



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di agronomia animali alimenti risorse naturali e ambiente

Dipartimento territorio e sistemi forestali

TESI DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE ANIMALI

METODI DI PREVENZIONE E CONTENIMENTO DELLE MICOTOSSINE NEL MAIS

Relatore: Prof. Luigi Sartori

Laureanda: Elisa Gemetto

Matricola n. 619342

ANNO ACCADEMICO

2012-2013

INDICE

1. INTRODUZIONE	8
1.1.PREFAZIONE	8
1.2.FUNGHI MICOTOSSIGENI	9
1.2.1. Funghi presenti in campo	9
1.2.2. Funghi di magazzino	13
1.3.MICOTOSSINE	16
1.3.1. Aflatossine	16
1.3.2. Ocratossine	19
1.3.3. Fumonisine	21
1.3.4. Zearalenone	23
1.3.5. Deossinivalenolo	26
2. MICOTOSSINE NEL MAIS: METODI DI PREVENZIONE E CONTENIMENTO	28
2.1.PREVENZIONE IN CAMPO	29
2.1.1. Avvicendamento	29
2.1.2. Lavorazioni del terreno	30
2.1.3. Scelta varietale	37
2.1.4. Epoca di semina	39
2.1.5. Densità di semina	40
2.1.6. Lotta alle infestanti	41
2.1.7. Controllo degli insetti fitofagi	43
2.1.8. Concimazione	48
2.1.9. Irrigazione	50
2.2.FASE DI RACCOLTA	53
2.2.1. Epoca di raccolta	53
2.2.2. Macchine per la raccolta	57
2.3.PREVENZIONE POST-RACCOLTA	59
2.3.1. Conservazione della granella	59
2.3.2. Conservazione dell'insilato	63

3. MICOTOSSINE E ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE	65
3.1.MICOTOSSINE NEL LATTE	65
3.1.1. Aflatossine M1	66
3.2.MICOTOSSINE NELLA CARNE	71
4. CONCLUSIONI E RINGRAZIAMENTI	73
5. BIBLIOGRAFIA	75

RIASSUNTO

Le micotossine sono sostanze naturali, prodotte dal metabolismo secondario di alcuni funghi, in particolare ricordiamo i generi: *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. L' *Aspergillus* è tipico del post-raccolta, preferisce temperature alte (30-32°C) e un umidità nella granella al di sotto del 20%. Il *Penicillium* è anche esso un fungo "da conservazione", infatti lo troviamo solitamente durante l'essiccazione e lo stoccaggio; cresce in zone temperato-fredde, con un optimum di 20°C e un umidità inferiore al 15%. Il *Fusarium*, invece, si sviluppa normalmente in campo a temperature miti (22-27°C) ma con umidità elevate, al di sopra del 20%. Le tossine ad oggi conosciute sono circa 300, ma le più diffuse nei nostri territori sono cinque: Aflatossine, Ocratossine, Fumonisine e Tricoteni (DON, ZEA). Sono sostanze pericolose per gli animali e l'uomo, infatti si depositano all'interno degli alimenti di origine animale come il latte, la carne e le uova; inoltre sono state definite dallo IARC (Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro) come cancerogene o possibili cancerogene per l'uomo ad esclusione di DON e ZEA.

- Lo strumento più efficace di prevenzione contro le micotossine sono le Buone Pratiche Agricole:
 - L'avvicendamento è preferibile alla monosuccessione soprattutto se il raccolto precedente ha subito attacchi parassitari.
 - La preparazione del letto di semina con l'aratura evita che i residui della coltura precedente fungano da inoculo primario per i funghi e l'interramento deve avvenire massimo 60 giorni dopo la raccolta.
 - La semina viene anticipata a partire dalla seconda metà di marzo con ibridi resistenti al freddo e agli stress; la classe dell'ibrido si sceglie a seconda del tipo di terreno, temperatura ed epoca di raccolta. L'eventuale aumento della densità di semina può portare degli esiti positivi solo se la coltura è in condizioni di concimazione, irrigazione e difesa ottimale.
 - L'uso di diserbanti evita che le malerbe creino stress alla pianta a causa della competizione per l'acqua e i nutrienti.
 - La lotta contro gli insetti fitofagi (Piralide) avviene grazie a limitatori naturali (Tricogramma maydis, Bacillus Thuringiensis), trappole (feromoni e luminose) e insetticidi.
 - La fertilizzazione organica o chimica deve essere bilanciata, evitando carenze ed eccessi, soprattutto di azoto.

- L'irrigazione non deve mancare nel periodo di pre-fioritura e riempimento delle cariossidi per evitare stress idrici.
- La raccolta della granella deve essere eseguita con umidità non inferiore al 22% e con macchine mietitrebbiatrici assiali per evitare rotture e perdite di prodotto. L'insilato si raccoglie quando le brattee iniziano ad ingiallire e la granella è lucida e scalfibile con un unghia.
- Dopo la raccolta iniziano una serie di processi che porteranno alla conservazione ottimale del prodotto:
 - Evitare che la granella permanga troppo tempo all'interno dei camion per il trasporto al deposito o in cumuli ed effettuare un' accurata pulizia dei mezzi, così che i residui dei prodotti precedenti non contaminino quello nuovo.
 - All'arrivo al centro di stoccaggio la granella deve essere pulita, essiccata e stoccata tempestivamente; mentre per quanto riguarda l'insilato deve essere posto all'interno del silo e chiuso in modo tale che non entri in contatto con l'ossigeno, il ph cali e possano iniziare le fermentazioni lattiche in modo normale.

L'insieme di tutte queste operazioni, a partire dalla fase in campo fino alla conservazione del prodotto finale, può prevenire e contenere lo sviluppo delle micotossine, risolvendo in buona parte uno dei problemi più importanti dei nostri giorni.

ABSTRACT

Mycotoxins are natural substances produced by the secondary metabolism of some fungi, in particular recall the genera *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*. *Aspergillus* is typical of the post-collection, prefers high temperatures (30-32 ° C) and a humidity in the crops to below 20%. *Penicillium* is a mushroom "from conservation", in fact we find it usually during the drying and storage; it grows in temperate-cold, with an optimum of 20 ° C and a humidity below 15%. The *Fusarium*, instead, normally develops in the field at mild temperatures (22-27 ° C) but with high humidity above 20%. The known toxins today are about 300, but the most common in our territories are five: Aflatoxins, Ocratoxins, Fumonisin and Tricotenin (DON, ZEA). These substances are dangerous to animals and man, in fact settle in food of animal origin such as milk, meat and eggs, were also defined by IARC (International Agency for Research on Cancer) as carcinogenic or possible carcinogenic to humans except for DON and ZEA.

- The most effective prevention against mycotoxins are Good Agricultural Practices:
 - The rotation is preferable to monoculture especially if the previous crop has suffered attacks by pests.
 - The preparation of the seed bed by plowing prevents any of the previous crop act as primary inoculum for fungi and must be incorporated up to 60 days after collection.
 - The planting is anticipated in the second half of March with hybrids resistant to cold and stress; the hybrid class you choose depend on the type of soil, temperature and time of collection. Any increase in the seeding density can bring positive outcomes only if the crop is under conditions of fertilization, irrigation and optimal defense.
 - The use of herbicides prevents stress to the plants caused by water and nutrient competition created by the weed.
 - The fight against insect pests (European corn borer) occurs through natural limiters (*Trichogramma maydis*, *Bacillus Thuringiensis*), traps (pheromone and light) and insecticides.
 - The organic fertilizers or chemicals must be balanced, avoiding excesses and deficiencies, especially of nitrogen.

- The irrigation should not miss during the pre-flowering and filling of kernels to avoid water stress.

- The collection of the grain must be done with humidity less than 22% and with axial combine harvesters machines to avoid breakage and loss of product. The silage is harvested when the bracts begin to turn yellow and the grain is shiny and scratchable with a fingernail.

- After harvesting begin a series of processes that will lead to the optimal preservation of the product:

- Avoid that the grain remains too much time inside the truck for transport to the store or in heaps and make an accurate cleaning of the vehicles, so that the residues of the previous products do not contaminate the new ones.

- Upon arrival at the storage center the grain must be cleaned, dried and stored promptly; the silage must be placed inside the silo and closed in so that does not come into contact with oxygen, the ph drops and the lactic fermentation can start in the normal way.

The set of all these operations, from the stage in the conservation field to the final product, can prevent and curb the development of mycotoxins, largely solving one of the most important issues of our day.

1. INTRODUZIONE

1.1 PREFAZIONE

Le micotossine sono sostanze naturali prodotte da funghi microscopici, comunemente chiamati muffe, in grado di causare effetti tossici per gli animali e per l'uomo. Queste sostanze non sono necessarie per la crescita del fungo, perciò vengono definite metaboliti secondari, ma la loro biosintesi è strettamente connessa alla crescita fungina. I nostri funghi potrebbero svilupparsi anche senza produrre la tossina, infatti solo in particolari situazioni, come brusche alterazioni della temperatura tra il giorno e la notte, l'aumentare o il diminuire dell'umidità ottimale, la presenza di ossigeno o la rottura meccanica delle muffe causerebbero situazioni di stress tale da innescare la produzione. Tra i funghi che rivestono una particolare importanza micotossicologica per la loro diffusione ed elevata tossicità sono da ricordare i generi *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* ai quali si aggiungono altri generi (circa 200) di interesse micotossicologico minore. Il loro sviluppo può avvenire sia in campo, sulla pianta, che nelle successive fasi di conservazione, causando una contaminazione dell'alimento, che si manifesterà in secondo luogo con una riduzione dal punto di vista quanti-qualitativo del prodotto finale. I primi due generi si trovano solitamente come contaminanti degli alimenti durante l'essiccazione e lo stoccaggio, mentre il terzo è un agente patogeno contaminante nelle fasi prima o immediatamente successive alla raccolta. I fattori cosiddetti rilevanti per la biosintesi delle tossine sono comuni a tutti i funghi ma con intervalli ottimali diversi a seconda della specie. L'umidità (acqua libera a_w), la temperatura, la natura del substrato attaccato, la presenza di insetti, lo stress della pianta e gli eventuali danni meccanici alle cariossidi sono i fattori più importanti. Il parametro a cui prestare maggiore attenzione è senza dubbio l'acqua libera (*water activity*, a_w), che varia da 0 a 1. Va tenuto presente che l'attività e il contenuto d'acqua non sono la stessa cosa: l' a_w (o umidità relativa all'equilibrio, che equivale ad $a_w \times 100$) esprime la parte attiva del contenuto di umidità, nei confronti dell'umidità totale, che comprende anche l'acqua legata. L'acqua contenuta in un elemento, sarà quindi legata in maniera più o meno intensa a seconda del tipo di substrato ed alla presenza in questo di gruppi idrofobi e idrofili. Il valore di a_w minimo al quale è stata osservata crescita fungina è 0.61; i generi più diffusi (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*) richiedono però valori superiori e le differenze di comportamento delle specie fungine a

seconda della disponibilità d'acqua hanno permesso la distinzione di specie igrofile, mesofile e xerofile (le specie del genere *Fusarium* sono più igrofile rispetto a penicilli e aspergilli). Non si conoscono specie produttrici di micotossine in grado di crescere a valori di a_w inferiori a 0.78. La disponibilità d'acqua dipende da una relazione con la temperatura: tanto più la temperatura si avvicina a quella ottimale per una specie fungina, tanto più l' a_w limite per la tossinogenesi è bassa; l' a_w favorevole dipende dalla natura delle specie che coesistono sulla derrata. Sono più di 300 le micotossine ad oggi conosciute ma le più pericolose sono: Fumonisine, Aflatossine, Ocratossine e Tricoteni (DON, Zearalenone T-2 e H-T2). L' Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) ha collocato le Aflatossine in classe 1 (sicuro cancerogeno per l'uomo) e l'Ocratossina A, le Fumonisine, l'Aflatossina M1 in classe 2B (possibile cancerogeno). Esse una volta prodotte dal micete, possono essere secrete nel substrato o rimanere all'interno del micelio; sono molto resistenti al calore e non vengono completamente distrutte dalle operazioni di cottura, né dai diversi trattamenti a cui vengono normalmente sottoposte le derrate durante i processi di preparazione degli alimenti. A causa di ciò le stesse micotossine o loro derivati ancora attivi possono persistere dopo la morte del micete ed essere presenti anche quando il prodotto stesso non appare ammuffito. Gli alimenti più esposti alla contaminazione diretta sono soprattutto cereali (mais, frumento, riso, orzo, segale, ecc.), semi oleaginosi (arachidi, girasole, semi di cotone, ecc.), frutta secca ed essiccata, legumi, spezie, caffè e cacao. La contaminazione però non avviene solo in modo diretto, ma può anche essere indiretta, infatti alcuni animali che ingeriscono alimenti infetti possono, a causa del carry-over rilasciare le tossine nei loro prodotti (carne, latte, uova).

1.2 FUNGHI MICOTOSSIGENI

I funghi che suscitano particolare interesse per la loro pericolosità e presenza nei nostri territori sono di tre generi: *Asperillus*, *Fusarium* e *Penicillium*.

1.2.1 FUNGHI PRESENTI IN CAMPO

- Il genere *Fusarium* racchiude all'incirca 50 specie differenti, raggruppate in 12 sezioni e comprende numerosi funghi deuteromiceti: muffe a micelio settato che si riproducono per

mezzo dei conidi. Questi miceti presentano conidi (spore) unicellulari o pluricellulari, trasparenti, dalla struttura fusiforme. Il corpo cilindrico più o meno rigonfio è detto fialide: i fialidi sono semplici o disposti a grappolo e i conidiofori, raggruppati in cuscinetti, producono le ife, che si diffonderanno poi, attaccando l'"ospite". I principali Fusaria non sono patogeni dei cereali tranne alcuni tipi come il *Graminearum* e il *Verticilloides*, i quali vengono ricordati per la loro pericolosità e diffusione nelle colture di mais e frumento. Sono funghi saprofiti, che si sviluppano in campo e permangono nei residui colturali, dove grazie al vento o alla pioggia arrivano a colonizzare le nuove piantine. Come gli aspergilli sono ubiquitari, ma a differenza loro non tollerano siccità e alte temperature ma prediligono quelle più miti e umidità elevate. Non possono attaccare direttamente i tessuti se sono indenni ma necessitano di una via d'ingresso (erosione da parte di insetti che rimuovono il pericarpo).

Fusariumverticilloides

Il *Fusarium verticilloides* (un tempo conosciuto come Moniliforme) si manifesta in maniera accentuata quando le condizioni climatiche in post-fioritura sono di tipo caldo-umido. Si sviluppa a temperature miti, circa 22-27°C ma possono esserci delle eccezioni a seconda della zona d'origine. Il range è molto ampio, si va dai 5 ai 37°, quindi a seconda del ceppo e della provenienza del fungo avremo un optimum variabile sia per la sua crescita. Questa varietà fungina è la maggior produttrice di Fumonisine.

Fusariumgraminearum

Il *Fusarium graminearum* (forma di riproduzione sessuata Gibberellazeae) predilige un clima piovoso e temperature basse dalla fioritura della pianta alla raccolta. Andando nel dettaglio si colloca tra i 24 e i 26° C la temperatura ideale per la sua crescita. Per quanto riguarda l'umidità invece, notiamo un'esigenza maggiore rispetto al *Verticilloides*, infatti siamo a un valore di a_w minima di 0,9. La produzione di micotossine avviene solo in particolari condizioni: il DON si manifesta con temperatura dai 21 ai 29°C e con umidità del 22-25%; lo Zearalenone invece può manifestarsi anche con temperature più fresche, che partono dai 18°C.

Infezione sulla pianta

1. Dopo aver trascorso l'inverno, quando le temperature si fanno più miti, il *Fusarium verticilloides* dal micelio presente nel terreno produce una massa di conidi che, grazie ai movimenti dell'aria e agli schizzi di pioggia, viene dispersa nell'ambiente. Le vie d'infezione possono essere diverse: tramite il seme, il suolo, le infiorescenze femminili (sete) e gli attacchi di insetto (piralide).

Le cariossidi utilizzate per la semina anche se a prima vista sane, possono ospitare un inoculo endofitico del nostro fungo e con lo sviluppo della pianta provvedere continuare la sua colonizzazione, fino a raggiungere la spiga.

Nel suolo il *F. verticilloides* si conserva all'interno dei residui e quando le condizioni climatiche sono favorevoli riprende a svilupparsi, incontrando le radichette dei germinelli.

Se i propaguli dovessero giungere sulle sete del mais quando queste sono prossime alla senescenza, essi potrebbero germinare e originare ife che, accrescendo, raggiungerebbero le cariossidi in formazione, situandosi al loro interno. L'incremento delle infezioni tra inizio e fine fioritura è risultato molto più alto nella parte basale rispetto a quella apicale e per quanto concerne la lunghezza delle sete si è osservato un incremento di infezione per quanto riguardale sete lunghe rispetto alle corte o alle medie.

I danni causati dall'attività trofica delle larve di Piralide favoriscono fortemente le infezioni di *F. verticilloides*. Oltre alle rosure che rappresentano una facile via d'ingresso per il patogeno l'aggressione dell'insetto provoca nella pianta uno stress che agevola ulteriormente le infezioni e la sintesi di tossine. La granella, nonostante tutto continuerà a svilupparsi in un modo apparentemente normale, sembrando del tutto sana, invece l'infezione potrebbe aver già preso piede e risulterà maggiore quanto più la pianta avrà attraversato periodi di stress. In particolari situazioni ambientali (alta umidità, temperature moderato calde, stress della pianta, lesioni della cariosside) favorevoli per il fungo l'infezione può abbandonare la sua veste endofitica ed evolvere, manifestandosi.

Nella maggioranza dei casi il marciume si sviluppa nella parte apicale della spiga, anche se non sono rare infezioni nella parte intermedia e basale. In queste aree si sviluppa una muffa, dapprima bianca, poi con sfumature rosate che col tempo si fanno più intense e possono diventare anche rosa salmone o assumere un color lavanda. La muffa cresce sulle cariossidi e traesse e interessa sia vaste aree, sia piccoli gruppi di cariossidi che cariossidi isolate, sparse lungo la spiga. D'altra parte sulla granella in assenza di muffa, può manifestarsi un altro sintomo detto "starburst": una fitta serie di striature biancastre che si aprono a stella dal punto

dove la seta era inserita sulla cariosside. Le striature altro non sono che le vie lungo le quali *F. verticillioides*, provenendo dalle sete, si è accresciuto negli strati più esterni della cariosside, consumando i tessuti e formando dei sottilissimi canali nei quali entra aria. L'aria interrompe la trasparenza del pericarpo impedendo di vedere lo strato di aleurone giallo sottostante.



Figura 1 Marciume della spiga da *Fusarium verticillioides*



Figura 2 Cariosside contaminata da *Fusarium verticillioides*

1. Il *Fusarium graminearum* attacca il mais nonostante non vi siano particolari stress, anzi preferisce piante rigogliose e succulente, con epidermide e cuticola dei tessuti vegetali poco ispessita. Entra attraverso le barbe della pannocchia (sete) e si manifesta a seconda della varietà dell'ibrido colonizzato (inclinazione della testa a maturazione), sia dallo stadio di sviluppo del fungo. La muffa che produce è di color rosso con sfumature vinose e invadono le brattee, lo stocco (compromettendo la stabilità della pianta) e le cariossidi, soprattutto sull'apice della spiga. In alcuni casi, quando le piogge risultano persistenti a fine stagione si può presentare un'infezione tardiva in fase di maturazione avanzata. In questo caso a essere maggiormente colpita è la base della spiga perché l'acqua entrando attraverso le brattee scivola e si deposita proprio in quel punto, creando un micro-ambiente ideale per la malattia.



Figura 3 Infezione della spiga da *F. Graminearum*



Figura 4 Marciume dello stocco da *F. graminearum*

1.2.2 FUNGHI DI MAGAZZINO

- Il genere *Aspergillus* comprende più di 185 specie, ma quelle attualmente conosciute perché causa di danni sull' uomo sono circa 20. *Aspergillus* fu per la prima volta catalogato nel 1729 dal sacerdote e biologo italiano *Pier Antonio Micheli*. La forma dei funghi al microscopio fece venire in mente a *Micheli* un aspersionario, in latino *aspergillum* (spruzzatore d'acqua lustrale) da qui la scelta del nome. L'*Aspergillus* è un fungo dalla struttura filamentosa e in natura è praticamente ubiquitario, ma viene comunemente ritrovato nel suolo in resti vegetali, tessuti animali, residui dell'ambiente domestico, silos, compost e balle di fieno. Di natura saprofitica, risulta fra i più comuni contaminanti delle colture microbiche, è un patogeno di numerose specie vegetali e animali, compresi gli esseri umani e gli animali domestici. Le specie appartenenti a questo genere sono fortemente aerobiche e crescono in quasi tutti gli ambienti ricchi di ossigeno, di solito sulla superficie di un substrato. Molti tipi si sviluppano a danno di cibi ricchi di amido, come i cereali, semi di cotone, arachidi e noci mentre altri manifestano il fenomeno dell'oligotrofia, cioè sono in grado di crescere in ambienti poveri o addirittura privi di nutrienti fondamentali. Tutti gli *Aspergillus* sono caratterizzati dalla loro particolare modalità di riproduzione conidiale: presenza di un conidioforo, detto anche stipe, terminante con un rigonfiamento denominato vescicola; su quest'ultima si formano le fialidi, direttamente o attraverso una serie di corte cellule sterili dette metulae (*Sterigmates*); ogni fialide produce una catena di spore ramificate; l'insieme della vescicola, delle fialidi e delle spore prende il nome di testa aspergillare. Le spore hanno un tallo e una morfologia (tonde, rugose da 2 a 3 μm di diametro) tali da favorire la loro disseminazione. La maggior parte degli *Aspergillus* sono mitosporici, cioè producono le spore per riprodursi in modo asessuale, attraverso un semplice processo di mitosi, alcuni di essi però presentano uno stato teleomorfo, ossia sono in grado di produrre delle formazioni sessuate dette cleistoteche. La specie maggiormente presente dal punto di vista scientifico, patologico e agronomico nel mais è l' *Aspergillus flavus*.

Aspergillus flavus

L'*A. flavus* è il più famoso e studiato del suo genere, sia perché è la specie produttrice per eccellenza di aflatossine, sia perché è la causa di aspergillosi nell'uomo assieme all'*A. Fumigatus*. La tipologia *Flavus*, come gli altri, trova il suo sviluppo ideale a temperature calde, con un optimum tra i 32-36 e i 38°C, mentre il suo sviluppo risulta ridotto a temperature inferiori a 12° e superiori a 42°C (Causin, 2006). Il parametro ambientale fondamentale per la sua crescita, risulta essere l'umidità (a_w 0,78). Per a_w si intende "l'attività dell'acqua" ed esprime la misura della disponibilità dell'acqua per lo sviluppo dei microrganismi. Quando questa è uguale a 1, significa che tutta l'acqua presente è disponibile, se inizia a scendere a 0.70 arriviamo a un valore critico per i funghi, a 0.6 l'azione enzimatica è fortemente inibita e a 0.3 cessa completamente. L'*A. flavus* è stato diviso in due morfotipi in base alle dimensioni dello sclerozio: L (large), che produce sclerozi di 4.400 millimetri di diametro, e S (small), che produce numerosi sclerozi <400 mm di diametro (Cotty 1989); inoltre queste due categorie sono state poste all'interno di due gruppi (I e II) sulla base del RFLPs (polimorfismo da lunghezza dei frammenti di restrizione) di geni nucleari codificanti e sequenze di DNA. Il gruppo I, contiene i ceppi sia L che S che producono solo aflatossina B; il gruppo II, contiene solo i ceppi della categoria S, che producono aflatossine B e G; raramente solo B.

Danni alla pianta

Aspergillus flavus riesce a superare l'inverno nei residui della coltura precedente, formando l'inoculo primario per le piante giovani dell'annata successiva. All'arrivo della bella stagione, il fungo produce una gran quantità di conidi, che fungono da inoculo secondario e tramite il vento, la pioggia o gli insetti, sono liberati nell'ambiente circostante. Le setole sono molto sensibili, quando sono in via di senescenza (color giallo-bruno), ed è in questo momento che i conidi germinano in vicinanza dei granuli pollinici;causando la produzione d'ife. Le ife diffondendosi,in 4-13 giorni arrivano ad infettare le cariossidi in via di formazione, le glume e raramente il tutolo. Finché l'umidità resta superiore al 32%, l'attacco alle cariossidi risulta essere contenuto, probabilmente perché le cariossidi hanno le difese attive (Battilani, 2004), ma una volta superata la soglia del 28% l'infezione diventa molto più marcata. Arrivati a questo punto, il fungo produce enzimi extracellulari, che idrolizzano il pericarpo, superando così la barriera fisica ed intaccando le cellule vegetali (Kolattukudy, 1980, 1985).

Le fasi più critiche per la pianta, dove le condizioni climatiche per lo sviluppo del fungo sono particolarmente favorevoli, sono l'epoca di fioritura e quella successiva al riempimento delle cariossidi. Lo stress idrico, insieme ad alte temperature indeboliscono la pianta rendendola più vulnerabile all'attacco del *Flavus*, il quale non soffre queste particolari condizioni. Le alte temperature influiscono sulla proliferazione del fungo anche in modo indiretto, causando una diminuzione dell'umidità all'interno delle cariossidi, rendendole fragili e facili alla rottura.

L'aspetto dell'infezione sulle spighe, si presenta con lo sviluppo di una muffa di tipo granuloso, di colore verde scuro con sfumature gialle. Il micelio, cresce sulle cariossidi e negli spazi tra loro, fino ad arrivare al tutolo, che in seguito a questo assume una colorazione grigio-verdastra.



Figura 5 Granella infetta da *Aspergillus*



Figura 6 Spiga contaminata da *A. flavus*

- Il genere *Penicillium* è composto da funghi anamorfici ubiquitari del terreno, che vivono principalmente su substrati organici biodegradabili. Questo fungo è presente all'interno di polveri nell'aria e nel terreno dove cresce e si sviluppa a danno delle sostanze contenute nei substrati che attacca. È caratterizzato da una struttura vegetativa nota come micelio dal partono una rete piuttosto ramificata di ife (filamenti lunghi e sottili), generalmente incolori a contaminare l'alimento. I prodotti a rischio contaminazione sono sementi, frutti e bulbi di piante, causando un effetto patogeno per gli animali che li ingeriscono. I penicilli amano i climi moderati-freddi, hanno una crescita lenta e un optimum di 20°C. Possiamo definirlo un fungo da "conservazione" visto che lo ritroviamo nella fase di post-raccolta, inoltre nei nostri ambienti non viene considerato un vero e proprio patogeno del mais a causa della sua saltuaria presenza in questa coltura.

Il *Penicillium verrucosum* è l'unica specie, di questo genere, imputata per la produzione di Ocratossina A. L'infezione si manifesta con una muffa fine e polverulenta di color grigio-

verde, con sfumature bluastre. Si sviluppa tendenzialmente all'apice della spiga, sulle cariossidi e fra di esse arrivando al tutolo. Se trova le condizioni adatte a crescere (umidità >15-18% durante la conservazione) invade l'embrione formando una muffa color blu-verde visibile per trasparenza dall'esterno, chiamata per la sua forma particolare "occhio blu" (Blue-eye).



Figura 7 Marciume spiga da *Penicillium*

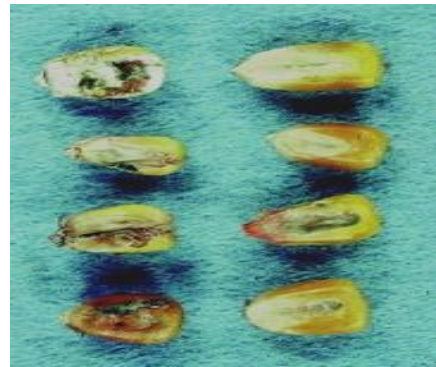


Figura 8 Infezione cariosside da *Penicillium*

1.3 MICOTOSSINE DEL MAIS

Attualmente sono note più di 300 tipi di micotossine, ma per la loro presenza e tossicità nei nostri territori ne riportiamo solo cinque:

1.3.1 AFLATOSSINE

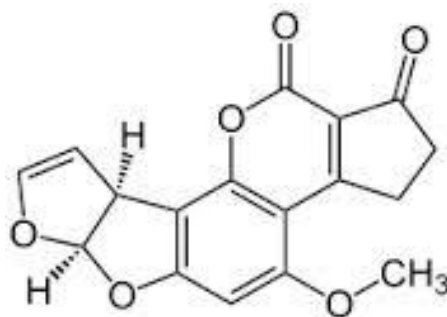


Figura 7: struttura chimica dell'aflatossina

Le aflatossine sono un gruppo di micotossine prodotte da ceppi di *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*. Le aflatossine che vengono riscontrate negli alimenti di origine vegetale sono quattro: B₁, B₂, G₁, G₂; le B sono prodotte sia da *A. flavus* che da *A. parasiticus*, mentre le G sono prodotte solo dal secondo. La temperatura di produzione ottimale si aggira sui 25-28°C e non hanno bisogno di umidità elevate, infatti resistono bene in climi secchi; questo spiega perché le aflatossine vengano più frequentemente rilevate in derrate provenienti da zone a clima caldo (arachidi, cotone, pistacchi, noci brasiliane, fichi secchi, alcune spezie) o su colture estive, come il mais.

Chimicamente sono dei derivati della cumarina e vengono denominate con le sigle B₁, B₂ (rispettivamente metossi-difuro-cumarone e metossidifuro-cumaro-lattone), G₁, G₂ (loro diidroderivati). Prendono il loro nome da un'intensa fluorescenza blu (B₁ e B₂) o verde (G₁ e G₂) se sottoposte a luce ultravioletta. Questa colorazione, è il frutto di una reazione chimica da parte dell'*Aspergillus*, dove l'acido coico, per azione di una perossidasi, si converte in una sostanza fluorescente, visibile tramite una luce UV di 365 nm.

Le aflatossine sono state isolate circa 40 anni fa, in corrispondenza di una moria di 100000 tacchini in Inghilterra (denominata malattia X) e della scoperta del cancro della trota iridea; entrambi gli animali erano alimentati mediante una miscela a base di arachidi e semi di cotone. Gli effetti più evidenti che possiamo osservare sono: epatotossici, cancerogeni, teratogeni e mutageni. Vengono assorbite a livello del tratto gastrointestinale e attivate metabolicamente o detossificate nella mucosa intestinale e nel fegato.

Aflatossina B1

Del gruppo delle aflatossine, la B₁ è quella più prodotta, nonché la più tossica e può manifestarsi in modo acuto o cronico. Le specie colpite sono avicoli, suini, bovini e conigli e gli animali più giovani sono maggiormente colpiti rispetto agli adulti e i monogastrici sono meno forti dei ruminanti. Per quanto riguarda l'escrezione dell'AFB₁, una frazione della tossina viene eliminata attraverso il tratto intestinale, ma le principali vie di escrezione sono rappresentate da quella biliare (in forma di AFB₁-glutazione) e urinaria (come aflatossina M₁ e aflatossina B₁-N₇-guanina). Anche il latte è una via di escrezione dell'AFB₁ (come AFM₁), costituendo in tal modo a causa della rilevante tossicità di questo metabolita una potenziale fonte di assunzione per i giovani nati, durante la fase della lattazione. I segni di un'intossicazione acuta si manifestano con grave apatia, perdita dell'appetito, febbre più o meno elevata e morte dell'animale in tempi varianti a seconda della sensibilità specifica.

Generalmente, il fegato appare pallido, aumentato di volume con necrosi del parenchima. I danni legati all'intossicazione cronica sono di tutt'altro ordine: i segni più visibili consistono in inappetenza, rallentamento della crescita accompagnato da perdita di peso ma è il fegato che risente maggiormente dell'attività tossica: esso risulta congestionato e presenta delle zone emorragiche e necrotiche e, quando l'intossicazione è prolungata, si manifestano processi cancerogeni. I reni sono congestionati e occasionalmente si può osservare enterite emorragica. Inoltre, compaiono stato depressivo e disturbi nervosi, quali incoordinazione motoria, perdita di equilibrio e spasmi muscolari.

Lo IARC (International Agency for Research on Cancer) classifica l'aflatossina B1 al gruppo 1 (cancerogena per l'uomo), infatti studi epidemiologici condotti sulle popolazioni a rischio dell'Africa centro-meridionale (Kenia, Mozambico) e della Thailandia hanno chiaramente indicato l'esistenza di una correlazione positiva tra ingestione di aflatossine con la dieta e incidenza del cancro del fegato; inoltre, ricordiamo anche casi di epatite cronica (400 casi in India occidentale) e di fibrosi epatica.

Prodotto	Aflatossina B1 (ppb), umidità 12%
Tutte le materie prime per mangimi	20
Mangimi completi per bovini, ovini e caprini ad eccezione di:	20
mangimi completi per animali da latte	5
mangimi completi per vitelli e agnelli	10
mangimi completi per suini e pollame (salvo animali giovani)	20
altri mangimi completi	10
mangimi complementari per bovini, ovini e caprini (ad eccezione dei complementari per animali da latte, vitelli, agnelli)	20
mangimi complementari per suini e pollame (salvo animali giovani)	20
Altri mangimi complementari	5

Tabella Regolamento CE1126/ 2007 sui tenori massimi di aflatossine negli alimenti per uso zootecnico.

Prodotto	Aflatossina B1 (ppb)	Aflatossina M1 (ppb)	Aflatossina tot (ppb)
Granoturco da consumo umano	5	10	
Alimenti per bambini		0,1	
Latte			0,05
Latte per lattanti			0,025

Tabella Regolamento CE1126/ 2007 sui tenori massimi di aflatossine negli alimenti per il consumo umano.

Prodotto	USA (ppb)	EU (ppb)
Latte	0,5	0,05
Mais per vacche da latte	20	5
Mais per animali giovani	20	10
Mais per bovini da carne	100	20
Mais per suini da finissaggio	200	20
Mais per bovini da finissaggio	300	20

Tabella di confronto tra i tenori massimi di aflatossine negli USA e in Europa.

1.3.2 OCRATOSSINE

Le ocratossine sono delle micotossine, prodotte da specie del genere *Aspergillus* e *Penicilium*, quali *A. ochraceus*, *carbonariuse* *P. viridicatum*, *verrucosume cyclopium*. Questi funghi, sintetizzano la tossina solo in particolari condizioni ambientali: il contenuto minimo di umidità deve essere del 15-16% e le temperature in un range da 4 a 37°C. Se le temperature dovessero essere superiori o inferiori a quelle ottimali la produzione non cessa ma subentrano altre specie fungine in grado di svilupparsi anche a queste condizioni.

Dal punto di vista chimico, le ocratossine, costituiscono un gruppo di derivati dell'isocumarina, legati al gruppo amminico della L-β-finilalanina e sono classificati in base alla loro origine biosintetica come pentacetidi nel gruppo dei polichetidi (Turner, 1971).

Gli alimenti più a rischio sono cereali e derivati (prodotti da forno), granella di oleaginose, caffè, cacao, vino, birra e carni di maiale.

Ne sono note tre tipi:

1. Ocratossina A, è la più diffusa e la più tossica del gruppo e si ritrova principalmente nei cereali (mais), nel caffè, nella frutta secca e nel vino.
2. Ocratossina B, deriva dall'ocratossina A per dechlorazione.
3. Ocratossina C, un metabolita dell'ocratossina A, ne deriva invece per esterificazione.

Ocratossina A

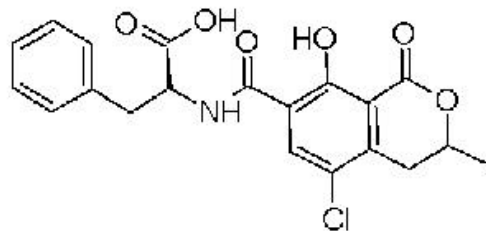


Figura 8 Struttura chimica dell'ocratossina A

L'Ocratossina A (OTA) viene definita: nefrotossica, epatotossica, teratogena e immunotossica per molte specie animali. Fu isolata per la prima volta in Sud Africa da un ceppo di *A. ochraceus* nel 1965 (Bennet et al., 2003); successivamente è stata ritrovata come metabolita secondario prodotto da alcune specie del genere *Penicillium*.

Le intossicazioni principali causate da questa tossina negli allevamenti zootecnici sono: la nefropatia dei suini, segnalata nei Paesi del Nord-Europa e nei Balcani, e la nefropatia aviaria, diffusa invece nell'America del Nord, entrambe associate al consumo di cereali contaminati. Ricordiamo inoltre la sua azione immunotossica (cellule renali), cancerogena e genotossica e ad alte concentrazioni può causare epatiti, enteriti e necrosi del tessuto linfatico. Viene definita come sostanza cancerogena accertata per gli animali e si accumula nei tessuti rendendo tossiche e cancerogene anche le carni stesse.

L'assorbimento inizia nello stomaco e si completa nel tratto finale dell'intestino tenue, si lega alle siero-albumine del sangue e diffonde in maniera sistematica; solo i ruminanti, grazie ai microrganismi nel rumine, riescono a degradarla ad Ocratossina Alpha (derivato meno tossico) e ne risentono di meno. La minor tossicità di questo derivato dipende dal fatto che è

privo del gruppo finilalaninico, responsabile di molti effetti tossici e causa del malfunzionamento di processi metabolici.

Per quanto riguarda i danni all' uomo la nefrotossicità è stata messa in relazione alla così detta Nefropatia Endemica dei Balcani, una grave malattia renale delle popolazione del Sud Est Europa (Bosnia, Croazia, Bulgaria e Romania) e sembra sia l' Ocratossina A la causa. Inoltre è stata classificata dalla IARC come gruppo 2B cioè, come possibile agente cancerogeno, ma non esistono dati sufficienti per dimostrarlo in modo certo.

Prodotto	Ocratossina A (ppb)
Cereali non trasformati	5
Tutti i prodotti derivati dai cereali non trasformati, compresi i prodotti trasformati a base di cereali e i cereali destinati al consumo umano diretto	3
Alimenti a base di cereali e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini	0,5
Materie prime per mangimi	250

Tabella Regolamento CE1126/ 2007 sui tenori massimi di Ocratossina A in alcuni alimenti.

1.3.3 FUMONISINE

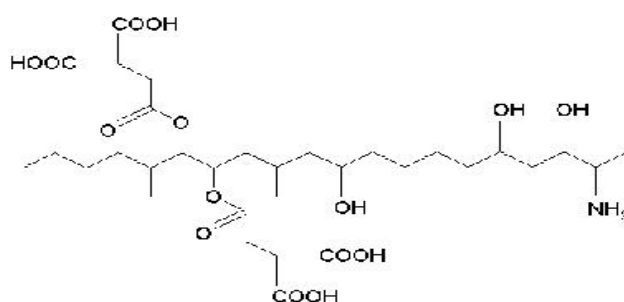


Figura 9: struttura chimica delle fumonisine

Le fumonisine sono un gruppo di micotossine che ritroviamo soprattutto nel mais e in altri cereali (riso, sorgo ecc) e loro derivati. Vengono prodotte da funghi del genere *Fusarium* (*verticilloides* e *proliferatum*), quando le temperature si aggirano sui 18-20°C e l' a_w non scende al di sotto di 0.95. Dal punto di vista chimico sono idrofiliche, quindi facilmente solubili in acqua (CAST, 2003) e non sono fluorescenti (John L. Richard, 2007). Ad esse appartengono circa 8 composti correlati chimicamente tra di loro e riconducibili all'1,2,3

tricarbossipentanoico acido 2-ammino-12,16-dimetil polidrossieicosano. Tra le più importanti fumonisine troviamo la B1, B2 e B3, anche se la prima è la più abbondante rispetto alle altre due.

Sono state scoperte per la prima volta in Sud Africa da colture di *Fusarium verticilloides* (Gelderblom et al., 1988) e correlate con casi di micotossicosi sia di equini che di suini (Gendelbrom, W.C.A.; et al.1988), più precisamente casi di ELEM (leucoencefelomalacia equina) (Thiel, P.G., et al.1991) e di sindrome da edema polmonare nei suini (Ross, P.F.; et al. 1990). La specie suina è la più sensibile tra quelle di interesse zootecnico, infatti possiamo riscontrare effetti come: edema polmonare da insufficienza cardiaca sinistra, immunodepressione, alterato quadro enzimatico plasmatico e riduzione dell'ingestione alimentare. Gli ultimi due effetti sono i più frequenti, perché si verificano a livelli di pochi mg/kg di fumonisine nella dieta, mentre per i primi due occorrono livelli più elevati. Inoltre negli animali che hanno subito danni da fumonisine sono evidenti i danni in sede autoptica a livello epatico e renale. Il meccanismo di azione delle fumonisine è di inibizione nella sintesi delle proteine, sono stati condotti degli esperimenti su primati dove le loro cellule renali sono state trattate con FB1, si è notato una netta diminuzione della concentrazione della proteina chinasi C. La riduzione di questa proteina, altera la normale attività della via di traduzione del segnale, causando tra i possibili effetti nocivi, la formazione di fenomeni di carcinogenesi (Huang et al., 1995).La fumonisina FB1 inibisce un enzima, noto come N-acil-transferasi, chiave del metabolismo degli sfingolipidi, il quale catalizza la reazione in cui un acil-CoAsi combina con la sfingosina e la sfingenina per formare ceramidi, che vengono successivamente trasformati in sfingolipidi complessi (Voss K.A., 2007). La potente azione inibente della FB1 sulla sintesi degli sfingolipidi, sembra essere alla base degli effetti tossici provocati da queste sostanze, sia nell'uomo che negli animali, in particolar modo a livello del fegato (Voss K.A., 2007). I ruminanti, come per le altre tossine, sono le specie che riescono a rendere meno nocive queste sostanze, idrolizzandole parzialmente o totalmente. La microflora presente all'interno del ruminante e dell'intestino agisce in modo tale che le tossine ingerite risultino meno pericolose per l'organismo (Caloni et al., 2000; Gurung et al., 1999; Prelusky et al., 1996; Rice e Ross, 1994).

Riguardo i danni all' uomo, la presenza di fumonisine, con altre tossine prodotte da *Fusarium* spp. é stata associata in alcune regioni del globo, nord Italia, Sud Africa e sud est asiatico, alle abitudini alimentari delle popolazioni autoctone ed a una maggiore incidenza di patologie neoplastiche esofagee (Franceschi, S.; et al. 1990). In tali regioni la dieta é particolarmente ricca, o addirittura esclusivamente composta da cereali e da mais che rappresentano il

substrato ideale di accrescimento di *Fusarium* tossigeni e a conferma di ciò numerosi studi riportano una elevata presenza di fumonisine quali contaminanti naturali. (Rheeder, J.P.; et al. 1992) (Fun, S. Chu; Guo, Y. Li; 1994) Sulla base di questi dati biologici insieme a numerose altre sperimentazioni sulle attività delle fumonisine "L'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro" ha provveduto ad inserirle nel gruppo B2: composto possibile cancerogeno per l'uomo (Visconti, A., et al. 1999).

Prodotto	Fumonisine (somma di B1 e B2) (ppb)
Granoturco destinato al consumo umano diretto	200
Granoturco non trasformato	2000
Alimenti a base di granturco trasformato e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini	200
Materie prime per mangimi con granturco e derivati	60000

Tabella Regolamento CE1126/ 2007 sui tenori massimi di Fumonisine in alcuni alimenti.

1.3.4 ZEARALENONE

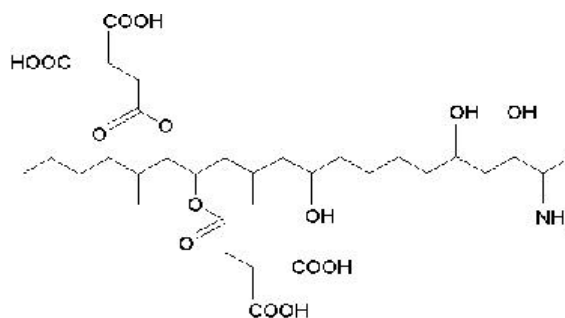


Figura 10: struttura chimica dello zearalenone

Lo Zearalenone (ZEA) é una tossina prodotta anch'essa da funghi del genere *Fusarium*, precisamente *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. cerealis* *F. heterosporum*; queste specie sono note per colonizzare i cereali e tendono a svilupparsi in particolare nelle zone temperate. L'attività tossigena di questi funghi può iniziare in campo, nelle colture cerealicole (mais, frumento, sorgo, orzo, avena) e continuare poi durante la raccolta, proseguendo nei prodotti conservati (granaglie, insilati, fieni) se le condizioni restano favorevoli (contenuto di

umidità dei prodotti del 20-22% e alternanza di temperature diurne di 22-25°C e notturne di 12-15° C).

I metaboliti principali dello ZEA sono l' α -zearalenone (α -ZOL) ed il β -zearalenolo (β -ZOL), i quali vengono prodotti all'interno del fegato dopo l'ingestione e l'assorbimento nell'intestino. Questo processo avviene in due fasi: la prima è una reazione di coniugazione tra lo zearalenone e l'acido glucuronico, mentre la seconda è la reazione di riduzione nei suoi due metaboliti. L'azione dello ZEA (alte concentrazioni) si sviluppa a livello dei recettori degli estrogeni (Gentry, 1986; Hayes, 1994), il quale si lega ad essi e viene trasportato verso il nucleo della cellula. Una volta nel nucleo, la coppia recettore-ZEA si lega ai recettori cromatinici dando così il via alla trascrizione. Lo ZEA, in particolare, va a competere con l'estradiolo B17 (E2) nel legame dei recettori citoplasmatici degli estrogeni, aumentando così l'attività dell'RNA polimerasi I, II e della sintesi proteica (Boyd e Wittliff, 1978; Kawabata et al., 1982). Questa attivazione genetica ha diversi effetti biochimici, quali la riduzione nell'assorbimento dell'acqua, riduzione lipidica nei muscoli, aumento della permeabilità uterina al glucosio ed infine una riduzione della sintesi degli ormoni estrogeni. A basse concentrazioni invece lo ZEA manifesta solo un'attività anabolica e utero trofica.

Rispetto ai due metaboliti prodotti, quello che presenta la maggior azione estrogena è l' α -zearalenone ma entrambi svolgono un'azione inibente della fertilità, dello sviluppo ormonale, aborti, riduzione della produzione del latte nei ruminanti e fenomeni di diarrea in varie specie animali (Arukwe et al., 1999; Smith et al., 1995; Sprosen e Towers, 1995).

La sintomatologia è rappresentata da scoli vaginali, iperestrogenismo, estro prolungato, modifica della libido, infertilità, pseudo-gravidanze, sviluppo della ghiandola mammaria e lattazioni anormali. Come per le aflatossine anche lo zearalenone può trasferire i suoi metaboliti all'interno del latte, diversi studi hanno dimostrato, infatti, la possibile trasmissione nel latte di pecora (Hagler et al., 1980), vacca (Mirocha et al., 1981) e scrofa (Marcato, 1998). Nei bovini la somministrazione di mangimi contaminati (40 mg/kg) ha comportato la presenza di β -ZOL (80% dei metaboliti), di α -ZOL (15% dei metaboliti) e tracce del composto immodificato nel latte. La persistenza dei residui nel latte è evidenziabile per 5 giorni dopo la sospensione dell'assunzione (Tiecco, 2001) ma solo lo 0,7% dello ZEA ingerito viene escreto in questo modo. Nei ruminanti la tossina e i suoi metaboliti vengono eliminati per la maggior parte dall'azione della bile ed escreti con urine e le feci. Questo meccanismo unito all'attività dei batteri ruminali permette un'elevata detossificazione e resistenza alla contaminazione. Nelle ovaiole la maggior parte della tossina viene eliminata con le feci, ma piccole percentuali di ZEA e metaboliti si possono accumulare nel tuorlo

(Hoerr, 2001). Studi recenti, però, hanno evidenziato che l'utilizzo di mangimi contenenti 275 µg/Kg di ZEA non determinano la formazione di residui rilevabili. Un'altra fonte di assunzione dello ZEA e dei suoi metaboliti è rappresentata dalla carne. I dati relativi al passaggio di micotossine da animali esposti a mangimi contaminati all'uomo sono comunque molto frammentari e quindi il fenomeno deve essere approfondito. Dati ulteriormente carenti sono quelli relativi al controllo degli alimenti destinati ai bambini, che sono i soggetti maggiormente a rischio nei confronti di molecole ad attività ormonale come lo ZEA ed i suoi metaboliti. La sua azione nei confronti dell'uomo non è di tipo cancerogeno, ma viene comunque definita come un'azione genotossica, infatti recentemente è stata accertata la correlazione tra alimenti fortemente contaminati da ZEA con l'elevata incidenza del cancro alla cervice uterina. Nel 1993 l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro, ha classificato lo Zearalenone nel Gruppo 3, cioè come "non classificabile come agente cancerogeno per l'uomo".

Prodotto	Zearalenone (ppb)
Granoturco non trasformato	350
Granoturco destinato al consumo diretto	100
Alimenti a base di granturco trasformato destinato ai bambini	20
Mangimi complementari e completi per vitelli, bovini da latte, ovini e caprini	500

Tabella Regolamento CE1126/ 2007 sui tenori massimi di Zearalenone in alcuni alimenti.

1.3.5 DEOSSINIVALENOLO

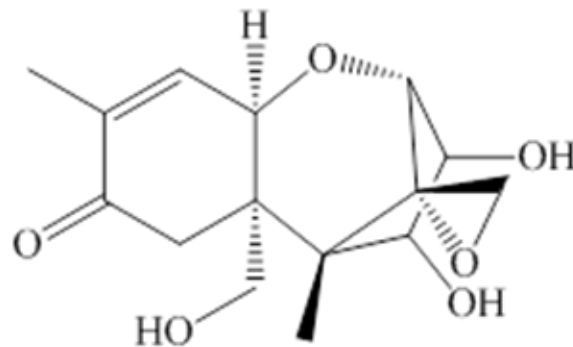


Figura 11 :struttura chimica del deossinivalenolo

Il DON o vomitossina fa parte del gruppo dei tricoteni ed è prodotta da alcune specie di *Fusarium* (*F.graminearum*, *F.culmorum*). Questi funghi per produrre la tossina hanno bisogno di temperature miti con un massimo di 28°C e a_w di almeno 0,95. Il DON è una delle micotossine più diffuse negli alimenti e nei mangimi insieme al zearalenone, soprattutto nei cereali quali grano, orzo, mais e loro derivati. Esso, come gli altri tricoteceni, presenta un nucleo sesquiterpenico, caratterizzato da un anello 12,13-epossi-tricotec-9-ene tetraciclico. I tricoteceni sono tutti altamente tossici a livelli subcellulare, cellulare e degli organi; strutturalmente sono dei composti contenenti funzioni idrossiliche OH, polari e solubili in solventi organici polari. Queste caratteristiche giustificano la loro facilità di penetrazione attraverso le membrane lipidiche e le loro interazioni con DNA, RNA ed organuli subcellulari. Il loro meccanismo d'azione si basa sull'inibizione della sintesi proteica che può avvenire o nella fase di iniziazione o in quella di elongazione-terminazione. I tricoteceni possono interferire con i processi di sintesi proteica perché interagiscono con la subunità 60s dei ribosomi eucariotici, causando disturbi nervosi. Il Deossinivalenolo, visti i suoi effetti sul bestiame (inappetenza e scarsa ritenzione del cibo) è conosciuto anche come Vomitossina, si presenta come una tra le più recenti micotossine isolate nelle farine, insilati, granaglie in generale e per questo non ne sappiamo ancora molto sui suoi effetti. Il primo episodio risale al 1994-95 nel Maryland dove questa micotossina è stata isolata e riconosciuta nel mais dolce destinato all'alimentazione umana, durante le fasi di confezionamento. Dopodiché, successivi episodi di carcinoma esofageo in Asia, in Africa ed in altre parti del mondo hanno stimolato gli studi sul Deossinivalenolo, dimostrandone ampiamente la stretta correlazione tra la sua presenza e la patologia. Gli effetti più evidenti sugli animali ed in particolare nei suini, sono: inappetenza e scarsa ritenzione del cibo; clinicamente l'intossicazione è caratterizzata in

generale da vomito (stimolazione recettore medulla oblongata), irritazioni cutanee particolarmente, lesioni emorragiche, modificazione patologiche degli organi emopoietici e depressione immunitaria. Nei ruminanti il DON crea normalmente pochi problemi, di rado infatti si possono osservare sintomi come diarrea aspecifica, ridotta assunzione dell'alimento, pelo ruvido, opaco e ridotta resa alla macellazione. Nell'uomo, invece, oltre a vomito e diarrea colpisce le difese immunitarie causando la leucopenia tossica alimentare : una micotossicosi che ha colpito più volte le popolazioni della Russia Orientale, comportando una progressiva riduzione dei leucociti nel sangue. In base alla classificazione internazionale della IARC il DON, insieme agli altri tricoteceni, è inserito in "Classe 3", cioè non è considerato cancerogeno per l'uomo.

Prodotto	DON (ppb)
Granoturco non trasformato	1750
Cereali e derivati destinati al consumo umano diretto	750
Mangimi complementari e completi per vitelli (< 4 mesi), agnelli e capretti	2000
Mangimi complementari e completi per suini	900

Tabella Regolamento CE1126/ 2007 sui tenori massimi di Deossinivalenolo in alcuni alimenti.

2. MICOTOSSINE DEL MAIS : METODI DI PREVENZIONE E CONTENIMENTO

Il mais (*Zea mays*), dopo frumento e riso è il terzo cereale per superficie coltivata nel mondo, ma è il principale come produzioni e volumi scambiati (import-export). In Italia è, una coltura molto importante, infatti occupa poco più di un milione di ha di superficie, Quasi il 90% di questa superficie è coltivata nel Nord Italia soprattutto nella zona della pianura padano-veneta. Le produzioni di granella arrivano a 8,2 milioni di tonnellate (dati ISTAT 2010). E' il cereale maggiormente usato per l'alimentazione zootecnica, circa l'82% della produzione totale è destinato alla formazione dei mangimi, il 4% per l'alimentazione umana, un 12% per il ricavo di amido e il rimanente 2% va ad altri scopi minori. La granella a vari stadi di maturazione può essere utilizzata per sfarinati e pastoni, oppure se decorticata e degerminata per produzione di crusca ad uso zootecnico. Riguardo l'uso umano, invece, i prodotti trasformati dall'industria molitoria sono diversi: dalla macinazione dell'endosperma per esempio derivano farine di classi granulometriche differenti per polenta o prodotti da forno e sostanze estratte dall'amido impiegate nell'industria alimentare. La maiscoltura è diffusa nel territorio italiano già dalla metà del cinquecento e le tecniche di coltivazione sono ormai consolidate da secoli ma in questi ultimi anni gli agricoltori si sono dovuti scontrare con il problema sempre più invadente delle micotossine: sostanze molto tossiche per gli animali e per l'uomo. Il 2003 e il 2012 vengono ricordate come le annate più difficili, il clima molto caldo e asciutto ha aiutato la diffusione delle aflatossine nelle colture di mais e possiamo contare perdite di produzione fino al 50% nel peggiore dei casi. La prevenzione è la strategia di difesa più forte che possiamo attuare per evitare nuovi attacchi, ma soprattutto gravi perdite economiche. Prevenzione che inizia nel campo, durante la fase di crescita della pianta, continua nella fase di raccolta ma soprattutto non deve smettere nella fase di stoccaggio e conservazione. Solo un contributo da parte di tutti i settori della filiera può evitare danni come quelli degli anni precedentemente citati e garantire un prodotto di qualità e salubrità al consumatore.

2.1 PREVENZIONE IN CAMPO

La prevenzione in campo si realizza tramite il rispetto di alcune regole, che durante il ciclo biologico della coltura saranno indispensabili nel favorire l'accrescimento del cereale estivo e sfavorire la comparsa e lo sviluppo dei funghi tossigeni. In questo modo si limiteranno i processi di decontaminazione e detossificazione da effettuare durante la conservazione, sempre molto costosi e complessi. Se la produzione di muffe non avviene, avremo qualche possibilità che anche la micotossina non venga prodotta, tuttavia la presenza di muffe in forma più o meno visibile, non è elemento sufficiente a testimoniare la presenza/assenza di tossine sul prodotto finale. È necessario quindi, che i produttori agricoli e gli operatori della filiera mantengano alta l'attenzione sul rischio di contaminazione; ogni anno il problema può potenzialmente manifestarsi e diventare critico, a seconda degli andamenti stagionali. Il produttore agricolo può svolgere, come primo anello della filiera, un ruolo fondamentale nell'adozione delle misure di prevenzione senza le quali verrebbero resi inefficaci gli effetti degli interventi nelle fasi successive alla raccolta. L'attenzione di un singolo però non basta, è l'unione di tutti i componenti della filiera che lavorando insieme potranno alla fine fare veramente la differenza.

2.1.1 AVVICENDAMENTO

Il mais è una coltura da rinnovo e tradizionalmente veniva inserita in rotazione con frumento e prato; a oggi però questo tipo di avvicendamento non viene quasi più utilizzato perché il mais può essere coltivato in monosuccessione.

L'importanza dell'avvicendamento dal punto di vista agronomico è ben nota sia per gli effetti positivi: il bilancio dei nutrienti in rapporto alla concimazione, il controllo delle malerbe, e la prevenzione anche se indiretta di fitopatie ed insetti dannosi. Nonostante vi siano alcuni aspetti negativi in questa pratica l'alternanza delle colture è preferibile alla monosuccessione continua o prolungata. La successione a se stesso per più anni può aumentare il rischio di attacchi fungini sia sullo stocco che sulla granella dovuto, in maniera più o meno manifesta, dal precedente raccolto, soprattutto se ha subito attacchi parassitari, o dai residui stessi lasciati sulla superficie del terreno per lungo tempo. Le rotazioni colturali più usate prevedono l'utilizzo di barbabietola, medica, soia o girasole, in

programmazione pluriennale (Zucchi *et al.*, 2005). Rotazione non significa solo alternare le coltivazioni nel tempo sullo stesso appezzamento, ma vuol dire anche modificare gli interventi preparatori del terreno (intensità ed epoca di applicazione), influenzando sul rilascio dei nutrienti e interrare residui di specie diverse. Inoltre e non di meno importanza, avvicendare significa incidere sulla flora infestante, sia su quella che emerge, sia su quella potenziale (semi di infestanti nel terreno) e favorire anche se indirettamente specie fungine ubiquitarie, fitopatogene, ma poco specifiche dei cereali.

2.1.2 LAVORAZIONI DEL TERRENO

Per ottenere il massimo da una coltura occorre iniziare dalla preparazione del letto di semina. Il terreno è composto da un miscuglio di terra fine e di piccole zolle che devono assicurare una circolazione rapida e continua dell'acqua e dell'aria dagli strati più superficiali a quelli più profondi. Negli ultimi anni le lavorazioni di preparazione alla semina non vengono più considerate indispensabili per la buona riuscita della coltura, ma accusate di creare problemi alla struttura stessa del terreno, danneggiandolo. Al posto delle lavorazioni tradizionali si cercano di introdurre sempre di più le lavorazioni conservative (minime lavorazioni, semina diretta e semina su sodo).

Lavorazioni tradizionali

La prima nonché la più antica lavorazione a cui si fa riferimento nella tradizione dell'agricoltura è l'aratura. Essa consiste nella preparazione del terreno prima della semina, con il rivoltamento degli strati superficiali a una profondità variabile (30-40 cm). I pregi dell'aratura riguardano: l'interramento dei residui colturali della coltivazione precedente, evitando quindi che possano fungere da inoculi per i patogeni, l'eliminazione delle erbe infestanti e l'interramento dei fertilizzanti riducendone la dispersione. D'altro canto però vi sono anche dei difetti, per i quali si stanno a mano a mano che passano gli anni privilegiando le minime lavorazioni. I problemi più evidenti sono: la creazione di zolle molto grandi dovute all'inversione degli strati troppo profonda e in questo modo la possibilità di portare in superficie strati inerti (che non producono) o viceversa portare in profondità microrganismi aerobi superficiali, la formazione della suola di lavorazione, la

diluizione della sostanza organica presente e i costi dal punto di vista economico per il limitato sfruttamento della potenza del trattore, con alti consumi.



Figura 12 Aratura



Figura 13 Particolare sull'inversione degli strati

Lavorazioni conservative

Si definiscono tecniche di “agricoltura conservativa” quelle che influiscono il meno possibile sulla naturale composizione del suolo, dal punto di vista della struttura e della biodiversità. Esse favoriscono l’infiltrazione dell’acqua e la conservazione dell’umidità, contrastando l’erosione e contribuendo a migliorare la qualità delle acque stesse. Queste operazioni, a parità di risultati produttivi, consentono di ridurre i consumi energetici e di migliorare la capacità di lavoro, grazie alla maggior velocità di avanzamento rispetto all'aratura. Dal punto di vista ambientale invece: la biomassa resta in superficie, viene ridotto il rischio di compattazione, aumentando la fertilità dei suoli. Andando nello specifico i pregi sono: una buona stratigrafia, evitando la formazione della suola di lavorazione e la presenza di zolle troppo dure, il mantenimento della sostanza organica in superficie e infine l'alta capacità di lavoro a basso consumo. Per quanto riguarda gli inconvenienti ricordiamo lo scarso interrimento dei residui colturali e il mal controllo delle erbe infestanti. Tali tecniche vengono presentate in ordine decrescente di intensità:

- La lavorazione superficiale senza inversione degli strati consiste nel preparare il letto di semina smuovendo solamente gli strati più superficiali del suolo (5-15 cm) impiegando diversi tipi di attrezzature:

1. Le attrezzature combinate sono formate da denti e dischi posizionati in modo da potersi adattare ai vari tipi di suolo, il dente taglia il terreno mentre il disco si occupa dell'interramento di quanto presente in superficie. Questo tipo di macchine non sono azionate dalla presa di potenza del trattore, viaggiano a velocità e larghezze elevate con un collegamento alla macchina motrice di tipo trainato.
2. I coltivatori leggeri presentano delle ancore rigide o elastiche effettuando una blanda miscelazione; solitamente sono accompagnate da organi destinati a livellare il terreno come i dischi (convessi o stellati), i quali chiudono il solco creato dalle ancore.
3. Gli erpici a dischi si compongono da calotte sferiche e parallele, inserite folli su assi disposti simmetricamente rispetto alla direzione di avanzamento e angolati fra loro; i dischi possono essere dentati o lisci e da ciò dipende l' "aggressività" verso il terreno.



Figura 14 Attrezzatura combinata per la minima lavorazione

- La semina diretta si effettua con particolari seminatrici, combinate e non, le quali oltre alla deposizione del seme attuano una minima lavorazione del terreno. Ciò permette di ridurre i costi, aumentare la produttività del lavoro e limitare il compattamento del terreno. Ponendo a confronto queste seminatrici con quelle su sodo notiamo le minori capacità in relazione alla maggior richiesta di potenza del primo tipo rispetto al secondo. La combinazione di più macchine non sempre garantisce le prestazioni ottimali delle singole attrezzature

componenti e talvolta le modalità operative risultano una soluzione di compromesso tra i vari attrezzi. La combinazione con la seminatrice può essere di diverso tipo:

1. Le seminatrici combinate mosse da pdp sono utilizzate specialmente nella semina dei cereali e garantiscono una miscelazione del terreno con i residui colturali positiva, favorendone la decomposizione. Necessitano di grandi potenze e sono combinate con erpici rotanti o più raramente zappatrici rotative.
2. Le seminatrici combinate con utensili passivi sono prevalentemente dotate di uno o più ranghi di dischi e la lavorazione risulta più veloce, richiedono minore potenza. Si adattano sia su terreni sciolti che franchi anche in presenza di residui vegetali, mentre è problematico il loro impiego su terreno allo stato semi-plastico e in pendenza.



Figura 15 Macchina per la semina diretta in campo



Figura 16 Particolare di seminatrice diretta

- La semina su sodo viene effettuata con particolari macchine seminatrici, le quali operano una minima preparazione del terreno solo sulle file da seminare consentendo la massima riduzione dei costi e risparmi energetici, il massimo controllo dei fenomeni erosivi e il massimo sequestro del carbonio da parte del terreno. Rispetto alle macchine convenzionali sono generalmente dotate di organi lavoranti specifici per la preparazione della fila e la gestione dei residui colturali:
 1. Gli utensili per lo spostamento dei residui sono sempre anteposti agli assolcatori e hanno la funzione di formare una fila da 100-150 mm libera dai residui vegetali senza smuovere il terreno a cavallo della linea di semina, facilitando il lavoro degli

assolcatori. In genere sono costituiti da dischi stellati montati folli, regolabili in altezza ed inclinazione.

2. Gli organi di taglio sono solitamente dei dischi che tagliano il residuo e devono essere regolati a seconda del terreno, in modo tale che svolgano a pieno il loro compito. I dischi possono essere di diverse forme, ma di base li suddividiamo in lisci e ondulati.
3. L'assolcatore provvede a creare il solco e a deporre il seme a una corretta profondità. Possono essere a denti, macchine semplici ed economiche, ma non presentano un organo chiudi solchi quindi il loro utilizzo è un po' problematico; quelli a dischi rappresentano la tipologia più diffusa e sono disponibili in ampie varietà per adattarsi a qualsiasi esigenza e situazione di terreno. L'unico inconveniente è che può rimanere del residuo nel solco di semina impedendo una normale germinazione dei semi e causando una riduzione della produttività finale.
4. Gli utensili per chiudere il solco e i compressori possono essere due organi distinti o un unico dispositivo che realizza entrambe le funzioni. Sono degli elementi importanti per garantire la copertura del seme e il contatto fra il seme e il suolo in modo da assicurare una sua rapida e continua umidificazione. Un'insufficiente chiusura del solco infatti è una delle principali cause della mancata emergenza, soprattutto in colture sensibili come il mais perché espone il seme alla predazione da parte della fauna, ne impedisce l'umidificazione o lo sottopone ad un'alternanza di umido e di secco.



Figura 17 Seminatrice su sodo



Figura 18 Particolare di seminatrice su sodo

In tutte queste lavorazioni, per evitare indesiderate variabilità produttive bisogna valutare bene la fase di impianto della coltura, che deve essere eseguita oltre che su terreno in condizioni ottimali, da attrezzature idonee e con particolare attenzione alle regolazioni in relazione alle condizioni del terreno stesso. Se il terreno viene seminato senza nessuna lavorazione, la situazione antecedente può influire negativamente sulle produzioni successive; quindi le scelte riguardanti questo ambito devono essere fatte tenendo in considerazione anche la precessione colturale e lo stato dell'appezzamento sia in superficie che in profondità.

Effetti delle lavorazioni sulle micotossine

- I residui di coltivazione come pannocchie o stocchi di mais sono i principali serbatoi di *F. graminearum*, produttore di Deossinivalenolo. Le colture come il frumento che seguono un mais da granella hanno una percentuale di contaminazione maggiore a causa della grande quantità di residui carichi di inoculo di *Fusaria* che il mais lascia sul suolo, i quali possono rappresentare un ottimo substrato di sviluppo addirittura fino al secondo anno di presenza. I motivi dell'aggressività dei *Fusaria* possono essere tre:
 1. La "lettiera" formata dai residui crea un habitat con caratteristiche chimico-fisiche (umidità, temperatura ecc) adatte alla proliferazione dei funghi (Champeil *et al.*, 2004).
 2. I residui trattengono l'acqua sulla superficie del suolo, favorendo il rilascio delle spore del genere *Fusarium*, contenute in mucillaggini che necessitano di bagnatura per il loro rilascio (Horberg, 2002).
 3. La dispersione dell'inoculo con gli schizzi di acqua, è favorita dalla presenza degli stocchi in superficie (Walklate, 1989).

Le lavorazioni assumono quindi un'importanza considerevole perché, con il diverso interrimento dei residui, possono influenzare l'entità dell'inoculo iniziale, rendendo più o meno accessibile al patogeno il substrato per il suo sviluppo e la diffusione di spore e conidi (Miller *et al.*, 1998; Barrier-Guillot *et al.*, 2004).

1. La semina su sodo come pregi non ha costi di gestione dei residui ma, la loro presenza sulla superficie del terreno provoca un'elevata infezione da *Fusarium* e una conseguente contaminazione critica da DON portando alla produzione di una granella di scarsa qualità.
 2. Con la minima lavorazione vi è un interrimento parziale e troppo superficiale dei residui, il quale non basta a evitare l'infezione.
 3. La rotoimballazione consente di rimuovere i residui senza eseguire delle lavorazioni a danno della struttura del terreno, rappresentando così un buon compromesso tra sicurezza, qualità e questione economica.
 4. Il ricorso all'aratura per interrare i residui colturali della precessione si rende particolarmente utile quando questa è stata un cereale autunno-vernino o un ristoppio di mais. L'interrimento degli stocchi, con conseguente decomposizione e devitalizzazione del micelio, può dare degli ottimi risultati se effettuata entro 60 giorni dalla raccolta. È la strategia agronomica migliore perché agisce direttamente sui residui interrando di 15-30 cm, quindi eliminando l'inoculo; gli unici aspetti negativi riguardano i costi e i "danni" alla struttura del terreno.
- La gestione delle acque in relazione alla tessitura del terreno può influenzare la contaminazione da micotossine: il mantenimento di un buon sistema drenante evita alla pianta situazioni di stress da carenza od eccesso idrico. Un terreno leggero, con un'alta percentuale di sabbia è molto permeabile, quindi non trattiene l'acqua ciò dipende anche dalla tessitura del suolo. Un terreno leggero con un'alta percentuale di sabbia è molto permeabile e non trattiene l'acqua, perciò aumenta il rischio di infezione da aflatoxine. Dall'altro lato però si deve fare attenzione anche allo sgrondo delle acque in eccesso nei terreni con drenaggio limitato per evitare i ristagni idrici che a loro volta aumenterebbero l'umidità della coltura rendendola una "facile preda" per le Fumonisine.

2.1.3 SCELTA VARIETALE

Il miglioramento genetico del mais avviene tramite l'ibridazione, cioè sfruttando un fenomeno chiamato eterosi. Questo metodo venne teorizzato da due genetisti americani (Shull e East) all'inizio dello scorso secolo incrociando linee pure (inbreds). Una linea pura è una popolazione omozigote ottenuta dall'autofecondazione continuata, per 5-10 generazioni. A ogni generazione compaiono su alcune piante caratteri recessivi, che verranno subito scartati, ottenendo una linea portante con caratteristiche di pregio ma molto indebolita. Dall'incrocio di due linee pure, opportunamente scelte, nascono ibridi a due vie, i quali incrociati con una terza linea pura formano la tipologia a tre vie e infine due ibridi a due vie se si incrociano ne formano da quattro vie. I primi sono quelli che manifestano in modo evidente il fenomeno dell'eterosi e sono più produttivi, però hanno delle esigenze colturali maggiori. Le tipologie a tre e quattro vie invece hanno una base genetica più ampia e sono più rustici, quindi adatti a situazioni meno ottimali.

Gli ibridi di mais sono classificati in otto classi FAO, dalla 100 alla 800, con un' aumento di circa 5-10 giorni di durata di ciclo tra una classe e la successiva. Nei nostri ambienti le classi estreme (100 e 800) non vengono mai utilizzate, si parte infatti da 86-95 giorni negli ibridi precocissimi fino a 131-140 di quelli più tardivi. La scelta di un tipo di varietà rispetto ad un altro deve essere valutata in base anche alla zona di coltivazione, al tipo di terreno, alla temperatura e all'epoca di raccolta.

La classe di maturità dell'ibrido

Per un mais da granella su terreno sciolto possiamo scegliere un ibrido a partire dalla classe 600, quindi medio tardivo con semina ad aprile e scendiamo verso un ibrido sempre più precoce andando avanti con i giorni mentre se il terreno è argilloso si parte da un ibrido più precoce.

La scelta di una corretta precocità gioca un importante ruolo di prevenzione, perché alcune tossine, come ad esempio le appartenenti al genere *Fusarium*, sono favorite da una varietà più tardiva. Se utilizziamo un ibrido tardivo (classe 700) ritarderemmo la maturazione della granella facendola avvenire in condizioni ambientali troppo umide. Con una granella alla raccolta di umidità elevata (25-35%) e un' essiccazione non troppo efficiente abbiamo le giuste condizioni per rischiare la contaminazione, danneggiando la buona conservazione

del cereale. La Fumonisina infatti aggredisce tanto più il mais quanto è maggiore il grado di umidità con cui viene raccolto e stoccato.

Le caratteristiche morfologiche e fisiologiche dell'ibrido

1. Una cariosside sana, impedisce che i funghi si insedino nei tessuti periferici e sviluppandosi il micelio penetri sempre più all'interno verso l'embrione, dove la ricchezza di lipidi sembra essere un caratteristica ideale per la sua crescita. A questo punto due sono le possibilità: o la morte del germe o la residenzialità cioè il fungo permane per propagare l'anno seguente la malattia attraverso il seme.

La composizione dell'endosperma può influenzare la velocità della perdita di umidità, inoltre la profondità con cui la cariosside è inserita nel tutolo e la composizione del tutolo stesso possono influire sulla cessione dell'umidità.

Alcuni mais di tipo dolce (molto ricchi di zuccheri) si sono dimostrati maggiormente sensibili agli attacchi fungini, ciò ci suggerisce una relazione importante tra la composizione della cariosside di una determinata varietà di mais e la sua sensibilità e predisposizione alla contaminazione da micotossine. Conoscere anche la biochimica dell'ibrido scelto sembra essere un valore aggiunto alla nostra lotta.

2. La presenza di brattee spesse ed embricate sulla pannocchia congiuntamente a granella profondamente incisa nel tutolo e tutoli consistenti o peggio spugnosi sono fattori negativi, in quanto rallentano il processo di perdita di umidità in campo. Il portamento della pannocchia matura, per effetto anche della lunghezza del peduncolo alla sua base, può giocare un ruolo positivo nei casi in cui risulti pendulo. Nell'eventualità che arrivino precipitazioni di tarda estate, con pannocchie pendule o reclinate, non si dovrebbe aumentare il livello di rischio per le cariossidi; soprattutto per la diffusione di Fumonisine.

Ibridi transgenici

A metà degli anni novanta sono comparsi negli Stati Uniti i primi tipi di mais transgenico ottenuti grazie all'ingegneria genetica. In Europa, in particolar modo in Italia, questi ibridi sono soggetti a forti limitazioni imposte dalla legge; a oggi la questione Ogm è molto controversa e tra i pro e contro non si è ancora decretato il vincitore. Il Bt (Bacillus

thurigiensis) è l'esempio di un mais transgenico resistente alla piralide, perché le larve di quest'insetto aumentano la diffusione delle Fumonisine nella pianta. Esso contiene un gene derivante dal batterio *Bacillus thuringiensis* l'espressione del gene ha come risultato la produzione di proteine insetticide selettive nei tessuti della pianta. Da questi ibridi è stato rilevato un alto livello di resistenza alla piralide, riducendone i danni e limitando l'infezione da *Fusarium* delle cariossidi (Munkvold *et al.*, 1997). Negli anni dal 1997 al 1999, sono state condotte in Italia (Pietri e Piva, 2000) prove di campo su diversi ibridi di mais Bt (evento MON 810) a confronto con gli stessi ibridi isogenici non-Bt. Gli ibridi Bt e non-Bt sono stati coltivati l'uno a fianco all'altro in zone del Nord Italia frequentemente soggette ad infestazione da piralide, quindi in condizioni naturali di infestazione da insetti e di conseguente contaminazione da *Fusarium*. Nei 3 anni sono state condotte prove rispettivamente in 3 (2 genotipi), 4 (2 genotipi) e 30 località (4 genotipi), ottenendo un totale di 11, 22 e 60 campioni di mais, rispettivamente. Su questi campioni sono stati determinati la quantità di Fumonisina B₁, DON, Zearalenone e Aflatossine presenti. La contaminazione da Zearalenone è risultata praticamente assente, quella da AFB₁ a livello di tracce, quella da DON a livelli piuttosto contenuti: per queste micotossine, pertanto, non è stata osservata alcuna differenza significativa tra ibridi Bt e non-Bt nei 3 anni. Il livello di Fumonisina delle cariossidi invece negli ibridi Bt è nettamente inferiore (tra le 8 e le 13 volte) rispetto ai non-Bt. Al termine delle varie sperimentazione si deduce che il Bt ha avuto un parziale successo, cioè ha portato dei risultati discreti per quanto riguarda le Fumonisine mentre non ha dato i risultati sperati per le restanti fusariotossine e le aflatossine, quindi non può essere definito un mezzo totalmente efficace contro le infezioni fungine.

2.1.4 EPOCA DI SEMINA

La semina viene eseguita appena la temperatura del terreno diventa stazionaria sui 8-10°C, a una profondità di circa 5 cm. Per identificare meglio il momento ottimale di semina, in relazione all'andamento meteorologico, si consiglia di fare riferimento ai bollettini tecnici dei comitati provinciali di coordinamento dei servizi di sviluppo agricolo.

In passato nei comprensori maidicoli della Pianura Padana, la semina iniziava nella prima decade di aprile per quanto riguardava il mais in prima coltura o in maggio-giugno se in seconda coltura (dopo erbai autunno-vernini). Oggi però si è scoperto che anticipare

leggermente l'epoca di semina a partire dalla seconda metà di marzo in poi, utilizzando ibridi resistenti al freddo, può influire positivamente sull'accumulo di micotossine. La contaminazione da parte di Fusariotossine (fumonisina B₁, DON e ZEA) è stata riscontrata in modo particolarmente forte in semine tardive con ibridi a ciclo lungo rispetto a ibridi più precoci, a causa della maturazione a stagione avanzata.

Per quanto riguarda il seme, nel mais come nel frumento può essere conciato, cioè vengono inseriti prodotti fungicidi e insetticidi che proteggeranno il seme e la giovane pianta dagli attacchi fungini. Da questa tecnica però non otteniamo un riscontro totalmente positivo perché: generi come l'*Aspergillus* non agiscono tramite l'infezione del seme ma l'inoculo raggiunge la spiga trasportato dal vento o dalla pioggia; solo il genere *Fusarium* potrebbe intaccare la pianta a tramite il seme, ma ciò non è ritenuto di particolare importanza.

2.1.5 DENSITÀ DI SEMINA

L'investimento colturale è una delle pratiche agronomiche più interessanti da conoscere al fine di aumentare la produttività del mais. È noto, infatti, che la produttività di questo cereale aumenta di un livello ottimale con la crescita dell'investimento colturale piuttosto che al miglioramento della quantità di granella per pianta.

La densità di semina del mais è progressivamente cresciuta dagli anni cinquanta quando furono introdotti i primi ibridi, passando da 3,5 piante/m² alle attuali 7,5. Tale percorso può essere enfatizzato oltre che dall'investimento anche da una diversa spazatura tra le piante per rendere meno forte la competizione per la luce. Una delle soluzioni attuabili potrebbe essere l'adozione di file binate (20-25 cm sulla bina e 50-55 cm tra le bine) con disposizione falsata delle piante, oppure la formazione di un interfila di 40-45 cm.

Da alcune prove fatte per valutare i benefici dell'alta densità di semina, nel biennio 2010-2011 realizzate in diverse località della provincia di Torino, sono emersi diversi dati:

- Le piante seminate con alti investimenti e interfila di 45 cm hanno evidenziato un aumento dell'altezza della pianta (+5%), dell'altezza d'inserzione della spiga (+6%) rispetto alla densità tradizionale; ma anche una riduzione della dimensione dello stocco (-10%), aumentando si conseguenza il potenziale rischio di allettamento. Le piante, inoltre, a fine maturazione presentano una minor intensità di verde fogliare, dovuta alla ripartizione di nutrienti a un numero maggiore di elementi (-5%). Ricapitolando, l'aumento del 17% della

produttività non dipende dai risultati del singolo ma dall'insieme delle coltura, infatti le singole spighe prelevate sono apparse più corte (-9%) e con un minor numero di cariossidi (-7%) rispetto agli investimenti tradizionali.

- Dal punto di vista qualitativo, con il maggior investimento la granella risulta avere un peso inferiore e un'umidità più alta. Riguardo i risultati delle prove questo parametro non ha influito in modo particolarmente negativo perché la stagione ha avuto un decorso favorevole, ma in annate più fresche la questione umidità diventa problematica. La questione più importante però è la contaminazione da micotossine: aumentando la densità di semina è aumentato dal 15 al 18% la presenza di Fumonisine e DON, a causa del lento dry down (essiccamento della pianta) per gli elevati investimenti colturali.

In conclusione, le potenzialità di un mais ad alta densità di semina sono riscontrate se ad essa possono essere abbinata attente pratiche di fertilizzazione, irrigazione e difesa della coltura. Eliminando gli stress da competizione per i nutrienti e l'acqua, per la presenza di insetti fitofagi e patogeni possiamo ottenere ottimi risultati sia dal punto di vista quantitativo (18t/ha) che qualitativo. Nel caso contrario, che queste condizioni vengano a mancare l'adozione di elevati investimenti è da considerare rischiosa, se non addirittura deleteria; quindi meglio non superare le 7-7,5 piante/m².

2.1.6 LOTTA ALLE INFESTANTI

La pulizia in campo permette di ridurre la competizione che nascerebbe tra la coltura e la malerba, per acqua ed elementi nutritivi. Ciò può causare alla pianta uno stress tale da ridurre le difese, rendendola una preda facile per gli attacchi fungini. Il mais è una coltura che non tollera la competizione delle malerbe, specialmente nei primi 60 giorni di vita, cioè fino alla fase di 10-12 foglie. Questo problema, inoltre, viene enfatizzato dall'epoca di semina anticipata, perché si rischia di esporre la coltura a nuove infestanti a germinazione di fine inverno-inizio primavera come le Poligonacee (fallopia, persicaria, aviculare), allungando il periodo critico fino ad 80 giorni. Il mais in questa fase può subire danni non più recuperabili.

Diserbo

Il diserbo del mais è tutt'oggi incentrato su interventi di pre-emergenza ad eccezione dei terreni torbosi dove conviene effettuare il trattamento al post. Il pre-emergenza in molti casi risulta sufficiente per il controllo delle infestanti durante tutto il ciclo colturale e abbinato alla sarchiatura, previene le infestazioni anticipate e consente di affrontare anche le infestazioni più complesse. Nelle situazioni più difficili, come può essere il caso delle perenni (stoppione, vilucchio, sorghetta da rizoma ed equiseti), si andrà poi a completare il lavoro in post con dosaggi adeguati alla diversa epoca di semina. Nella maggior parte dei terreni la strategia migliore risulta effettuare trattamenti erbicidi subito dopo la semina fino a coltura emersa con prodotti ad azione residuale, purché le infestanti siano all'inizio della loro crescita. I fattori positivi di questa tecnica sono:

1. Eliminazione della competizione nelle fasi iniziali dello sviluppo del mais, che abbiamo riscontrato essere le più problematiche.
2. Utilizzo di miscele efficaci sulla maggior parte delle infestanti graminacee e dicotiledoni.
3. Costi più contenuti rispetto ai trattamenti in post-emergenza che riguardano sia i prodotti sia la manodopera e il gasolio.
4. Utilizzo di terbutilazina, una delle molecole più forti per il controllo delle Poligonacee, la quale viene distribuita preferibilmente su terreno umido. L'unico accorgimento per questo tipo di prodotto è la possibile fitotossicità causata dagli effetti residuali sulla coltura che segue, quindi è opportuno rispettare le dosi e le modalità di applicazione scrupolosamente.

Insieme al trattamento erbicida è consigliato effettuare una sarchiatura nell'interfila e come atto preventivo fare attenzione all'avvicendamento, perché se il mais è piantato in monosuccessione potrebbero sorgere dei problemi dovuti alla resistenza che le infestanti acquisiscono verso i prodotti utilizzati.

2.1.7 CONTROLLO DEGLI INSETTI FITOFAGI

L'assenza d'insetti fitofagi nel mais limita la diffusione delle micotossine: le gallerie scavate dalle larve di alcuni insetti creano una via d'accesso per l'infezione e fungono altresì da vettore dell'infezione stessa; in particolare è stato rilevato l'effetto dell'attacco della larva di *Ostrinia nubilalis* (Piralide).

Ciclo biologico

La piralide è un lepidottero polifago, la cui larva si nutre di molte specie erbacee, ma il suo bersaglio principale è la pianta di mais.

La larva misura circa 20-25 mm di lunghezza, presenta una livrea di colore giallo o nocciola, con bande longitudinali tendenti al verde e file di tubercoli scuri come il capo e il protorace.

La piralide sverna come larva matura dentro ai tutoli ed al culmo, soprattutto nella parte basale, dopodiché in primavera forma la crisalide. Gli adulti compaiono nell'ultimo periodo di maggio (in regioni più calde la comparsa è anticipata) e lo sfarfallamento si protrae fino a luglio.

Gli adulti sono farfalle di medie dimensioni (25-30 mm di apertura alare), i maschi sono più piccoli delle femmine e possiamo distinguerli anche dal colore delle ali: le ali anteriori sono giallastre con variegature più scure nel maschio mentre quelle posteriori sono color crema e nelle femmine assumono una tonalità più chiara.

Le femmine depongono le uova (circa una decina) in ovature biancastre a placca, sui culmi o sul lato inferiore delle foglie. I piccoli (prima generazione) attaccano le foglie ed entrano nel culmo, qui raggiungeranno la maturità e formeranno con la bella stagione la crisalide. Gli adulti (secondo volo) sfarfallano da metà luglio ai primi di settembre, deponendo sulle brattee della spiga. I nuovi nati (seconda generazione) attaccano le spighe e si concentrano sul rodere le cariossidi, solo successivamente entreranno nel culmo per svernare.

La Piralide, presente nelle nostre zone può avere due generazioni (bivoltina) oppure solo una (monovoltina).

Danni

I danni che la pianta subisce da parte della piralide sono di diverso tipo:

- Il danno fisiologico è dovuto alle gallerie scavate nello stocco e nel peduncolo che limitano il trasporto di acqua e sostanze nutritive; le spighe della piante sono più leggere e la granella ha un peso specifico più basso.
- Il danno meccanico è la stroncatura dei fusti indeboliti al loro interno a seguito delle gallerie scavate dalle larve, l'abbattimento dei pennacchi fiorali e la disarticolazione delle spighe che possono cadere in fase di raccolta.
- Il danno qualitativo riguarda la granella, la quale rotta dall'erosione delle larve favorisce l'entrata e lo sviluppo dei funghi potenziali produttori di micotossine al suo interno.

Da rilevazioni fatte, si evince che, la piralide stessa è la principale responsabile dell'elevata presenza di fumonisine nel mais in Nord Italia e il suo controllo pertanto è divenuto un punto chiave per la produzione di granella a bassa contaminazione. A conferma del ruolo svolto dalla piralide nel favorire la contaminazione da fumonisine si è confrontato il contenuto di questa micotossina nella granella della parte apicale, mediale e basale della spiga. Con naturale infestazione da piralide la granella della porzione apicale, maggiormente interessata dall'attività trofica delle larve dell'insetto, presenta un contenuto in fumonisine, sia alla maturazione cerosa sia a quella commerciale, molto superiore a quello riscontrato in quella mediale e basale. Al contrario, in assenza di danni causati dall'insetto la contaminazione risulta più simile nelle diverse porzioni della spiga. Per quanto riguarda le aflatossine invece non sono stati riscontrati eventi che possano accumulare l'azione della piralide con la presenza di queste sostanze.

Per ridurre i danni ed evitare questa determinata via di infezione occorre intervenire su due fronti: limitare lo stress della pianta, rendendola meno suscettibile all'attacco, e diminuire la popolazione infestante.

- La strategia rientra negli interventi di lotta preventiva o indiretta, quindi si tratta di sfasare il ciclo della pianta rispetto a quello dell'insetto, ovvero di non fare coincidere il

periodo critico della pianta all'attacco (maturazione lattea) con il momento di maggiore capacità trofica delle larve (terzo e quarto stadio larvale della seconda generazione). A questo punto, sapendo che il terzo e quarto stadio larvale sono solitamente presenti in agosto, si anticipa la maturazione lattea in modo tale che la pianta giunga ad agosto a maturazione cerosa avanzata e sia di conseguenza più resistente.

Nel caso di semina in primo raccolto è consigliato adottare semine tempestive appena la temperatura del suolo lo permette (10-12°C costanti) e piani di concimazione abbinati alla lavorazione dell'interfila, favorendo la crescita della coltura e il superamento delle cosiddette fasi critiche di insediamento. Una concimazione fosfo-azotata localizzata in post emergenza con una prima distribuzione di concime azotato in copertura e infine una distribuzione di concimi fogliari a pronto impiego (zinco e azoto), abbinati a una sarchiatura precoce completano il tutto.

- Per ridurre la popolazione infestante diventa necessario prevedere l'impiego di un insetticida dal momento che la lotta biologica mediante limitatori naturali (*Tricogramma maydis* e *Bacillus thuringiensis*) o la confusione sessuale non hanno ancora dato risultati soddisfacenti. Il *Tricogramma maydis* è un imenottero antagonista della piralide, impiegato per la prima volta in Germania nel 1980. Il metodo di utilizzo prevede la dispersione delle uova contenute in capsule a mano nei campi, appena viene catturato un esemplare di piralide nelle trappole. In una capsula vi sono circa 500 uova e in un ettaro vengono distribuite 200 capsule. Dopo lo sfarfallamento gli adulti si accoppiano e le femmine andranno a deporre le uova su quelle di piralide. I limiti di questo metodo sono la forte pioggia, il sole e le temperature alte, perché causano sterilità al maschio e diminuiscono la percentuale di schiusa delle uova, e il tempo perché se si perde la sincronia si riduce l'effetto fitofago. Il *Bacillus thuringiensis* è un ibrido di mais i cui geni codificano per proteine insetticide e quando le larve iniziano a nutrirsi gli enzimi digestivi degli insetti attivano la forma tossica della proteina. Essa legandosi a livello intestinale distrugge le cellule e come prima reazione la larva smette di nutrirsi e dopo due-tre giorni muore. Puntando sul trattamento, per aumentarne l'efficacia dobbiamo prestare attenzione a tre aspetti:

1. La lotta chimica inizia alla comparsa delle larve di prima generazione anticipando la loro entrata nel culmo e i trattamenti vanno ripetuti ancora contro le larve di seconda

generazione solo se necessario. I criteri da seguire riguardano la lotta guidata e integrata:

trappole sessuali di monitoraggio (feromone Z o E-11-tetradecenyl acetato), le quali catturano i maschi e forniscono indicazioni indirette sulle femmine fecondate. La difficoltà maggiore è correlare con certezza l'andamento delle catture con la presenza di ovature e larve. Le trappole luminose invece sfruttano la tendenza degli adulti a muoversi verso le fonti di luce durante la notte, come inconveniente si ha la perdita di tempo per analizzare le specie catturate e definire il rapporto maschi/femmine.

2. Adottare insetticidi piretroidi a maggior persistenza in miscela con insetticidi pirazoli da introdurre dopo la fioritura ed in presenza di ovideposizione.
3. Bagnare accuratamente e in profondità la pianta adottando grandi volumi d'acqua (400 L/ha) con corrette velocità di avanzamento (irrigazione a pioggia).

Macchine per la distribuzione dell' insetticida

La difficoltà che possiamo riscontrare al momento dell'intervento con gli insetticidi riguarda il rapporto tra il ciclo biologico della piralide e l'altezza della pianta. Il mais è già troppo alto quando le larve sono alla seconda terza generazione e si deve trattare, precludendo l'utilizzo di trattori normali e obbligando l'impiego di mezzi in grado di operare dall'esterno dell'appezzamento, oppure di irroratrici a elevata luce libera (scavallatrici) note anche come macchine a trampolo.

- La prima soluzione consiste nell'uso di macchine ad aeroconvezione, chiamate anche cannoni, economiche e dotate di grande capacità operativa, sono però accusate di scarsa uniformità di bagnatura e di eccessiva dispersione per deriva del fitofarmaco.
- Le irroratrici a trampolo sono macchine semoventi destinate a grandi superfici, possono avere una barra lunga dai 16 ai 24 metri effettuando un trattamento efficace e senza essere soggette a dispersione di prodotto fitosanitario.

La loro peculiarità consiste nell' avere una luce libera da terra elevata (150-200 a 250-300 cm) quindi poter operare su culture ad forte sviluppo vegetativo in altezza come il mais,

inoltre possono modificare ampiezza di carreggiata e larghezza delle gomme in modo tale da adattarsi a diverse misure dell'interfila.

La trazione è su tutte e quattro le ruote come pure la sterzata, consentendo la possibilità di fare diverse manovre a seconda se si è in campo o in strada.

La distribuzione avviene tramite diversi possibili sistemi:

1. Il sistema DPC è presente ormai solo nelle irroratrici più economiche, perché consiste nella distribuzione del prodotto a pressione costante, obbligando l'operatore a mantenere una velocità di lavoro regolare.
2. Il sistema DPM si è diffuso in quanto le modalità di distribuzione è di tipo proporzionale al regime di rotazione del motore. La pressione dipende dall'otturatore (valvola) che mantiene una posizione fissa e la portata fornita dalla pompa viene ripartita in modo proporzionale tra gli ugelli e il ritorno. Siccome questo sistema è basato sul regime del motore presenta dei limiti perché non tiene conto di eventuali slittamenti nel terreno che modificano la velocità di avanzamento ma non comportano variazioni sul regime del motore
3. Il sistema DPA significa distribuzione proporzionale all'avanzamento e assicura la costanza della distribuzione grazie a una serie di sensori controllati con un computer di bordo. In questo modo, essendo la regolazione del distributore collegata in tempo reale alla velocità di avanzamento sulla base del dato di portata istantanea è assicurata l'uniformità di distribuzione trasversale in tutte le condizioni.



Figura 19 Trampolo durante il trattamento per la Piralide

2.1.8 FERTILIZZAZIONE

Una corretta gestione della fertilizzazione per una coltura, in particolare una coltura esigente come il mais è molto importante, sia per la produttività della pianta sia per evitare quegli stress che possono favorire la proliferazione delle micotossine.

Come sappiamo i terreni non sono tutti uguali anzi, ognuno ha una dotazione e un fabbisogno di nutrienti specifica, ma grazie al metodo del bilancio previsto dai disciplinari di produzione integrata possiamo definire quante unità fertilizzanti sono necessarie distribuire. Questo metodo ci consente di individuare un piano di concimazione calcolato sulla base dei fabbisogni nutrizionali, della dotazione del terreno, valutata attraverso l'analisi fisico-chimica e di altri importanti parametri agronomici e climatici (es. precessione, resa presumibile in granella, entità delle precipitazioni). Gli elementi che andiamo ad apportare sono in primis azoto e poi fosforo e potassio; l'assorbimento di questi elementi è basso all'inizio del ciclo ma aumenta durante la levata e raggiunge il massimo in corrispondenza della fioritura. Precisamente il periodo che va da 20 giorni prima della fioritura a 20 giorni dopo è quello in cui si concentra il maggior assorbimento di sostanze nutritive. La somministrazione può avvenire tramite fertilizzazione organica o concimazione chimica.

Fertilizzazione organica

Il mais come molte colture di rinnovo ha ottime capacità di utilizzare ammendanti organici, i quali presentano nutrienti in grado di esaltare la fertilità del terreno migliorandone le caratteristiche fisiche e biologiche. Il letame va distribuito prima dell'aratura e grazie a questa viene incorporato al terreno; il liquame invece può essere distribuito anche durante il ciclo biologico della pianta (in sostituzione alle concimazioni di copertura). Come quantitativi di letame possiamo arrivare a 30-40 t/ha ed eventualmente aggiungere 20-30 t/ha di liquame.

Concimazione chimica

Azoto

L'elemento a cui prestare maggior attenzione per quanto riguarda il mais è l'azoto, una carenza di questo componente può causare sulla pianta un limitato sviluppo vegetativo e di

conseguenza una produzione al di sotto della media. Una dose di 200-250 kg/ ha è sufficiente per sostenere una produzione medio-elevata, circa 1/3 viene distribuito alla semina e il rimanente in copertura, solitamente a inizio levata. Nonostante il massimo assorbimento di azoto avvenga più tardi, tra la fine della levata e il riempimento delle cariossidi, la distribuzione non sempre può essere fatta in queste fasi a causa dell' altezza della coltura.

Il concime più idoneo e utilizzato è l'urea (46% N), apportata in copertura anche in concomitanza con la sarchiatura (utile per interrare il prodotto ed evitarne la dispersione).

La relazione tra azoto e micotossine è evidente, difatti una quantità superiore alle dosi definite ideali per il mais possono incrementare sensibilmente la contaminazione da fumonisine.

Le fumonisine aumentano a causa di un microclima favorevole per i funghi produttori (*Fusarium verticilloides*) come la minore circolazione dell'aria per le piante eccessivamente vigorose ed il mantenimento di alti livelli di umidità. Piante con eccessivi apporti di azoto crescono in maniera spropositata riducendo il passaggio di aria e luce all'interno della coltura, aumentandone lo stress e rendendole deboli di fronte agli attacchi. D'altro canto però anche una carenza di azoto causa danni perché piante troppo piccole e deboli non riescono ad affrontare eventuali periodi "difficili" (scarse piogge, clima troppo caldo) a cui possono andare incontro.

Lo zearalenone infatti trova "via libera" per la sua diffusione quando le quantità di N sono troppo basse, mentre le aflatossine aggrediscono con maggior facilità il mais se la concimazione è addirittura assente. Di conseguenza la difficoltà più grande diventa il definire con cura e precisione l'apporto necessario per questa coltura e il tipo di terreno che la ospita.

Fosforo

Andando in ordine di importanza il fosforo si trova al secondo posto come elemento da distribuire al mais, ma dobbiamo come prima cosa tener conto della dotazione naturale del terreno. Se il terreno è scarsamente dotato si devono distribuire almeno 70-90 kg/ha di P₂O₅ localizzato durante la semina o 100-120 kg/ha distribuiti prima della semina e incorporati con l'erpicatura. L'effetto positivo del fosforo lo vediamo durante le prime fasi di crescita della coltura soprattutto se in andamento stagionale freddo. La scarsa disponibilità di fosforo si manifesta con sintomi sulle piante più giovani, le quali

presentano forti arrossamenti sulle foglie e si trovano ad avere difese più basse per reagire ad eventuali attacchi.

Potassio

Il potassio è l'ultimo degli elementi considerati perché nella maggior parte dei terreni italiani se ne trova già in dotazione, ma nel caso non fosse così si consiglia di apportare 60-80 kg/ha di K₂O se il mais viene prodotto per granella mentre ne servono fino a 200 kg/ha per il trinciato. Il mais da foraggio asporta una quantità di potassio più elevata rispetto a quello da granella, quindi ha bisogno di apporti maggiori, in modo tale da evitare l'impoverimento del terreno.

La relazione tra micotossine e potassio non è ancora ben definita, infatti non è stata riscontrata alcuna influenza da parte di questo elemento; ovviamente è sempre meglio evitarne la carenza.

Il metodo del bilancio previsto dai disciplinari di produzione integrata si conferma uno strumento di previsione molto utile per supportare tecnici e agricoltori nella definizione della dose di fertilizzanti da somministrare e risulta un buon compromesso per conciliare gli aspetti prettamente produttivi della coltura con quelli sanitari della granella e quelli ambientali.

2.1.9 IRRIGAZIONE

La disponibilità idrica nei nostri ambienti non sempre è sufficiente per una coltura come il mais che necessita di 5000-6000 m³/ha di acqua. Un terreno con buona capacità idrica riesce a fornire metà del fabbisogno, mentre la parte rimanente dovrebbe fornirla le piogge, ma se ciò non bastasse l'irrigazione diventa l'unico intervento possibile. Le richieste di acqua iniziano dalle prime fasi di crescita fino all'emissione dell'infiorescenza maschile, diminuendo leggermente nelle fasi successive. Molto importante è evitare lo stress idrico nel periodo che intercorre tra la pre-fioritura e la fecondazione (imbrunimento delle setole) perché se prendiamo come riferimento un ibrido a ciclo medio il periodo a rischio corrisponde al mese di luglio quando l'evapotraspirazione è massima e le piogge rare. Se non fosse possibile un intervento irriguo continuo si possono identificare tre momenti in cui agire con irrigazione di soccorso:

1. Pre-fioritura cioè prima dell'emissione del pennacchio, in modo tale da aumentare il numero di fiori per spiga.
2. Due settimane dopo l'inizio della fioritura femminile, in modo tale da assicurare una completa allegazione
3. Poco prima della maturazione lattea, per incrementare il peso delle cariossidi

Il volume irriguo (quantità d'acqua apportata ad ogni irrigazione) si può calcolare basandosi anche sull'utilizzo di particolari tabelle, le quali comprendono le % di argilla e sabbia presenti nel terreno con abbinati i mm di acqua da apportare in relazione ad esse.

Il turno di irrigazione ottimale, ovvero l'intervallo tra due irrigazioni in assenza di piogge è di circa 10-14 giorni, tenendo conto della temperatura stagionale e della tessitura del terreno.

Metodi di irrigazione

Quando si parla di sistemi d'irrigazione si intende le modalità con cui viene distribuita l'acqua nel terreno. La scelta di un metodo rispetto ad un altro dipende da svariati fattori: innanzitutto la disponibilità idrica, morfologia e composizione del terreno, il clima e il tipo di coltura. Nei terreni a medio impasto, piani e dove l'acqua è abbondante l'irrigazione più consigliata è per scorrimento o per infiltrazione da solchi, mentre se il terreno è argilloso, in pendenza e con scarse quantità di acqua la giusta scelta ricade sulla modalità a pioggia. Per una coltura come il mais i metodi più utilizzati sono due:

- Il metodo per aspersione (o a pioggia) prevede l'erogazione di acqua simulando una pioggia grazie a delle idonee apparecchiature. Tali apparecchiature sono cannoni a media o lunga gittata disposti con un avanzamento a seconda del grado di sovrapposizione che si vuole ottenere.

Un fattore limitante per questo sistema può essere il vento che condiziona la traiettoria del getto stesso ma ha anche dei lati positivi come una buona efficienza perché non provoca perdite per scorrimento o percolazione profonda.

- La microirrigazione o irrigazione a manichetta prevede l'erogazione dell' acqua tramite gocciolatori a basse pressioni. I gocciolatori hanno la caratteristica di essere autocompensanti cioè all'aumentare della pressione mantengono la portata costante.

I pregi che possiamo osservare sono il risparmio idrico, di manodopera ed eventualmente la possibilità di usare questi mezzi per la fertirrigazione. Di contro il sistema richiede la presenza di filtri più o meno spinti per evitare intasamenti visto che gli erogatori sono di piccole dimensioni.

Irrigazione e micotossine

L'irrigazione è ritenuta una delle tecniche colturali più importanti per il controllo delle micotossine del mais, l'andamento climatico è difatti il primo fattore sotto accusa per gli stress causati alla pianta e lo stress idrico è uno dei più gravi.

Da una prova effettuata dal Consorzio per il Canale emiliano-romagnolo, tenendo conto dell'aspetto qualitativo del prodotto, è stata pertanto valutata la presenza di micotossine indotta da differenti livelli di restituzione di evapotraspirazione alla coltura (ETm) e dall'epoca di sospensione delle irrigazioni. Nei testimoni irrigati l'aumento di produttività è circa del 20-30% ma ciò non compensa le spese causate dalla distribuzione prolungata di acqua e dell' essiccazione nel post-raccolta. Le rilevazioni fatte sono due e contrastanti una con l'altra:

1. Il genere *Aspergillus* agente delle aflatossine si manifesta in campo a causa dello stress idrico successivo alla maturazione cerosa della granella, perciò la soluzione più ovvia diventerebbe allungare il periodo d'irrigazione fino a fase avanzata della coltura. Questa premessa però non tiene conto dei costi che un'umidità superiore della granella comporta per l'essiccazione e la conservazione dopo la raccolta. Un giusto compromesso lo si può attuare utilizzando ibridi maggiormente resistenti alla siccità, anticipando l'epoca di semina e nell'eventualità che la stagione si presenti particolarmente calda e asciutta irrigare anche a fine ciclo.
2. Il genere *Fusarium* compare nelle annate fresche e piovose attribuendo all'acqua il problema opposto, quello di essere in eccesso. Tossine come ZEA, DON e fumonisine si sviluppano in modo maggiore sulla cultura irrigata, soprattutto se l'irrigazione si protrae fino a maturazione cerosa. Inoltre modalità di irrigazione come quella ad aspersione crea

un "dilavamento" tale da eliminare le larve di piralide che sono il primo fattore di contaminazione per le fumonisine stesse.

Ricapitolando è importante evitare stress idrici in annate calde e secche, quando è alto il rischio di aflatossine e al contempo limitare eccessivi volumi irrigui in annate più piovose per contenere l'insorgenza di fumonisine. Rimangono quindi valide le tecniche tradizionali irrigue a cui vengono portate delle piccole modifiche: la restituzione dei consumi deve avvenire ma in modo parziale con termine alla maturazione lattea e l'impiego del metodo a pioggia rimane il più consigliato.

2.2 FASE DI RACCOLTA

La raccolta è una delle fasi più problematiche per l'integrità e la qualità del prodotto finale: i funghi dopo la fase in campo se sono presenti le condizioni ottimali continuano la loro produzione. I fattori di cui tener conto sono: la modalità di utilizzo della coltura (granella, insilato o pastone integrale), il momento della raccolta (umidità) e i mezzi utilizzati.

2.2.1 EPOCA DI RACCOLTA

Granella

Dopo 10-15 giorni dalla maturazione fisiologica della pianta cioè quando cessa l'accumulo di sostanze nutritive e la granella inizia a perdere umidità avviene la raccolta. L'intervallo di umidità ottimale è tra il 22 e il 26% o aumenterebbero i costi di essiccazione. In questo modo evitiamo perdite, per caduta delle spighe o rottura delle cariossidi. Nelle zone fertili e irrigue le rese sono elevate, arrivano anche a 10-14 t/ha, mentre dove non è possibile irrigare la resa varia a seconda dell'andamento pluviometrico. Cinque sono i fattori che influenzano la resa finale della coltura:

1. La densità ottimale di piante per m² è raggiungibile definendo in primo luogo la quantità di semi dell'ibrido scelto e facendo attenzione alla germinabilità del seme

stesso. La cura nella preparazione del letto di semina e nella profondità della semina stessa garantiscono un buon punto di partenza per l'emergenza e la crescita della pianta.

2. Per ottenere un elevato numero di ranghi per spiga bisogna tener conto della fase in cui la piantina ha 8-10 foglie, cioè quando si differenzia l' infiorescenza femminile. La formazione di più file di carioidi dipende dalle sostanze nutritive che la pianta ha a disposizione perciò in questo momento si può intervenire con la concimazione azotata.
3. La lunghezza della spiga inizia a delinearsi dieci giorni prima dell'immissione del pennacchio, questa è la fase in cui l'acqua non può mancare. La carenza idrica potrebbe causare una diminuzione del numero di carioidi per rango, riducendo la lunghezza della pannocchia e abbassando la produzione finale.
4. La fecondazione dipende dalla contemporaneità della fioritura maschile e femminile; un clima caldo con deficienze idriche potrebbe influire negativamente sulla completa fecondazione danneggiando la produzione.
5. Il peso delle carioidi è determinato durante la fase di riempimento, che va dalla formazione dell'embrione alla maturazione fisiologica. In questo momento sono fondamentali la funzionalità fotosintetizzante dell'apparato fogliare e la capacità di trasferimento delle sostanze nutritive dal culmo e dalle foglie alle carioidi. Anche in questo caso una disponibilità idrica adeguata permette la funzionalità delle foglie e funge da veicolo per le sostanze in trasloco verso la granella.

La raccolta del mais da granella per evitare la formazione di micotossine deve avvenire ad umidità non inferiori a 22-24%. In questo modo, se ci troviamo in annate particolarmente calde riduciamo il rischio aflatossine. La formazione di aflatossine è favorita in campo da temperature elevate (massima giornaliera superiore a 30°C) nel periodo compreso tra la maturazione fisiologica della granella e la raccolta e dall'umidità della granella stessa. Di conseguenza valori di umidità inferiori al 20% sono da considerarsi ad alto rischio. D'altro canto la raccolta anticipata della granella consente di ridurre anche la contaminazione da fumonisine che, negli ibridi più tardivi (classi FAO 600 e oltre) può raggiungere livelli

elevati, in particolare nelle annate caratterizzate da periodi di stress idrico e altri a decorso umido, soprattutto in prossimità della raccolta.

E' preferibile effettuare delle trebbiature tempestive così che anche la granella alla consegna avrà un' umidità più alta e dovranno esserci spese maggiori di essiccazione; potremo in compenso ridurre il tempo per i funghi tossigeni di svilupparsi, ma soprattutto di produrre le tossine.

Silomais

Il silomais ideale si ottiene dalla trinciatura dell'intera pianta di mais raccolta a maturazione cerosa con falcia-trincia caricatrice, cioè quando presenta un:

1. Un contenuto di sostanza secca superiore al 30% (ottimale 32-35%). Se il mais è ad uno stadio più avanzato la massa trinciata offre troppa resistenza alla compressione.
2. L'altezza di taglio di almeno 35 cm, perché la parte dello stocco più vicina al terreno è particolarmente fibrosa, ricca di nitrati e rischierebbe di portare terra all' interno del prodotto.
3. La lunghezza di taglio per un' insilato di buona qualità deve avere una lunghezza di teorica di trinciatura (LTT) preferibilmente maggiore ai 19 mm. Tagli corti (4-5 mm) vengono effettuati per trinciature a stadi di maturazione avanzati, mentre in caso di piante raccolte in fase latte si consigliano lunghezze di taglio superiori (20-21 mm).

Grazie alle modificazioni di velocità dei rulli all'interno della trincia possiamo variare le lunghezze di trinciatura adattandoci allo stadio di maturazione della pianta.

4. La granella frantumata dovrebbe essere presente in quantità non inferiori al 50% con valori ottimali attorno al 70%.

Il momento ottimale per questa operazione lo possiamo individuare osservando le piante: le brattee e le foglie sotto la spiga cominciano a ingiallire, la granella è lucida, con dentatura pronunciata e si può ancora incidere con un unghia. A questo stadio la sostanza secca della pianta intera ha valori compresi tra il 33 e il 38%, con umidità del 40-50%. A queste condizioni e con la stagione favorevole, le produzioni medie di tranciato sono di 40-

70 t/ha. La trinciatura tempestiva intorno al 35% di sostanza secca dell'intera massa da insilare è un requisito per condizioni di basso rischio di contaminazione da micotossine. L'epoca di raccolta assume un'importanza maggiore rispetto alla modalità, studi condotti nel Wisconsin (Rankine Grau, 2002) indicano che ritardare la raccolta dell'insilato di mais aumenta il rischio da micotossine (zearalenone, fumonisina e DON), per il crearsi di condizioni ottimali allo sviluppo dei Fusarium. Innanzitutto l'andamento climatico, cioè una stagione piovosa nei periodi di settembre e ottobre (raccolta) aumenta la presenza di ZEA rispetto a quando questi mesi sono asciutti o se la raccolta viene eseguita prima; inoltre vi è un'elevata escursione termica tra il giorno e la notte (tra 7 e 24 °C) e l'invecchiamento dei tessuti della pianta dovuti alla maturazione prolungata. Le fumonisine invece non subiscono una grandissima variazione in relazione al periodo di raccolta mentre l'aflatossina B1 ha mostrato una lievissima tendenza alla diminuzione con l'avanzare della stagione. Maggiori contenuti di aflatossina nei mais raccolti a fine agosto possono essere spiegati dal fatto che l'infezione del mais da *Aspergillus flavus* avviene attraverso le setole della pannocchia quando le temperature, incluse quelle notturne, sono alte e associate a stress idrici (Betrán e Isakeit, 2002). Questo significa che un mais che fiorisce con condizioni ambientali di stress è più a rischio, mentre un mais seminato dalla terza decade di maggio in avanti potrebbe avere meno probabilità di subire stress idrici associati a picchi di calore nella fase della fioritura.

Pastone di granella e di pannocchia

Un buon pastone di granella inizia con la scelta dell'ibrido: elevata produzione di granella e perdita di umidità alla raccolta non troppo veloce. La scelta del momento della raccolta deve essere fatta monitorando l'umidità della granella, in entrambi i casi si può iniziare quando l'umidità varia fra il 35 ed il 40%. Nel caso di pastone di sola granella, è meglio orientarsi verso un prodotto più asciutto, in modo che durante la trebbiatura non si verificano troppe rotture dei chicchi. Questo fenomeno infatti, oltre a ridurre la quantità di prodotto, ne riduce anche la qualità: al tutolo resta attaccato il germe, ricco sia in grassi, sia in proteine. Una volta trebbiata, la granella deve essere immediatamente macinata e subito dopo insilata; per velocizzare l'insilamento, la macinatura deve essere fatta in prossimità del silo e su una superficie pulita, così da non imbrattare con terra il prodotto (fonte di clostridi). Per quanto riguarda il pastone di pannocchia invece le differenze riguardano il

fatto che le pannocchie sono raccolte intere con la raccogliatrice-sfogliatrice, dopodiché vengono anch'esse macinate e insilate.

2.2.2 MACCHINE PER LA RACCOLTA

- La maggior parte dei modelli di mietitrebbiatrici presenti sul mercato europeo sono dotate di modulo di trebbiatura convenzionale, cioè costituito da un battitore e un contro battitore trasversali rispetto al flusso del prodotto in entrata. La rotazione del primo rispetto al secondo ha lo scopo di effettuare la trebbiatura, il contenuto poi viene inviato al sistema di pulizia e la paglia con la granella rimanente si dirige allo scuotipaglia per la separazione. Lunghezza, numero e inclinazione dello scuotipaglia condizionano l'efficacia di separazione, più precisamente definisce lo stato con cui arriva la granella al luogo di conservazione.

Una macchina di tipo convenzionale perché esegua una corretta operazione di raccolta deve:

1. Essere ben regolata, cioè lavorare con una bassa velocità di avanzamento e del battitore, in modo tale da effettuare un lavoro più preciso e meno invasivo. La delicatezza e la calma sono essenziali per evitare aggressioni così forti sulle granelle da fratturarle o addirittura frantumare, rendendole vulnerabili alle infezioni fungine.
2. L'umidità della granella deve essere sufficientemente alta in modo tale da evitare fratture della cariosside durante l'operazione.

La necessità di migliorare le performance produttive e la qualità del prodotto implicherebbero una modificazione nella struttura della macchina tale da richiedere un aumento della superficie di trebbiatura e separazione, in contrasto con l'esigenza di diminuire l'ingombro del mezzo e semplificarne la manutenzione.

- Una macchina sempre più richiesta è la mietitrebbiatrice a flusso assiale: essa realizza contemporaneamente trebbiatura e separazione mediante uno o due rotori longitudinali, suddivisi in settori dedicati ognuno a una specifica funzione.

La tipologia a un rotore presenta un elica che convoglia il prodotto alla parte posteriore del rotore e nel contempo aspira la polvere incorporata. Il prodotto ruota attorno al rotore mentre le spranghe esercitano una trebbiatura delicata e ripetuta.

Il sistema biassiale porta due rotori, i quali girano con moto contrapposto e le spranghe sgranatrici di cui sono dotati strofinano la granella e in modo dolce la staccano. L'interazione griglie- rotore consente una sgranatura e una pulizia della granella migliori dovuto all'attrito che si viene a creare. La qualità finale del prodotto a parità di condizioni esterne alla macchina risulta 3-4 volte più elevata rispetto a una mietitrebbiatrice convenzionale.

Un'azione non energica di trebbiatura, seguita da un'accurata pulitura e ventilazione della granella, possono concorrere a ridurre significativamente le cariossidi ammuffite, spezzate o fessurate.

Se confrontiamo i due modelli appena descritti possiamo arrivare alla conclusione che una trebbia a flusso assiale ci garantisce un'operazione di raccolta più delicata, precisa e indipendente dall'umidità del prodotto. Il sistema di pulizia è notevolmente migliorato rispetto a una trebbia convenzionale e permette di eliminare gran parte delle impurità dei residui vegetali e del terreno incorporati; al fine di evitare problemi nella conservazione al momento dello stoccaggio.



Figura 20 Mietitrebbiatrice assiale

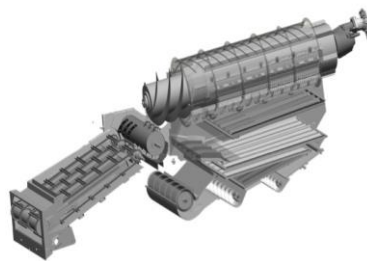


Figura 21 Particolare sul rotore della trebbia assiale



Figura 22 Mietitrebbiatrice convenzionale



Figura 23 Particolare sul funzionamento della trebbia

2.3 PREVENZIONE IN POST-RACCOLTA

Gli aspetti qualitativi della granella, negli ultimi anni, hanno assunto un'importanza crescente nell'ambito della filiera maidicola. Le cause riguardano l'accresciuta esigenza dei trasformatori e degli utilizzatori dei prodotti derivati dal mais e le normative sanitarie sempre più severe. I consumatori pretendono un prodotto alimentare sicuro, delle caratteristiche tecnologiche elevate e tutto ciò viene tradotto con una domanda nel mercato di cereali ad alta qualità. Qualità che si può realizzare grazie all'iterazione tra produttore, trebbiatore e il centro di stoccaggio/essiccazione.

2.3.1 CONSERVAZIONE DELLA GRANELLA

Trasporto

Dopo la raccolta, il prodotto deve essere prontamente trasportato al centro di stoccaggio, perciò chi si occupa del trasporto dovrà prendere accordi sulla disponibilità di deposito. E' importante non lasciare troppo all'interno di carri agricoli o di piazzali di transito il prodotto umido, perché si innescherebbero delle reazioni di fermentazione e ossidazione negative. Queste reazioni nascono dall'interazione tra l'aumento della temperatura e l'umidità elevata e causano la diffusione di alcune muffe e delle corrispettive micotossine (*Aspergillus* e aflatossine).

Il ruolo del trasportatore consiste in un'attenta pulizia del cassone utilizzato, soprattutto sotto le sponde e nei pozzetti di scarico, in modo tale che nell'eventualità siano rimasti dei residui, di contaminazione non ancora accertata, vengano eliminati. La manutenzione degli automezzi può evitare rotture e soste prolungate impreviste. Ridurre per quanto sia possibile il tempo di attesa all'interno del camion e trasportare partite omogenee in termini di umidità. Infine la copertura del cassone con un telo è indispensabile se le previsioni atmosferiche non sono delle migliori e al momento dello scarico se si tratta di granella è opportuno avere cura di non disperderla.

Controlli al ricevimento

Per quanto riguarda la granella dopo la trebbiatura è opportuno verificare l'eventuale danneggiamento (rotture e fessurazioni), le quali non devono superare il 6-7%. Grazie a un sistema di setacci e alla ventilazione vengono allontanati impurità, polveri, frammenti, rotture e parti estranee; esistono processi meccanici di vagliatura con i quali si può ottenere, in alcune tipologie di prodotti, degli ottimi risultati riguardo la presenza delle tossine. I controlli continuano, eliminando le cariossidi scure dovute ad alterazioni biologiche: cariossidi avariate da fermentazione od ammuffite, che alla sezione presentano una marcata colorazione grigiastra, nera o verdastra, germinate o gravemente attaccate da parassiti, prevedendo nei casi più gravi di effettuare una segregazione della massa.

Se la granella proviene da un più prolungato periodo di stoccaggio si deve effettuare oltre ai controlli standard anche un controllo entomologico, in modo da valutare la necessità di un trattamento insetticida se risultasse particolarmente contaminata.

L'umidità della granella non deve essere inferiore al 20%, perché valori più bassi sono considerati ad elevato rischio per l'accumulo delle aflatossine, soprattutto in annate con andamento stagionale caldo e asciutto. Per questo motivo si consiglia di raccogliere con umidità non inferiore al 22-24% e limitare al massimo la permanenza in cumulo della granella umida, procedendo in tempi rapidi alla sua essiccazione. Il limite massimo è di 24 ore riguardo la permanenza della granella umida in cumulo quando questa presenta una temperatura superiore a 26-28 °C e a un massimo di 48 ore con temperature più basse. Si consiglia di trattare con propionato di sodio (0,3-0,4% in peso rispetto alla massa di granella) nel caso di permanenza in cumulo superiore alle 48 ore e con temperature della massa maggiori di 26-28 °C. L'impiego di acido propionico o di miscele di questo con acido acetico consente una buona miscelazione, ma comporta successive difficoltà di manipolazione e problemi di corrosione, quindi meglio evitare di aver bisogno di questo genere di trattamento. Inoltre pratiche come conservare il mais in pannocchie non essiccate all'interno di cassoni di rete (cassoni ungheresi), per effettuarne in seguito la sgranatura sono fortemente sconsigliate. Nell'eventualità che alcune partite di mais risultino "sospette" bisogna innanzitutto segregarle, quindi separarle dalla massa totale in modo tale che se la contaminazione è già presente non si propaghi ulteriormente e trattate a parte.

Pulitura

Il trattamento di pulitura può essere effettuato in fase di caricamento dell'essiccatoio (al verde) e/o all'uscita dal processo di essiccazione permettendo di eliminare eventuali contaminanti fisici e "corpi estranei". Preferibilmente la pulizia della granella si dovrebbe fare prima e dopo l'essiccazione, regolando i setacci e la ventilazione al fine di allontanare con decisione impurità, polveri, frammenti, rotture e parti estranee; esistono processi meccanici di vagliatura a basso costo con i quali si può abbattere, in alcune tipologie di prodotti, anche di oltre il 200% la tossina presente; principalmente aflatossine (Pavesi *et al.*,2004). Questi elementi di disturbo possono essere parti verdi (brattee, tutoli, stocchi), oppure materiali inerti quali sassi, terriccio e pezzi di plastica (accumulati durante la raccolta). Infine gli scarichi di pulitura e vagliatura vanno rapidamente allontanati dal luogo in cui si conserva il mais e vanno opportunamente segregati in apposite strutture, in modo tale da isolare e contenere la contaminazione.

Essiccazione

La corretta e tempestiva esecuzione di questa operazione è fondamentale per evitare alterazioni della granella, impedire la proliferazione dei funghi tossigeni (particolarmente aspergilli e penicilli, i quali si manifestano soprattutto nelle fasi di conservazione) e la conseguente contaminazione da micotossine (aflatossine e ocratossine). È molto importante effettuare l'essiccazione con attrezzature moderne, cioè in grado di registrare i valori di umidità finale e portare la massa a valori omogenei di umidità. Per lo stoccaggio a breve termine (≤ 3 mesi) è sufficiente portare la granella a umidità $\leq 14\%$, $\leq 12\%$ per lo stoccaggio a lungo termine (tra 3 mesi e 3 anni) e nell'eventualità che la temperatura della granella venga mantenuta sotto i 12 °C può essere considerata sufficientemente sicura per il lungo termine.

Durante l'essiccazione è necessario ridurre al minimo i danni meccanici alle cariossidi grazie a una diminuzione delle altezze di caduta e una riduzione delle movimentazioni della granella tramite elevatori o coclee metalliche; inoltre meglio evitare repentini sbalzi termici che possono comportare rotture dell'endosperma, rendendolo così più suscettibile all'infezione fungina.

Stoccaggio

I magazzini e le attrezzature per la movimentazione delle cariossidi, prima di accogliere le derrate, devono essere adeguatamente puliti, avendo cura di eliminare i residui di precedenti immagazzinamenti, asportando meccanicamente e in modo accurato tutto ciò che aderisce alle pareti e ai pavimenti. Occorre poi trattare preventivamente con insetticidi specifici, fumiganti, esche e rodenticidi:

1. Gli insetticidi (quali dichlorvos, deltametrin, fenitrothion, methylphoxin, pyrifosmethyl e pirimiphosmethyl, ecc.) dovrebbero essere vaporizzati nei punti di fuga dei sili o sulla maggior parte delle superfici di contatto con le granaglie.
2. L'uso di fumiganti (bromuro di metile, fosfina, tetracloruro di carbonio, bromuro di etilene, ecc.) è raccomandato in ambienti chiusi e dove è possibile un'omogenea diffusione del gas o un suo rapido allontanamento. L'efficacia della fumigazione è influenzata da diversi fattori quali temperatura, umidità, durata, formulazione del fumigante, dosaggio e procedura di applicazione, struttura degli ambienti di immagazzinamento e loro aerazione.
3. Per prevenire la contaminazione da funghi e/o batteri delle granaglie possono essere impiegati diversi antimicrobici quali acidi organici (sorbati, propionati, benzoati), antibiotici, erbe, spezie, oli essenziali, o antiossidanti. Tra questi i propionati presentano più sicura efficacia. Alcuni prodotti antimicrobici in commercio sono il Propcorn (99% di acido propionico di qualità alimentare) e il MycoCurb (liquido, non corrosivo, non tossico e non volatile, contenente una miscela di acidi organici quali propionico, acetico, sorbico, ecc). Il trattamento con questi antimicrobici oltre a prevenire il biodeterioramento delle granaglie, la perdita di peso secco e di valore nutritivo, aggiunge ulteriore valore energetico ai cereali trattati e ne garantisce la sicurezza d'uso per gli animali o per gli operatori del settore. Si ricorda che l'impiego di agenti antifungini a bassa tossicità deve essere considerato come un ulteriore intervento preventivo e mai come un sostituto di tutti gli altri accorgimenti quali l'umidità, la pulizia del prodotto e dei locali.

Il prodotto viene solitamente messo all'interno di silos a torre (verticali) perché quelli orizzontali risultano meno controllabili e dopo essere stato pulito prima che la granella entri, si effettua una seconda pulizia sulla carota centrale ed alla movimentazione della massa stessa. Tutte queste accortezze devono essere affiancate da un attento e frequente monitoraggio, soprattutto per quanto riguarda l'umidità e la temperatura. A tal proposito va precisato che la produzione di aflatossine è inibita totalmente alle temperature di refrigerazione, cioè quando la granella viene portata a < 20 °C; dopo i primi freddi ventilare per effettuare la refrigerazione conservativa e portare la massa a 5-8 °C.

Anche lo stoccaggio in atmosfere modificate ci può aiutare nella fase di conservazione, ambienti a basso tenore di ossigeno e alto tenore di anidride carbonica, sono in grado di prevenire la crescita fungina anche in mais molto umido.

2.3.2 CONSERVAZIONE DELL'INSILATO

Dopo la raccolta l'insilato viene posto all'interno di silos orizzontali a platea con o senza pareti di contenimento e a trincea quando sono realizzate sotto il piano campagna con pareti di contenimento. Per il silomais sono previste sempre le pavimentazione con inclinazione di 0.2-0,3% in modo che possa avvenire una corretta percolazione. La massa volumica ottimale è 300 kg ss/m^3 (700 kg t.q./m^3), con stratificazione di 150 mm e umidità della massa ideale compresa tra 63-68%.

Appena il prodotto viene depositato nel silo e opportunamente pressato si chiude con fogli addossati alle pareti quindi rovesciati sul colmo e ricoperti con un altro foglio; il tutto schiacciato da un peso uniforme di 50 kg/m^2 (sacchi o copertoni di automobili). Subito dopo l'immissione all'interno del silo il prodotto subisce un processo di acidificazione determinato dall'attività di alcuni batteri (lattici e colibatteri). Consumato l'ossigeno presente nella massa la fermentazione di natura anaerobiotica produce acido lattico e in misura inferiore acido acetico a spese di sostanze glucidiche, quali gli zuccheri. Per effetto di questi due processi l'acidità aumenta provocando una diminuzione del pH in funzione del contenuto di acqua libera presente nella massa insilata, infatti maggiore è il contenuto di sostanza secca e minore è il contenuto di acidità necessario per produrre una diminuzione del pH sufficiente a garantire la conservazione, inibendo lo sviluppo dei clostridi butirrici e proteolitici (dannosi per la conservazione). In pochi giorni da valori iniziali di pH pari a circa 7,0 si possono rilevare valori limite pari a 3,5. Un buon andamento dei processi fermentativi limita le perdite

di sostanza secca nel silo a valori prossimi all'8-10%. Inoltre se dovesse servire si possono aggiungere come additivi del propinato o dell'acido propionico a contrasto di fermentazioni scorrette.

Tutte queste fasi insieme devono essere eseguite nel modo corretto e con controlli periodici perché basta una piccola distrazione rischiare di perdere buona parte del prodotto. Le condizioni ottimali per la crescita dei funghi produttori di micotossine sono: pH 4.5-6.5 e temperatura che varia da alcuni gradi sotto lo zero a 60 °C, con valori ottimali compresi tra 20 e 35 °C. Possiamo dedurre quindi che per il controllo della crescita fungina negli insilati risultano essere l'anaerobiosi e l'essiccazione spinta, portando l' a_w (water activity) minore di 0,65 (dove i funghi cessano di vivere). Poiché l'insilato di mais è caratterizzato da valori di umidità compresi tra il 72 e il 60%, solamentela sinergia tra anaerobiosi e pH consente di inibire lo sviluppo di questi microrganismi, e di conseguenza il rischio di contaminazione con micotossine. Le aree periferiche (lati e primo strato) sono soggetti a deterioramento aerobico maggiore rispetto alle zone centrali, perciò è importante coprire bene l'insilato concentrandosi soprattutto sui punti critici e nell'eventualità si trovino parti scure o rosse (muffe) devono essere opportunamente tolte.

Studi svolti in Germania su insilati di mais (Oldenburg, 1991) evidenziano come i livelli di zearalenone, AFB1 e fumonisina B1 possano variare all'interno del silo a seconda del grado di anaerobiosi raggiunto. In insilati sigillati con cura immediatamente dopo il riempimento del silo non si registrano variazioni del contenuto di queste micotossine mentre nel caso di ritardi nella chiusura, anche di un solo giorno si verificano degli aumenti. Se addirittura si analizzano insilati in cui vengono infuse continuamente piccole dosi di ossigeno (pari a 200 mg O₂/kg s.s. per giorno), lo ZEA tende ad aumentare notevolmente, seguito dalla fumonisina B1; mentre le aflatossine non subiscono ingenti variazioni. Quest'ultimo trattamento sperimentale, apparentemente non coerente con il principio dell'insilamento, in realtà è molto importante per comprendere cosa avviene nelle aree periferiche dei silo a contatto con il film plastico. Infatti è molto difficile in condizioni pratiche avere un ambiente completamente anaerobico soprattutto nelle aree più esterne.

3. MICOTOSSINE NEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE

L'82% del mais coltivato in Italia è destinato all'alimentazione degli animali da reddito, come pianta intera, trinciato e insilato, per bovini da latte, carne e piccoli ruminanti, grazie al grande interesse nutrizionale: elevata appetibilità e buona digeribilità dei principi nutritivi. La granella di mais, invece, in diverse forme fisiche (intera, farina, fioccata, estrusa ecc.) rappresenta la fonte energetica per eccellenza delle diete nei monogastrici (suini, avicoli ecc.) e in piccola parte anche dei ruminanti. Generalmente i ruminanti sono meno suscettibili alla tossicosi rispetto ai monogastrici, grazie alle condizioni particolari che caratterizzano l'ambiente ruminale e al ruolo detossificante di alcuni microrganismi presenti. Diversi ceppi batterici sono in grado di utilizzare le micotossine per il loro metabolismo come fonte di energia, altri invece li convertono in metaboliti meno tossici per l'organismo. L'unica tossina resistente all'azione degradante dell'ambiente ruminale è la B1, la quale resiste all'attacco dei microrganismi e ne riduce sia la crescita che l'efficienza.

Le problematiche relative alla presenza delle micotossine nel mais destinato all'alimentazione zootecnica devono essere considerate da due diversi punti di vista:

1. La salute e il benessere degli animali in produzione appartenenti alle differenti specie e categorie presenti negli allevamenti.
2. La tutela dei consumatori per quanto riguarda la sicurezza nel consumo di alimenti di origine animale (nonché quella degli operatori addetti alla manipolazione dei mangimi).

3.1 MICOTOSSINE NEL LATTE:

Facendo riferimento ad altre micotossine il trasferimento dall'alimento al latte è molto più basso: le fumonisine hanno indicato un valore medio di carry over dello 0,05% con punte massime dello 0,11% che portano a livelli di concentrazione finale della micotossina nel latte molto bassi (inferiori a 5-6 µg/l). Il DON non è stato ritrovato nel latte bovino in quantità apprezzabile (<4 µg/kg) neppure somministrando dosi molto elevate (920 mg). Anche le

ocratossine non destano preoccupazione per quanto riguarda il loro trasferimento nel latte vaccino in quanto sono riscontrabili in concentrazioni quantitativamente misurabili solo con assunzioni di micotossina in quantità paria 50 mg per kg di dieta (o 1,66 mg/kg di peso vivo) inoltre, come già accennato precedentemente, prevale la forma alfa che è meno tossica rispetto alla sostanza progenitrice. Per finire con lo zearalenone non vi è nessun rischio per il consumatore riguardo ai residui nel latte.

3.1.1 AFLATOSSINA M1

L'aflatossina M1 è il metabolita 4-idrossi derivato dell'aflatossina B1, grazie all'idrossilazione del legame furofurano; il processo di idrossilazione avviene principalmente nel fegato degli animali che hanno ingerito la tossina. La sigla M1 deriva da "milk", latte, in quanto ne troviamo in quantità rilevanti proprio nel latte stesso: essa si lega alla frazione proteica del latte, viene secreta dalle ghiandole mammarie dei bovini ed è destinata inevitabilmente ad essere ingerita dall'uomo, anche perché nessun trattamento è in grado di eliminarla (risulta essere una molecola termostabile).

Per quanto la struttura chimica sia simile, la M1 rispetto alla B1 possiede una cancerogenicità epatica del 2-8% (Pietriet *al.*, 2004), nettamente inferiore alla B1 (lo IARC ha classificato questa tossina come possibile fattore cancerogeno per l'uomo, classificandola quindi come 2B).

Le aflatossine sono sostanze con basso peso molecolare e quindi vengono assorbite con una velocità maggiore dall'organismo animale; la loro rilevazione nel sangue è già possibile 5-6 minuti dopo l'ingestione di alimenti contaminati (Gallo *et al.*, 2008).L'assorbimento inizia a livello delle prime vie del digerente, ancor prima di arrivare al rumine, per questo l'AFM₁ è presente subito alla prima munta.

La concentrazione di questo metabolita nel latte tende ad aumentare nei primi 5-6 giorni, fino al raggiungimento di una concentrazione costante, che si manterrà finché l'alimento "incriminato" non verrà eliminato dalla dieta. Da ora, in relazione alla quota di aflatossina ingerita saranno necessarie dalle 2 alle 6 munte per far tornare i valori nel latte sulla norma. Il meccanismo di eliminazione, chiamato carry over, nei bovini da latte, corrisponde ad una quota del 1-3% di quella ingerita; il valore di questa quota può subire variazioni in base alla specie animale, alla razza, allo stato sanitario della mammella e al

livello produttivo. Le infezioni mammarie, aumentano il carry-over in quanto la mastite fa sì che ci sia un aumento della permeabilità degli alveoli, che consentono quindi maggior passaggio; inoltre è stato dimostrato che a parità di quantità di tossina ingerita, il carry-over della B1 è superiore di 3,3-3,5 volte ad inizio lattazione rispetto a fine lattazione (Pietri *et al.*, 2004).

Per stimare questa concentrazione sono state proposte diverse equazioni, ma la più usata risulta quella di Veldman (1992) che mette in relazione la quantità di AFB1 totale ingerita giornalmente con gli alimenti e la concentrazione di AFM1 nel latte:

$$\text{AFM1 (ng/kg)} = 1,19 \times \text{AFB1 ingerita}(\mu\text{g/capo/giorno}) + 1,9$$

Grazie a questa equazione possiamo dire che i livelli di utilizzo di concentrati e materie prime contaminati, al limite di legge, dovrebbero essere inferiori a 6,4 e 1,6 kg per non sfiorare successivamente con i valori all'interno del latte. Analogamente al latte bovino anche in quello caprino ed ovino troviamo una percentuale di aflatossina M1 dopo l'ingestione di elementi contaminati da B1 stimabile con l'equazione precedentemente utilizzata

$$\text{Aflatossina M1(ng/kg di latte)} = 1,36 \times \text{Aflatossina B1}(\mu\text{g/capo/d}) + 4,3$$

Da questa equazione emerge che per non superare il limite di legge (sempre pari a 0,05 $\mu\text{g/kg}$), la quantità di B1 somministrata giornalmente alle pecore non può superare i 34 $\mu\text{g/d}$. Per quanto riguarda la bufala invece oltre alla aflatossina M1 sono presenti anche le aflatossine M2, B1 e B2. La percentuale di escrezione rispetto alla quantità ingerita è risultata più elevata per la M2 (22%) e sensibilmente inferiore per le altre (0,2%, 0,05% e 0,2% rispettivamente per M1, B1 e B2).

Contaminazione degli alimenti e conseguenze

La contaminazione da parte delle aflatossine riguarda comunemente diversi alimenti impiegati nelle diete per vacche in produzione. Quelli che tra tutti possono essere considerati ad alto rischio sono i cereali e loro sottoprodotti, cotone e arachidi. Fra i cereali il mais rappresenta sicuramente la coltura a più alto rischio, sia per la sua suscettibilità all'infezione sia per l'ampio utilizzo in alimentazione animale. Un'attenzione particolare deve essere rivolta al controllo delle materie prime (mais aziendale, derivati e semi di cotone) perché non sempre controllati con sistematicità. Per quanto riguarda invece i mangimi completi o complementari i controlli imposti sono più costanti e la

collaborazione tra fornitore e cliente aiuta ad avere una consapevolezza maggiore del livello di rischio.

Se gli alimenti utilizzati nella razione sono contaminati da AFB₁, la vacca che mangerà questi alimenti produrrà un latte contaminato dal suo metabolita principale l' AFM₁. L' Unione Europea ha fissato limiti massimi di contaminazione per l' AFB₁ di 20 µg/kg in tutte le materie prime e 5 µg/kg nei mangimi completi per animali da latte (Ce, 2011). Nel latte (crudo, trattato termicamente o destinato alla fabbricazione) l'AFM₁ non deve essere superiore a 0,050 µg/kg (Ce, 2006). Inoltre se in un'azienda viene prodotto del latte con una concentrazione di AFM₁ che eccede i 50 ng/kg, il regolamento comunitario proibisce la diluizione con altro latte per rientrare nel limite.

La contaminazione da AFM₁ del latte può causare, inoltre, ripercussioni su tutti i latticini ed in particolare sui formaggi: la molecola caseinica contiene regioni idrofobiche sulla sua superficie e queste rappresentano siti di adsorbimento della tossina. La conseguenza è che troviamo concentrazioni della tossina più elevate nel formaggio, rispetto al latte di partenza; questa relazione può essere espressa in termini di fattore di arricchimento. La concentrazione di AFM₁ è più elevata di 2.5-3.3 volte nei formaggi molli e di 3.9-5.8 volte nei formaggi a pasta dura, rispetto al latte utilizzato per la loro produzione

Riduzione del mais contaminato nella razione

Per eliminare la contaminazione all'interno della razione si deve identificare innanzitutto l'alimento più a rischio (la farina o l'insilato di mais) e ridurre o eliminare la quantità presente. Una fonte amidacea a bassa degradabilità dell'amido come il sorgo rappresenta la naturale via di sostituzione parziale o totale del mais, ma non bisogna pensare che altri cereali come orzo o frumento non possano rappresentare una valida alternativa. L'unico inconveniente per questi cereali è la fermentazione a livello ruminale perché più alta rispetto al mais e potrebbe creare problemi di acidosi ruminale. Ma le nuove conoscenze e tecnologie di macinazione nella mangimistica vengono in aiuto suggerendo come la granulometria (fine o grossolana) e la forma fisica (farina, pellet o schiacciato) rappresentino la soluzione al problema.

La granulosità delle particelle influenza molto la velocità di degradazione dell'amido, quindi scegliendo forma e macinazione giusta è possibile utilizzare anche orzo o frumento come sostituti principali del mais nelle diete di vacche ad alta produzione. Da una prova

condotta presso il Cra di Cremona e stato possibile evidenziare come la parziale o totale sostituzione del mais (insilato e farina) con l'orzo (insilato e farina) non abbia determinato effetti sfavorevoli sulla produzione di latte con rese di caseificazioni equivalenti o addirittura migliori (Migliorati *et al.*, 2011).

Concludendo, in condizioni di emergenza l'impiego di miscele di orzo e frumento, sotto forma di schiacciati integrali non macinati o pellettati dopo una macinazione grossolana possono essere usati senza problemi garantendo tra il 24 e 26% di amido nella razione.

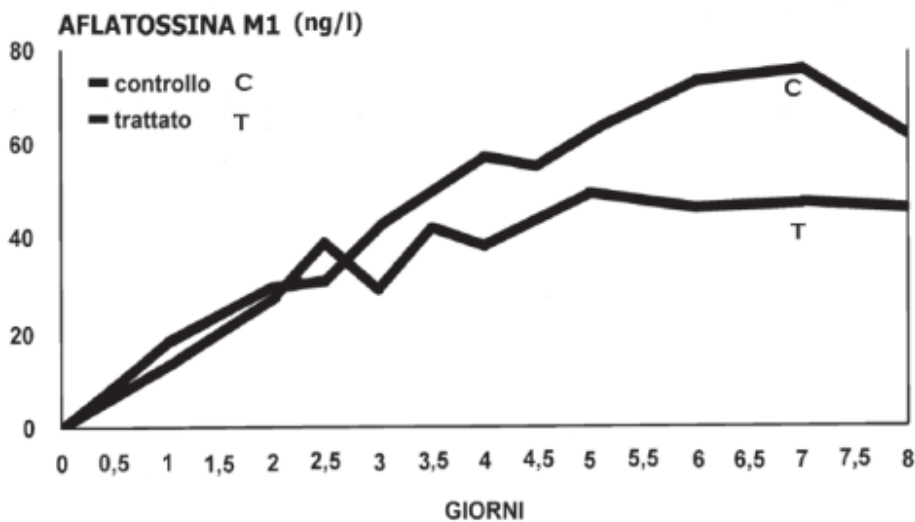
Rimedi contro l'assorbimento

- Uno dei mezzi più utilizzati nelle nostre stalle per ridurre l'assorbimento di AFB1 e l'escrezione di AFM1 nel latte è l'uso di agenti sequestranti all'interno dei mangimi o delle diete stesse. Il regolamento Ce n. 386/2009 definisce gli agenti sequestranti come un nuovo gruppo funzionale di additivi alimentari atti a ridurre la contaminazione da micotossine negli alimenti; in quanto in grado di eliminarne o ridurre l'assorbimento, favorendone l'escrezione. Gli agenti adsorbenti appartengono a diverse classi: alluminio- silicati, carboni attivi, pareti di lievito, fibre micronizzate, batteri e vari polimeri (Efsa, 2009), anche se quelli maggiormente utilizzati nei mangimifici e negli allevamenti sono le argille e le pareti di lievito. L'azione delle sostanze leganti (il cui uso è autorizzato dal Reg. (CE), n. 2439/1999 del 17 novembre 1999) si basa sulla capacità di adsorbimento di materiali inerti che si legano in modo stabile alle tossine. La struttura a foglietto di questi composti può legare le aflatossine, riducendo l'assorbimento nel circolo ematico e favorendone l'eliminazione con le feci. L'efficacia di un agente sequestrante dipende:

1. Un alta affinità con la molecola
2. Il legame tra l'agente sequestrante e la micotossina sia stabile
3. Il contatto tra i due avvenga prima possibile lungo il tratto gastrointestinale dell'animale

Molti leganti hanno dato risultati positivi in prove effettuate in vitro o su animali monogastrici, ma hanno dimostrato una elevata variabilità di risposta se sperimentati su

bovine in lattazione. Il massimo risultato è una riduzione del 50% di AFM1 nel latte vaccino (Maseroet *al.*, 2009; Pietriet *al.*, 2010). Dal punto di vista pratico vale la pena ricordare che il legante va aggiunto e accuratamente miscelato all'alimento contaminato e non, ad esempio, inserito nel carro miscelatore dopo aver introdotto tutti i componenti. In questo modo l'aflatossina ha più tempo per rimanere a contatto con il sequestrante; aumentando le performance di quest'ultimo; se vogliamo massimizzare la cosa, possiamo inoltre sottoporre il mangime alla pellettatura e l'effetto vapore più pressione innesca un complesso agente-sequestrante molto forte. Infine è necessario tenere in considerazione che il meccanismo d'azione dei leganti che intrappolano fisicamente una sostanza come la tossina possono farlo anche per sostanze importanti dal punto di vista nutritivo (vitamine e minerali).



Una nuova possibilità invece contro le alfatossine nel latte è la vaccinazione (Polonelliet *al.*, 2011): vacche in lattazione immunizzate reducevano del 47% l'escrezione di AFM1 nel latte. Insieme i due modi possono aiutarci ad evitare i problemi quando le operazioni preventive in campo e nella fase di conservazione non sono bastate e l'alimento ormai è già stato contaminato.

Facendo riferimento ad altre micotossine il trasferimento dall'alimento al latte è molto più basso: le fumonisine hanno indicato un valore medio di carry over dello 0,05% con punte massime dello 0,11% che portano a livelli di concentrazione finale della micotossina nel latte molto bassi (inferiori a 5-6 µg/l). Il DON non è stato ritrovato nel latte bovino in quantità apprezzabile (<4 µg/kg) neppure somministrando dosi molto elevate (920 mg). Anche le ocratossine non destano preoccupazione per quanto riguarda il loro trasferimento nel latte

vaccino in quanto sono riscontrabili in concentrazioni quantitativamente misurabili solo con assunzioni di micotossina in quantità pari a 50 mg per kg di dieta (o 1,66 mg/kg di peso vivo) inoltre, come già accennato precedentemente, prevale la forma alfa che è meno tossica rispetto alla sostanza progenitrice. Per finire con lo zearalenone non vi è nessun rischio per il consumatore riguardo ai residui nel latte.

3.2 MICOTOSSINE NELLA CARNE

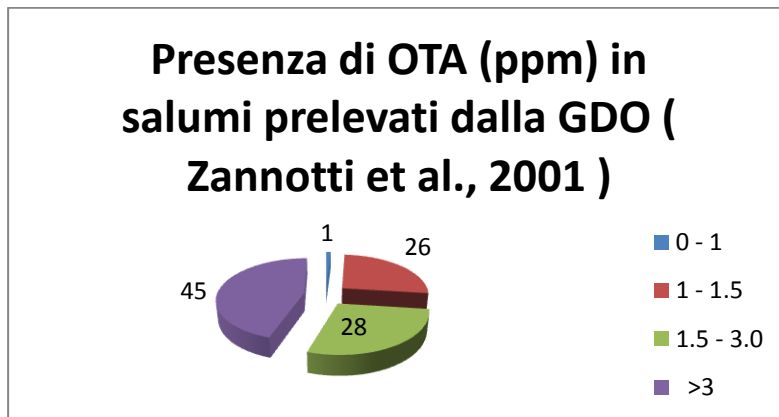
Gli studi fatti sulla presenza delle micotossine nella carne e in altri tessuti edibili sono ancora limitati rispetto a quelli nel latte. Al momento non ci sono evidenze sperimentali che dimostrino un trasferimento delle aflatossine dall'alimento alla carne bovina in dosi ritenute pericolose. Il carry over riportato per le aflatossine nel fegato bovino è pari a 0,007% e risulta molto inferiore rispetto a quello relativo al fegato di altre specie monogastriche come il pollo (0,083%) e il suino (0,125%). Riguardo alle fumonisine, solo un'esposizione prolungata a dosi elevatissime di queste sostanze nella razione di vitelloni da carne (400 ppm di B1 e 130 ppm di B2, per 30 giorni) può determinarne la presenza in alcuni organi e tessuti (2070 µg/kg nel fegato e 97,3 µg/kg nel muscolo).

I suini, sono la specie più sensibile alla tossicità di queste sostanze a differenza di altre, soprattutto alle ocratossine, che tendono ad accumularle nelle frattaglie (fegato, rene), nel muscolo e nel grasso.

Il problema dell'Ocratossina A (OTA) nella carne suina e nei prodotti della salumeria sembrava fosse localizzato nel Nord ed Est Europa, invece sono stati rilevati prodotti di salumeria di vario tipo, cotti e crudi, reperibili su tutto il mercato con presenza di OTA non trascurabile. Una caratteristica da ricordare dell'OTA è l'elevata stabilità, grazie alla quale permane sia nei prodotti di salumeria ottenuti previa cottura (prosciutto cotto, mortadella, wurstel), che in quelli stagionati (prosciutto crudo, salame). Visto che non è possibile ridurla con i trattamenti diventa importante disporre di locali per la stagionatura dei salumi che siano caratterizzati da condizioni ambientali sfavorevoli alla possibile proliferazione dei funghi produttori della tossina. Il Ministero della Salute ha indicato 1 ppb il valore guida per carni suine e prodotti derivati.

Le strategie di prevenzione e controllo negli allevamenti si basano sul monitoraggio dei mangimi utilizzati, in modo tale che se viene rilevato un prodotto contaminato lo si può

sostituire tempestivamente. Esistono inoltre, delle sostanze in grado di fungere da competitori dell'Ocratossina A (fenilalanina).



Le fumonisine possono trasferirsi dagli alimenti ai suini in accrescimento-ingrasso e si depositano nei tessuti o negli organi: la somministrazione in via sperimentale di dosi consistenti di fumonina B1 ai suini (100 mg/d) ha evidenziato un trasferimento in alcuni organi bersaglio (reni e fegato) ma livelli trascurabili in muscolo e grasso (26 e 2 µg/kg).

Come sopra ricordato relativamente alle aflatossine, la presenza di questa micotossina è molto bassa nella carne suina, solo in alcuni organi, come il fegato vengono trasferite in modo più diretto (carry-over dello 0,125%).

Le uova rappresentano il prodotto di origine animale tra i meno controllati per il potenziale rischio derivante dalla presenza di micotossine. Lo zearalenone è una delle tossine che troviamo maggiormente all'interno del tuorlo, nel fegato e nella carne stessa se l'esposizione all'alimento contaminato è prolungata. Le fumonisine somministrate in quantità di 10-15 ng/g, con somministrazioni di 2 mg per kg di peso vivo (per os) a galline ovaiole non sono state ritrovate in quantità rilevanti su fegato e reni. Riguardo al trasferimento di aflatossine dall'alimento all'uovo, i risultati di prove condotte da vari autori sono contrastanti (carry-over variabili da 0,0015%, fino a 0%).

A seguito di questi risultati, sono state messe a punto, oltre ai leganti precedentemente citati, anche altre sostanze (ad es. glucomannani esterificati) in grado di ridurre la concentrazione di micotossine (in particolare le aflatossine) nelle uova con risultati molto positivi in prove effettuate in vitro (capacità di legare il 95% della tossina) ma non sempre concordanti in esperimenti effettuati in vivo, nei quali sembra giocare un ruolo determinante il tipo e il grado di contaminazione degli alimenti.

4. CONCLUSIONI

Uno dei problemi di cui si sta discutendo molto da un anno a questa parte riguarda la contaminazione del mais da micotossine. Le micotossine sono sostanze naturali, prodotte dal metabolismo secondario di alcuni funghi; tra i più conosciuti e diffusi citiamo i generi *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. I primi due sono definiti funghi di magazzino, infatti li ritroviamo soprattutto nelle fasi di stoccaggio e conservazione delle derrate; mentre il *Fusarium* è un fungo di pieno campo e si sviluppa durante il ciclo vegetativo della pianta. Le micotossine presenti nei nostri areali maidicoli sono cinque: fumonisine, aflatossine, tricoteni (DON, ZEA) e ocratossine con diversa diffusione a seconda delle zone. Le fumonisine sono le più diffuse nel nostro mais ma, le aflatossine, anche se meno presenti e riscontrate soltanto in annate particolarmente avverse (per esempio il 2003 e il 2012), hanno assunto una grande rilevanza data la loro capacità cancerogena e la loro presenza in alimenti sia di origine vegetale che animale. Il fenomeno del “carry-over”, inoltre, dove i mammiferi che ingeriscono AFB1 attraverso i mangimi contaminati, ne eliminano una quota sottoforma di AFM1 nel latte ha causato diversi problemi per le aziende zootecniche e le industrie alimentari. Dopo questa premessa possiamo affermare che il problema è presente e va affrontato con la prevenzione. Le BPA in campo sono il primo mezzo da usare per raggiungere il nostro scopo: una coltura sana, che ha a disposizione acqua e nutrienti, sarà più forte e resistente agli attacchi fungini. Tuttavia, andamenti climatici caratterizzanti i diversi areali di produzione del mais e le loro annuali fluttuazioni condizionino lo sviluppo dei funghi e la conseguente contaminazione da micotossine, rendendo variabile il vantaggio ottenuto con l'applicazione delle BPA (Munkvold, 2003 a; Tealdo et al., 2009). Da diversi studi, sono risultate due le strategie di controllo indiretto più utili nel contenimento di queste sostanze (Scudellari D., et al, 2007; Anconelli S., et al, 2007): la concimazione e l'irrigazione. La concimazione, in apporti bilanciati per la coltura, specialmente per quanto riguarda l'azoto, riducono la presenza di Fusariotossine e aflatossine. Prove condotte in campo, durante questi studi, hanno rilevato che una quantità eccessiva di azoto aumenta il vigore delle piante, impedendo la giusta perdita di umidità al momento della raccolta e favorendo le fumonisine. D'altra parte una carenza o un'assenza di azoto rende le piante più piccole e deboli lasciando campo aperto alla contaminazione da aflatossine. L'irrigazione invece, non può mancare in tre momenti del ciclo vegetativo della pianta: pre-fioritura, alla fioritura femminile e poco prima della maturazione lattea. In questo modo, in annate particolarmente calde la coltura non soffre

lo stress idrico e viceversa se la stagione è più umida a fine ciclo si evita, che la granella abbia un'umidità troppo elevata alla raccolta. Non bastando le strategie indirette, sono state messe a punto delle strategie di controllo dirette, come l'utilizzo di prodotti fitosanitari e limitatori naturali. La Piralide è una delle vie d'infezione più temuta, in particolare per le Fumonisine, infatti sono stati adottati mezzi di contenimento come il *Tricogramma mamaydis* e il *Bacillus Thuringiensis*, trappole (a feromoni e luminose) e insetticidi, con risultati abbastanza buoni.

La fase di raccolta risulta essere la più problematica perché si basa su un'equilibrio tra macchina e operatore ma nello stesso tempo quella su cui si può agire in modo più mirato. Una trebbia di tipo convenzionale dovrà essere regolata dall'operatore, il quale avrà cura di lavorare a bassa velocità di avanzamento e di battitore; evitando il maggior numero di perdite. Una trebbia di tipo assiale, invece, raccoglie in modo preciso, delicato e indipendente dall'umidità del prodotto; favorendone la pulizia e la ventilazione. Un prodotto pulito da granelle rotte, frantumate, striminzite e ammuffite riduce il propagarsi della contaminazione. Infine, il trebbiatore, il trasportatore e il centro di stoccaggio dovrebbero prendere accordi, in modo tale che la granella non permanga in cumuli o all'interno dei camion per più di 24 ore a umidità superiori al 26% e venga subito pulita, essiccata e stoccata. Per quanto riguarda l'insilato deve essere chiuso così che l'ossigeno non entri e non causi la proliferazione di muffe e fermentazioni anomale.

Concludendo, per garantire al consumatore un prodotto di qualità e salubrità serve la cooperazione di tutti i membri della filiera, il lavoro di squadra è l'unico vero strumento utile per la lotta alle micotossine.

RINGRAZIAMENTI

Un grazie speciale a mio padre Giorgio e a mia madre Tiziana perché senza i loro sacrifici non avrei potuto continuare a studiare e a mio fratello Michele che mi ha aiutato nelle questioni più "agricole" della tesi. I miei amici e compagni di avventure universitarie, che in questi tre anni non mi hanno mai fatto mancare nulla, tra viaggi, cene e risate. Grazie soprattutto ad Atena e Ingrid, i miei angeli custodi, ad Andrea che mi ha fatto amare l'agricoltura e a Fabio che non ha mai smesso di credere in me. Concludo con un ultimo sentito ringraziamento al mio relatore, il prof. Luigi Sartori, il quale con tanta pazienza ha creduto nelle mie capacità.

5. BIBLIOGRAFIA

Bailoni L., Dipartimento di Scienze Animali Università degli studi di Padova. Volume mais capitolo sei: Micotossine nel mais utilizzato nell'alimentazione zootecnica: trasferimento ai prodotti di origine animale.

[http://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/MAIS_SICUREZZA_ALIMENTARE/Volume_Mais - Cap. 6.pdf](http://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/MAIS_SICUREZZA_ALIMENTARE/Volume_Mais_-_Cap.6.pdf)

Baldoin C. Per la lotta alla piralide del mais ci vogliono i "trampoli". *Informatore agrario* 9/2012.

Battilani P., Pietri A., Marocco A. 2006. Micotossine, nuovi problemi e maggiore attenzione per il mais (Zeamays).

Blandino M., Testa G., Reyneri A. Mais ad alta densità di semina: più resa se la tecnica è ottimale. *Informatore agrario* 4/2012.

Bugiani R., Bariselli M. Prevenzione micotossine, la fase critica della raccolta. *Terra e vita* n. 31-32/ 2009.

Carnaroglio F., Blandino M., Maero E., Reyneri A. Granella integra e pulita alla trebbia, per un mais di qualità. *Informatore agrario* 21/2007.

De Liguoro M., Dipartimento di Sanità pubblica, Patologia comparata e Igiene veterinaria Università degli Studi di Padova. Volume mais capitolo sette: Micotossine, aspetti tossicologici per gli animali e per l'uomo.

[http://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/MAIS_SICUREZZA_ALIMENTARE/Volume_Mais - Cap. 7.pdf](http://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/MAIS_SICUREZZA_ALIMENTARE/Volume_Mais_-_Cap.7.pdf)

Frescarelli A. Prospettive positive per il mais nel medio periodo. *Informatore agrario* 5/2010.

Gallo A., Masoero F. Aflatossine nel latte: un pericolo sempre in agguato. *Informatore agrario* 39/ 2012

Maiorano A., Blandino M., Reyneri A., Vanara F. Come gestire i residui colturali per evitare le micotossine. *Informatore agrario* 38/2007.

Mosca G., Dipartimento Agronomia ambientale e Produzioni vegetali Università degli Studi di Padova. Volume mais capitolo due: gestione del rischio micotossine nella filiera produttiva del mais

[http://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/MAIS_SICUREZZA_ALIMENTARE/Volume_Mais - Cap. 2.pdf](http://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/MAIS_SICUREZZA_ALIMENTARE/Volume_Mais_-_Cap.2.pdf)

Piro R., Biancardi A. Micotossine

http://www.bs.izs.glauco.it/izs_bs/allegati/1383/Micotossine.pdf

Povero S., Blandino M., Reyneri A., Vanara F., Scarpino V., Sovrani V., Tamietti G. Mais e fumonisine: dalla piralide la prima via d'infezione. *Informatore agrario* 9/2012.

Reyneri A., Visconti A., Vantaggiato G., Blandino M., Desiderio E. Ridurre il rischio aflatossine negli alimenti zootecnici è possibile. *Informatore* 14/2004.

Richard E., Heutte N., Bouchart V.,Garon D. Evaluation of fungal contamination and mycotoxin production in maize silage.

Sartori L., Pezzuolo A. (2012). Lavorazione del terreno. Meno costi e impatto ambientale con la lavorazione ridotta. Le soluzioni alternative all'aratura. Come gestire il residuo colturale con lavorazioni superficiali. *INFORMATORE AGRARIO*, vol. 27, p. 42-52,

Sartori L., Pezzuolo A (2011). La precisione nel sodo richiede scelte di qualità. *INFORMATORE AGRARIO*, vol. 35, p. 41-45,

Sartori L., Pezzuolo A (2011). Seminatrici a righe da sodo: come orientarsi nella scelta. *INFORMATORE AGRARIO*, vol. 27, p. 33-38,

Sartori L., Pavan S. (2010). Come curare il suolo dopo anni di lavorazioni ridotte. *INFORMATORE AGRARIO*, vol. 40, p. 79-81.

Sartori L., Pavan S. (2010). Grano tenero seminato su sodo a conti fatti conviene. *INFORMATORE AGRARIO*, vol. 31, p. 57-59.

Tabacco E., Borreani G., Cavallarin L. Contaminazione da micotossine negli insilati di mais. *Informatore agrario* 31/2003.

Villani A., Baccarini G. Micotossine nei cereali: i limiti massimi ammessi

http://www.ermesagricoltura.it/var/portale_agricoltura/storage/file/ra0704018s_1244544042.pdf