

## Obiettivi e articolazioni del progetto interregionale MICOCER\*\*

Il consumo di cereali è alla base dell'alimentazione dell'uomo e degli animali soprattutto nelle zone dell'area del Mediterraneo, dove sono ampiamente diffusi e coltivati secondo le esigenze climatiche di ciascuna coltura.

La gran parte del territorio agricolo italiano è destinato ai cereali, che occupano una superficie di circa 4 milioni di ettari; in particolare il frumento duro (*Triticum durum* Desf.) rappresenta la coltura principale del Meridione dove spesso viene coltivato in aree agricole nelle quali non sussistono alternative colturali. Dalle regioni meridionali proviene infatti la maggior parte del frumento duro, che costituisce la materia prima fondamentale per la produzione delle paste alimentari, e per il quale il nostro Paese è il maggiore produttore europeo.

La coltura del frumento tenero (*Triticum aestivum* L.), utilizzato prevalentemente per la panificazione, è concentrata soprattutto nel Centro-Nord e copre solo in parte il fabbisogno nazionale. Il nostro Paese si colloca ai primi posti in Europa, anche per la produzione di mais (*Zea mays* L.), coltura diffusa nelle aree settentrionali, soprattutto in Veneto e Lombardia, e destinato in larga misura all'alimentazione animale.

Negli ultimi decenni, tuttavia, la distribuzione tradizionale delle colture cerealicole nell'ambito del territorio agricolo nazionale ha visto un graduale cambiamento, dovuto soprattutto a un progressivo spostamento della coltivazione del frumento duro dalle regioni meridionali e insulari, dove prima era esclusivamente localizzata, verso le regioni dell'Italia centro-settentrionale, spesso in sostituzione del frumento tenero. Tale fenomeno ha portato gli agricoltori a dover affrontare nuove problematiche, legate soprattutto alla capacità di adattamento di questo cereale a situazioni climatiche diverse da quelle di

\* CRA-QCE, *Unità di Ricerca per la Valorizzazione qualitativa dei Cereali*, Roma

\*\* La stesura di questa introduzione, già iniziata da E. Desiderio, è stata completata da M.G. D'Egidio e G. Aureli che hanno cercato di interpretare, per quanto possibile, le sue idee in merito

origine e per le quali la ricerca legata al miglioramento genetico ha fornito sicuramente un grande contributo soprattutto in relazione agli aspetti agronomici, fitopatologici e qualitativi.

Attualmente l'attenzione dei consumatori è sempre più orientata sia verso gli aspetti nutrizionali-salutistici che verso quelli legati alla sicurezza d'uso degli alimenti. In quanto a caratteristiche nutrizionali i cereali rappresentano una fonte privilegiata di nutrienti, soprattutto carboidrati e proteine, e per questo si trovano alla base della piramide alimentare umana. Oltre ai costituenti di base, i cereali risultano ricchi anche di composti bioattivi quali, ad esempio, fibre e antiossidanti; proprio in considerazione del ruolo che assumono gli alimenti a base di cereali nella dieta la sicurezza d'uso della materia prima costituisce un elemento imprescindibile della qualità. Tra i principali contaminanti delle colture cerealicole rivestono un ruolo di particolare importanza le micotossine, prodotti tossici del metabolismo secondario di alcuni funghi fitopatogeni.

Sebbene i dati fino ad ora raccolti non coprano tutte le realtà agricole, in molte situazioni nazionali e internazionali sono stati riscontrati tenori di micotossine talora elevati e tali da evidenziare la necessità di approfondire lo studio sia sulle cause predisponenti sia sulla portata del problema (Pietri e Piva, 2000; Reyneri et al., 2004).

Le micotossine che più frequentemente vengono rilevate nei frumenti, nell'orzo e nel mais sono prodotte dai funghi del genere *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. proliferatum*, *F. verticillioides* o *F. moniliforme*), del genere *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ocraceus*) e *Penicillium*. Fumonisine (FUM), zearalenone (ZEN) e tricoteceni, fra questi ultimi il deossinivalenolo (DON o "vomitosina") e la tossina T-2, sono tra le più importanti micotossine prodotte da funghi filamentosi a diffusione cosmopolita del genere *Fusarium* spp. presenti nei cereali, alimenti zootecnici e foraggi. Eventi critici di diffusione di micotossicosi da metaboliti di *Fusarium* spp. sono stati registrati in Asia, Europa, Nuova Zelanda, America del Sud e in Italia. Il deossinivalenolo è il metabolita più importante per quanto riguarda il frumento, sia in termini quantitativi che di diffusione, ed è spesso associato ad altre fusariotossine (Lancova et al., 2008).

Significative manifestazioni di fusariosi della spiga sono state osservate a seguito dell'aumento dell'azoto distribuito con la concimazione. Per quanto riguarda i genotipi impiegati, alcune ricerche condotte sia in Europa centrale (Matthies et Buchenauer, 2000) che in Italia (Allegri et al., 2001; Menniti et al., 2003) hanno evidenziato la tendenza ad una maggiore sensibilità nelle varietà di ciclo precoce rispetto a quelle tardive. Tra le agrotecniche più intensive, l'impiego di fungicidi si è dimostrato il metodo più efficace per controllare la fusariosi della spiga e altre importanti malattie del frumento.

La contaminazione da micotossine può aver luogo sia in campo, durante le fasi di coltivazione e di raccolta, sia in magazzino, durante lo stoccaggio, che nelle diverse fasi di trasformazione da parte delle industrie agro-alimentari. Relativamente ai cereali in campo, la formazione di micotossine dipende da numerosi fattori, tra i quali: presenza e patogenicità di funghi tossigeni, suscettibilità delle varietà agli attacchi fungini, stress biotici e abiotici predisponenti le piante alle infezioni fungine, andamento climatico e tecniche colturali favorevoli allo sviluppo dei funghi.

La prevenzione risulta essere la miglior strategia di controllo per ridurre l'accumulo di tossine nelle cariossidi tramite la realizzazione di condizioni sfavorevoli allo sviluppo delle specie fungine tossigene (Riley e Norred, 1999).

Tra le tecniche di contenimento in campo della contaminazione da micotossine nei cereali, Munkvold (2003) individua come elemento di prevenzione fondamentale il miglioramento genetico, ma sottolinea come l'applicazione di tecniche agronomiche corrette possa ridurre in maniera significativa i rischi di elevati tenori di tossine nel corso della fase di coltivazione, sia per il mais, sia per i cereali a paglia.

La problematica relativa alla presenza ed al controllo delle micotossine nei cereali e nei prodotti derivati è affrontata da alcuni anni in Italia con indagini e progetti di ricerca finanziati dall'UE, dagli Enti pubblici, dalle Regioni e dai privati.

Senz'altro più numerose sono le indagini sulla presenza di micotossine nel mais, per lo più condotte nelle regioni dell'Italia settentrionale. Fino a pochi anni fa era diffusa la convinzione che l'accumulo di tali metaboliti tossici avvenisse prevalentemente nelle fasi successive alla raccolta del mais. Prove sperimentali e attività di monitoraggio lungo tutta la filiera hanno messo in evidenza però che la contaminazione da micotossine è elevata in campo e limitata durante lo stoccaggio (Reyneri et al., 2001). Altre ricerche (Reyneri et al., 2002) hanno mostrato l'efficacia dell'essiccazione forzata e dell'aerazione per contenere e uniformare l'umidità della massa accumulata nei sili nonché della movimentazione e ripetuta pulizia della granella, precedente e successiva all'essiccazione, per ridurre la presenza dei metaboliti fungini. Considerato quindi che il principale momento di accumulo di micotossine (specie quelle prodotte da *Fusarium* spp.) si incontra nelle fasi di campo, l'attività di ricerca si è focalizzata sull'influenza di alcune tecniche agronomiche e sugli aspetti entomologici e patologici delle contaminazioni in campo. Il fungo isolato con maggiore frequenza nei campioni di granella di mais è risultato il *Fusarium moniliforme*, che produce le fumonisine. Altre micotossine, come zearalenone, deossinivalenolo e ocratossina A, sono risultate presenti in maniera cospicua solo in caso di elevata piovosità durante la maturazione delle cariossidi (Rey-

neri et al., 2004). Altri lavori hanno evidenziato l'efficacia di alcune scelte agronomiche per limitare la produzione di fusariotossine nella granella di mais quali: scelta varietale (Reyneri et al., 2003), epoca di semina (Blandino et al., 2003), densità colturale, livello delle concimazioni (specie di quelle azotate) ed epoca di raccolta. Al contrario, negli stessi ambienti i trattamenti fitosanitari della semente e la precessione colturale non hanno sortito effetti significativi. I fenomeni fisici capaci di favorire la penetrazione del micelio fungino, come i danni prodotti dalle larve della piralide, sembrano promuovere maggiormente alcune infezioni rispetto ad altre (Alma et al., 2003). I risultati di queste indagini (Verderio et al., 2005) hanno evidenziato che le fumonisine sono le tossine più diffuse nelle partite commerciali di mais del nord Italia; poco meno del 50% degli oltre 1.500 campioni raccolti in un quadriennio presso i centri di stoccaggio della Lombardia ha mostrato concentrazioni di fumonisine superiori a 2000 µg/Kg. Risultati analoghi sono stati ottenuti su campioni di pieno campo prelevati nel biennio 2002-2003 in quattro regioni del Nord (Lombardia, Piemonte, Friuli e Veneto) e in Toscana (Battilani et al., 2005). Sia nei campioni prelevati presso i centri di stoccaggio che in pieno campo, quasi sempre limitata è risultata la contaminazione da DON, ZEA, ZEN aflatossine, anche se queste ultime hanno raggiunto livelli di attenzione nel 2003.

Altre ricerche sono state svolte nell'ambito di progetti finanziati dal Mi-PAF e finalizzate allo studio dei livelli di contaminazione da micotossine in alimenti a uso zootecnico a base di mais (es.: AFLARID e "Prevenzione delle contaminazioni chimiche e da micotossine nei sistemi agrozootecnici per la produzione di latte"). Al di là degli interessanti risultati conseguiti nell'ambito dei diversi programmi di ricerca svolti a livello sia nazionale che regionale, la frammentarietà delle iniziative, spesso dettata da problemi contingenti, non ha consentito di avere un quadro complessivo del livello di contaminazione da micotossine delle principali produzioni cerealicole nazionali, né di disporre di tutti gli elementi utili per l'attivazione di strumenti di supporto decisionale.

In questo contesto è stato avviato il progetto MICOCER.

#### IL PROGETTO INTERREGIONALE MICOCER

La cerealicoltura italiana deve rispondere alle crescenti esigenze di qualità che i mercati richiedono, sia per gli aspetti tecnologici sia per gli aspetti sanitari. È stata infatti spesso riscontrata una elevata frequenza di partite contaminate, in qualche caso con valori superiori a quelli normati. Poiché la problematica è molto complessa, in quanto i vari fattori predisponenti interagiscono fra loro

in modo sinergico e/o antagonistico, risulta talvolta difficile tradurre i dati attualmente disponibili in informazioni fruibili da parte della filiera produttiva. A testimonianza di queste difficoltà, basti analizzare le contraddizioni esistenti nei vari protocolli operativi (es.: campionamento, metodi di analisi, ecc.) che, da più parti, sono stati proposti e utilizzati negli ultimi anni.

Il monitoraggio delle produzioni dei cereali (frumento duro, frumento tenero e mais), prioritariamente considerati dal programma interregionale, ha tenuto conto della reale diffusione delle specie e delle varietà nonché delle variabili colturali e ambientali esistenti sul territorio. Pertanto, requisito fondamentale per le attività di controllo-riduzione e di gestione delle micotossine è la disponibilità sia di dati complessivi circa i reali livelli di contaminazione delle produzioni sia di alcune indicazioni fondamentali utilizzabili a scopo interpretativo e, in prospettiva, a scopo di previsione-prevenzione circa gli effetti generali del “campo” (bacino di produzione, ambiente pedoclimatico, pratiche agronomiche, andamento stagionale) e dei processi di ammassamento, condizionamento e stoccaggio delle produzioni.

Un problema che richiede particolare e preliminare attenzione è la definizione di valide e adeguate metodologie sperimentali, in grado di colmare le lacune ancora esistenti che limitano enormemente l'efficacia e la trasferibilità dei dati relativi alle attività di monitoraggio e controllo.

A tale riguardo, il progetto si è posto l'obiettivo di affrontare, in via preliminare, i problemi relativi allo sviluppo di un programma di informazione dei vari soggetti coinvolti con la sensibilizzazione al problema delle micotossine, la individuazione, valutazione, attuazione e divulgazione dei piani di campionamento per le micotossine di interesse e la diffusione degli aggiornamenti relativamente alla parte analitica. In questo contesto si inquadrano anche le problematiche connesse con la validazione di alcuni test analitici disponibili in commercio e largamente utilizzati per uno screening rapido di un elevato numero di campioni.

L'esperienza maturata in Italia da diversi gruppi di ricerca converge nell'attribuire primaria importanza al coordinamento dei diversi soggetti della filiera nelle fasi di coltivazione, post-raccolta e trasformazione, evidenziando in pari tempo la necessità di partire da un prodotto di campo più sano e controllato. Fra gli obiettivi del progetto di ricerca è stato inserito anche quello di fornire un contributo in merito alle problematiche sopra delineate, mettendo altresì a disposizione degli operatori della filiera e delle numerose e qualificate competenze scientifiche coinvolte, l'ingente mole di dati derivanti dall'attività di monitoraggio qualitativo delle produzioni cerealicole aziendali e delle reti di sperimentazione varietale su frumento duro, frumento tenero e mais, annualmente realizzate sull'intero territorio nazionale dal CRA.

La disponibilità dei dati del monitoraggio ha una utilità immediata in quanto tali dati forniscono agli operatori agricoli e ai trasformatori indicazioni utili per la programmazione e gestione degli approvvigionamenti.

La validazione preliminare di metodiche analitiche rapide per la determinazione di micotossine nel mais e di DON nei cereali può offrire l'opportunità agli operatori del settore che non possono disporre di laboratori dotati di strumentazione adeguata, di monitorare ugualmente le proprie produzioni con un metodo di analisi altrettanto sensibile, affidabile e meno costoso. L'impianto sperimentale delle indagini agronomiche è stato predisposto per avvicinare il più possibile i risultati ottenuti a una immediata applicabilità nei contesti produttivi e ridurre il più possibile i tempi del trasferimento e della fruibilità degli stessi.

#### OBIETTIVI DEL PROGETTO

Gli obiettivi del progetto MICOCER possono essere riassunti nei seguenti punti:

1. acquisire informazioni capillari e omogenee circa la presenza delle micotossine (deossinivalenolo per il frumento duro e tenero; deossinivalenolo, zearalenone, aflatossine e fumonisine per il mais), nelle produzioni cereali-cole nazionali, attraverso un diffuso monitoraggio territoriale presso le aziende, i centri di stoccaggio e di trasformazione del prodotto;
2. individuare, per ciascuna specie e macroareale oggetto dell'indagine, una rete rappresentativa di ambienti, condizioni colturali e di conservazione del prodotto ai fini della prevenzione dello sviluppo di micotossine;
3. definire percorsi produttivi efficaci e corretti, dal campo alla prima utilizzazione, per l'ottenimento di produzioni di mais e di frumenti a ridotto rischio di contaminazione da micotossine, verificandone la sostenibilità tecnica, economica e ambientale;
4. creare e/o implementare, per ciascuno dei cereali considerati, la banca dati con tutti i risultati del progetto, di semplice e totale fruibilità da parte delle autorità nazionali e locali preposte alla gestione del rischio di contaminazione da micotossine, di tutti gli attori delle differenti filiere cereali-cole e della comunità scientifica.

Inoltre, in considerazione della strutturazione del progetto, si è ritenuto opportuno affrontare alcune tematiche non prioritarie (es.: orzo), ma comunque rilevanti per l'importanza del settore produttivo.

## RIASSUNTO

Attualmente l'attenzione dei consumatori è sempre più orientata sia verso gli aspetti nutrizionali-salutistici che verso quelli legati alla sicurezza d'uso degli alimenti. I cereali rappresentano una fonte privilegiata di nutrienti e la sicurezza d'uso della materia prima costituisce un elemento imprescindibile della qualità. Tra i principali contaminanti delle colture cerealicole rivestono un ruolo di particolare importanza le micotossine, prodotti tossici del metabolismo secondario di alcuni funghi fitopatogeni.

Gli obiettivi del progetto MICOCER hanno riguardato la rilevazione del grado di contaminazione da micotossine nelle produzioni cerealicole nazionali come il deossinivalenolo per il frumento duro (*Triticum durum* Desf.) e per il frumento tenero (*Triticum aestivum* L.), lo zearalenone e le fumonisine per il mais (*Zea mays* L.), attraverso l'individuazione di una rete rappresentativa di ambienti, di condizioni culturali e di conservazione del prodotto, ai fini della prevenzione della contaminazione. Sono stati inoltre definiti percorsi produttivi efficaci e corretti, per l'ottenimento di produzioni di mais e di frumenti a ridotto rischio di contaminazione da micotossine. Sulla base dei risultati ottenuti è stata creata una banca dati da utilizzabile ai fini della gestione del rischio di contaminazione da micotossine per i cereali considerati nel progetto.

## ABSTRACT

Actually the attention of consumers is more and more directed towards both nutritional-healthy aspects and food safety. Cereals represent a primary source of nutrients and the safety of raw material represents a pre-requisite of quality. Among the main contaminants of the cereal crops a very particular role belongs to the mycotoxins, toxic secondary compounds produced by some phytopathogen strains of moulds.

Main purpose of MICOCER project was the prevention of contamination by the detection of deoxynivalenol in durum wheat (*Triticum durum* Desf.), winter wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.), zearalenon and fumonisins in maize, in samples of national production regarding environments, growing conditions and storage conditions.

Moreover, with the aim to obtain maize and wheat crops at low risk of contamination by mycotoxins, effective and correct cultivation practices were defined and a database collecting the analytical data will be available in order to allow risk management of the mycotoxins considered in the project.

## BIBLIOGRAFIA

- ALLEGRI A., BUCCI V., PRADOLESI G. (2001): *Effetto di alcuni fungicidi nella difesa del frumento*, «L'Informatore Agrario», 33, pp. 43-45.
- ALMA A., BLANDINO M., LESSIO F. (2003): *Micotossine addio se la piralide è sconfitta*, «L'Informatore Zootecnico», 14, pp. 56-59.
- BATTILANI P., SCANDOLARA A., BARBANO C., PIETRI A., BERTUZZI T., MAROCCO A., BERRARDO N., VANNOZZI G.P., BALDINI M., MIELE S., SALERA E., MAGGIORE T. (2005):

- Monitoraggio della contaminazione da micotossine nel mais*, «L'Informatore Agrario», 6, pp. 47-49.
- BLANDINO M., LAZZARI A., REYNERI A., VANARA F. (2003): *Micotossine? Dipende dall'epoca di semina*, «L'Informatore Zootecnico», 8, pp. 70-75.
- LANCOVA K., HAJSOVA J., KOSTELANSKA M., KOHOUTKOVA J., NEDELNIK J., MORAVCOVA H. AND VANIVA M. (2008): *Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: Milling and baking*, «Food Additives and Contaminants», 25 (5), pp. 650-659.
- MATTHIES A., BUCHENAUER H. (2000): *Effect of tebuconazole (Folicur) and prochloraz (Sportak) treatments on Fusarium head scab development, yield, and deoxynivalenol (DON) content in grains of wheat following artificial inoculation with Fusarium culmorum*, «Journal of plant disease and protection», 107 (1), pp. 33-52.
- MENNITI A.M., PANCALDI D., MACCAFERRI M., CASALINI L. (2003): *Effect of fungicides on Fusarium head blight and deoxynivalenol content in durum wheat grain*, «European Journal of Plant Pathology», 109, pp. 109-115.
- MUNKVOLD G.P. (2003): *Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 41, pp. 99-116.
- PIETRI A., PIVA G. (2000): *Occurrence and control of mycotoxins in maize grown in Italy*, Proceeding of the 6th International Feed Production Conference, Piacenza 27-28 November.
- REYNERI A., CAVALLERO A., ACUTIS M., BERARDO P., FERRERO C., MINELLI L., TURLETTI A., SPANNA F., ALMA A., MATTA A., BERGESE S., LAZZARI A., BERSANI L. (2001): *Contenere le micotossine nella granella di mais*, «L'Informatore Agrario», 47, pp. 35-39.
- REYNERI A., BERSANI L., VANARA F. (2003): *Micotossine, questione di scelta varietale*, «L'Informatore Zootecnico», 9, pp. 84-89.
- REYNERI A., BLANDINO M., FERRERO C., BERSANI L. (2002): *Effetto delle operazioni di post-raccolta sulla contaminazione da micotossine nel mais*, «Tecnica Molitoria», 10, pp. 977-994.
- REYNERI A., BLANDINO M., VANARA F., MATTA A., LAZZARI A., ALMA A., LESSIO F., FERRERO C., MINELLI L., CAVALLERO A., TURLETTI A., SPANNA F., BERSANI L. (2004): *Impiego di tecniche agronomiche per contenere le micotossine nella granella di mais*, «L'Informatore Agrario», 6, pp. 45-50.
- RILEY R.T. AND NORRED W.P. (1999): *Mycotoxin prevention and decontamination – a case study on maize*, «Feed Nutr. Agric.», 23, pp. 25-32.
- VERDERIO A., DELLA PORTA G., VALOTI P., FUMAGALLI F., MAZZINELLI G., MARCHESINI P. (2005): *La diffusione delle micotossine nelle produzioni italiane di mais*, «L'Informatore Agrario», 61 (10), pp. 47-51.