



# Funghi e micotossine

Roberto Causin, Dipartimento TeSAF, Sezione Patologia Vegetale,  
Università degli Studi di Padova

## 1.1 Aspetti generali

Si conoscono decine di generi e specie fungine (muffe) in grado di produrre micotossine, ma non tutte sono di concreto interesse; molte di queste, infatti, non hanno ampia diffusione oppure non sono in grado di svilupparsi in modo considerevole su sostanze destinate all'alimentazione umana o zootecnica oppure non sono produttrici di molecole molto tossiche o, se lo sono, non le producono in concentrazioni apprezzabili.

Considerando le tre categorie di micotossine di maggiore interesse (Aflatossine, Ocratossine e *Fusarium*-tossine), i funghi che nella pratica rivestono il ruolo principale nella sintesi di questi composti sono compresi nei generi *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Non tutte le specie incluse in questi generi, però, sono tossigene, inoltre, al loro interno non tutti i ceppi sono in grado di produrre queste sostanze. Nel genere *Aspergillus*, ad esempio, vi sono sia *Aspergillus oryzae* e *A. soyae*, specie utili per l'uomo<sup>1</sup>, sia la specie *A. flavus* che invece è tossigena; di quest'ultima, inoltre, si stima che solo il 45% degli isolati sia in grado di produrre tossine.

Purtroppo non sempre la situazione è così favorevole: in altri generi esistono specie, come ad esempio *Fusarium verticillioides*, al cui interno il 100% dei ceppi sintetizza micotossine.

In ogni caso, anche quando in un dato ambiente vi sia la presenza di un ceppo fungino sicuramente micotossigeno, non è detto che questo riesca a svilupparsi e a produrre le sostanze dannose; ciò dipenderà fondamentalmente dalle condizioni termo-igrometriche (temperatura e umidità) a cui sarà sottoposto. Come è ovvio i contaminanti tossici verranno maggiormente sintetizzati quando il fungo si troverà nelle migliori condizioni di sviluppo e queste ultime possono differire sensibilmente in relazione alla specie considerata e, soprattutto, non si presentano regolarmente tutti gli anni in tutti gli ambienti.

Il mais può venire attaccato da funghi appartenenti a tutti e tre i generi nominati, per tale motivo nei paragrafi che seguono questi verranno presi in esame e ne verranno illustrate le caratteristiche generali e le esigenze termo-igrometriche, i rapporti che contraggono con le piante di mais e i sintomi che

<sup>1</sup> *A. oryzae* e *A. soyae* sono da sempre usati nei Paesi Orientali per la produzione del sakè (bevanda alcolica tratta dal riso), miso (sorta di pasta o paté di soia) e salsa di soia; in applicazioni più moderne e diffuse in tutti i paesi del mondo, vengono utilizzati anche per la produzione di enzimi usati dall'industria alimentare. *A. oryzae* può produrre piccole quantità di acido Cyclopiazónico.

su esse provocano, nonché alcune considerazioni sulle condizioni che ne favoriscono lo sviluppo e sulle loro possibilità di controllo. Poiché, come è già stato anticipato, è possibile che nell'immediato futuro le *Fusarium*-tossine, e le Fumonisine in particolare, possano diventare uno dei problemi del mais di più difficile soluzione, saranno riservati maggiori approfondimenti agli organismi che producono queste sostanze.

## 1.2 *Aspergillus* e Aflatossine

I funghi appartenenti al genere *Aspergillus* sono in grado di sintetizzare diversi tipi di micotossine<sup>2</sup> ma per quanto riguarda il mais essi sono principalmente responsabili delle contaminazioni da Aflatossine<sup>3</sup>.

Gli *Aspergilli* sono organismi diffusi in tutti gli ambienti e in generale vivono saprofitariamente, ovvero si sviluppano a carico della sostanza organica non più viva come, ad esempio, i residui colturali; sono termofili e resistono meglio degli altri funghi a condizioni di scarsa umidità.

Il mais può venire attaccato da due specie produttrici di Aflatossine:

- *Aspergillus flavus*, che produce Aflatossina B1 e B2;
- *Aspergillus parasiticus*, che produce Aflatossina B1, B2, G1 e G2.

Negli ambienti maicicoli della Pianura Padana il più diffuso tra i due è *A. flavus*, pertanto nella trattazione che segue si farà principalmente riferimento ad esso.

### 1.2.1 Influenza della temperatura e dell'umidità

Come tutti gli *Aspergilli*, anche *A. flavus* si sviluppa bene a temperature calde: l'ottimo viene individuato tra i 32-36 e i 38 °C mentre la sua crescita si riduce sotto i 12 °C e sopra i 42 °C. Le temperature ritenute più favorevoli per la produzione di Aflatossine sono comprese tra i 25 e i 35 °C e vi sono studi che indicano come l'alternanza ciclica tra questi 2 valori stimoli ancora di più la sintesi di queste sostanze.

Relativamente alle esigenze di umidità, come già anticipato, questo fungo può tollerare condizioni di relativa siccità e riesce a sopravvivere con  $a_w$ <sup>4</sup>

<sup>2</sup> Le diverse specie appartenenti al genere *Aspergillus* oltre alle Aflatossine possono produrre anche **Ocratossine** e altre sostanze dannose di minore interesse.

<sup>3</sup> Le Aflatossine comprendono numerose molecole diverse tra loro; nel presente lavoro si considereranno solo le più importanti per il mais ovvero le Aflatossine B1, B2, G1 e G2.

<sup>4</sup>  $a_w$  misura l'"attività dell'acqua" e può essere intesa come la misura della disponibilità di acqua per lo sviluppo dei microrganismi;  $a_w = 1$  significa che tutta l'acqua presente in quell'ambiente è disponibile; valori minori di 1 indicano che una parte dell'acqua è "impegnata" per trattenere in soluzione zuccheri, sali ecc. ("legame" osmotico) oppure trattenuta per "effetto di superficie" dalla matrice su cui si sviluppa l'organismo ("legame" di matrice). In generale si può considerare che lo sviluppo dei funghi si arresti con  $a_w$  sotto 0,70, che con  $a_w = 0,6$  venga fortemente inibita l'azione enzimatica e che questa cessi con  $a_w$  attorno a 0,3. Per i batteri, invece, le esigenze sono maggiori e l' $a_w$  minima è circa 0,8.



attorno a 0,78, sebbene gli accrescimenti maggiori si verifichino con disponibilità idriche superiori.

Si può quindi affermare che questo patogeno è particolarmente favorito da clima caldo-umido (90-98% U.R.) e da annate in cui la piovosità nel corso della stagione vegetativa del mais è decisamente inferiore alla media. Queste condizioni non si verificano regolarmente tutti gli anni e in tutte le aree maidicole della Pianura Padana, pertanto, attacchi consistenti da *A. flavus* con relativo accumulo di Aflatossine sono fortemente condizionati dall'andamento stagionale e non sono attesi tutti gli anni.

### 1.2.2 Sopravvivenza, dispersione nell'ambiente e modalità d'infezione

*A. flavus* si conserva normalmente nel terreno dove vive saprofitariamente a carico dei residui colturali (cariossidi, tutoli, frammenti di stocco o di tessuti fogliari di mais o di altre piante) su cui sviluppa soprattutto micelio e talvolta sclerozi<sup>5</sup>, superando in questo modo le avverse condizioni invernali. Al sopraggiungere della buona stagione, dal micelio e dagli sclerozi si originano enormi quantità di conidi<sup>6</sup> che danno il via alla fase di diffusione di *A. flavus* nell'ambiente circostante.

Si può ridurre fortemente la produzione di conidi da parte degli sclerozi e quindi la dispersione del fungo con l'interramento dei residui colturali infetti per uno o due anni, ma sono necessari tempi più lunghi perché gli sclerozi presenti su questi ultimi perdano completamente la loro vitalità. Questo fatto, se da una parte conferma l'utilità delle lavorazioni del terreno e dell'avvicendamento colturale, dall'altra sottolinea che i maggiori vantaggi si ottengono quando le piante potenzialmente ospiti di *A. flavus* ritornano nella successione ad intervalli lunghi, possibilmente maggiori di due anni.

I conidi, comunque prodotti, vengono facilmente dispersi dai movimenti, anche leggeri, dell'aria<sup>7</sup> e giungono sulle sete del mais che sono particolarmente suscettibili quando sono in via di senescenza (colore giallo-bruno); qui, se

5 Il **micelio** è la struttura vegetativa del fungo, in genere poco adatta alla sua conservazione; quando se ne sviluppano grandi masse diventa visibile ad occhio nudo e viene comunemente detto muffa. Gli **sclerozi** sono particolari formazioni più resistenti del micelio alle condizioni avverse; contribuiscono a far sopravvivere il fungo nei periodi sfavorevoli come, ad esempio, l'inverno.

6 I **conidi** sono organi di propagazione agamica (vegetativa) che hanno lo scopo di diffondere il fungo nell'ambiente. Con un termine generale che indica tutte le strutture aventi questo scopo si possono dire anche **propaguli**.

7 *A. flavus* può essere diffuso in misura molto minore, e con scarsa importanza pratica, da insetti. Sebbene gli insetti non siano coinvolti in modo rilevante nelle infezioni primarie del mais, essi sicuramente possono avere un ruolo nella disseminazione del fungo nelle aree infette. Gli insetti, entrando in contatto con le zone di produzione dei conidi possono imbrattarsi con questi o ingerirli e, visitando le piante, lasciarveli per semplice contatto o attraverso le feci.



le condizioni ambientali lo permettono, i conidi germinano e danno origine ad ife<sup>8</sup> che si accrescono rapidamente lungo la seta fino ad arrivare ad infettare la cariosside in via di formazione.

In questa fase la presenza del polline favorisce tutti i processi descritti, ma sono soprattutto le condizioni ambientali che si verificano all'epoca della fioritura e in quella successiva di riempimento della cariosside che influenzano lo sviluppo del fungo e l'accumulo di Aflatossine. Sotto questo aspetto, per il mais è particolarmente dannoso lo stress idrico che rende la pianta più debole e quindi più facilmente aggredibile da *A. flavus*, che invece tollera la scarsità d'acqua. Se a questo fatto si accompagnano temperature superiori ai 30 °C, che favoriscono la crescita del fungo e invece iniziano ad essere fonte di ulteriore difficoltà per il mais, l'infezione è ancor più favorita e può avere esiti problematici.

Un ulteriore vantaggio per lo sviluppo del patogeno deriva dal fatto che alte temperature e bassa umidità, ben tollerate dall'Aspergillo, sono invece meno adatte alla crescita degli altri microrganismi presenti sul mais e nel terreno; in questa situazione *A. flavus* si trova ad essere favorito e diventa un ottimo competitore, si accresce senza ostacoli e prevale sugli altri microrganismi riuscendo a sovrastarne lo sviluppo.

Oltre a ciò, condizioni di siccità possono causare nelle cariossidi microfessurazioni che rappresentano delle vie d'ingresso per il patogeno e favoriscono ulteriormente l'infezione. Più in generale, tutti i fattori che provocano lesioni della superficie della granella (es. grandine e attacchi da insetti o di uccelli) aumentano la suscettibilità del mais all'attacco di *A. flavus*. È attraverso questa via che, a partire dall'apice della pannocchia e in condizioni di stress termo-igrometrico, avvengono le infezioni nelle fasi più avanzate di maturazione della granella. È sempre a causa di queste lesioni, causate anche da operazioni di raccolta ed essiccazione non attente, che durante la fase di stoccaggio si possono verificare degli attacchi di *A. flavus*, se le condizioni di conservazione non sono corrette.

La presenza di soluzioni di continuità, sebbene non essenziale, rappresenta quindi un fattore predisponente l'infezione. In effetti, nell'invadere i tessuti del mais, il fungo tende a crescere negli spazi liberi e attraverso le barriere più facili da penetrare e, pur colonizzando ampiamente i tessuti e arrivando talvolta anche all'interno del seme, in generale non si addentra profondamente

**8** Le **ife** sono lunghi filamenti costituiti da una successione di cellule fungine saldate le une alle altre e di dimensioni molto inferiori a quelle di un capello umano; a parte qualche eccezione, generalmente non sono visibili ad occhio nudo. Un forte sviluppo di ife, variamente ramificate e intersecantesi, da origine al micelio.



in essi. Ciò probabilmente deriva dal fatto che, come riferito, *A. flavus* è fondamentalmente un saprofito e la sua scarsa virulenza si manifesta solo quando la pianta diviene altamente suscettibile e viene a mancare la competizione con gli altri microrganismi.

### 1.2.3 Sintomi in campo del marciume della spiga e delle cariossidi da *Aspergillo*

Sulle spighe infettate, prevalentemente nella porzione apicale ma non raramente anche alla base, si sviluppa una muffa di aspetto granuloso e di colore verdastro con sfumature gialle, che diventa verde più scuro col passare del tempo.



Marciume da *Aspergillo* su spiga e cariossidi.  
Notare l'aspetto granuloso della muffa (micelio)

Il micelio si accresce sulle cariossidi e negli spazi fra esse, arrivando fino al tutolo che viene colonizzato, assumendo anch'esso colorazione grigio-verdastra con sfumature giallognole.

Nel caso di infezioni precoci seguite da un andamento stagionale non particolarmente favorevole allo sviluppo di *A. flavus*, sulle cariossidi infette la muffa può essere assente; questa granella, però, assume spesso delle colorazioni e un aspetto anomalo e risulta comunque contaminata da Aflatoossine.

### 1.2.4 Post-raccolta

Data la tolleranza al secco più volte ricordata, attacchi di *A. flavus* sono da temere in modo particolare durante le fasi di stoccaggio. Cumuli di granella non correttamente e omogeneamente essiccata possono contenere al loro interno dei nuclei, anche piccoli, con umidità maggiore del 15% che possono ulteriormente caricarsi d'acqua per via igroscopica. In queste condizioni, già con temperature vicine ai 15 °C può iniziare lo sviluppo di *Aspergilli*, soprat-



tutto quando la granella presenta lesioni, comprese le micro-lesioni dovute ad eventi siccitosi, trebbiature mal eseguite o processi di essiccazione non corretti. Sebbene i funghi in queste condizioni crescano lentamente, essi, metabolizzando l'amido delle cariossidi, generano calore e umidità, contribuendo a creare localmente situazioni sempre più favorevoli al loro sviluppo e quindi alla formazione di consistenti nuclei di contaminazione da Aflatossine che vanno via via allargandosi.

Umidità del mais inferiori al 13%, o al 12% se si prevedono conservazioni lunghe, movimentazione periodica della massa e pulizia, garantiscono un ottimo controllo dello sviluppo di *A. flavus* durante la fase di stoccaggio.

Come riferito in precedenza, il fungo si sviluppa prevalentemente nelle regioni più esterne degli organi attaccati e ciò permette di ottenere un abbattimento non trascurabile della presenza di Aflatossine attraverso la pulizia meccanica delle cariossidi. Tale operazione, per avere l'effetto maggiore, deve essere condotta sul prodotto verde, ma può dare risultati accettabili anche sul secco se effettuata correttamente.

### 1.2.5 Fattori che favoriscono lo sviluppo di *A. flavus* e possibilità di controllo

Si è visto come condizioni di siccità, alte temperature e lesioni della granella favoriscano le infezioni di *A. flavus*, così come stati di stress idrico nel periodo fioritura-riempimento delle cariossidi rendano il mais particolarmente suscettibile all'attacco del patogeno. Esistono ibridi con caratteristiche di resistenza al fungo e all'accumulo di Aflatossine ma, ad oggi, non risulta che nella pratica siano largamente impiegati. Pertanto, oltre all'uso di varietà resistenti ove ne sia la disponibilità, può essere utile:

- realizzare una buona sistemazione idrica dei terreni;
- eseguire l'avvicendamento con colture non suscettibili a *A. flavus*;
- lavorare il terreno opportunamente in modo da interrare i residui colturali;
- concimare in modo equilibrato e adeguato alla fertilità del terreno, alla disponibilità d'acqua e alle esigenze dell'ibrido scelto;
- mantenere la coltura il più possibile pulita dalle malerbe;
- scegliere ibridi resistenti agli stress idrici e termici, adatti all'ambiente di coltura e con precocità tale che il periodo di maggiore suscettibilità al fungo coincida il meno possibile con la stagione siccitosa;
- scegliere l'epoca di semina in modo che il mais attraversi la sua fase di maggiore suscettibilità al fungo nel periodo normalmente meno siccitoso;
- scegliere investimenti che evitino gli stress da competizione;
- irrigare, soprattutto nella fase di riempimento della cariossidi ma, se possibile, ogni volta che si temono stress idrici per la pianta, anche di breve periodo;



- raccogliere con umidità della granella non troppo bassa con trebbiatrici ben regolate e pulite;
- eseguire una pulizia meccanica sul “verde”;
- essiccare il più presto possibile dopo la raccolta, evitando le soste di giorni sul piazzale;
- non essiccare a temperature troppo elevate, soprattutto quando la granella non è molto umida, per evitare le microlesioni ed il “rinvenimento”;
- applicare le corrette pratiche di stoccaggio precedentemente discusse.

Si segnalano infine alcune possibilità di controllo biologico basate sull'utilizzazione dell'endofita antagonista *Acremonium zeae* e di ceppi non tossigeni dello stesso *A. flavus*. Anche *Fusarium verticillioides* è in grado di contrastare lo sviluppo di *A. flavus*, però, come si dirà più avanti, esso purtroppo è un importante fungo tossigeno.

In ogni caso, gli antagonismi di cui si è appena riferito si verificano solo in condizioni moderate; con temperature alte (es. 35 °C) sarà comunque *A. flavus* a sovrastare la crescita degli altri funghi.

Nonostante vi siano grandi speranze, soprattutto per l'uso di ceppi di *A. flavus* non tossigeni, al momento attuale, purtroppo, nessun metodo di controllo biologico è ancora stato sviluppato in modo sufficiente da poter avere pratiche applicazioni in pieno campo.

### **1.3 *Fusarium*, Fumonisine, Tricoteceni e Zearalenone**

Molte delle specie comprese nel genere *Fusarium* sono in grado di produrre vari tipi di micotossine; tra queste quelle che interessano il mais sono<sup>9</sup>:

- le Fumonisine;
- il Deossinivalenolo (DON) e le tossine T2 e HT2, tutte comprese nel gruppo dei Tricoteceni;
- lo Zearalenone.

I *Fusaria*, salvo alcune importanti eccezioni di cui si dirà in seguito, non sono patogeni principali del mais e la maggior parte di essi vive saprofitariamente sui residui colturali nel terreno. Sono ubiquitari, presenti praticamente in tutti gli ambienti; non tollerano la siccità e le alte temperature, mentre si sviluppano bene in condizioni di forte umidità e con temperature miti.

Il mais può venire attaccato da più specie di *Fusarium*, alcune importanti per

<sup>9</sup> I *Fusaria* possono produrre altre tossine sul mais, ma quelle citate sono ritenute le più diffuse e rischiose per la salute dell'uomo e degli animali, infatti entro breve ne è prevista la regolamentazione (Reg. CE 856/2005).



la sanità della granella, altre meno. Esaminarle tutte in questa sede sarebbe troppo lungo e sicuramente poco utile visto che, relativamente alla contaminazione da micotossine, le Fusariosi del mais che rivestono un reale interesse sono essenzialmente due:

- **Marciumi rosa** della spiga e delle cariossidi, associati alla contaminazione da Fumonisine e causati prevalentemente da *Fusarium verticillioides* (sinonimo *F. moniliforme*), *F. proliferatum* e *F. subglutinans*. Nei nostri ambienti prevalgono le infezioni da *F. verticillioides*, pertanto ad esso ci si riferirà trattando di Fumonisine e marciumi rosa;
- **Marciumi rossi** della spiga e delle cariossidi, associati alle contaminazioni da Tricoteceni (DON, Zearalenone, T2 e HT2) e causati prevalentemente da *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides* e *F. poae*. I primi due funghi sono produttori principalmente di DON e Zearalenone, mentre gli altri due sono responsabili della contaminazione da tossina T2 e suoi derivati. Nei nostri ambienti il più diffuso è *F. graminearum*, pertanto ad esso ci si riferirà trattando di Tricoteceni e marciumi rossi<sup>10</sup>.

### 1.3.1 Marciumi rosa, *Fusarium verticillioides* e fumonisine

#### 1.3.1.1 Influenza della temperatura e dell'umidità

Lo sviluppo di *F. verticillioides* è favorito da temperature miti ma non troppo fresche: l'ottimo viene individuato tra i 22,5 e i 27,5 °C; la temperatura minima di crescita si situa tra 2,5 e 5,0 °C e quella massima tra i 32 e i 37 °C. Vi è però una sensibile variabilità tra i diversi isolati in relazione all'area di origine; ad esempio, *F. verticillioides* proveniente da zone a clima più caldo ha un optimum di temperatura vicino ai 30 °C.

Le condizioni termiche ottimali per la produzione di Fumonisine non sono ben chiarite e dipendono molto dal ceppo fungino considerato, variando in un intervallo compreso tra i 15 e i 30 °C.

Questo fungo è molto esigente per quanto riguarda la necessità d'acqua e, sebbene riesca a sopravvivere con  $a_w = 0,87-0,88$ , gli accrescimenti maggiori si verificano con  $a_w$  attorno a 0,96-0,98. Una  $a_w$  di circa 0,98 è anche l'optimum per la sintesi delle Fumonisine.

*F. verticillioides*, quindi, è favorito da un clima temperato-caldo e, come si vedrà tra poco, meno umido di quello necessario a *F. graminearum*, condizio-

<sup>10</sup> Poiché *F. graminearum* non produce la tossina T2, bisognerebbe prendere in esame anche *F. sporotrichioides* e *F. poae*. Ciò viene ommesso sia per la minore presenza di questi due funghi nei marciumi rossi, sia per la minore importanza delle tossine da essi prodotte. Queste ultime, infatti, pur essendo molto più tossiche delle altre (TDI provvisoria= 0,06 µg/Kg p. c.) risultano raramente presenti a livelli preoccupanti e, per il momento, i relativi limiti di legge sono ancora allo studio (Reg. CE 856/2005).



ni che nella Pianura Padana si verificano normalmente tutti gli anni nel corso della stagione vegetativa del mais. Per tale motivo, seppur con qualche fluttuazione, le Fumonisine sono presenti nella granella in quantità considerevoli e regolarmente tutti gli anni.

### **1.3.1.2 Sopravvivenza, dispersione nell'ambiente e modalità d'infezione**

*F. verticillioides* generalmente non viene considerato un patogeno principale del mais poiché, almeno fino ad ora, non viene ritenuto in grado di causare danni di rilievo economico alla coltura. Esso, in effetti, se si escludono gli attacchi alla spiga di cui si parlerà tra poco, può dare solo in casi particolari qualche problema di moria delle piantine o essere associato a marciumi dello stocco.

L'infezione delle piante di mais può avvenire in tre modi:

- 1) da seme endofiticamente infetto, cioè apparentemente sano ma ospitante al suo interno il *F. verticillioides*;
- 2) attraverso le sete ad opera di conidi provenienti dall'inoculo conservato nel terreno;
- 3) come conseguenza degli attacchi di Piralide.

#### *1) Infezioni endofitiche*

La granella di mais, quasi regolarmente, contiene al suo interno il *F. verticillioides*<sup>11</sup>. La semina di questa granella può dare origine a piante con infezioni endofitiche. Questo fungo, infatti, non è dotato di grande virulenza, pertanto, nel mais in buone condizioni di vegetazione può comportarsi come endofita, ovvero può svilupparsi all'interno della pianta, convivendo con essa senza dare alcun sintomo osservabile ma producendo Fumonisine, in quantità crescente quanto più il mais si trova a vegetare in condizioni distanti da quelle ottimali<sup>12</sup>. Seguendo l'accrescimento della pianta apparentemente sana, *F. verticillioides* può giungere, sempre per via endofitica, fino alle cariossidi che si stanno formando e queste possono maturare senza evidenziare alcun sintomo, ma ospitando al loro interno il fungo. Se questa granella viene seminata il ciclo può ripetersi.

Le infezioni endofitiche possono derivare anche dall'inoculo di *F. verticillioides* presente nel terreno. In questo caso le plantule di mais si infettano precoce-

<sup>11</sup> Negli ambienti del Nord-Est Italia la granella di mais contiene *F. verticillioides* in percentuali variabili che spesso sono molto superiori al 50%. Il fungo si trova quasi sempre nel pedicello ("punta") della cariosside, ovvero nell'area immediatamente vicina al punto in cui essa è inserita nel tutolo e, seppur più raramente, può essere rilevato in percentuali minori anche nelle porzioni più a valle

<sup>12</sup> Ovvero in condizioni di stress di qualsiasi natura, non solo siccità.

mente attraverso l'apparato radicale e il fungo poi si svilupperà all'interno della pianta senza originare sintomi, nel modo e con le conseguenze appena descritte.

L'esistenza di infezioni di questo tipo può spiegare la presenza di granella apparentemente sana ma con un contenuto non indifferente di Fumonisine.

### 2) *Infezioni attraverso le sete*

*F. verticillioides* è dotato di ottime capacità saprofitarie e si conserva nel terreno sui residui colturali infetti. In questo modo supera le condizioni ambientali sfavorevoli dell'inverno e riesce a sopravvivere 21 mesi e forse anche più. Per questo motivo molti ritengono che l'interramento dei residui colturali non dia alcun pratico vantaggio ma, ovviamente, ciò è da riferire ai casi di omosuccessione o di avvicendamenti colturali dove le piante suscettibili all'attacco di questo fungo ritornino ad intervalli inferiori ai due anni.

Trascorso l'inverno, quando le temperature si fanno più miti, dal micelio presente nel terreno si produce una elevatissima massa di conidi che, grazie ai movimenti dell'aria e agli schizzi di pioggia, viene dispersa nell'ambiente<sup>13</sup>. Se questi propaguli giungono sulle sete del mais quando queste sono prossime alla senescenza, essi possono germinare e originare ife che, accrescendosi lungo le sete stesse, raggiungono le cariossidi in formazione e vi penetrano, situandosi al loro interno. Questa granella può svilupparsi in un modo apparentemente normale, sembrando del tutto sana, ma, come già visto, risulterà contaminata da Fumonisine in modo tanto maggiore quanto più la pianta avrà attraversato periodi di stress. In alternativa, in situazioni ambientali<sup>14</sup> particolarmente favorevoli per il fungo e sfavorevoli per la pianta, l'infezione può abbandonare la sua veste endofitica ed evolvere in marciume rosa della spiga.

Alcuni studiosi pensano che la principale via d'infezione del mais sia proprio quella attraverso le sete.

### 3) *Infezioni favorite dagli attacchi di Piralide*

I conidi possono infettare il mais anche in epoche successive alla fioritura<sup>15</sup>, fino alla raccolta compresa. Ciò avviene grazie alla presenza di lesioni di

<sup>13</sup> Il "volo" dei conidi di *F. verticillioides* può ridurre l'eventuale vantaggio derivante dall'interramento dei residui colturali se tale pratica non viene adottata su superfici estese.

<sup>14</sup> Le situazioni che favoriscono il marciume sono alta umidità, temperature moderato-calde, stress della pianta, lesioni della cariosside.

<sup>15</sup> La presenza di *F. verticillioides* nelle cariossidi comincia a diventare rilevabile nella fase di maturazione lattea e raggiunge il massimo quando la granella raggiunge umidità prossime al 20%.



qualsiasi tipo come danni da grandine, uccelli, insetti, ecc. Il fungo, infatti, data la sua limitata virulenza, sfrutta queste soluzioni di continuità come vie privilegiate d'infezione. A questo proposito, i danni (fori e rosure) causati dalla Piralide sono ritenuti il fattore probabilmente più importante nel determinare l'attacco alla spiga poiché favoriscono in modo formidabile l'aggressione di *F. verticillioides* e l'accumulo di Fumonisine<sup>16</sup>. Oltre a questo, l'insetto, attraverso i suoi movimenti sulla pianta e tra le piante, contribuisce alla diffusione del fungo poiché si imbratta di propaguli quando si trova nelle zone dove *F. verticillioides* si sta sviluppando e li trasferisce in altre aree dove esso non è ancora presente. Per questo motivo la lotta alla Piralide<sup>17</sup> è utilissima per contenere la contaminazione da Fumonisine.

Qualsiasi sia il tipo di infezione, ritardare la raccolta costituisce sempre un elemento negativo poiché mantiene in campo le spighe in un momento in cui ormai la pianta ha concluso il suo ciclo vegetativo ed è facilmente colonizzabile da *F. verticillioides* che è fortemente favorito dalla situazione climatica che si instaura nei nostri ambienti a fine estate-inizio autunno, soprattutto se le temperature sono ancora tiepide e con buona umidità. In questa situazione l'accumulo di Fumonisine continua finché l'umidità della granella non scende sotto il 20-18%. L'anticipo dell'epoca di semina può anticipare l'intero ciclo del mais con notevoli vantaggi sia per le infezioni durante la fase di coltivazione sia per la possibilità di anticipare anche la raccolta. Lo stesso discorso vale anche per la precocità degli ibridi: quelli a ciclo più corto, normalmente daranno meno problemi dei tardivi. Ovviamente, sono invece da evitare tutte le situazioni che tendono ad allungare il periodo vegetativo del mais (es. pesanti concimazioni azotate<sup>18</sup>).

### **1.3.1.3 Sintomi in campo del marciume rosa o rosato**

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 sfumature color lavanda. La muffa si sviluppa sulle cariossidi e tra esse e interessa sia vaste aree, sia piccoli gruppi di cariossidi che cariossidi isolate, sparse lungo la spiga. Sulla granella, in assenza di muffa,

<sup>16</sup> Si stima che gli attacchi di Piralide, favorendo le infezioni di *F. verticillioides*, siano responsabili del 50% e oltre della Fumonisine presente nella granella di mais.

<sup>17</sup> Anche il mais Bt, modificato geneticamente, può dare risultati in questo senso, ma attualmente non è legalmente utilizzabile nel nostro Paese.

<sup>18</sup> Attenzione: un insufficiente apporto di Azoto è causa di stress, indebolisce la pianta e favorisce le infezioni di *F. verticillioides*



Starbust. Sintomi di starbust sulla granella causati da *F. Verticillioides*

Marciume rosa della spiga causato da *F. verticillioides*

può svilupparsi un altro sintomo detto “starbust” che consiste in una fitta serie di striature bianche che si dipartono 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 del grano, consumando i tessuti; in questo modo si formano dei sottilissimi canali nei quali entra aria che interrompe la trasparenza del pericarpo impedendo di vedere lo strato di aleurone giallo sottostante.

Ricordiamo ancora l'infezione endofitica della granella che non provoca alcun sintomo visibile ma è comunque causa di contaminazioni da Fumonisine.

#### 1.3.1.4 Post-raccolta

Da quanto finora esposto appare evidente che i problemi da *Fusarium* si creano in campo e solamente errori grossolani in raccolta e post-raccolta possono accentuarli. La proliferazione del fungo durante lo stoccaggio sarà favorita da:

- trebbiature mal eseguite, che abbiano creato lesioni e rotture alla granella che favoriscono l'infezione;
- soste prolungate prima dell'essiccazione durante le quali i *Fusaria* continuano a svilupparsi;
- umidità di conservazione troppo alta, ricordiamo che il 18% di umidità rap-



presenta il limite minimo poco oltre il quale possono già iniziare attacchi da parte di *F. verticillioides*<sup>19</sup>.

### **1.3.2 Marciumi rossi, *Fusarium graminearum*, DON e Zearalenone**

#### **1.3.2.1 Influenza della temperatura e dell'umidità**

*F. graminearum* è favorito da temperature leggermente più fresche; per esso infatti, l'optimum si colloca tra i 24 e i 26 °C e cresce male sopra i 35 °C.

È anche più esigente per quanto riguarda l'umidità rispetto al *F. verticillioides* e richiede una  $a_w$  minima di 0,9 per poter crescere.

La maggior sintesi di DON nella granella di mais avviene nell'intervallo di temperature tra 21 e 29,5 °C<sup>20</sup> con una umidità alta che deve essere maggiore del 20% o ancor meglio del 22-25%. Questi livelli di umidità sono necessari anche per la produzione dello Zearalenone, che però avviene meglio in un intervallo che comprende temperature anche più fresche: 18-29,5 °C.

Nelle normali condizioni climatiche della Pianura Padana, le proliferazioni di *F. graminearum* non sono attese tutti gli anni, ma solo nelle annate fresche e piovose e soprattutto nelle aree di Nord-Ovest o più settentrionali rispetto al corso del Po. Oltre a ciò, pur essendo le esigenze termo-igrometriche di *F. graminearum* e *F. verticillioides* molto vicine, il secondo dei due si trova maggiormente favorito dal tipico clima della Pianura Padana e riesce a competere con maggiore efficacia, sovrastando lo sviluppo di *F. graminearum*. Solo quando la raccolta del mais viene protratta molto oltre i normali termini e quindi le temperature rinfrescano un po' e aumenta la probabilità di pioggia, si può assistere ad un ribaltamento della situazione e *F. graminearum* si sviluppa più facilmente di *F. verticillioides* che, invece, viene sensibilmente inibito.

In generale, quindi, nel nostro Paese il mais non risulta particolarmente colpito da DON e Zearalenone che solo saltuariamente e localmente raggiungono le concentrazioni limite proposte in questo momento dal Reg. CE 856/2005.

#### **1.3.2.2 Sopravvivenza, dispersione nell'ambiente e modalità d'infezione**

*F. graminearum* viene considerato un patogeno principale del mais poiché ne può causare il marciume dello stocco. Esso, quindi è in grado di attaccare la pianta anche senza che vi siano particolari stati di stress da deficit e trova vantaggio se i tessuti vegetali sono succulenti, con epidermide e cuticola poco ispessiti (es. piante troppo rigogliose).

<sup>19</sup> Come già visto per *Aspergillus*, la produzione di calore e umidità come risultato del metabolismo fungino, favorirà l'allargamento dell'infezione.

<sup>20</sup> È stato notato che anche temperature variabili ciclicamente (es. 14-15 giorni a 25-28 °C seguiti da 20-28 giorni a 12-15 °C) hanno effetto positivo sulla sintesi di DON.



Anche questo fungo è dotato di ottime capacità saprofitarie e si conserva nel terreno sui residui colturali infetti<sup>21</sup>; l'interramento di questi ultimi comporta un sensibile abbattimento dell'inoculo ma non la sua scomparsa: finchè i residui non vengono completamente distrutti (1-3 anni) si può avere dell'inoculo in grado di causare malattia sul mais. Per trarre vantaggio dalle operazioni di interramento, quindi, si dovranno attuare avvicendamenti con piante non sensibili al patogeno in modo che il mais, possibilmente, non ritorni sullo stesso appezzamento prima di tre anni<sup>22</sup>.

I residui di mais infetti, al momento in cui cadono nel terreno, normalmente già ospitano alcune strutture riproduttive<sup>23</sup> del fungo; da queste e dal micelio, con la buona stagione si formeranno diversi tipi di propaguli che verranno disseminati nell'ambiente dai movimenti dell'aria e dagli schizzi di pioggia. In questo modo essi giungono sulle sete e vi germinano originando delle ife che si accrescono fino ad infettare la cariosside in formazione che, successivamente, evolverà il marciume rosso.

In questa fase, le sete risultano maggiormente suscettibili quando sono ancora succulente e "fresche" e le condizioni ambientali sono caratterizzate da temperature fresche e pioggerelline frequenti. Se questo tipo di clima permane dalla fioritura in poi, ci si dovrà aspettare una forte incidenza del marciume rosso della spiga.

Si possono avere anche infezioni tardive che, in questo caso, si stabiliscono preferenzialmente alla base della spiga. Esse accadono quando vi sono piogge intense verso la fine della stagione; in questo caso, soprattutto in ibridi che non reclinano la spiga alla maturità, l'acqua penetra dalla punta della pannocchia e scorrendo tra questa e le brattee si raccoglie alla base della spiga dove crea un micro-ambiente particolarmente favorevole alla malattia. Come già anticipato, la permanenza in campo del mais oltre il necessario, soprattutto in autunni piovosi e non molto rigidi, favorisce fortemente lo sviluppo di *F. graminearum* e l'accumulo di DON e Zearalenone. Per gli stessi motivi discussi per il marciume rosa, ci si aspetta un effetto positivo anche da un anticipo delle semine, dall'impiego di ibridi a ciclo corto e da una corretta concimazione azotata.

<sup>21</sup> Può sopravvivere anche su residui di soia la quale, però, non ne risentirà in modo particolarmente negativo nell'annata successiva. Questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione nel realizzare gli avvicendamenti colturali.

<sup>22</sup> Purtroppo anche i propaguli di *F. graminearum* "volano" e quindi i vantaggi derivanti dall'interramento dei residui colturali saranno ridotti se non attuati su grandi superfici.

<sup>23</sup> Si tratta dei periteci del fungo, fruttificazioni gamiche già presenti in autunno con ascospore non mature; queste matureranno con la buona stagione, eventualmente insieme a macro e micro-conidi, e costituiranno i propaguli che attueranno la disseminazione del fungo.

### 1.3.2.3 Sintomi in campo del marciume rosso

Anche in questo caso gli attacchi si situano con una certa preferenza all'apice della spiga; qui si sviluppa una muffa di colore rosa carico ma molto più frequentemente e tipicamente, rosso intenso, quasi vinoso.



Marciume rosso della spiga causato da *F. graminearum*

Evoluzione del marciume rosso. Notare l'intenso colore rosso-vinoso della muffa (micelio)

Se l'infezione ha preso l'avvio precocemente la spiga può essere completamente colpita e il micelio, crescendo sulle cariossidi, tra di esse, tra la spiga e le brattee e sulle brattee stesse, salda il tutto strettamente insieme in un unico ammasso. Sulla superficie di questo possono formarsi le fruttificazioni gamiche del fungo (periteci) che appaiono come corpi rotondeggianti molto piccoli e di colore nero.

*F. graminearum* può causare marciume dello stocco, malattia importante che in questa sede non viene trattata.

### 1.3.2.4 Post-raccolta

Vale quanto già esposto per i marciumi da *F. verticillioides*.

### 1.3.2.5 Fattori che favoriscono lo sviluppo dei Fusaria e possibilità di controllo

Come si è visto, gli attacchi da *F. verticillioides* dipendono molto dal clima e dalla presenza di stress; questi ultimi possono essere causati da fattori che variano in relazione all'area geografica, all'annata, all'intensità di attacco della Piralide o altri parassiti e alla tecnica colturale impiegata. I diversi ibridi sono adattati in modo diverso ai nominati fattori, pertanto, sebbene non si possa parlare in senso stretto di ibridi specificamente resistenti al marciume rosa della spiga, la scelta delle varietà meglio adatte al luogo e alle tecniche di coltivazione adottate può dare risultati positivi. Oltre alla diversa suscettibilità delle varietà a granella con frattura vitrea o farinosa, sono comunque note alcune caratteristiche morfologiche vantaggiose quali:

- cariossidi con pericarpo spesso e amido compatto;
- spiga che non rimane eretta a maturità;



- brattee strettamente avvolgenti la spiga, caratteristica che frena le infezioni di *F. verticillioides* ma purtroppo favorisce quelle di *F. graminearum*.

Un'efficace lotta contro la Piralide è essenziale per contenere le infezioni di *F. verticillioides* e le contaminazioni da Fumonisine.

Lo sviluppo di marciumi rossi, come si è detto, è favorito da condizioni climatiche fresche e piovose che si verificano dalla fioritura in poi.

*F. graminearum* è un patogeno principale del mais ed esistono degli ibridi ad esso tolleranti, ma questo carattere interessa soprattutto il marciume dello stocco. Esistono fonti di resistenza anche per il marciume rosso della spiga ma non sono molto diffuse nell'ambito delle varietà commercializzate, pertanto, anche in questo caso, per contenere il marciume della spiga si dovranno scegliere gli ibridi più adatti all'ambiente di coltivazione e seguire al meglio le buone pratiche di coltivazione.

Oltre a quanto detto, per entrambi i funghi potranno essere utili molti dei suggerimenti già dati per l'*Aspergillus*:

- realizzare una buona sistemazione idrica dei terreni;
- attuare l'avvicendamento con colture non suscettibili ai *Fusaria*;
- lavorare il terreno opportunamente e in modo da interrare i residui colturali;
- concimare in modo equilibrato e adeguato alla fertilità del terreno, alla disponibilità d'acqua e alle esigenze dell'ibrido scelto; non esagerare con l'azoto (vedi anche nota 18);
- mantenere la coltura il più possibile pulita dalle malerbe;
- scegliere ibridi resistenti agli stress idrici e termici, adatti all'ambiente di coltura e con precocità tale che possano essere raccolti prima che le condizioni climatiche diventino estremamente favorevoli per i *Fusaria*;
- scegliere l'epoca di semina in modo che il mais possa essere raccolto prima possibile;
- scegliere investimenti che evitino gli stress da competizione;
- irrigare, soprattutto nella fase di riempimento della cariosside ma, se possibile, ogni volta che si temono stress idrici per la pianta, anche di breve periodo;
- per contenere le infezioni di *F. verticillioides* e l'accumulo di Fumonisine lottare contro la Piralide (NB: questo non ha grande effetto contro *F. graminearum* e le sue tossine);
- eseguire il raccolto con umidità della granella non troppo bassa con trebbiatrici ben regolate e pulite;
- essiccare il più presto possibile dopo la raccolta, evitando soste di giorni sul piazzale;
- non essiccare a temperature troppo elevate, soprattutto la granella meno umida;



- applicare le corrette pratiche di stoccaggio precedentemente discusse.

Vi è anche la possibilità di controllo biologico di *F. verticillioides* attraverso l'impiego dell'endofita *Acremonium zeae*, lo stesso già visto per *A. flavus*, ma per il momento non vi sono sviluppi di pratica utilità.

Si ricorda infine che, dato il citato antagonismo tra *F. verticillioides* e *F. graminearum*, vi è in genere concorrenza tra il marciume rosa e quello rosso della spiga.

## 1.4 *Penicillium* e Ocratossine

Il genere *Penicillium* comprende svariate specie produttrici di più tipi di micotossine ma, limitando l'esame a ciò che riguarda il mais, è sufficiente considerare solo *Penicillium verrucosum* che su questa pianta può provocare contaminazioni da Ocratossina A.

### 1.4.1 *Penicillium verrucosum* e Ocratossina A

*P. verrucosum* è l'unica specie del genere *Penicillium* ritenuta in grado di produrre Ocratossina A; è fondamentalmente un fungo "da conservazione" e nei nostri ambienti non viene considerato un vero e proprio patogeno del mais.

### 1.4.2 Influenza della temperatura e dell'umidità

Questo fungo è caratterizzato da una crescita lenta e può svilupparsi tra 0 e 31 °C, con un optimum di 20 °C; è anche in grado di tollerare bene condizioni relativamente asciutte, riuscendo a svilupparsi con  $a_w$  di 0,80. L'Ocratossina A viene sintetizzata in tutto l'intervallo di temperature citato e quantità significative di questa tossina si possono produrre già a 4 °C e  $a_w$  prossima a 0,86. Poiché *P. verrucosum* cresce a basse temperature, esso risulta maggiormente presente nei Paesi a clima temperato-fresco e infatti è diffuso nei cereali coltivati nell'Europa Centrale e Settentrionale e nel Canada. Non si trova quasi mai nelle principali aree maidicole del nostro Paese e, se compare, non è in campo ma tipicamente nel post-raccolta; per tali motivi nella granella di mais nazionale difficilmente si riscontrano contaminazioni di rilievo da Ocratossina A.

### 1.4.3 Sopravvivenza, dispersione nell'ambiente, modalità d'infezione, post-raccolta e sintomi

*P. verrucosum* è dotato di ottime capacità saprofitarie, pertanto può sopravvivere nei residui colturali nel terreno e anche nella sporcizia che può accumularsi in locali e strutture di conservazione, essendo favorito in questo anche dalla sua resistenza alle basse temperature e tolleranza alla scarsa umidità. Appena le condizioni climatiche lo permettono produce una gran massa di



Marciume verde della spiga da *Penicillio*

conidi leggeri e secchi che vengono facilmente diffusi nell'ambiente dai movimenti dell'aria; se questi propaguli giungono sulla spiga trovandosi delle lesioni (danni da grandine, insetti ecc.) possono germinare e infettare le cariossidi provocandone il marciume. Questo, generalmente, è situato in aree poste nella parte apicale della spiga. Qui si sviluppa una muffa finemente polverulenta, di colore grigio-verde o grigio-verde con sfumature bluastre, che cresce sulle cariossidi e tra esse, arrivando fino al tutolo che assume le medesime colorazioni verdastre. Le cariossidi attaccate possono anche presentarsi di colore stinto e con striature sbiancate.

Questo fungo può svilupparsi in post-raccolta su granella lesionata e conservata ad umidità maggiore del 15-18%; in questo caso se il *Penicillio* invade l'embrione, può svilupparsi su esso causandone una colorazione anomala, blu-verdastra, che per trasparenza diviene visibile dall'esterno e viene detta "Blue eye" (Occhio blu)<sup>24</sup>.

Nei nostri ambienti marciumi della spiga confondibili con quelli appena descritti derivano molto più frequentemente da altre specie non produttrici di Ocratossina A; tra queste si segnala *P. oxalicum* che, diversamente dagli altri *Penicillia*, è favorito dal caldo.

#### 1.4.4 Fattori che favoriscono lo sviluppo dei *Penicillia* e possibilità di controllo

Come è già stato detto, nei nostri ambienti non sono attese in campo forti infezioni da *P. verrucosum*; comunque, le attenzioni nella scelta e coltivazione dell'ibrido, già esposte in precedenza, sono opportune anche in questo caso. Una particolare cura si dovrà porre nelle fasi di raccolta, essiccazione e stoccaggio in modo da evitare il più possibile di lesionare la granella e la formazione di accumuli, anche localizzati, di umidità.

<sup>24</sup> Il sintomo del Blue eye può essere causato anche da *Aspergillus glaucus*, un fungo che può svilupparsi sulla granella anche con umidità del 14,5%.

## Riassumendo...

### Principali caratteristiche dei funghi tossigeni

#### Aspergilli

- *A. flavus*, *A. parasiticus*: producono aflatossine
- condizioni favorevoli allo sviluppo: clima caldo-umido (90-98% U.R.), scarsa piovosità nel corso della stagione vegetativa del mais.
- sintomi: muffa di aspetto granuloso e di colore verdastro sulle spighe infette e sul tutolo.
- possibilità di controllo: evitare tutti i fattori che favoriscono stress idrici (irrigare da post-floritura in poi), lo sviluppo di infestanti e carenze o eccessi nutrizionali; scegliere ibridi resistenti agli stress idrici e termici; anticipare correttamente l'epoca di semina; raccogliere, essiccare e stoccare la granella a umidità adeguata.

#### Fusaria:

- *F. verticillioides*, *F. proliferatum* e *F. subglutinans*: producono fumosine
  - condizioni favorevoli allo sviluppo: clima mite, non troppo fresco, attacchi di Piralide.
  - sintomi: marciume rosa sulla parte apicale della spiga; starbust sulla granella.
  - possibilità di controllo: scegliere ibridi adatti all'ambiente e alle tecniche di coltivazione, preferire le varietà a ciclo breve e eseguire semine tempestive; rispettare le buone pratiche agricole, lotta alla Piralide; in fase di raccolta e post-raccolta, evitare lesioni alla granella, soste prolungate prima dell'essiccazione e umidità di conservazione superiore al 18%.
- *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides* e *F. poae*: producono tricoteceni
  - condizioni favorevoli allo sviluppo: clima fresco e piovoso.
  - sintomi: marciume di colore rosso intenso sulla parte apicale della spiga; possibili fruttificazioni gamiche del fungo, di colore nero.
  - possibilità di controllo: scegliere ibridi adatti all'ambiente di coltivazione e non troppo tardivi, eseguire al meglio le buone pratiche agricole.

#### Penicilli

- *P. verrucosum*: produce ocratossina A
  - condizioni favorevoli allo sviluppo: clima fresco-temperato.
  - sintomi in campo: marciume verde; in post-raccolta, colorazione blu-verdastra su granella lesionata.
  - possibilità di controllo: oltre al rispetto delle buone pratiche di coltivazione, evitare la formazione di accumuli di umidità nella fasi di raccolta, essiccazione e stoccaggio.