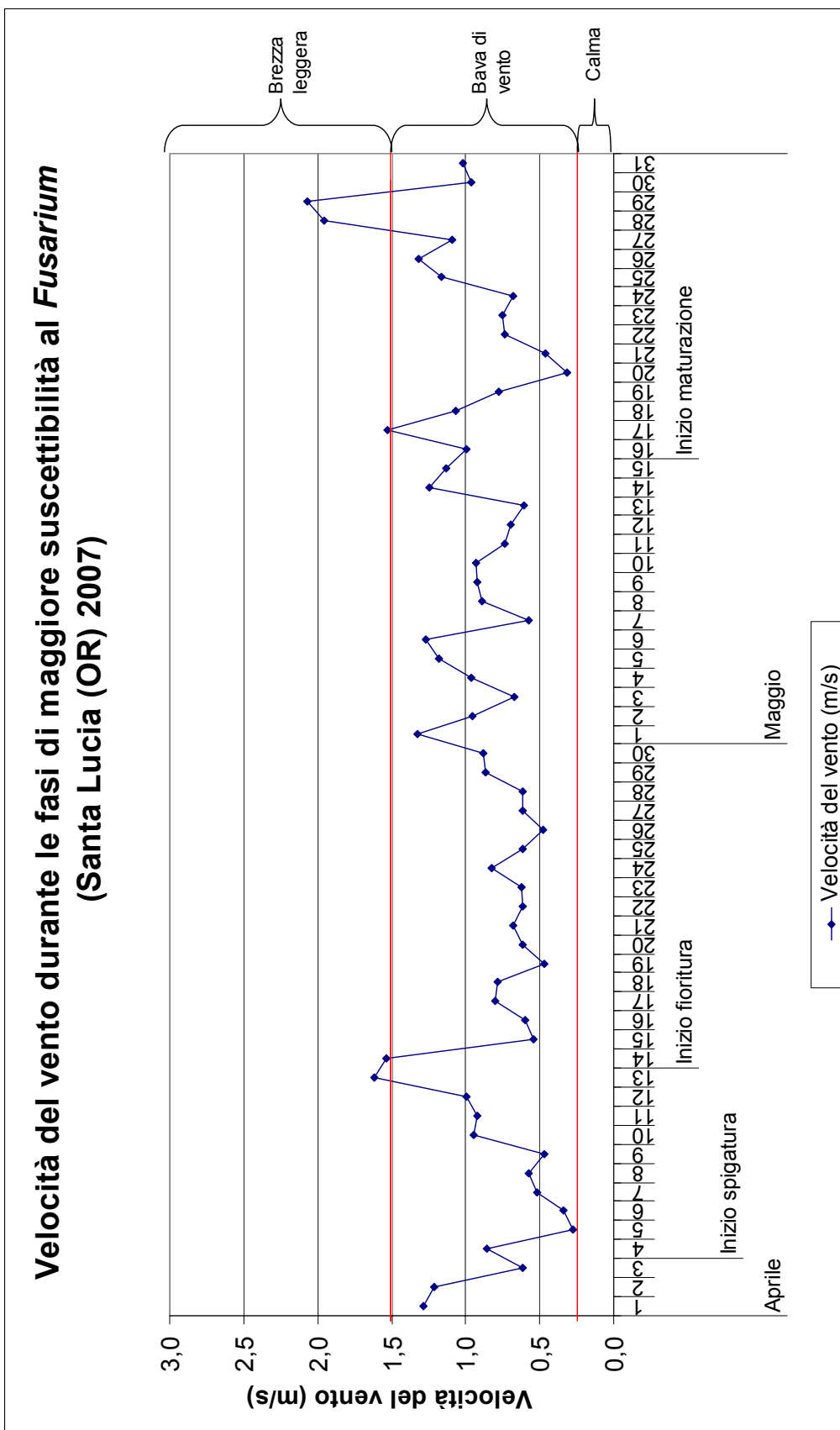
Per quanto riguarda i valori di umidità relativa dell'aria si rileva dalla *figura 9* che i valori massimi, per tutto il periodo dalla spigatura fino alla maturazione, sono stati sempre maggiori del 70%. Valori maggiori del 95% sono stati registrati all'inizio della spigatura dal 3 al 9 aprile, durante tutta la fase di fioritura dal 16 aprile al 13 maggio e a inizio maturazione rilevata nei giorni 18 e 19 maggio.

Se consideriamo l'andamento meteorologico nel suo insieme e la fase di sviluppo delle spighe in corrispondenza del verificarsi dei diversi eventi meteorologici, ventosità, precipitazioni, temperatura e umidità relativa dell'aria, possiamo individuare le giornate più a rischio di contaminazione da *Fusarium* (*tabella 10*). Tenendo conto dei numeri sopradescritti, le giornate di maggior rischio sono state quelle fra l'11 e 12 aprile, corrispondenti alla fine della spigatura e il 14, 16 e 17 aprile all'inizio della fioritura. Infatti nelle giornate fra l'10 e il 17 aprile si sono verificate delle precipitazioni e nelle giornate del 13 e del 14 il vento era maggiore dei 1,5 m s⁻¹: questi fattori potrebbero aver determinato il diffondersi delle spore. In queste giornate le condizioni igrotermiche sono state favorevoli allo sviluppo dell'infezione.

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

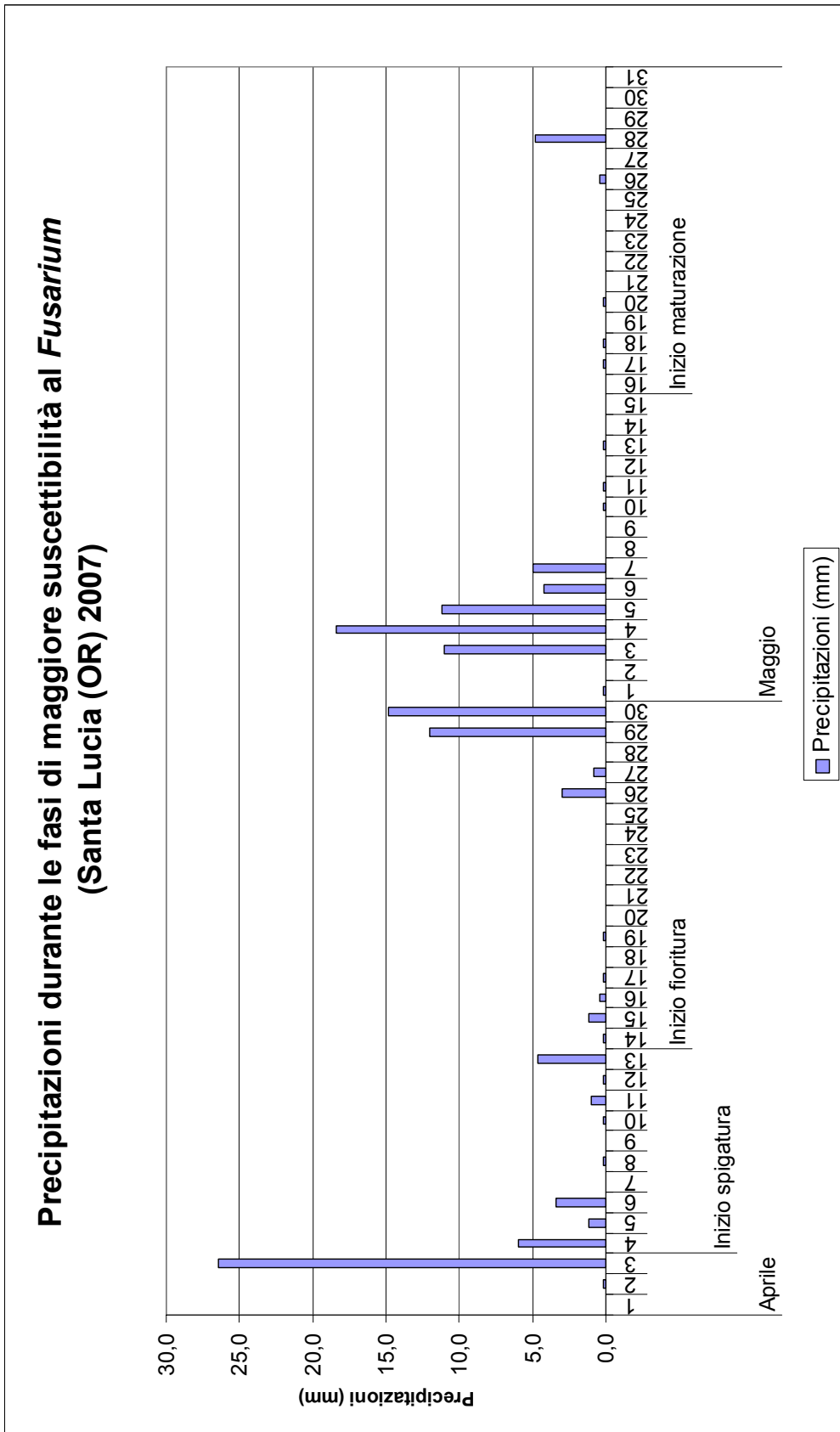
Per gli stessi motivi altre giornate di alto rischio d'infezione sono state il 26, 27, 29 aprile e 1, 3, 7, 10, 11 e 13 maggio in corrispondenza della fioritura. Durante la maturazione solo nelle giornate del 18 e 26 maggio si sono verificati eventi meteorologici tali da determinare un alto rischio di contaminazione da *Fusarium*.

Figura 6: velocità del vento giornaliera aprile – maggio 2007. S. Lucia (OR) 2006-07.



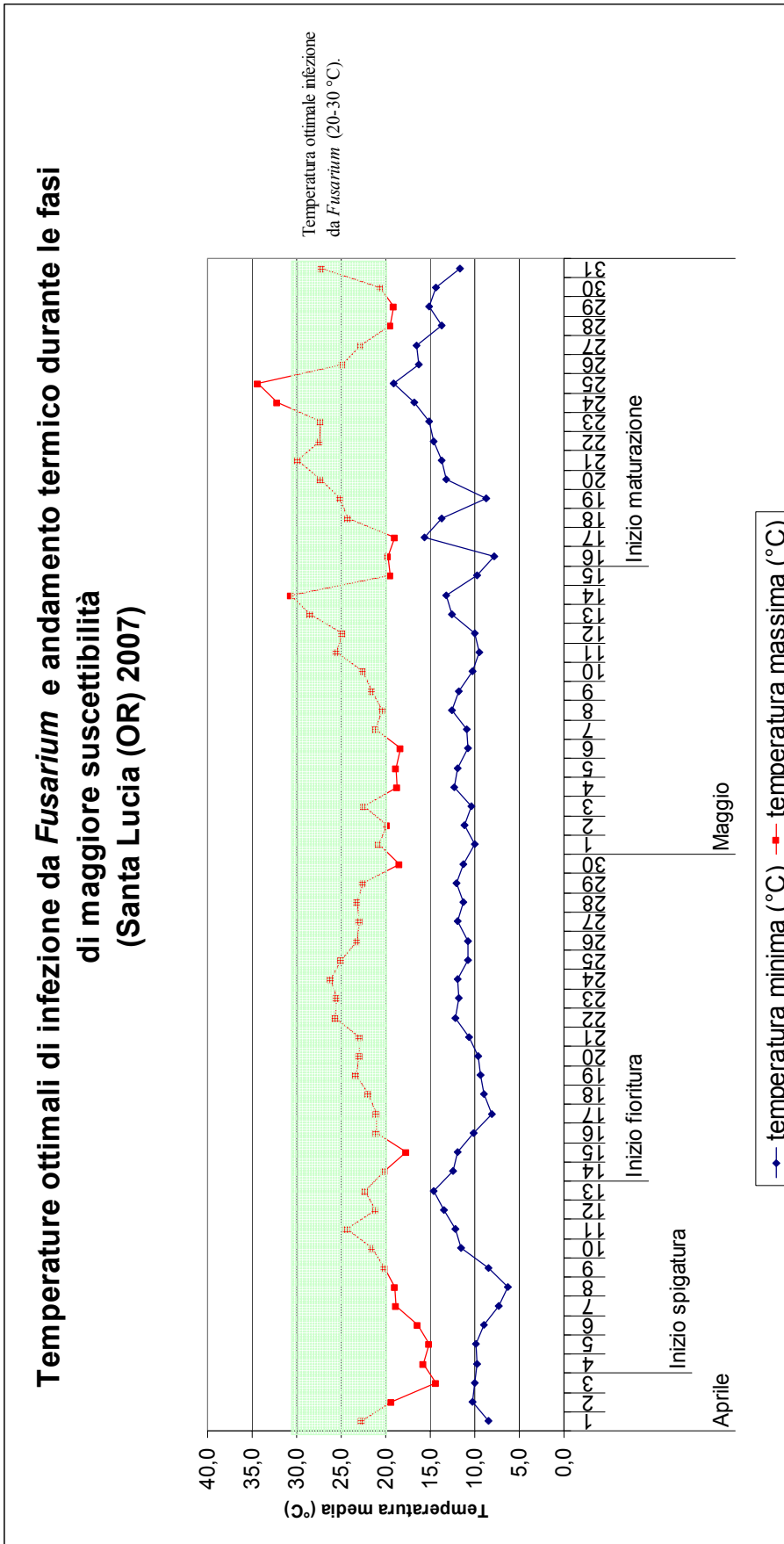
Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Figura 7: precipitazioni giornalier aprile – maggio 2007. S. Lucia (OR) 2006-07.



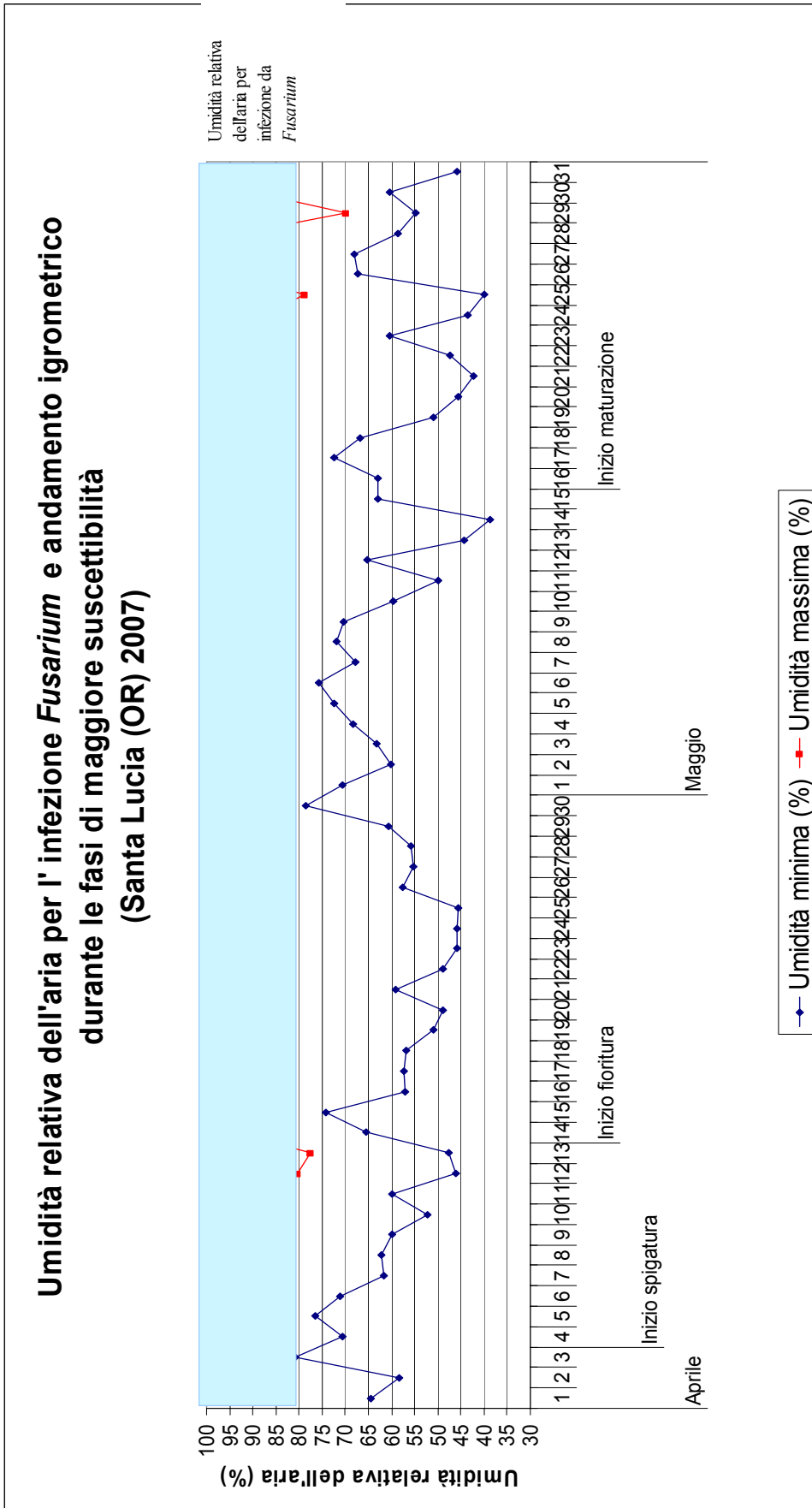
Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Figura 8: temperature giornaliere aprile – maggio 2007. S. Lucia (OR) 2006-07.



Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Figura 9: umidità relativa dell'aria giornaliera aprile – maggio 2007. S. Lucia (OR) 2006-07.



Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Tabella 10: valutazione del rischio di contaminazione da *Fusarium* primo anno di prova.

Mese	Giorno	Fattori meteorologici				Fase fenologica	Totale rischio
		Velocità vento	Precipitazioni	Temperatura	Umidità relativa dell'aria		
aprile	1	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	2	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	3	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	4	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Inizio spigatura	Alto rischio
	5	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	6	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	7	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	8	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	9	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	10	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	11	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	12	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	13	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	14	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Inizio fioritura	Alto rischio
	15	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	16	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	17	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	18	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	19	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	20	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	21	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	22	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	23	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	24	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	25	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	26	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	27	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	28	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	29	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	30	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
maggio	1	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	2	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	3	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	4	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	5	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	6	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	7	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	8	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	9	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	10	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	11	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	12	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	13	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	14	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	15	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	16	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Inizio maturazione	Alto rischio
	17	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	18	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	19	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	20	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	21	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	22	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	23	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	24	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	25	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	26	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	27	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	28	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	29	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio
	30	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio	Alto rischio		Alto rischio

Cristina Pilati e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia di *Fusarium*"

 Basso rischio
 Medio rischio
 Alto rischio

3.1.4. Risultati agronomici

Per quanto riguarda i diversi trattamenti a confronto la preparazione del terreno, la precessione mais rispetto al ringrano e la concia del seme, non hanno influito significativamente nè sugli aspetti fenologici (*tabella 9*) e produttivi della coltura (*tabella 10*) nè sul livello di contaminazione da DON sulla granella. Al contrario, differenze statisticamente significative sono emerse per gli altri trattamenti a confronto. In particolare, per quanto riguarda la concimazione azotata, si sono registrate maggiori produzioni di granella per la tesi N1 rispetto alla tesi N2 con produzioni medie rispettivamente di 4,6 t ha⁻¹ e 4,3 t ha⁻¹. Anche per quanto riguarda il peso ettolitrico e il peso di 1000 cariossidi sono state riscontrate differenze significative. La tesi N1 ha registrato un peso ettolitrico di 77,75 kg hl⁻¹ e il peso di 1000 cariossidi pari a 47,4 g, mentre la tesi N2 ha registrato valori rispettivamente di 75,96 kg hl⁻¹ e 43,0 g. La concimazione azotata ha influito anche sulla percentuale delle cariossidi bianconate con una percentuale inferiore (26%) per la tesi N2 rispetto alla tesi N1 (34%). La concimazione sembrerebbe non aver avuto alcun effetto sulla contaminazione da DON sulla granella. Per la tesi N1 è stata registrata una concentrazione media di DON di 110 ppb mentre per la tesi N2 di 150 ppb, ma questa differenza è risultata non significativa.

Differenze significative in termini di livello di contaminazione hanno mostrato le varietà e i trattamenti fungicidi a confronto, con valori di contaminazione nettamente superiori a carico della varietà più precoce, Simeto con 169 ppb, rispetto a quella a ciclo più lungo, Colosseo con 87 ppb, e per il testimone non trattato (158 ppb) rispetto al testimone trattato (101 ppb). Le due varietà a confronto oltre ad aver mostrato differenze significative per la durata di delle fasi fenologiche prese in esame (spigatura, antesi e maturazione) hanno fatto registrare valori statisticamente differenti sia per il peso ettolitrico (Colosseo 78,38 kg hl⁻¹; Simeto 75,33 kg hl⁻¹) sia per il peso di 1000 cariossidi (Colosseo 42,4 g; Simeto 48,1 g). La varietà Colosseo inoltre ha fatto registrare un'altezza media delle piante (89,9 cm) maggiore della varietà Simeto (86,2 cm)

e una percentuale maggiore di cariossidi bianconate (Colosseo 33%; Simeto 26%).

Nella prova effettuata nella stagione colturale 2006-07, non è stata riscontrata alcuna manifestazione di fusariosi della spiga (*tabella 11*). Nonostante questo le analisi di laboratorio effettuate sulla granella macinata di ciascuna parcella hanno evidenziato la presenza di DON nel 95% dei campioni analizzati con un livello medio di contaminazione pari a 130 ppb e un valore massimo di 646 ppb. Tutti i campioni analizzati hanno quindi registrato valori di contaminazione al di sotto del limite di legge, pari a 1750 ppb.

Tabella 9: effetto delle tecniche agronomiche sulle principali fasi fenologiche (2006-07).

Località	Fattore	Fonte di variazione	Emissione reste (gg dall'emergenza)	Spigatura (gg dall'emergenza)	Fioritura (gg dall'emergenza)	Mt. latte (gg dall'emergenza)
S.Lucia (OR)	preparazione terreno	con residui	114 a	130 a	137 a	168 a
		senza residui	114 a	131 b	138 a	168 a
	precessione	mais	111 a	128 a	135 a	165 a
		frumento	117 a	133 a	140 a	171 a
	concimazione	100	114 a	131 a	137 a	168 a
		150	114 a	131 a	138 a	168 a
	varietà	Colosseo	121 a	136 a	141 a	171 a
		Sireto	106 b	125 b	134 b	165 b
	difesa fungicida	trattato	114 a	131 a	138 a	168 a
		testimone non trattato	114 a	131 a	137 a	168 a
trattamento semente	concio	114 a	131 a	138 a	168 a	
	non concio	114 a	131 a	138 a	168 a	
La stessa lettera indica l'assenza di differenze significative (ANOVA).						
Emergenza (B - C) 28-11-06; emergenza (A - D) 4-12-06.						

Tabella 10: effetto delle tecniche agronomiche a confronto sulla produzione (2006-07).

Località	Fattore	Fonte di variazione	Altezza pianta (cm)	Spighe per m ² (n.)	Produzione 13% umidità (t/ha)	Peso ettolitrico (kg/hl)	Peso 1.000 semi (g)	Semi bianconati (%)
S.Lucia (OR)	preparazione terreno	con residui	88,7 a	260,2 a	4,6 a	76,33 a	44,7 a	28 a
		senza residui	87,3 a	263,4 a	4,4 a	77,38 a	45,7 a	31 a
	precessione	mais	87,4 a	250,2 a	4,5 a	77,06 a	45,8 a	32 a
		frumento	88,5 a	273,4 a	4,4 a	76,65 a	44,7 a	28 a
	concimazione	100	87,3 a	258,5 a	4,6 a	77,75 a	47,4 a	34 a
		150	88,6 a	265,2 a	4,3 b	75,96 b	43,0 b	26 b
	varietà	Colosseo	89,8 a	257,8 a	4,3 a	78,38 a	42,4 a	33 a
		Simeto	86,2 b	265,9 a	4,7 a	75,33 b	48,1 b	26 b
	difesa fungicida	trattato	87,7 a	262,1 a	5,1 a	79,12 a	49,1 a	34 a
		testimone non trattato	88,3 a	261,5 a	3,9 b	74,59 b	41,3 b	25 b
trattamento semente	conciato	88,3 a	257,8 a	4,5 a	76,51 a	44,6 a	30 a	
	non conciato	87,7 a	265,8 a	4,5 a	77,20 a	45,8 a	29 a	

La stessa lettera indica l'assenza di differenze significative (ANOVA).

Tabella 11: effetto delle tecniche agronomiche sull'incidenza sul contenuto in DON della granella di frumento duro (2006-07)

Località	Fattore	Fonte di variazione	incidenza fusariosi (%)	DON (ppb)
S.Lucia (OR)	preparazione terreno	con residui	0	128 a
		senza residui	0	132 a
	precessione	mais	0	115 a
		frumento	0	145 a
	concimazione	100	0	110 a
		150	0	150 a
	varietà	Colosseo	0	87 a
		Simeto	0	169 b
difesa fungicida	trattato	0	101 a	
	testimone non trattato	0	158 b	
trattamento semente	conciato	0	136 a	
	non conciato	0	124 a	

La stessa lettera indica l'assenza di differenze significative (ANOVA).

3.2. Anno 2007-08

3.2.1. Analisi del terreno

Come per il primo anno sono state effettuate le analisi fisico-meccaniche e chimiche del terreno in cui sono state eseguite le prove. I campioni sono stati prelevati prima della preparazione del terreno per la semina del frumento. Sono stati prelevati 9 subcampioni a due profondità: 0-20 e 20-40 cm (*tabella 12*).

Le caratteristiche fisico-meccaniche del terreno confermano quelle dell'anno precedente, con una tessitura sabbio-argillosa e uno scheletro di circa il 5% del totale.

Sotto l'aspetto chimico il terreno è a reazione neutra, povero in sostanza organica, carbonati ed azoto totale ricco di fosforo assimilabile e di potassio scambiabile.

Tabella 12: caratteristiche –fisico-meccaniche e chimiche degli strati di terreno 0-20 e 20-40 cm.

Località	S. Lucia	
Comune	Zeddiani	
Anno di prova	2007-08	
Precedente colturale ringrano		
Profondità: cm	0-20	20-40
Scheletro totale: %	5,28	3,77
> di 10 mm: %	0,64	0,12
da 5 a 10 mm: %	1,05	0,77
da 2 a 5 mm: %	3,58	2,88
Terra fine: %	94,72	96,23
Sabbia: %	42,65	37,69
Limo: %	20,57	25,47
Argilla: %	36,78	36,84
pH	8,16	8,39
Carbonati totali (%)	-	-
Azoto totale (‰)	0,93	0,71
Carbonio organico (%)	0,95	0,61
Sostanza organica (%)	1,63	1,04
P ₂ O ₅ assimilabile (ppm)	80,7	42,9
K ₂ O scambiabile (ppm)	163,7	110,8

Cristina Pilo - Influenza del pH del terreno e della temperatura del suolo sulla germinazione e sulla contaminazione da microrganismi in frumento. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

3.2.2. Andamento meteorologico

Il secondo anno di prova è stato caratterizzato da scarsa piovosità nel periodo autunno-vernino e piogge di discreta entità nei mesi di aprile-maggio, comunque insufficienti a compensare la carenza idrica invernale (*figura 11*). Le piogge tardive registrate a giugno hanno avuto effetto marginale sull'accumulo delle sostanze di riserva nelle cariossidi in quanto la maturazione era in fase avanzata, mentre possono aver innescato lo sviluppo di attacchi fungini sulle spighe. L'andamento termico ha riproposto quello territoriale, con temperature minime sempre al di sopra dei 5 °C e temperatura massima di 32 °C nella terza decade di giugno.

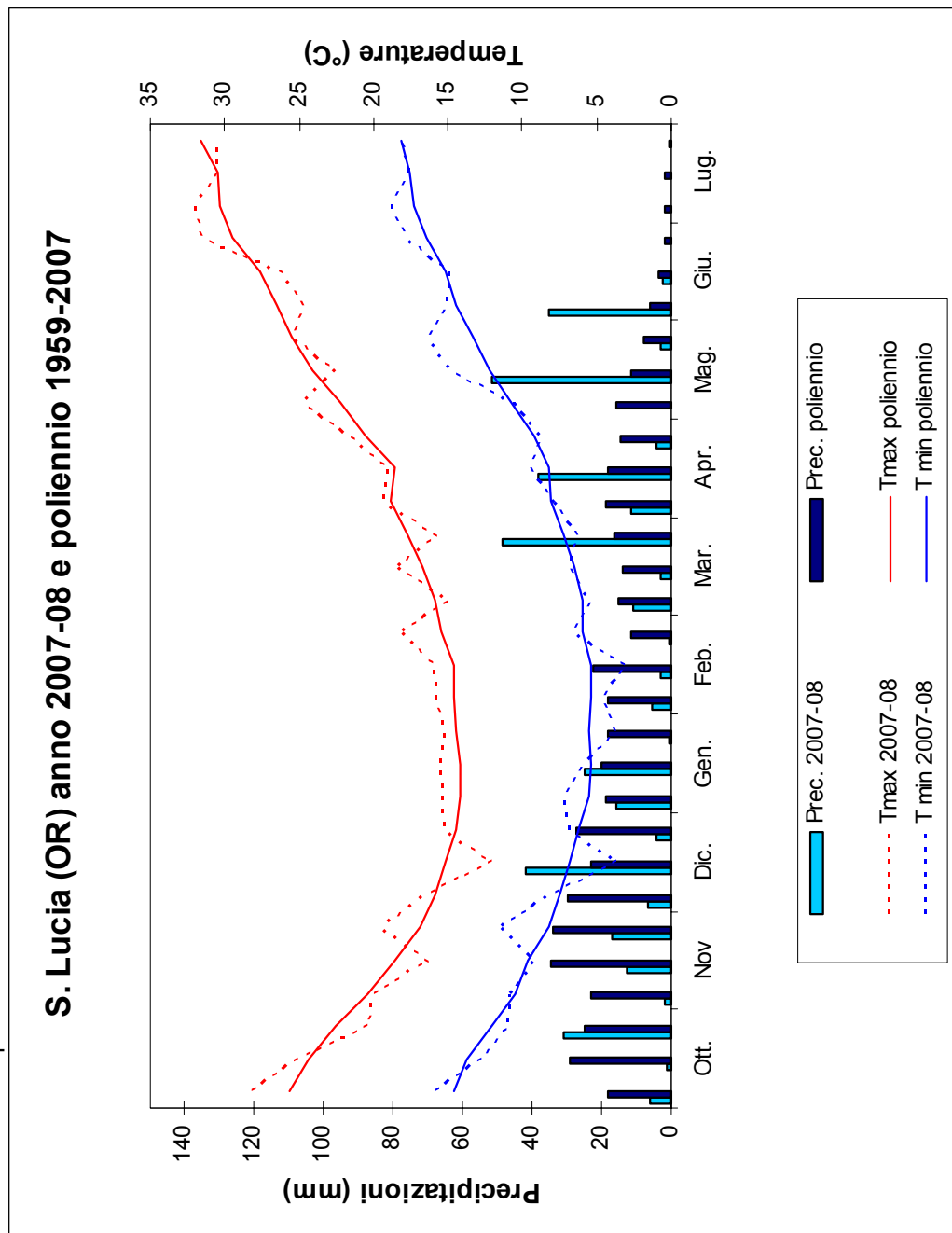
3.2.3. Analisi dei fattori meteorologici

Durante i mesi aprile-maggio 2008, in corrispondenza delle fasi fenologiche dalla spigatura alla maturazione fisiologica, sono stati registrati i dati meteorologici giornalieri relativi alla velocità del vento, le precipitazioni, le temperature massime e minime e l'umidità relativa dell'aria massima e minima.

Dalla *figura 12* si può vedere come la velocità del vento ha registrato valori quasi sempre compresi fra 0,3 e 1,5 m s⁻¹. Rispetto all'anno precedente, si sono avute però diverse giornate con valori superiori a 1,5 m s⁻¹, brezza leggera, sia nel mese di aprile che nel mese di maggio. In particolare sono stati registrati valori compresi fra 1,5 e 2,0 m s⁻¹ nelle giornate del 8 e 9 aprile, all'inizio della spigatura, 15, 17 e 18 aprile in corrispondenza dell'inizio della fioritura, l'8, 9, 17 e 10 maggio alla fine della fioritura e il 30 maggio a fine maturazione latteocerosa. Inoltre in due periodi sono stati registrati valori superiori ai 2,0 m s⁻¹: il 21 aprile, in piena fioritura, con un valore di 2,1 m s⁻¹ e nelle giornate del 20, 25, 26 e 27 maggio in corrispondenza della maturazione, con due picchi di 2,8 m s⁻¹ il 26 e il 27 maggio.

Le giornate a maggior rischio di infezione da parte di spore di *Fusarium* risultano essere quelle in corrispondenza dell'inizio della fioritura, dal 15 al 21 aprile, e quelle in piena fioritura il 9 e il 10 maggio.

Figura 11 - Santa Lucia (OR) – Valori decadalai delle precipitazioni e temperature minime e massime relative al 2007-08 e al poliennio 1959-2007.



La *figura 13* mostra i valori giornalieri delle precipitazioni nei mesi aprile-maggio 2008. Durante la fase di spigatura, nelle giornate del 10 e 11 aprile, si sono registrate precipitazioni al di sopra dei 5 mm con valori rispettivamente di 9 mm e 29,6 mm. Durante la fase di fioritura, dal 14 aprile al 17 maggio, le precipitazioni si sono concentrate in due periodi: all'inizio della fioritura, nelle giornate del 14, 17, 18, 20, 21 e 22 con valori sempre inferiori a 5 mm, e a fine fioritura, nelle giornate 11, 12, 13, 14 e 17 maggio, con valori di poco al di sopra dei 5 mm solo nei giorni 12 e 13. Infine, all'inizio della maturazione lattea, nelle giornate del 19 e 20 maggio si sono avute precipitazioni pari rispettivamente a 28,4 mm e 8,6 mm.

Le precipitazioni verificatesi durante la fase di fioritura, essendosi verificate per circa una settimana a intermittenza, possono aver veicolato una maggiore quantità di inoculo sulle spighe, ma ciò non toglie che infezioni possano essersi verificate anche durante le fasi di spigatura e maturazione.

Per quanto riguarda le temperature, massima e minima giornaliera, registrate nei mesi di aprile – maggio 2008 nella *figura 14* si può vedere come nel secondo anno di prova le temperature massime hanno raggiunto valori favorevoli allo sviluppo di infezioni fungine da parte di *Fusarium*.

Durante la fase di spigatura le temperature massime hanno superato i 20°C il 7 e 9 aprile. Le temperature massime sono aumentate durante la fase di fioritura, 13 aprile – 17 maggio, registrando valori quasi sempre compresi fra 20°C e 25°C, valori ottimali per lo sviluppo dei funghi. Le temperature sono aumentate anche durante la maturazione lattea e cerosa, raggiungendo valori maggiori di 30°C nei giorni 25 e 26 maggio.

Per quanto riguarda i valori di umidità relativa dell'aria si rileva dalla *figura 15* che i valori massimi, per tutto il periodo dalla spigatura fino alla maturazione, sono stati sempre maggiori del 70%. Durante la spigatura l'umidità relativa massima non è mai scesa al di sotto dell'88% con valori quasi sempre maggiori del 95%. Durante la prima fase della fioritura, dal 14 al 30 aprile l'umidità massima giornaliera è variata intorno ai 92-98%, mentre nella seconda fase della fioritura, dal 1 al 17 maggio si è avuto un andamento

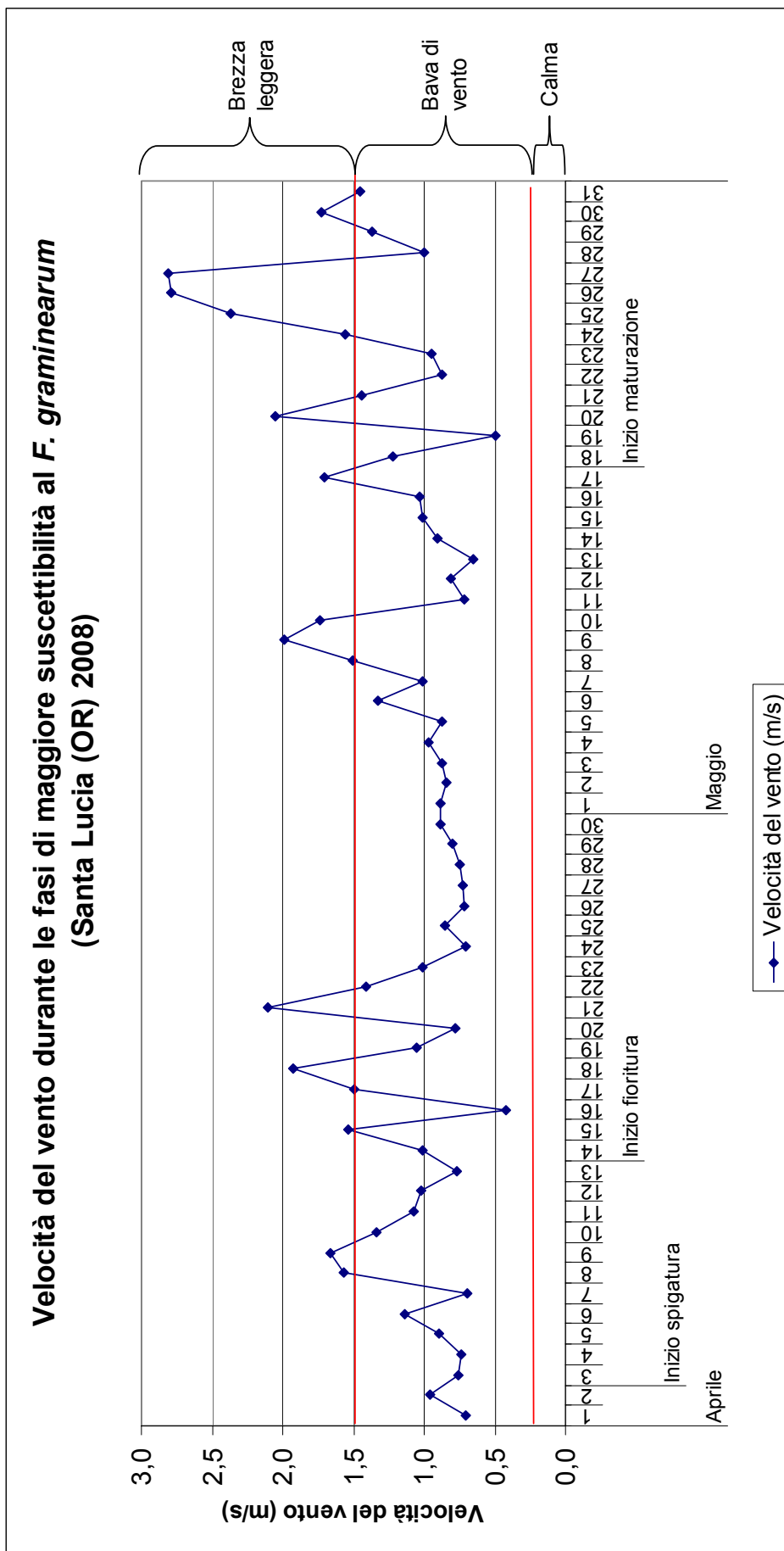
oscillante. Il 1 maggio si è registrata un'umidità massima pari a 96%, il 2 maggio è scesa a 87%, il 5 maggio è salita nuovamente al 96%, per poi scendere il 9 maggio a 79%. Dall'11 a 15 maggio l'umidità massima non è mai andata al di sotto del 95% mentre il 16 è scesa al 83%. Lo stesso andamento oscillante è stato registrato anche durante la maturazione con valori maggiori del 95% dal 18 al 23 maggio e nei giorni 28 e 29, mentre il 25 maggio l'umidità massima giornaliera ha raggiunto il valore minimo del 74%.

Nella *figura 16* è schematizzata la valutazione del rischio di contaminazione da *Fusarium* tenendo conto dei quattro fattori meteorologici sopra descritti e delle fasi fenologiche della coltura. Le giornate di maggior rischio sono state quelle del 17, 18 e 20 aprile, all'inizio della fioritura. Infatti il verificarsi contemporaneamente dei fattori predisponenti la contaminazione, in particolare delle precipitazioni e dell'alta temperatura, in corrispondenza della fase più sensibile, la fioritura, ha determinato un alto rischio d'infezione da parte di *Fusarium*.

A fine fioritura, la giornata del 12 aprile è risultata particolarmente rischiosa a causa della concomitanza di precipitazioni, temperature e umidità elevate. Durante la maturazione non ci sono state giornate ad alto rischio ma le condizioni meteorologiche sono state tali da consentire ai funghi diffusisi durante la fioritura di continuare la loro azione infettante delle spighe.

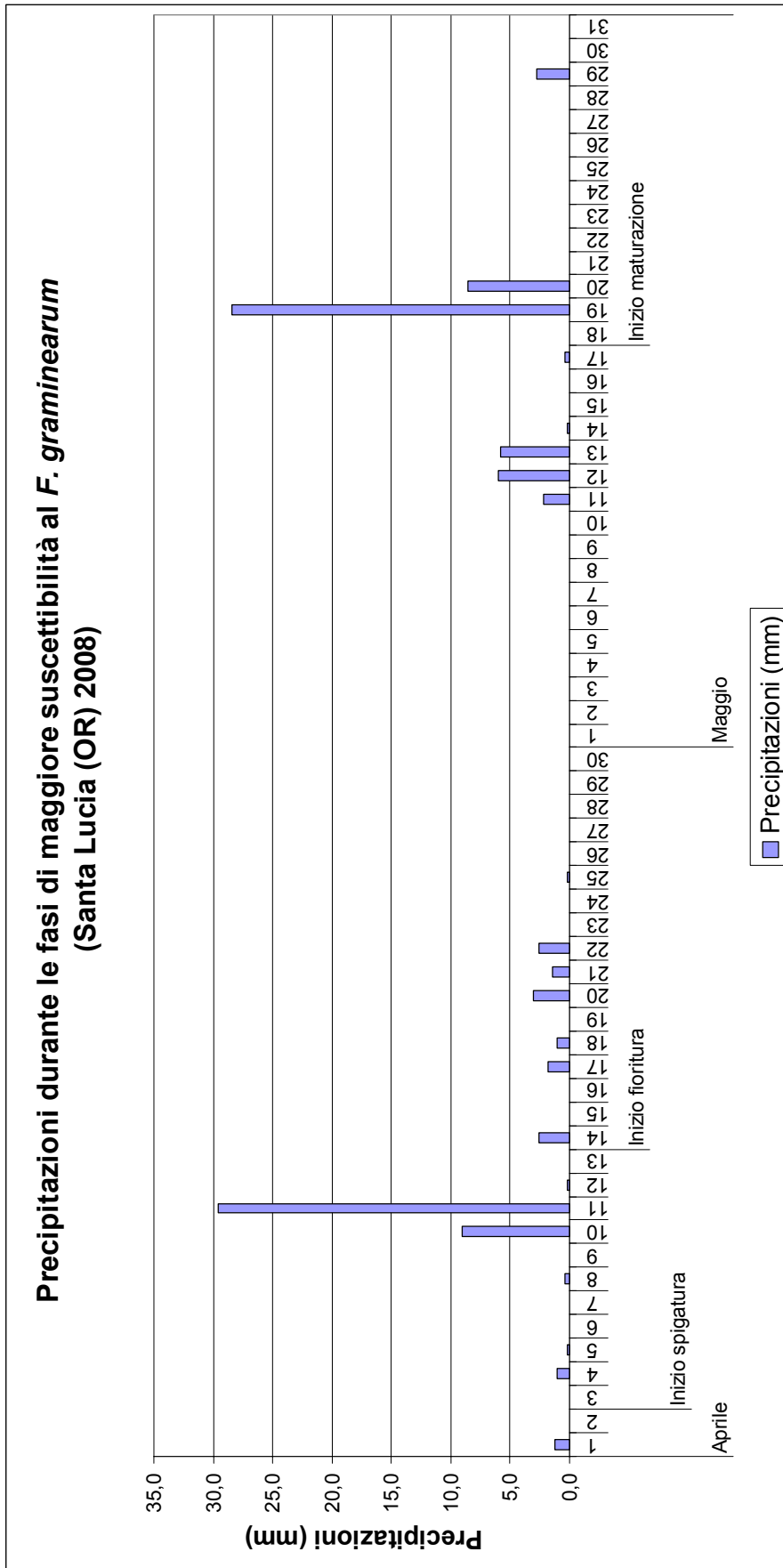
Nel complesso si può vedere come le giornate altamente rischiose per la contaminazione e infezione da parte di *Fusarium* sono state inferiori rispetto all'anno precedente.

Figura 12: velocità del vento giornaliera aprile – maggio 2008. S. Lucia (OR).



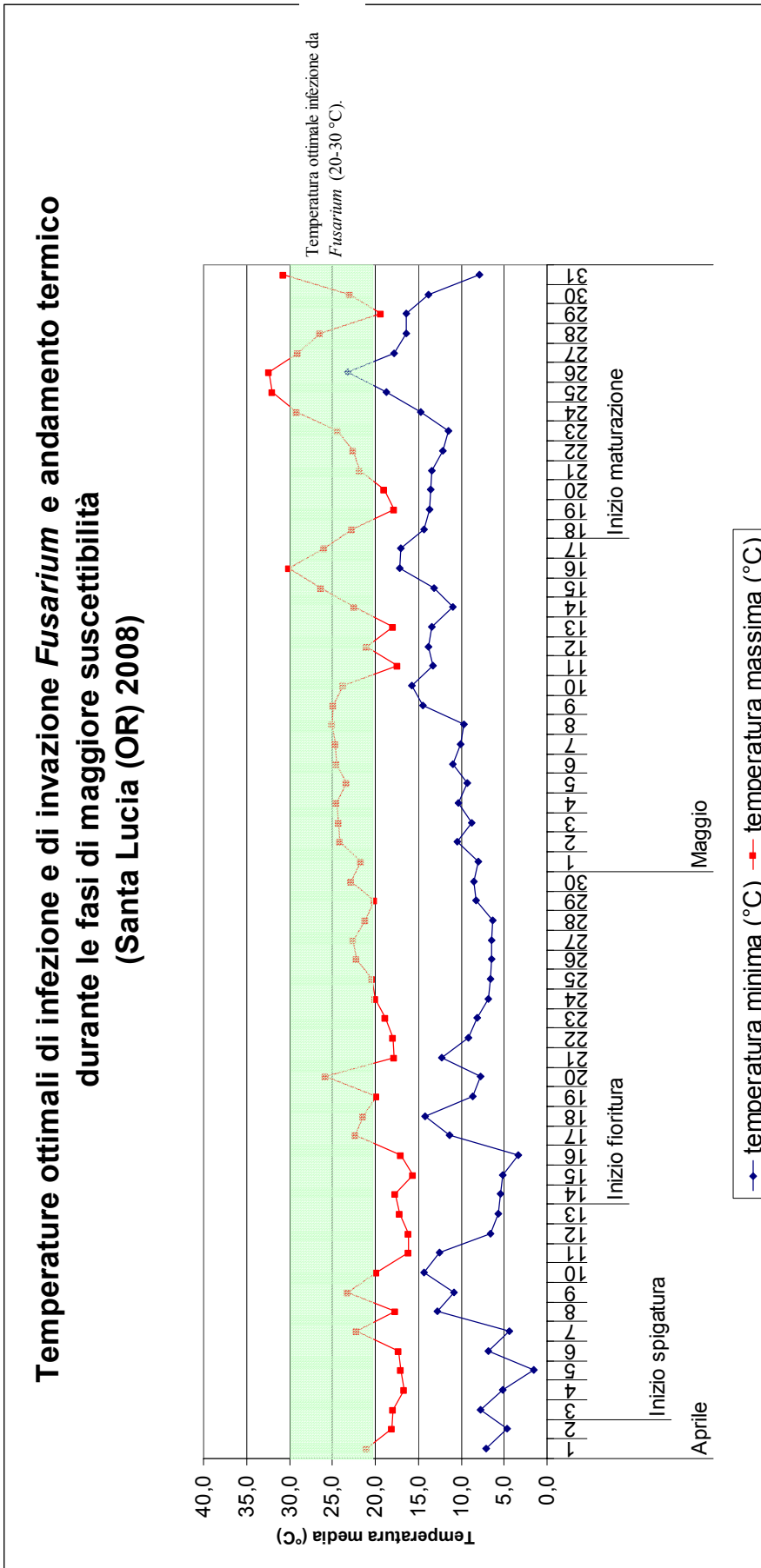
Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Figura 13: precipitazioni giornalier aprile – maggio 2008. S. Lucia (OR).



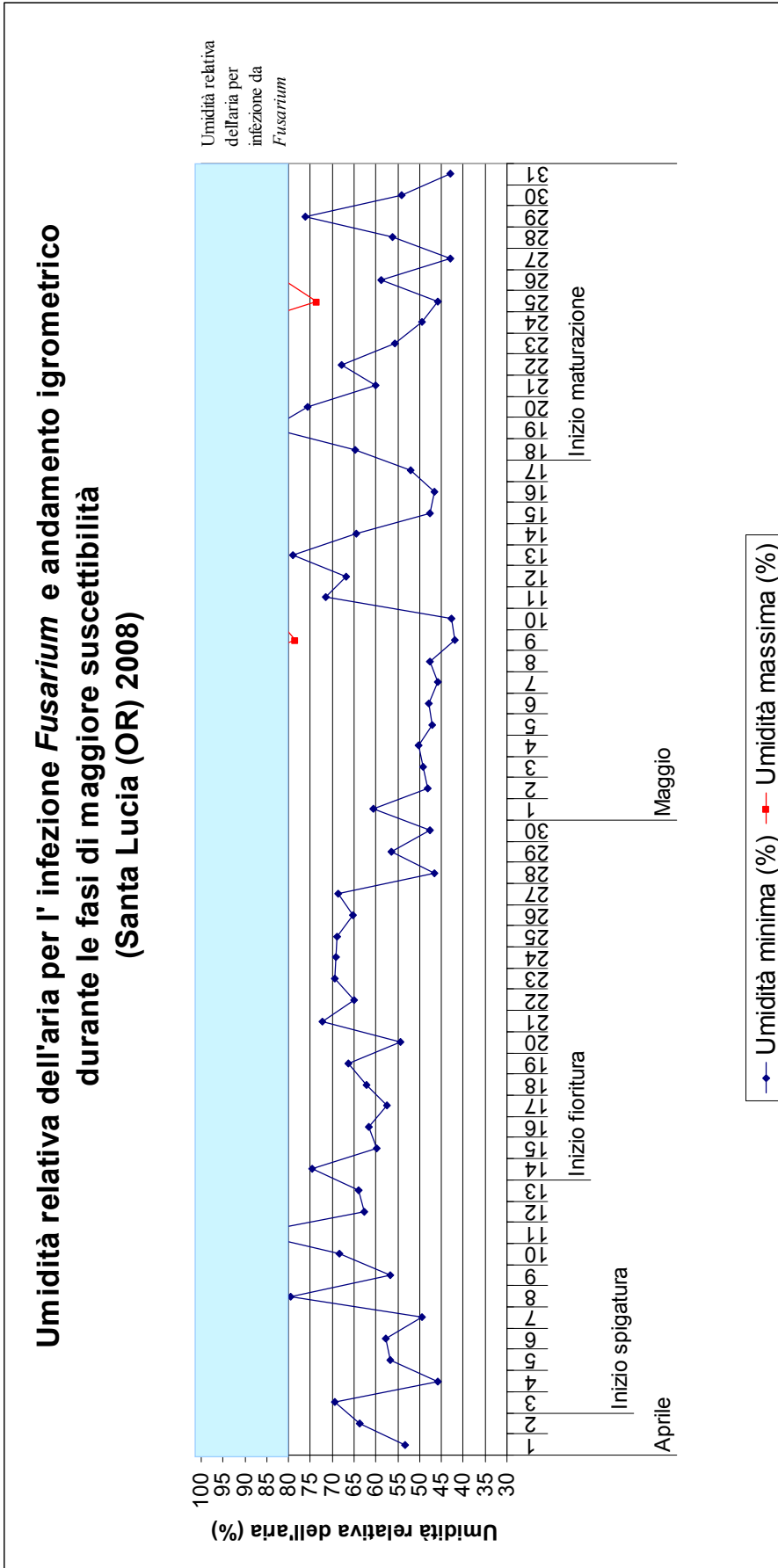
Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Figura 14: temperature giornaliere aprile – maggio 2008. S. Lucia (OR)



Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Figura 15: umidità relativa dell'aria giornaliera aprile – maggio 2008. S. Lucia (OR).



Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

Figura 16: valutazione del rischio di contaminazione da *Fusarium*, secondo anno di prova.

Mese	Giorno	Fattori meteorologici				Fase fenologica	Totale rischio
		Velocità vento	Precipitazioni	Temperatura	Umidità relativa dell'aria		
aprile	1	Medio	Medio	Medio	Alto		Medio
	2	Basso	Medio	Basso	Medio		Basso
	3	Basso	Medio	Basso	Alto	Inizio spigatura	Basso
	4	Medio	Medio	Basso	Medio		Medio
	5	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	6	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	7	Medio	Medio	Medio	Alto		Medio
	8	Medio	Medio	Basso	Alto		Medio
	9	Medio	Medio	Medio	Alto		Medio
	10	Basso	Alto	Medio	Alto		Medio
	11	Basso	Alto	Basso	Alto		Medio
	12	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	13	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	14	Basso	Alto	Basso	Alto	Inizio fioritura	Medio
	15	Medio	Medio	Basso	Alto		Medio
	16	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	17	Medio	Alto	Medio	Alto		Medio
	18	Medio	Medio	Medio	Alto		Medio
	19	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	20	Basso	Alto	Medio	Alto		Medio
	21	Medio	Alto	Basso	Alto		Medio
	22	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	23	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	24	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	25	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	26	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	27	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	28	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	29	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	30	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
maggio	1	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	2	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	3	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	4	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	5	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	6	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	7	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	8	Medio	Medio	Basso	Alto		Medio
	9	Medio	Medio	Basso	Alto		Medio
	10	Medio	Medio	Basso	Alto		Medio
	11	Basso	Alto	Basso	Alto		Basso
	12	Basso	Alto	Basso	Alto		Basso
	13	Basso	Alto	Basso	Alto		Basso
	14	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	15	Basso	Medio	Medio	Alto		Basso
	16	Basso	Medio	Medio	Alto		Basso
	17	Medio	Medio	Medio	Alto		Medio
	18	Basso	Medio	Basso	Alto	Inizio maturazione	Basso
	19	Basso	Alto	Basso	Alto		Basso
	20	Medio	Alto	Basso	Alto		Medio
	21	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	22	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	23	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso
	24	Medio	Medio	Basso	Alto		Medio
	25	Medio	Medio	Basso	Alto		Medio
	26	Medio	Medio	Basso	Alto		Medio
	27	Medio	Medio	Medio	Alto		Medio
	28	Basso	Medio	Medio	Alto		Basso
	29	Basso	Alto	Basso	Alto		Basso
	30	Medio	Medio	Basso	Alto		Medio
	31	Basso	Medio	Basso	Alto		Basso

Basso rischio
 Medio rischio
 Alto rischio

Cristina Pilo - Influenza dei fattori meteorologici e della tecnica colturale sulla presenza di *Fusarium* spp. e sulla contaminazione da micotossine in frumento duro. Tesi di dottorato in "Agrometeorologia ed ecofisiologia dei sistemi agrari e forestali", Università degli studi di Sassari.

3.2.4. Risultati agronomici

Nel secondo anno di prova si è deciso di mettere a confronto i trattamenti per i quali si erano riscontrati degli scarti significativi nell'anno precedente, e precisamente le due diverse varietà, la concimazione azotata e il trattamento fungicida. Si è passati dunque da 128 campioni analizzati nel primo anno a 64 nel secondo.

Per quanto riguarda gli aspetti fenologici della coltura (*tabella 13*), solo le due varietà hanno mostrato differenze significative per quanto riguarda la comparsa delle reste, la spigatura e la maturazione lattea, mentre gli altri due trattamenti a confronto, concimazione azotata e trattamento fungicida, non hanno determinato alcuna differenza nella durata dello sviluppo della pianta.

Le due varietà hanno fatto registrare differenze significative anche per quanto riguarda l'altezza delle piante, con valore medio per la varietà Colosseo di 93,1 cm e 86,7 per Simeto, e per il peso ettolitrico con valori rispettivamente di 81,6 kg hl⁻¹ e 77,8 kg hl⁻¹. La concimazione azotata ha mostrato delle differenze significative solo per la percentuale di cariossidi bianconate con un valore del 44% per la tesi N1 e di 32% per la tesi N2. Il trattamento fungicida invece ha determinato delle differenze nel peso ettolitrico con valori di 80,1 kg hl⁻¹ per la tesi trattata e 79,3 kg hl⁻¹ per la tesi non trattata.

La *tabella 14* ci mostra i valori di contaminazione da deossinivalenolo per i diversi trattamenti a confronto. Dalla tabella si può rilevare che a fronte della presenza di sintomi da Fusariosi della spiga, seppur in una percentuale sempre al di sotto del 5%, non sono state registrate, per nessuno dei tre trattamenti a confronto, differenze significative per la contaminazione da DON. Come detto in precedenza la contaminazione da DON è risultata molto contenuta nel secondo anno di prova con valori medi sempre al di sotto dei 100 ppb per tutti e tre i trattamenti a confronto. La differenza maggiore si è registrata per le due varietà con un valore medio di 37 ppb per Colosseo e 79 ppb per Simeto, ma questa differenza è risultata non significativa.

Anche per il secondo anno non si sono riscontrate contaminazioni marcate di fusariosi della spiga (*tabella 15*). Solo in alcune parcelle sono stati riscontrati sintomi della malattia in una percentuale sempre inferiore al 5%. Le analisi di laboratorio hanno rilevato una percentuale di contaminazione da deossinivalenolo pari al 78% dei campioni e un livello medio di contaminazione pari a 63 ppb. Il campione con il livello più alto di contaminazione ha registrato un valore pari a 125 ppb. Quindi nel secondo anno di prova si sono registrati dei valori inferiori rispetto all'anno precedente sia come valori di percentuale di contaminazione sia come presenza di tossina.

Tabella 13: effetto delle tecniche agronomiche sulle principali fasi fenologiche (2007-08).

Località	Fattore	Fonte di variazione	Reste (gg dall'emergenza)	Spigatura (gg dall'emergenza)	Fioritura (gg dall'emergenza)	Mat. lattea (gg dall'emergenza)
	concimazione	100	111 a	122 a	130 a	163 a
		200	111 a	122 a	130 a	164 a
S.Lucia (OR)	varietà	Colosseo	115 a	125 a	130 a	164 a
		Simeto	107 b	119 b	129 a	163 b
	difesa fungicida	trattato	111 a	122 a	130 a	164 a
		testimone non trattato	111 a	122 a	130 a	164 a
La stessa lettera indica l'assenza di differenze significative (ANOVA).						
Emergenza (B - C) 28-11-06; emergenza (A - D) 4-12-06.						

Tabella 14: effetto delle tecniche agronomiche sulla produzione (2007-08).

Località	Fattore	Fonte di variazione	Altezza pianta (cm)	Spighe per m2 (n.)	Produzione 13% umidità (t/ha)	Peso ettolitrico (kg/hL)	Peso 1.000 semi (g)	Semi bianconati (%)
S.Lucia (OR)	concimazione	100	89,8 a	282 a	5,0 a	79,8 a	51,1 a	44 a
		200	90,0 a	293 a	5,1 a	79,6 a	49,0 a	32 b
	varietà	Colosseo	93,1 a	285 a	4,9 a	81,6 a	47,9 a	37 a
		Simeto	86,7 b	289 a	5,3 a	77,8 b	52,2 a	40 a
	difesa fungicida	trattato	90,3 a	283 a	5,2 a	80,1 a	50,8 a	37 a
		testimone non trattato	89,5 a	292 a	4,9 a	79,3 b	49,3 a	40 a

La stessa lettera indica l'assenza di differenze significative (ANOVA).

Tabella 15: effetto delle tecniche agronomiche sull'incidenza sul contenuto in DON della granella di frumento duro (2007-08)

Località	Fattore	Fonte di variazione	incidenza fusariosi (%)	DON (ppb)
S.Lucia (OR)	concimazione	100	2 a	59 a
		200	2 a	68 a
	varietà	Colosseo	1 a	37 a
		Simeto	3 a	79 a
	difesa fungicida	trattato	2 a	56 a
		testimone non trattato	0 a	68 a
La stessa lettera indica l'assenza di differenze significative (ANOVA).				

3.3. Analisi tossicologiche della granella

I risultati del test ELISA per la valutazione della contaminazione da DON sui campioni di granella di frumento duro ottenuti nel biennio 2006-07 e 2007-08 sono riportati nella *tabella 16*. Nella valutazione di questi risultati è opportuno sottolineare che nelle due stagioni colturali non sono state registrate marcate manifestazioni della fusariosi della spiga.

Nel biennio sono stati analizzati 192 campioni di granella, rispettivamente 128 nel primo anno di prova e 64 nel secondo. Le analisi hanno evidenziato un'incidenza media di contaminazione pari al 90% nel biennio (95% nel 2006-07 e il 78% nel 2007-08) e un livello medio di contaminazione dei campioni risultati positivi pari a 130 ppb nel 2006-07 e 63 ppb nel 2007-08. I valori massimi rilevati sono stati di 646 ppb e 125 ppb, rispettivamente per le due annate.

Tabella 16: contaminazione da DON per anno di prova.

Località	Anno	Campioni totali biennio				Campioni positivi(*)	
		analizzati n.	negativi (n.) n.	positivi(*) n.	%	valore medio (ppb)	valore massimo (ppb)
Oristano	2006-07	128	6	122	95	130	646
	2007-08	64	14	50	78	63	125
totale		192	20	172	90	97	646

(*) Sono stati considerati positivi i campioni con valori di DON > 18,5 ppb (limite di sensibilità del metodo).

Dalla tabella si può rilevare come la contaminazione da deossivalenolo sia stata più marcata nel primo anno di prova rispetto al secondo sia in termini di percentuale di campioni contaminati sia come concentrazione media della tossina. Nonostante questo i valori rilevati sono sempre risultati inferiori al limite di legge indicato nel regolamento Ce 856/2005 pari a 1.750 ppb.

4. CONCLUSIONI

Le prove realizzate nei campi sperimentali di S. Lucia (OR) avevano lo scopo di verificare come in un ambiente a clima tipicamente mediterraneo le condizioni meteorologiche e l'agrotecnica potessero influire sulla contaminazione da *Fusarium* spp. e sul conseguente accumulo di micotossine nella granella di frumento duro.

I risultati della ricerca hanno evidenziato come l'ambiente pedoclimatico in cui sono state effettuate le prove di coltivazione non sia in generale favorevole allo sviluppo e alla contaminazione da micotossine, in particolare di deossivalenolo. Infatti si è visto come per entrambi gli anni di prova, e per tutte le tesi analizzate, le contaminazioni da micotossine, non siano state elevate e comunque contenute sempre entro il limite di 1.750 ppb fissato dall'Unione Europea.

Le prove sperimentali hanno confermato che, in presenza di inoculo, le condizioni meteorologiche sono determinanti per la manifestazione e la diffusione della malattia e della conseguente contaminazione. In particolare la velocità del vento e le precipitazioni sono determinanti per la diffusione delle spore, la temperatura e l'umidità relativa dell'aria per l'infezione della spiga da parte del fungo. Il verificarsi di suddetti eventi meteorologici in concomitanza delle fasi fenologiche della coltura più suscettibili alla malattia, in particolare della fioritura, determinano condizioni di alto rischio di contaminazione.

Infatti si è visto come nel secondo anno di prova le giornate altamente rischiose dal punto di vista meteorologico per la contaminazione e infezione da parte di *Fusarium* sono state inferiori rispetto all'anno precedente. Ciò dipende soprattutto dal fatto che, nonostante le precipitazioni, le temperature, l'umidità relativa e la ventosità in molte giornate del secondo anno siano state favorevoli allo sviluppo dei funghi, spesso queste condizioni non si sono verificate durante la fioritura, il periodo più sensibile alla contaminazione o non si sono verificate simultaneamente, andando ad annullare l'una l'effetto dell'altra.

Questo risultato è rafforzato dai dati delle analisi dei campioni per i quali sono state riscontrate maggiori contaminazioni da deossinivalenolo nel primo anno rispetto al secondo, sia in termini di percentuale di campioni positivi, sia in termini di concentrazione della tossina.

Questo conferma che le condizioni meteorologiche in concomitanza delle fasi fenologiche più sensibili alla contaminazione e infezione da parte dei funghi tossigeni siano determinanti non solo sulla diffusione della malattia ma anche sull'accumulo delle micotossine nelle cariossidi.

Tenendo conto di questi fattori, alcuni elementi della tecnica colturale, analizzati durante le prove dei due anni, si sono dimostrati efficaci nel ridurre il rischio di contaminazione.

In particolare l'impiego di una varietà poco suscettibile si è dimostrata efficace nel ridurre l'accumulo di micotossine. Infatti la varietà più precoce, Simeto, ha mostrato sempre un livello di contaminazione maggiore rispetto alla varietà più tardiva, Colosseo.

Il trattamento fungicida con prodotti efficaci contro la malattia, somministrati in prossimità dell'evento infettante e nel momento di maggiore sensibilità del cereale, hanno ridotto l'infezione sulla spiga e la conseguente contaminazione da micotossine. Il ricorso a trattamenti contro la fusariosi, pur dimostrandosi efficace nella riduzione della contaminazione, è ipotizzabile in condizioni meteorologiche favorevoli l'insorgenza della fusariosi, in considerazione della non elevata presenza di micotossine nelle produzioni locali.

La presenza dei residui colturali e il precedente colturale mais, tenendo conto del basso potenziale di inoculo nel terreno studiato e della quasi assenza della malattia, non hanno influito significativamente sull'accumulo di micotossine.

Possiamo concludere che nelle condizioni climatiche dei nostri ambienti, sfavorevoli allo sviluppo di micotossine nella coltura di frumento duro, la scelta di una varietà poco suscettibile alla fusariosi della spiga sia comunque sempre

consigliabile quale elemento preventivo di riduzione dell'incidenza della malattia. Il monitoraggio dei fattori meteorologici, in particolare durante le fasi più a rischio di contaminazione, può essere un valido mezzo di controllo per contrastare tempestivamente, con i metodi opportuni e qualora necessario, l'insorgenza della malattia e il conseguente accumulo di micotossine.

5. BIBLIOGRAFIA

1. AA.VV. , 2007. Coltura e cultura: Il grano. Edizione Art.
2. AA.VV. , 2008. Micotossine nel mais: la prevenzione in campo. Agricoltura 3: 75-82
3. AA.VV., 2008. Prevenzione delle micotossine nei cereali autunno-vernini dal campo allo stoccaggio. Agricoltura 7/8: 81-90
4. Avvantaggiato G., De Girolamo A., Fanelli C., Ricelli A., 2002. Funghi tossigeni e micotossine: metodi di decontaminazione delle derrate. Informatore fitopatologico, anno LII – dicembre 2002, n. 12, 43-49..
5. Balconi C., Ferrari A., Berardo N., Verderio A., Mascheroni S., Laganà P., Motto M., 2008. Evaluation of inoculation techniques for *F. verticelloides* ear rot and fumonisin contamination of maize hybrid genotypes. Maize Gen. Coop. News Lett. 82: 5-6
6. Baldoni R., Giardini L. (2006). Coltivazioni erbacee – Cereali e proteaginose. Patron Editore.
7. Balmas V. (2006). Contro la Fusariosi della spiga serve la lotta integrata. Supplemento a L'informatore Agrario n.1 al numero del 17/23 marzo 2006, 24-25.
8. Balmas V., Maccaroni M., Santori A., Corazza L. (1999). Fusariosi della spiga di cereali autunno-vernini: indagine epidemiologica e valutazione della resistenza varietale di frumento duro nell'Italia centrale. Informatore Fitopatologico, 49 (12): 37-41.
9. Battilani P. Pietri A., Marocco A., Scudellari D., 2008. Micotossine del mais prodotto in Italia: diffusione e prevenzione. Rivista Agronomica di Terremerse, 4: 2-10
10. Battilani P., Barbano C., Bertuzzi T., Marocco A., Pietri A., Scandolara A., Scudellari D., 2008. Micotossine in Emilia-Romagna, risultati incoraggianti. L'informatore Agrario 7: 39-41

11. Battilani P., Pietri A., Barbano C., Scandolara A., Bertuzzi T., Marocco A. Logistic regression modelling of cropping system to predict fumonisin contamination in maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (accepted).
12. Blandino M., Reyneri A., Corbellini M., Haidukowski M., Mazzieri G., Scudellari D., Desiderio E., 2008. La giusta tecnica colturale per il controllo della fusariosi. *L'informatore Agrario*, 32: 46-50
13. Blandino M., Cattaneo M., Mazzieri G., Reyneri A., Scudellari D., 2007. Effetto delle lavorazioni del terreno, della scelta varietale e del trattamento fungicida sulla contaminazione da deossinivalenolo nel frumento tenero. *Atti del XXXVII° Convegno della Società Italiana di Agronomia, Catania (Italy), 13-14 Settembre 2007*, 23-24.
14. Blandino M., Colombari G., Reyneri A., 2008. Prevenire le micotossine si può con le giuste tecniche agronomiche. *L'informatore Agrario*, 7: 34-37
15. Blandino M., Colombari G., Reyneri A., Vanara F., 2007. Effetto dell'applicazione di diversi percorsi produttivi sulla contaminazione da micotossine nella granella di mais. *Atti del XXXVII° Convegno della Società Italiana di Agronomia. Catania (Italy), 13-14 Settembre 2007*, 173-174.
16. Blandino M., Corbellini M., Scudellari D., Vanara F., 2008. Effect of soil tillage, varieties and fungicide treatment on the deoxynivalenol contamination in soft wheat. In: *Proceedings of X International Fusarium and Fusarium Genomics Workshop 2008. Alghero (Italy), August 30-september 2, Journal of Plant Pathology 90 (3, Supplement), 71.*
17. Blandino M., Reyneri A., Vanara F., 2007. Stratégie pour la reduction des fumonisines dans le grain de maïs en Italie. In: *Proceedings of Progrès et perspectives de la recherché sur les mycotoxins de Fusarium dans les cereals, Arcachon, France, 11-13 septembre 2007*, 75-76
18. Blandino M., Reyneri A., Vanara F., 2008. Strategy for the reduction of mycotoxin in maize kernels during cultivation. In: *Proceedings of 9th*

International Congress of Plant Pathology, Torino (Italy), August 24-29, Journal of Plant Pathology 90 (2, supplement), 317.

19. Bottalico A., 1998. Fusarium diseases of cereals: species complex and related mycotoxin profiles, in Europe. Journal of plant pathology 1998, 80 (2), 85-103.
20. Bottalico A., 2002. Funghi tossigeni e micotossine: aspetti generali. Informatore fitopatologico, anno LII – dicembre 2002, n. 12, 10-16.
21. Campagna C., Haidukowski M., Pancaldi D., Pascale M., Ravaglia S., Silvestri M., Visconti A., 2005. Fonti di rischio e gestione delle micotossine nel frumento. L'Informatore Agrario n. 1 2005, 39-47.
22. Cannella C., Piredda M., 2006. I cereali nella dieta mediterranea. Supplemento a L'informatore Agrario n.1 al numero del 17/23 marzo 2006, 7-8.
23. Collauto M. 2006. La normativa sulle Fusarium-tossine. Supplemento a L'informatore Agrario n.1 al numero del 17/23 marzo 2006, 12-13.
24. Cristiani C., Alvisi G., Almerighi A., 2004. La tempistica degli interventi contro la fusariosi del frumento. L'informatore Agrario 2004, n. 14, 87-89.
25. D'Egidio M. G., Desiderio E. 2006. Qualità e sicurezza nel grano duro. Supplemento a L'informatore Agrario n.1 al numero del 17/23 marzo 2006, 9-11.
26. Desiderio E., 2007 (intervista) – Frumento duro, proteine in aumento ma la granella ha qualità modesta. Terra e Vita, 38: 74 – 76.
27. Desiderio E., 2008. Giornata tecnica sul frumento duro. I risultati della sperimentazione condotta nella stagione 2007_08. Molini d'Italia. Novembre 2008: 48 – 61.
28. Desiderio E., Aureli G., Conti D., Mazzieri G., Pascale M., Fornara M., 2008. Le giuste tecniche agronomiche contro la fusariosi nel frumento duro. L'Inf. Agr., 34 suppl: 15-18

29. Desiderio E., Aureli G., Pascale M., Belocchi A., D'Egidio M.G., 2008. Bassa presenza di micotossine nella granella di frumento duro. *L'Inf. Agr.*, 34: 41-44
30. Desiderio E., D'Egidio M.G., Pascale M., Aureli G., 2007. Monitoraggio della presenza di DON nelle produzioni nazionali di frumento duro. Atti XXXVII Convegno SIA, Catania 13-14 settembre 2007, pag. 21 – 22.
31. Desiderio E., Pilo C., 2007. Micotossine nei cereali: valutazione e controllo della contaminazione. *Molini d'Italia*, 58, n.4: 67-86.
32. Ferrari A, Balconi C., 2008. Tecniche di inoculo fungino per la valutazione di genotipi di mais. *Dal seme*, 1: 38-40
33. Gianinetti A., Baronchelli M., Alberici R., Faccini N., Terzi V., Stanca AM., Reggiani F. (2007) "Malto di qualità dall'orzo coltivato in Italia" *L'informatore Agrario* 31:55-59
34. Haidukowki M., Pascale M., Perrone G., Pancaldi D., Campagna C., Visconti A., 2005. Effect of fungicides on the development of *Fusarium* head blight, yield and deoxynivalenol accumulation in wheat inoculated under field conditions with *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2005, n. 85, 191-198.
35. Infantino A., Mulè G., 2006. Come monitorare la fusariosi della spiga. Supplemento a *L'informatore Agrario* n.1 al numero del 17/23 marzo 2006, 26-28.
36. La Torre A., Lolletti D., Imbroglini G., 2004. Stato sanitario di granella di frumento tenero e duro, di farro e di alcuni loro trasformati ottenuti da produzioni convenzionali e biologiche. *Informatore fitopatologico*, 2004, n. 9, 7-19.
37. Marocco A., Tabaglio V., Pietri A., Gavassi C. Influence of no-tillage, conventional tillage and nitrose fertilisation on fumonisin contamination in maize Kernels. *Field Crop Research* (submitted)

38. Menniti A. M., Pancaldi D., Maccaferri M., Canalini L., 2003. Effect of fungicides on *Fusarium* head blight and deoxynivalenol content in durum wheat grain. *European Journal of Plant Pathology*, 2003, n. 109, 109-115.
39. Meriggi P., Scudellari D., Pradolesi G., 2008. Il rischio delle micotossine nei cereali autunno-vernini: limiti massimi ammessi, monitoraggio delle produzioni e strategie di controllo. *Rivista Agronomica di Terremerse*, 2: 4-9
40. Moretti A., 2008. La difesa dalla fusariosi può partire dal seme. *L'informatore Agrario*, 34: 47-48.
41. Moretti A., Corazza L., Balmas V., Santori A., Ritieni A., 2002. Funghi tossigeni e micotossine: filiera cerealicola. *Informatore fitopatologico*, anno LII – dicembre 2002, n. 12, 17-22.
42. Mulè G., Minervini F., Susca A., 2002. Funghi tossigeni e micotossine: diagnosi e kit molecolari. *Informatore fitopatologico*, anno LII – dicembre 2002, n. 12, 35-42.
43. Munkvold, G.P. 2003. Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. *European J. Plant Pathol.* 109:705-713.
44. Munkvold, G.P. 2003. Mycotoxins in corn: occurrence, impacts, and management. Pp. 811-881 in *Corn Chemistry and Technology*, 2nd Edition. P. White and L. Johnson, Eds. Am. Assoc. Cereal Chemists, St. Paul, MN
45. Haouet N. M., Altissimi M.S., 2003. Micotossine negli alimenti e micotossicosi animale e umana. *Webzine Sanità Pubblica Veterinaria*, febbraio 2003, n. 18.
46. Pascale M., Bottalico A., Pancaldi D., Perrone G., Visconti A., 2002. Occurrence of deoxynivalenol in cereals from experimental fields in different Italian regions. *Petria* 2002 12 (1/2), 123-129.
47. Pascale M., De Girolamo A., Visconti A. Pancaldi D., 2000. Indagine sulla presenza di deossinivalenolo in cereali prodotti in alcune aree del Nord Italia nel 1998. *Informatore Fitopatologico* 2002 10, 68-73.

48. Paul P. A., El-Allaf M., Lipps P. E., Madden., 2005. Relationship between incidence and severity of fusarium head blight on winter wheat in Ohio. *Phytopathology* 2005, n. 9, 1049-1060.
49. Paul P. A., Lipps P. E., Madden., 2005. Relationship between visual estimates of *fusarium* head blight intensity and deoxynivalenol accumulation in harvest wheat grain: a meta-analysis. *Phytopathology* 2005, n. 10, 1225-1236.
50. Plizzari L., Scudellari D., Cattaneo M., Brandolini A., Pascale M., Desiderio E., 2008. Tenero, bassi livelli di micotossine ma la guardia resta alta. *L'informatore Agrario* 32: 42-44.
51. Reyneri A., Blandino M., 2006. La fusariosi si previene in campo. Supplemento a *L'informatore Agrario* n.1 al numero del 17/23 marzo 2006, 16-17.
52. Rossi V., 2006. Fusariosi della spiga, malattia a molte facce. Supplemento a *L'informatore Agrario* n.1 al numero del 17/23 marzo 2006, 19-23.