

## Effetto del genotipo e del trattamento antipiralide sulla contaminazione da specie afferenti al clade *Gibberella fujikuroi* in mais coltivato in Lombardia

G. Venturini\*, G. Assante, L. Babazadeh, D. Salomoni, S. L. Toffolatti, A. Vercesi

Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione Territorio Agroenergia (DISAA-PTA), Università degli Studi di Milano, Via G. Celoria 2, 20133, Milano.

\*E-mail: [giovanni.venturini@unimi.it](mailto:giovanni.venturini@unimi.it)

### Abstract

Fusarium ear rot (FER) of maize is caused by *Fusarium* species belonging to *Gibberella fujikuroi* species complex (GFC) well known as fumonisin (FUM) producers. European corn borer (ECB), the most common maize pest in northern Italy, favors the infection of maize by GFC strains. Since ECB control is not completely effective in lowering fumonisin contamination, additional preventive means, such as increased maize resistance, are required in order to assure a more effective protection. Flavonoids in maize pericarp seem to be able to reduce the fumonisin accumulation. The goal of this study was to assess the effect of flavonoids associated with insecticides on ECB and FER rating under field conditions in Lombardy. Two maize hybrids were sown in 2011 and 2012, one hybrid characterized by the presence of flavonoids in pericarp and the other without pigmentation. The ECB damage incidence, frequency of FER, together with the incidence of GFC strains and FUM in kernels, were assessed in each genotype. In 2012, the ECB control associated with flavonoids presence reduced all the measured parameters except FUM contamination. FUM contamination seemed to be more influenced by the local GFC population and the environment rather than pesticides and pericarp pigmentation.

### Riassunto

Le fumonisine (FUM), frequentemente rilevate nel mais coltivato in Italia settentrionale, sono micotossine prodotte principalmente da specie afferenti al clade *Gibberella fujikuroi* (GFC) ed in particolare da *Fusarium verticillioides* e *F. proliferatum*. Diversi Autori riportano che sia la colonizzazione da parte del fungo sia la biosintesi di FUM potrebbero essere influenzati dalla presenza nel pericarpo di diverse sostanze, per lo più di natura fenolica, costitutive o formate *de novo* durante la maturazione delle cariossidi. In questo studio è stato valutato l'effetto sia della presenza di flavonoidi sia del trattamento antipiralide sulla diffusione dei danni da piralide (ECB) e della fusariosi rosa della spiga (FER), sulla contaminazione da GFC e sull'accumulo di FUM, in due ibridi di mais coltivati in Lombardia, caratterizzati rispettivamente dalla presenza o assenza di detti composti. I rilievi effettuati hanno evidenziato che la diffusione dei danni da ECB e della FER così come l'infezione da GFC nelle cariossidi mature sono fortemente dipendenti dalle condizioni ambientali e che l'accumulo di fumonisine sembra maggiormente influenzato dalle caratteristiche della popolazione di GFC riscontrata in campo piuttosto che dalla presenza di flavonoidi e dal trattamento antipiralide.

### Introduzione

Tra le specie afferenti al clade *G. fujikuroi* (GFC) si annoverano gli agenti eziologici della fusariosi rosa della spiga di mais (FER), malattia diffusa in tutti gli areali italiani di coltivazione del mais. In Europa meridionale l'incidenza della FER è strettamente correlata alle lesioni dovute ad insetti, in primo luogo alla piralide (*Ostrinia nubilalis*, ECB) (Bakan *et al.* 2002). Per limitare la FER e l'accumulo di fumonisine (FUM) prodotte in particolare da *F. verticillioides* e *F. proliferatum*, afferenti a GFC, in genere si ricorre a pratiche colturali, a trattamenti nei confronti di ECB e ad ibridi dotati di minore suscettibilità. Flavonoidi e

composti antiossidanti presenti nel pericarpo delle cariossidi sono risultati associati ad una riduzione della contaminazione da FUM (Pilu *et al.* 2011; Sampietro *et al.* 2013). L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare l'effetto di tali composti e del trattamento nei confronti di ECB sull'incidenza dei danni da ECB, della FER e sull'accumulo di FUM in due ibridi di mais: il primo ricco di flavonoidi ed il secondo caratterizzato da un ridotto contenuto di tali sostanze.

### **Materiali e metodi**

Due ibridi di mais, differenti per la presenza di flavonoidi e nel testo indicati come Giallo e Rosso, sono stati seminati nel mese di aprile 2011 e 2012 in quattro campi sperimentali della Lombardia, situati rispettivamente nei comuni di Albairate (MI), Arcene (BG), Olmo (LO), Landriano (PV, solo nel 2011) e Rodigo (MN, solo nel 2012) su 4 parcelle di 12 x 2,8 metri, ognuna suddivisa in 4 ripetizioni, con una densità di semina globale pari a 7-7,5 piante per m<sup>2</sup> e con una distanza di semina sulla stessa fila pari a 0,18 m. Ogni parcella è costituita da quattro file di piante con una distanza tra le file pari a 0,7 m. Sono state campionate le due file centrali di ogni parcella per minimizzare l'effetto bordo visto che le parcelle erano contigue. I campi sono stati sottoposti alle medesime condizioni agronomiche di concimazione, irrigazione e trattamenti erbicidi. Un solo trattamento insetticida è stato effettuato mediante un'unica applicazione di Coragen<sup>®</sup> (Du Pont de Nemours, 150 mL/ha) e Karate Zeon<sup>®</sup> 1.5 (Syngenta Crop Protection, 200 mL/ha) in miscela alla fase di fine fioritura (primi di agosto) su due delle quattro parcelle per campo (trattate, T), mentre le altre due parcelle servivano come testimone non trattato (NT).

I danni per gli attacchi da ECB (ECBd) sono stati quantificati utilizzando la % di spighe mostranti lesioni così come la diffusione della FER (FERd) è stata valutata utilizzando la % di spighe con sintomi di marciume rosa, aventi cioè cariossidi ricoperte da micelio bianco tendente al rosa. I parametri sono stati misurati su 200 spighe per parcella.

Le infezioni latenti di GFC sono state valutate ponendo 200 semi per parcella sterilizzati superficialmente su agar patata a mezza forza (mPDA). Dopo 5 giorni di incubazione a 24°C, i ceppi afferenti a GFC sono stati identificati secondo criteri morfologici (Leslie e Summerell, 2006) e i risultati sono stati espressi come % di cariossidi infette da GFC (GF). Le FUM presenti sulla granella (mg kg<sup>-1</sup>) (1 kg/ripetizione) sono state quantificate utilizzando il kit immunoenzimatico RIDASCREEN<sup>™</sup> Fumonisin (R-Biopharm).

Tutte le analisi statistiche sono state effettuate mediante il software SPSS Statistics, versione 20.0 (SPSS Inc.).

### **Risultati e discussione**

Per quanto riguarda la diffusione dei danni da ECB, indicati nelle colonne ECBd della Tab.1, in entrambi gli anni presi in esame le infestazioni da parte del parassita sono risultate significativamente più contenute nelle parcelle seminate a mais rosso trattate (Rosso T) rispetto a quanto osservato nelle parcelle a mais giallo non trattate (Giallo NT). Le altre parcelle seminate a mais rosso non trattato (Rosso NT) e a mais giallo trattato (Giallo T) hanno dato risultati non differenti statisticamente per quanto i danni da ECB, presentando nel 2011 danni equivalenti a quelli rilevati su mais Giallo NT e nel 2012 valori intermedi tra quelli registrati su mais Rosso T e su mais Giallo NT. I risultati ottenuti evidenziano che lesioni da ECB sono state più estese nel 2012 rispetto al 2011. Si può evincere che quando l'infestazione da parte dell'insetto è meno consistente a causa di condizioni ambientali sfavorevoli, come è avvenuto nell'anno 2011, il trattamento antipiralide indipendentemente dal maggior contenuto di sostanze fenoliche nel pericarpo è in grado di garantire un soddisfacente contenimento dei danni da ECB. Quando al contrario l'infestazione della spiga

è ragguardevole, come nel 2012, il trattamento antipiralide associato ad un genotipo con pericarpo colorato garantisce una migliore protezione nei confronti di ECB. Molto probabilmente una razionale applicazione di protocolli di difesa chimica nei confronti di ECB potrebbe favorire un miglior contenimento dei danni come già riportato da diversi Autori (Blandino *et al.* 2010; Mazzoni *et al.* 2011).

Parcella	2011				2012			
	ECBd (%)	FERd (%)	GF (%)	FUM (mg kg <sup>-1</sup> )	ECBd (%)	FERd (%)	GF (%)	FUM (mg kg <sup>-1</sup> )
Giallo NT <sup>a</sup>	62,8 b	28,9	29,4	1,4	89,8 b	51,9 b	48,1 b	2,8
Giallo T	60,4 ab	27,0	21,8	2,5	81,3 ab	40,9 ab	45,3 b	3,7
Rosso NT	61,3 b	30,6	32,2	2,2	84,1 ab	30,4 a	44,2 b	2,6
Rosso T	43,6 a	31,5	42,0	1,4	71,5 a	27,0 a	27,5 a	3,6

**Tabella 1.** Diffusione dei danni da piralide (ECBd), della fusariosi rosa della spiga (FERd), incidenza delle infezioni latenti da GFC nelle cariossidi (GF) e contaminazione da fumonisine (FUM) nelle parcelle seminate coi due ibridi di mais nel 2011 e nel 2012. All'interno della medesima colonna, le medie contrassegnate dalla stessa lettera indicano valori significativamente non differenti per  $P < 0,05$  (test REGW-F). La mancanza di lettere indica l'assenza di differenze significative.

<sup>a</sup> Giallo NT: parcelle di mais senza flavonoidi nel pericarpo non trattate con insetticidi; Giallo T: parcelle di mais senza flavonoidi nel pericarpo trattate con insetticidi; Rosso NT: parcelle di mais con flavonoidi nel pericarpo non trattate con insetticidi; Rosso T: parcelle di mais con flavonoidi nel pericarpo trattate con insetticidi.

La diffusione di FER sulle spighe delle diverse parcelle, indicata in Tabella 1 nella colonna FERd, è risultata analoga nel 2011, mentre l'anno successivo differenze significative sono state registrate tra le parcelle Giallo NT e quelle Rosso T e NT. I dati hanno evidenziato una correlazione significativamente positiva tra la diffusione di ECB e della FER (coefficiente di correlazione  $\rho$  di Spearman pari a 0,848 con  $P < 0,001$ ). Nel 2012, la maggior presenza di sostanze fenoliche nel pericarpo delle cariossidi ha contribuito efficacemente a limitare la diffusione della FER (Tab.1). Questi dati confermano l'ipotesi che in presenza di condizioni particolarmente favorevoli all'insorgenza della FER, clima caldo e secco in fase di riempimento delle cariossidi, l'accumulo di sostanze fenoliche nel pericarpo possa essere un fattore inibente la diffusione della malattia (Sampietro *et al.* 2013).

Le % di cariossidi interessate da infezioni latenti da parte di ceppi di GFC, indicate in Tabella 1 sotto la colonna GF, rilevate nelle diverse parcelle, non hanno presentato differenze significative nel 2011 e sono risultate invece inferiori statisticamente nelle parcelle di mais Rosso T nel 2012. L'analisi statistica ha inoltre individuato deboli correlazioni positive di GF sia con i danni da ECB ( $\rho = 0,290$ ;  $P < 0,001$ ) sia con la diffusione della FER ( $\rho = 0,348$ ;  $P < 0,001$ ). Tutti i dati ottenuti confermano la capacità di GFC di svilupparsi endofiticamente senza dar luogo a FER su tutte le cariossidi contaminate (Munkvold *et al.* 1997).

La complessità delle interazioni tra GFC e mais è evidente anche per quanto riguarda la contaminazione da FUM. I dati riportati in Tab.1 mostrano che la contaminazione dovuta a FUM è disomogenea all'interno delle parcelle al punto da non consentire di effettuare un'adeguata analisi statistica dei dati (Tab. 1). I valori della micotossina non risultano correlabili significativamente né a FER né a GF. Ulteriori indagini dovranno essere effettuate per evidenziare l'effettivo ruolo delle componenti fenoliche del pericarpo nell'aumentare la qualità e la sicurezza della granella di mais.

## **Ringraziamenti**

Il presente lavoro è stato finanziato da Regione Lombardia - Fondo per la promozione di accordi istituzionali, progetto BIOGESTECA 15083/RCC “Piattaforma di biotecnologie verdi e di tecniche gestionali per un sistema agricolo ad elevata sostenibilità ambientale”.

## **Bibliografia**

Bakan B., Melcion D., Richard-Molard D., Cahangier B. 2002. Fungal growth and *Fusarium* mycotoxin content in isogenic traditional maize and genetically modified maize grown in France and Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 728-731.

Blandino M., Peila A., Reyneri A. 2010. Timing clorpirifos+cypermethrin and indoxacarb applications to control European corn borer damage and fumonisin contamination in maize kernels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 521–529.

Leslie J. F e Summerell B. A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

Mazzoni E., Scandolaro A., Giorni P., Pietri A., Battilani P. 2011. Field control of *Fusarium* ear rot, *Ostrinia nubilalis* (Hubner), and fumonisins in maize kernels. *Pest Management Science*, 67, 458–465.

Munkvold G. P., McGee D. C., Carlton W. M. 1997. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology*, 87, 209-217.

Pilu R., Cassani E., Sirizzotti A., Petroni K., Tonelli C. 2011. Effect of flavonoid pigments on the accumulation of fumonisin B<sub>1</sub> in the maize kernel. *Journal of Applied Genetics*, 52, 145-152.

Sampietro D. A., Fauguel C. M., Vattuone M. A., Presello D. A., Catalan C. A. N. 2013. Phenylpropanoids from maize pericarp: resistance factors to kernel infection and fumonisin accumulation by *Fusarium verticillioides*. *European Journal of Plant Pathology*, 135(1), 105-113.