

L'INFORMATORE AGRARIO

www.informatoreagrario.it



Edizioni L'Informatore Agrario

Tutti i diritti riservati, a norma della Legge sul Diritto d'Autore e le sue successive modificazioni. Ogni utilizzo di quest'opera per usi diversi da quello personale e privato è tassativamente vietato. Edizioni L'Informatore Agrario S.r.l. non potrà comunque essere ritenuta responsabile per eventuali malfunzionamenti e/o danni di qualsiasi natura connessi all'uso dell'opera.

● LINEE DI DIFESA PER LIMITARE LE CONTAMINAZIONI DA T2 E HT2

Proteggere il grano duro dalle «nuove» micotossine

Le micotossine T2 e HT2 sono tra le più tossiche per l'uomo e il grano duro coltivato nei nostri areali potrebbe risultarne contaminato. La difesa con i triazoli da soli o in miscela con le strobilurine si è dimostrata efficace

di **A. Reyneri, M. Blandino, V. Scarpino, G. Alvisi, A. Moretti, D. Ponti, C. Cristiani, S. Somma**

Il quadro dei contaminanti nei cereali, tra cui le micotossine, è in continuo divenire a motivo delle più recenti ricerche che evidenziano il rischio intrinseco (tossicità) del contaminante e l'esposizione al rischio dei consumatori. In sede comunitaria, l'Agenzia europea per la sicurezza alimentare (Efsa) ha aperto e discusso in questi ultimi anni alcuni dossier e, tra questi, quello riguardante le tossine T2 e HT2.

Queste micotossine, appartenenti alla famiglia chimica dei tricoteceni, sono sostanze prodotte dalle specie fungine del genere *Fusarium*, sulle quali è stata condotta un'attenta indagine (Efsa-Q-2010-0094; luglio 2010).

La loro tossicità ha come bersaglio principale il sistema immunitario (Caloni e Nebbia, 2009; Schuhmacher-Wolz et al., 2011).

Riguardo a queste micotossine, la Dg Sanco (Direzione generale per la salute e i consumatori) ha proposto dei limiti (tabella 1), tenendo conto della rilevanza dei diversi cereali nelle diete e della loro diffusione. Nelle nostre prevalenti condizioni climatiche, queste tossine possono venir prodotte durante la maturazione in campo soprattutto da



Sintomi di fusariosi su grano duro

Fusarium langsethiae, e *F. sporotrichioides* (Kokkonen et al., 2012a).

La tossina T2, con la sua forma deacetilata ovvero priva di un gruppo acetilico HT2, è la più tossica tra tutti i tricoteceni, per cui i limiti proposti risultano assai minori rispetto a quelli di altri tricoteceni quali il DON. Queste

tossine sono presenti in tutti i principali cereali (escluso il riso) in Europa, ma sono state rinvenute più frequentemente in avena e orzo in centro e nord Europa, poiché interessano soprattutto i cereali a paglia in semina primaverile (Edward et al., 2009; Orlando et al., 2010). In Italia, T2 e HT2 sono state individuate in cariossidi di frumento duro, frumento tenero e mais.

I dati sull'ecologia dei principali produttori riportano che *F. langsethiae* presenta una maggiore termofilia (ottimo termico 28 °C) rispetto a *F. sporotrichioides*, mentre quest'ultimo sembrerebbe in grado di svilupparsi e produrre tossine a valori di umidità del substrato inferiori (Kokkonen et al., 2012b).

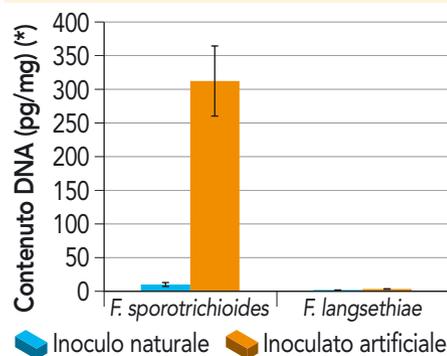
La diffusione nei nostri areali è ancora poco conosciuta, soprattutto per la recente messa a punto di metodi analitici affidabili e poco costosi, sebbene alcune prime analisi indichino nel frumento duro la coltura probabilmente più suscettibile; in particolare, nei raccolti della campagna 2011, la contaminazione da parte di queste micotossine ha interessato diversi areali di coltivazione.

Date queste premesse è parso utile allestire una ricerca volta a indagare

TABELLA 1 - Presenza massima di tossine T2 e HT2 nei cereali in discussione presso la Commissione Dg Sanco

	T2-HT2 (µg/kg)
Cereali non trasformati	
Orzo	200
Mais	150
Avena vestita	1.000
Riso	-
Frumento tenero e duro	50
Prodotti trasformati	
Orzo per consumo diretto	25
Mais per consumo diretto	25
Avena per consumo diretto	50
Riso per consumo diretto	-
Frumento per consumo diretto	25
Dg Sanco febbraio 2012.	

GRAFICO 1 - Presenza di *Fusarium sporotrichioides* e *F. langsethiae* nelle parcelle non trattate con fungicida nelle condizioni di inoculo artificiale e naturale



(*) Presenza del DNA del *Fusarium* nei tessuti vegetali espresso in picogrammi (pg)/milligrammi (mg).

Si evidenzia la capacità di *F. sporotrichioides* di colonizzare le cariossidi (infezione media del 28% delle cariossidi), mentre *F. langsethiae*, seppur inoculato, non ha trovato le condizioni per moltiplicarsi.

l'efficacia di diversi fungicidi per il controllo della contaminazione da tossine T2 e HT2 su frumento duro e tenero, al fine di iniziare la messa a punto, anche per queste micotossine, dei percorsi produttivi più opportuni per prevenire e controllare la contaminazione

Valutazione dei risultati

Nelle condizioni di infezione naturale le specie fungine maggiormente ritrovate nella granella alla raccolta sono state *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* e *F. poae*, con un'incidenza media inferiore al 5% delle cariossidi analizzate. L'analisi micologica effettuata sulle parcelle sottoposte ad inoculo artificiale in assenza di trattamento fungicida (T1), mette in evidenza lo sviluppo di *F. sporotrichioides* e la sua capacità di colonizzare le cariossidi (infezione media del 28% delle cariossidi), mentre *F. langsethiae*, seppur inoculato, non ha trovato le condizioni per svilupparsi (grafico 1).

L'incidenza (% di spighe colpite) e la severità (% area spiga colpita) della malattia sono riportate in tabella 2.

Questa patologia è causata da diversi funghi patogeni del genere *Fusarium*, pertanto i sintomi rilevati in campo non sono ascrivibili solo alla presenza delle specie inoculate. In particolare dove è stato realizzato l'inoculo artificiale, la severità e l'incidenza della malattia sono risultate significativamente superiori nei testimoni non trattati

Come è stata impostata la prova

La prova ha avuto luogo nel 2012 in località Dugliolo (Bologna) su una coltura di frumento duro cv San Carlo, in successione a patata dopo aratura su di un suolo argilloso-franco.

I trattamenti a confronto hanno previsto, oltre ad un testimone non trattato, 4 diverse soluzioni con sostanze attive fungicide o miscele di essi, sempre con un'unica distribuzione a fine spigatura, effettuata in data 4 maggio (tabella A). I trattamenti sono stati eseguiti su parcelle inoculate o meno con spore di *F. sporotrichioides* e *F. langsethiae* ad una concentrazione di 10^5 conidi/mL di soluzione da impiegare, con intervento di inoculo eseguito ad inizio fioritura il 9 maggio.

Complessivamente sono stati confrontati 10 trattamenti adottando uno schema a blocchi randomizzati con 4 ripetizioni in parcelle di 15 m².

TABELLA A - Trattamenti a confronto

Tesi	Sostanza attiva	Formulato commerciale	Dose f.c. (L/ha)
Inoculo artificiale (*)			
1	testimone non trattato	-	-
2	azoxistrobin	Amistar	1
3	metconazolo	Caramba	1
4	proticonazolo	Proline	0,8
5	tebuconazolo + azoxistrobin	Amistar Plus	2
Inoculo naturale			
1	testimone non trattato	-	-
2	azoxistrobin	Amistar	1
3	metconazolo	Caramba	1
4	proticonazolo	Proline	0,8
5	tebuconazolo + azoxistrobin	Amistar Plus	2

f.c. = formulato commerciale.

(*) Miscela di *F. sporotrichioides* + *F. langsethiae*, inoculo eseguito 5 giorni dopo il trattamento fungicida. I trattamenti sono stati eseguiti nella fase fenologica di fine spigatura (BBCH 59); l'inoculo artificiale è stato eseguito nella fase fenologica di inizio fioritura (BBCH 62).

TABELLA 2 - Incidenza e severità della fusariosi della spiga ed effetti su produzione di granella e contenuto proteico

Inoculo	Trattamento	Incidenza fusariosi		Severità fusariosi		Produzione (t/ha)	Proteine (%)
		%	% eff. (*)	%	% eff. (*)		
Artificiale	testimone non trattato	90,2 a	-	13,6 a	-	7,8 a	14,5 a
	azoxistrobin	71,4 b	20,8	6,1 b	55,2	8,0 a	14,3 a
	metconazolo	57,7 c	36,0	4,8 bc	65,0	7,7 a	14,1 a
	proticonazolo	46,1 d	48,9	3,6 bc	73,8	8,3 a	14,4 a
	tebuconazolo + azoxistrobin	56,4 c	37,4	5,1 bc	62,4	8,1 a	14,3 a
Naturale	testimone non trattato	46,1 d	-	5,9 b	-	8,3 a	13,9 a
	azoxistrobin	21,4 e	53,7	2,4 bc	59,1	8,6 a	14,1 a
	metconazolo	22,8 e	50,6	1,8 c	69,4	8,2 a	14,0 a
	proticonazolo	17,9 e	61,2	1,2 c	79,1	8,6 a	14,3 a
	tebuconazolo + azoxistrobin	26,0 e	43,5	1,7 c	71,9	8,5 a	14,2 a

Incidenza: percentuale di spighe colpite. **Severità:** percentuale di area della spiga colpita. Lettere diverse indicano differenze significative per $p < 0,05$ (test SNK).

(*) Efficacia calcolata secondo la formula di Abbott.

Per quanto riguarda la severità della malattia, si evidenzia che le tesi trattate con protioconazolo (T4, T9) hanno tendenzialmente fatto registrare il più alto livello di efficacia.

rispetto alle tesi ad inoculo naturale (tesi 1 a confronto con tesi 6); tale tendenza poi nelle tesi trattate si è confermata anche per quanto riguarda l'incidenza della malattia.

A livello di severità della malattia, si evidenzia che le tesi trattate con pro-

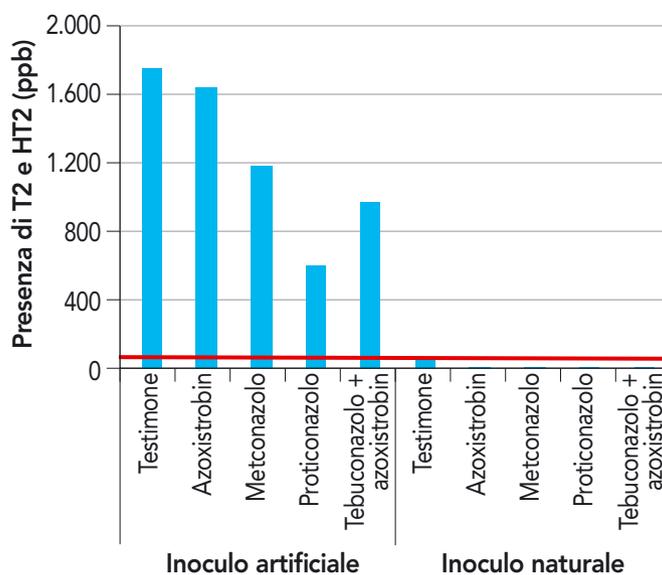
tioconazolo (T4, T9) hanno tendenzialmente fatto registrare il più alto livello di efficacia seguite poi dalla miscela azolo-strobilurina (T5, T10), dal metconazolo (T3, T8) e infine dalle linee di intervento basate sull'impiego della sola strobilurina (T2, T7).

A livello di incidenza della malattia la risposta ai diversi trattamenti ha confermato sostanzialmente la diversa efficacia dei trattamenti descritti in precedenza per la severità. Per quanto riguarda infine le tesi ad inoculo naturale, si evidenzia che, sempre a livello di incidenza della malattia, tutte le tesi sono risultate statisticamente analoghe tra di loro differenziandosi in modo significativo unicamente rispetto al testimone non trattato.

Per la produzione ed il contenuto proteico delle cariossidi non si sono al contrario osservate differenze significative tra le tesi a confronto, sebbene la produzione di granella sia risultata in media del 5% inferiore a seguito dell'inoculo artificiale.

In tabella 3 è riportata la concentrazione di tossine T2 e HT2. Come si può osservare l'effetto dell'inoculo è stato sempre significativo e rilevante con concentrazioni prossime a 1.800 ppb nel testimone. La protezione dei fungicidi è risultata proporzionale ai sintomi sulla spiga. Pertanto la concentrazione di tossina è risultata minore nella tesi con la distribuzione di protioconazolo (T4) seguita poi dalla miscela tebuconazolo + azoxistrobin (T5) e dal

GRAFICO 2 - Concentrazione di micotossine T2 e HT2 in relazione ai trattamenti fungicidi



La linea rossa indica il limite proposto in sede Dg Sanco (2012) e probabilmente imposto nelle future normative.

Nelle tesi non inoculate la concentrazione di T2 e HT2 è risultata di circa 30 volte minore rispetto a quelle con inoculo artificiale. Il testimone (T6) ha comunque presentato una concentrazione significativamente superiore alle diverse tesi trattate con fungicidi (T7-T10) e pari al valore in esame presso la Commissione.

metconazolo (T3), tra loro non significativamente diverse.

Per quanto riguarda il trattamento a base di azoxistrobin (T2), si evidenzia che, non avendo protetto la spiga da questo patogeno, le cariossidi sono risultate contaminate in misura simile al testimone (T1). Nelle tesi non inoculate la concentrazione di T2-HT2 è risultata di circa 30 volte minore ed il relativo testimone (T6) ha comunque presentato una concentrazione significativamente superiore alle diverse tesi trattate con fungicidi (T7-T10) e pari comunque al valore in esame presso la Commissione (grafico 2).

Fungicidi efficaci contro T2 e HT2

La difesa del frumento tenero o duro dall'attacco di *F. sporotrichioides* e *F. langsethiae* può essere condotta efficacemente con gli stessi fungicidi impiegati per controllare l'attacco di *F. graminearum* e *F. culmorum*. In particolare i triazoli di ultima generazione e la miscela triazolo-strobilurina hanno dimostrato una buona efficacia,



mentre la sola strobilurina non ha assicurato una difesa adeguata. Sebbene i dati ottenuti debbano essere confermati in altre condizioni (anno, ambiente) per trovare conferma, ciò nondimeno è importante sottolineare che la strategia per il controllo della fusariosi della spiga, fino ad ora adottata al fine di sostenere la produzione, la qualità tecnologica e contenere l'accumulo di DON, sembra essere efficace anche nel caso di infezioni da *F. sporotrichioides*. Si conferma inoltre, anche per le

specie produttrici di tossina T2 e HT2, una bassa efficacia sul controllo di Fusaria da parte dei fungicidi contenenti le strobilurine da sole.

**Amedeo Reyneri, Massimo Blandino
Valentina Scarpino**

Disafa, Università di Torino

**Gianpiero Alvisi, Davide Ponti,
Claudio Cristiani**

Consorzio agrario dell'Emilia

Servizio ricerca e sviluppo, Centro di saggio

Antonio Moretti, Stefania Somma

Istituto di scienze delle produzioni alimentari,

Cnr - Bari

Ricerca effettuata con il contributo del Progetto Monimais e Micoprincem finanziati nell'ambito della Rete Qualità Cereali del Mipaaf.

Le foto a corredo dell'articolo sono di M. Blandino.

Per commenti all'articolo, chiarimenti o suggerimenti scrivi a: redazione@informatoreagrario.it

Per consultare gli approfondimenti e/o la bibliografia: www.informatoreagrario.it/rdLia/13ia08_6876_web

TABELLA 3 - Concentrazione di tossine T2 e HT2 in relazione ai trattamenti

Tesi	Trattamento fungicida	Concentrazione T2 e HT2 (ppb)	
		inoculo artificiale	inoculo naturale
1,6	testimone non trattato	1.750 b	53 b
2,7	azoxistrobin	1.643 b	2 a
3,8	metconazolo	1.184 ab	5 a
4,9	proticonazolo	606 a	8 a
5,10	tebuconazolo + azoxistrobin	97 ab	11 a

Lettere diverse indicano valori significativi per $P > 0,05$ (test SNK).

La concentrazione di tossina è risultata minore nella tesi con la distribuzione di protioconazolo (T4), seguita poi dalla miscela tebuconazolo + azoxistrobin (T5) e dal metconazolo (T3).

Proteggere il grano duro dalle «nuove» micotossine

L'INFORMATORE
AGRARIO

BIBLIOGRAFIA

Edwards S.G., Barrier-Guillot B., Clasen P.E., Hietaniemi V., Pettersson H. (2009) - *Emerging issues of HT-2 and T-2 toxins in European cereal production*. World Mycotoxin Journal, 2: 173-179.

Caloni F., Nebbia C. (2009) - *Micotossine. In «Residui di fitofarmaci e contaminanti ambientali nelle produzioni animali»*. Ed. Carlo Nebbia, EdiSES, Napoli: 453-480.

Kokkonen M., Jestoi M., Laitila A. (2012a) - *Mycotoxin production of Fusarium lang-*

sethiae and Fusarium sporotrichioides on cereal-based substrates. Mycotoxin Research, 28(1): 25-35.

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

Kokkonen M., Medina A., Magan N. (2012b) - *Comparative study of water and temperature relations of growth and T-2/HT-2 toxin production by strains of Fusarium sporotrichioides and Fusarium langsethiae*. World Mycotoxin Journal: 365-372.

Orlando B., Barrier-Guillot B., Gourdain E., Mourmené C. (2010) - *Identification of agronomic factors that influence the levels of T-2 and HT-2 toxins in barley grown in France*. World Mycotoxin Journal, 3: 169-174.

Schuhmacher-Wolz U., Heine K., K. Schneider K. (2010) - *Scientific report submitted to EFSA. Report on toxicity data on trichothecene mycotoxins HT-2 and T-2 toxins*. (CT/EFSA/CONTAM/2010/03). Disponibile in: <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/65e.pdf> (ultimo accesso: 22 novembre 2011).

Come è stata impostata la prova

I rilievi hanno riguardato i seguenti aspetti:

- alla maturazione cerosa valutazione dell'incidenza e della severità dell'attacco della fusariosi della spiga utilizzando la scala di Parry et al. (1995) su 100 spighe per parcella;
- alla trebbiatura misurazione della produzione di granella;
- analisi del contenuto in proteine delle cariossidi con metodica NIR;
- analisi micologica delle specie fungine presenti nelle parcelle testimone in condizioni di inoculo artificiale e naturale e quantificazione, con metodica PCR-RT, del contenuto di DNA di *F. langsethiae* e *F. sporotrichioides*;
- analisi del contenuto totale in tossine T2-HT2 con metodica ELISA (kit Neogen Veratox® T2 e HT2, con intervallo di quantificazione 25-250 µg/kg, applicando un intervallo di 200-2.000 µg/kg nelle parcelle inoculate artificialmente adottando le opportune diluizioni).

La prova, impostata dal Dipartimento di scienze agrarie, forestali e alimentari (Disafa) dell'Università di Torino, è stata condotta dal Centro di saggio del Consorzio agrario dell'Emilia, così come le analisi quali-quantitative della produzione. Le analisi sulla contaminazione da tossine T2 e HT2 sono state condotte presso Disafa. L'inoculo costituito da una miscela di *F. langsethiae* e *F. sporotrichioides* è stato prodotto presso L'Istituto di scienze delle produzioni alimentari (Ispa) del Cnr a Bari, che ha quindi eseguito le analisi micologiche. ●