

DEOSSINIVALENOLO NEL FRUMENTO DURO (*TRITICUM DURUM* DESF.): CONFRONTO FRA COLTURA CONVENZIONALE E BIOLOGICA

Gabriella Aureli (a), Fabrizio Quaranta (a), Tiziana Amoriello (b), Sahara Melloni (a),
Ersilio Desiderio (a), Mauro Fornara (a), Maria Grazia D'Egidio (a)

(a) *Unità di Ricerca per la Valorizzazione Qualitativa dei Cereali, Consiglio per la Ricerca e la
Sperimentazione in Agricoltura, Roma*

(b) *Direzione Centrale Attività Scientifica Servizio Trasferimento e Innovazione, Consiglio per la Ricerca
e la Sperimentazione in Agricoltura, Roma*

Introduzione

Negli ultimi anni il crescente interesse dei consumatori verso gli alimenti biologici ha creato una tendenza di mercato che privilegia gli aspetti qualitativi e nutrizionali-salutistici dei prodotti alimentari con particolare riguardo a quelli igienico-sanitari legati alla sicurezza d'uso. Il metodo di coltivazione biologico è ampiamente utilizzato in Italia per realizzare colture cerealicole, la quota più consistente delle quali è costituita dal frumento duro (1) che trova principale impiego nella trasformazione in pasta alimentare. Visti i suoi forti consumi pro-capite, risulta di particolare importanza l'acquisizione di elementi conoscitivi in merito alla possibile assunzione di sostanze "contaminanti" estranee alla materia prima (2). Tra queste ultime sono comprese le micotossine, prodotti del metabolismo secondario dei funghi che possono avere effetti dannosi nell'uomo e negli animali. I funghi produttori di tali composti, che maggiormente interessano le colture di frumento, appartengono al genere *Fusarium*. In particolare le specie *F. graminearum* e *F. culmorum* risultano le più comuni produttrici di Deossinivalenolo (DON), fusariotossina di tipo tricotecenico (3-5). Sulla base della valutazione del rischio di esposizione dei consumatori e considerata l'impossibilità di eliminare completamente il DON, e più in generale le micotossine, sia dalla materia prima che dai prodotti finiti, le azioni di prevenzione e contenimento, con la definizione dei limiti ammissibili di contaminazione (6, 7) rappresentano strumenti idonei per la tutela della salute. Il limite massimo di concentrazione di DON ammissibile per il frumento duro non trasformato è stato stabilito con questo regolamento pari a 1750 ng/g.

Il frumento duro manifesta una più marcata suscettibilità, rispetto al tenero, sia verso i funghi responsabili della fusariosi della spiga sia all'accumulo del DON nelle cariossidi (8, 9). Il metodo di coltivazione biologico con l'impossibilità di ricorrere a fitofarmaci per il controllo dei funghi patogeni, ha posto il problema dell'eventuale aumento dei livelli di contaminazione da micotossine rispetto al metodo convenzionale.

Allo stato attuale, dai lavori riportati in letteratura su questo argomento non è possibile trarre una risposta conclusiva sull'effetto del metodo di coltivazione nel determinare il grado di contaminazione da DON (10-15).

Lo scopo del presente lavoro, è stato quello di confrontare nel biennio 2007-2008 il comportamento di varietà di frumento duro coltivate sia con metodo convenzionale che biologico in ambienti uguali, o paragonabili dal punto di vista pedo-climatico, al fine di valutare quanto i diversi fattori presi in esame (varietà, anno, metodo di coltivazione e areale) potessero incidere sul livello di contaminazione da DON.

Materiali e metodi

I campioni sono stati reperiti nell'ambito delle Reti Nazionali di confronto varietale in convenzionale (16) e in biologico (17) in otto località rappresentative di alcune aree nelle quali è maggiormente diffusa la coltura del frumento duro, quattro al Centro (Jesi-AN, Pollenza-MC, Papiano-PG, Alberese-GR) e quattro al Sud (Campobasso, Foggia, S. Stefano Quisquina-AG e Catania).

Sono state prese in esame sei varietà con caratteristiche diverse in relazione al ciclo biologico (P-precoci, M-medie e T-tardive): Ciccio (P), Simeto (P), Duilio (P), Iride (MP), Claudio (M) e Cresco (T). La valutazione dei livelli di contaminazione da DON è stata effettuata nell'ambito del progetto interregionale MICOCER per quanto attiene al metodo convenzionale e del progetto BIOCER del MiPAAF per quanto riguarda il metodo biologico. I campioni di granella sono stati macinati con mulino Cyclotec (PBI), con una griglia da 0,5 mm. e l'analisi è stata effettuata sullo sfarinato integrale mediante metodica immunoenzimatica (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, ELISA) utilizzando il kit Ridascreen®-DON, R-Biopharm. A tal fine è stato utilizzato il preparatore automatico BRIO (SEAC) e il lettore per micropiastre SIRIO (SEAC). Il limite di sensibilità del metodo è pari a 18,5 ng/g, con un intervallo di linearità fino a 500 ng/g; il recupero di tossina nei cereali è compreso fra l'85 e il 110%. I risultati rappresentano il valore medio di analisi ripetute ($n=2$; $CV \leq 10\%$).

Per valutare statisticamente il grado di influenza dei diversi fattori (varietà, anno, tipo di coltivazione, areale) sui livelli di contaminazione da DON è stato utilizzato un modello lineare generalizzato basato sulla distribuzione di Poisson e funzione di link data dal logaritmo: $\text{Log (DON)} = \text{varietà} + \text{anno} + \text{areale} + \text{coltivazione}$.

Risultati e discussione

Il modello statistico utilizzato (Tabella 1) è risultato altamente significativo ($p < 0,0001$) ed ha permesso di valutare il grado di influenza dei quattro fattori (varietà, anno, tipo di coltivazione e areale) sui livelli di contaminazione da DON nei campioni di frumento duro. L'areale è stato il fattore predominante con una "incidenza" sulla devianza totale pari al 40%, seguito poi dall'anno e dal metodo di coltivazione (30% e 20% rispettivamente). La scelta varietale è risultata la meno influente (10%), anche se non trascurabile, essendosi verificata una risposta significativamente differente ($p < 0,0001$) tra le sei varietà relativamente al grado di suscettibilità al DON.

Tabella 1. Modello lineare generalizzato $\text{Log (DON)} = \text{varietà} + \text{anno} + \text{coltivazione} + \text{areale}$

Parametri caratterizzanti	Valore statistico	Significatività (p)
Devianza	19795	
Log-verosimiglianza	48000	
χ^2	24157	<0,0001
χ^2 (varietà)	1192	<0,0001
χ^2 (anno)	3646	<0,0001
χ^2 (coltivazione)	2461	<0,0001
χ^2 (areale)	4932	<0,0001

I risultati ottenuti dall'analisi dei campioni provenienti dalle otto località considerate hanno fornito un quadro generale caratterizzato da bassi livelli di contaminazione da DON. Infatti i valori medi e massimi dei campioni positivi, registrati nel biennio 2007-2008 non hanno superato il limite massimo consentito (1750 ng/g), ad eccezione di un solo campione di Duilio (1894 ng/g) in coltivazione convenzionale (Figura 1).

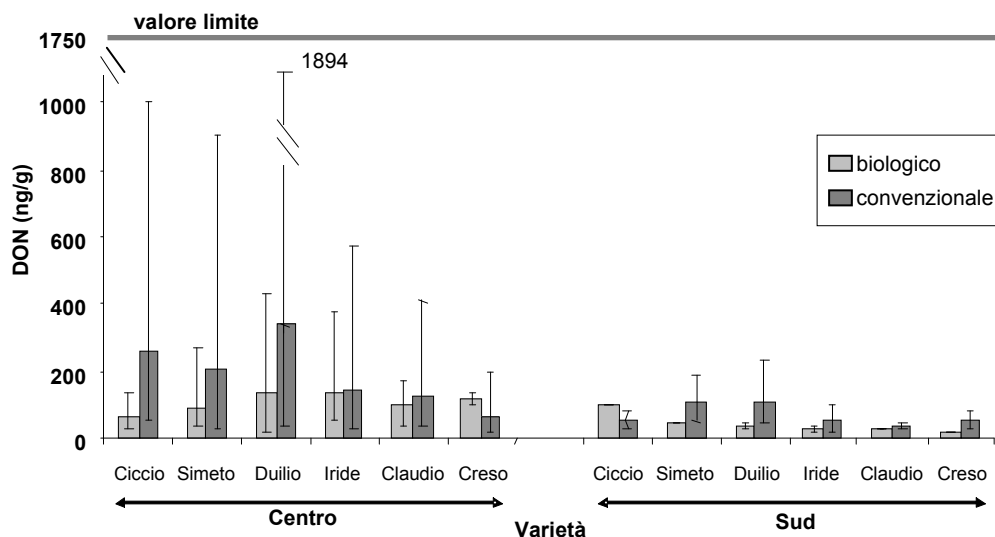


Figura 1. Valori medi, massimi e minimi della concentrazione di DON nei campioni positivi delle sei varietà comuni di frumento raggruppate in due macroareali nel biennio 2007-2008

Nella Figura 2 si evidenzia la differenza di contaminazione fra i due anni di prova dovuta probabilmente alle caratteristiche climatiche dell'annata 2008, più favorevoli allo sviluppo della fusariosi della spiga. La risposta varietale in merito all'accumulo di DON è stata piuttosto differenziata: in particolare la varietà Creso si è distinta come la meno suscettibile anche nelle condizioni più difficili e cioè nell'annata 2008 e in coltura convenzionale.

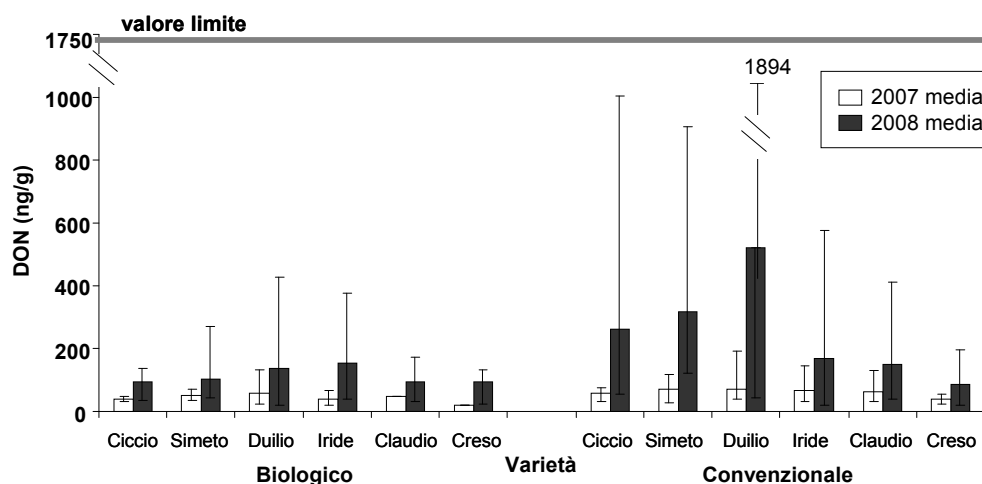


Figura 2. Valori medi, massimi e minimi della concentrazione di DON nei campioni positivi delle sei varietà comuni di frumento coltivate con metodo biologico e convenzionale (2007- 2008)

Anche per quanto riguarda l'incidenza percentuale di contaminazione da DON (Figura 3) le sei varietà hanno evidenziato un comportamento differenziato con una minore incidenza in biologico. Le varietà Claudio e Cresco hanno fatto registrare una minore percentuale di contaminazione con entrambi i metodi di coltivazione.

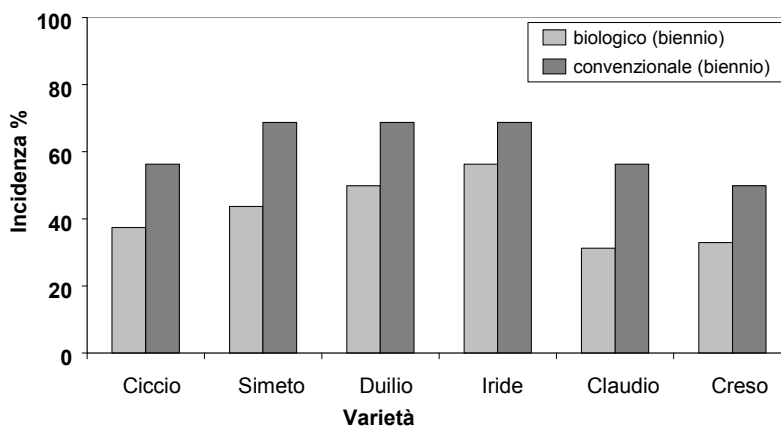


Figura 3. Incidenza % (n. positivi/ n. totale x 100) della contaminazione da DON nelle sei varietà di frumento durante il biennio 2007-2008

Inoltre, osservando più nel dettaglio (Figura 4) il comportamento delle varietà nei due areali di coltivazione (Centro e Sud), sono risultati evidenti livelli di incidenza percentuale nettamente più elevati nelle zone del Centro, dove Simeto e Duilio hanno raggiunto il 100% nel convenzionale, rispetto a quelle del Sud dove il valore massimo è stato pari al 50% per la varietà Iride in entrambi i tipi di coltivazione e per Ciccio solo in convenzionale.

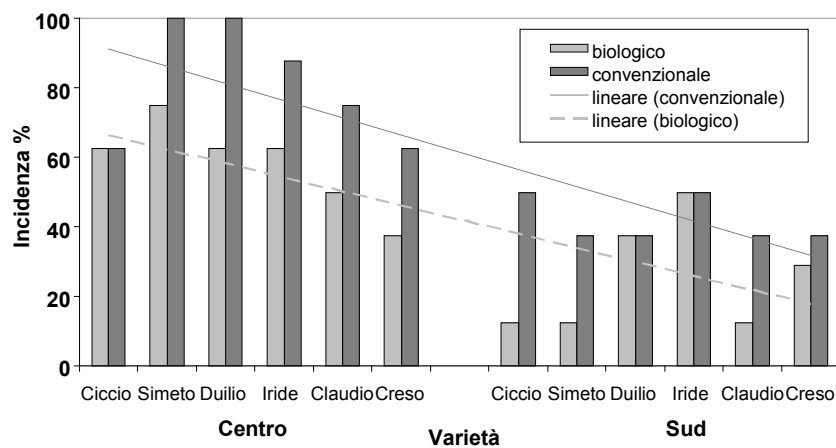


Figura 4. Incidenza % (n. positivi / n. totale x 100) della contaminazione da DON nelle sei varietà di frumento, durante il biennio 2007-2008, negli areali Centro e Sud

Oltre all'andamento meteorologico dell'annata anche le caratteristiche ambientali relative alle zone di coltivazione rappresentano un fattore di rilievo nell'influenzare sia l'incidenza sia il grado di contaminazione da DON del frumento duro. Infatti, come illustrato nella Figura 5 relativamente ai campioni positivi, nell'areale Centro sono stati ottenuti i livelli più alti sia per quanto riguarda i valori medi di contaminazione (106 ng/g in biologico e 201 ng/g in convenzionale) che massimi (428 ng/g in biologico e 1894 ng/g in convenzionale), mentre nel Sud il valore massimo non ha superato i 233 ng/kg nel convenzionale.

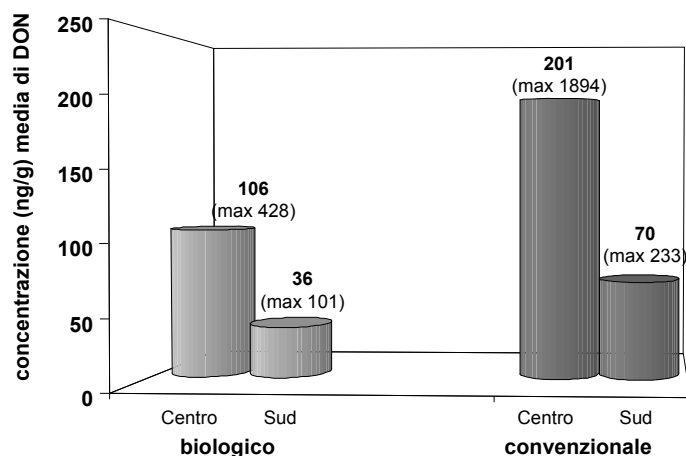


Figura 5. Valori medi dei campioni positivi nel biennio 2007-2008 (tra parentesi valori massimi della serie) negli areali Centro e Sud

In modo analogo si è manifestato l'andamento dell'incidenza percentuale, ovvero $(n. \text{positivi} / n. \text{totale}) \times 100$, dei riscontri positivi sul totale dei campioni analizzati nel biennio (Figura 6): nell'areale Centro si sono raggiunti i livelli più elevati sia in biologico (58%) che in convenzionale (81%) rispetto al Sud, dove il valore massimo dei positivi non ha superato il 50% con entrambi i sistemi culturali.

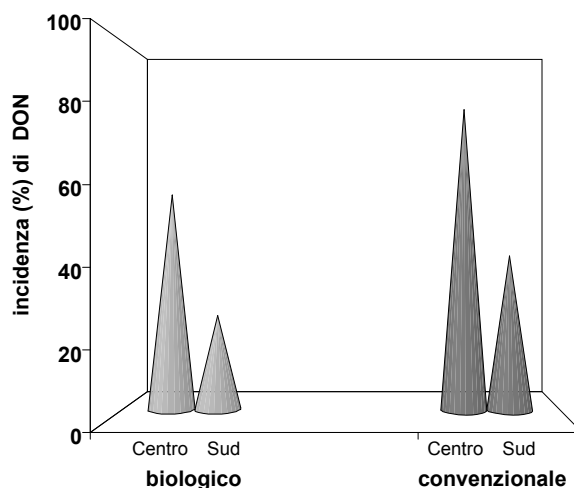


Figura 6. Incidenza % dei campioni positivi nel biennio 2007-2008 negli areali Centro e Sud

Conclusioni

Dall'insieme dei risultati ottenuti durante il biennio di sperimentazione è possibile trarre alcune indicazioni relative ai fattori studiati:

- le caratteristiche climatiche dell'annata agraria e l'areale di coltivazione rappresentano i fattori di incidenza più importanti sul livello di contaminazione da DON;
- il frumento duro è maggiormente suscettibile all'accumulo di DON al Centro rispetto al Sud, dove peraltro i livelli di micotossina sono molto contenuti;
- il metodo di coltivazione è risultato avere minore importanza nell'influenzare il livello di contaminazione, ma con risultati sempre migliori adottando tecniche biologiche;
- la scelta varietale è risultata il fattore di minor peso, comunque significativo e legato all'espressione genetica di diversi livelli di suscettibilità. Le *cultivar* Creso e Claudio hanno evidenziato livelli di contaminazione più bassi.

In conclusione, il lavoro svolto ha fornito dei risultati che possono avere una ricaduta positiva nell'approccio ai problemi relativi alla valutazione del rischio di contaminazione da micotossine.

L'ipotesi di maggiori livelli di DON nei campioni di frumento duro in coltura biologica sembrerebbe non suffragata dai risultati sperimentali di questo lavoro svolto in più ambienti e anni, anzi si è verificata una minor contaminazione rispetto al convenzionale.

È stata inoltre confermata l'importanza della vocazionalità delle zone meridionali e insulari italiane per la coltivazione del frumento duro, coltura insostituibile per l'economia locale.

Le buone tecniche agronomiche, obbligatorie di fatto nei disciplinari biologici, sono elementi di primaria importanza per il contenimento delle fusariosi e quindi delle relative micotossine, al fine di ottenere una materia prima con elevate caratteristiche qualitative, soprattutto per quanto riguarda gli aspetti igienico-sanitari, che della qualità costituiscono il requisito più importante.

Bibliografia

1. D'Egidio MG, Aureli G, Quaranta F, Cecchini C, Melloni S, Moscaritolo S. Safety and quality of durum wheat from organic crop in Italy. *Tecnica Molitoria International* 2009;60 (10/A):79-88.
2. Unione Europea. Regolamento (CEE) dell'8 febbraio 1993, n. 315 che stabilisce le procedure comunitarie relative ai contaminanti nei prodotti alimentari. *GUCE L. 37*, 13 febbraio 1993.
3. Edwards SG, Barrier-Guilliot B, Clasen P-E, Hietaniemi V, Pettersson H. Emerging issues of HT-2 and T-2 toxins in European cereal production. *World Mycotoxin Journal* 2009; 2:173-9.
4. Miller JD. Mycotoxins in small grains and maize: Old problems, new challenge. *Food Additives and Contaminants* 2008;25(2):219-30.
5. Rocha O, Ansari K, Doohan FM. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Additives and Contaminants* 2005;22(4):369-78.
6. Unione Europea. Regolamento (EC) n. 1881 del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. *GUCE L. 364/5*, 20 dicembre 2006.
7. Unione Europea. Raccomandazione n. 583 del 17 agosto 2006 sulla prevenzione e sulla riduzione delle *Fusarium*-tossine in cereali e prodotti derivati. *GUCE L. 234/35*, 29 agosto 2006.
8. Romani S, Pinnavaia GG, Dalla Rosa M. Caratteristiche qualitative e presenza di micotossine in grano duro infetto da *Fusarium* spp. *Tecnica Molitoria*, giugno 2005:617-24.
9. Campagna C, Haidukowski M, Pancaldi D, Pascale M, Ravaglia S, Silvestri M, Visconti A. Fonti di rischio e gestione delle micotossine nel frumento. *L'Informatore Agrario* 2005;1:39-47.

10. Edwards SG. *Fusarium* mycotoxin content of UK organic and conventional wheat. *Food Additives and Contaminants* 2009;26(4):496-506.
11. Vánová M, Klem K, Misa P, Matusinsky P, Hajslova J, Lancova K. The content of *Fusarium* mycotoxins, grain yield and quality of winter wheat cultivars under organic and conventional cropping system. *Plant, Soil and Environment* 2008;54:395-402.
12. Pussemier L, Pie'Rard JY, Anselme M, Tangni EK, Motte JC, Larondelle Y. 2006. Development and application of analytical methods for the determination of mycotoxins in organic and conventional wheat. *Food Additives and Contaminants* 2006; 23(11):1208-18.
13. Koch HJ, Pringas C, Maerlaender B. Evaluation of environmental and management effects on *Fusarium* head blight infection and deoxynivalenol concentration in the grain of winter wheat. *European Journal of Agronomy* 2006;24:357-66.
14. Pussemier L, Larondelle Y, Van Peteghem C, Huyghebert A. Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuff: a tentative comparison under Belgian conditions. *Food Control* 2004;17:14-21.
15. Tamm L, Thurig B. FiBL position papers: mycotoxins in organic food. *Ecology and Farming* 2002;4.
16. Desiderio E, Belocchi A, D'Egidio MG, Fornara M, Cecchi V, Cecchini C, Aureli G, Flavoni A. Risultati della sperimentazione nazionale 2007-08. Varietà di duro alla prova per le semine 2008. *L'Informatore Agrario* 2008;64 (34)(Suppl.):20-5.
17. Quaranta F, Belocchi A, Camerini M, D'Egidio MG, Fornara M, Melloni S. Le varietà per il grano duro bio. Risultati del 6° anno di prove. *L'Informatore Agrario* 2008;64(37):66-71.