

Miglioramento degli standard qualitativi delle produzioni dei seminativi

INTRODUZIONE

In termini generali, la qualità delle produzioni agricole rappresenta oggi-giorno uno dei requisiti maggiormente richiesti da un mercato maturo ed evoluto, quale è quello italiano. Da sempre poi, il settore produttivo ha dovuto confrontarsi con le specifiche richieste di qualità dell'industria di trasformazione e commercializzazione dei prodotti agricoli. Merita comunque sottolineare che non è disponibile, sia nella letteratura scientifica che nei prontuari di produzione, una definizione univoca e omnicomprensiva del termine qualità.

Nell'ambito delle produzioni agricole diversi aspetti possono essere considerati per definire il concetto di qualità. La qualità può quindi riferirsi ad aspetti sanitari, tecnologici e funzionali. Per le diverse colture industriali diversi sono i concetti considerati per definire e garantire la qualità dei prodotti ottenuti dalle attività agricole. Molti di questi sono stati valutati anche dall'attività del miglioramento genetico per garantire la riduzione di alcune caratteristiche negative e aumentare quelle positive. Molte sono quindi le considerazioni da fare nella trattazione di questo capitolo che verrà sviluppato secondo interventi relativi ad alcune caratteristiche comuni per diverse colture vegetali.

* *Dipartimento di Scienze delle Produzioni vegetali del Suolo e dell'Ambiente agroforestale (DiPSA), Università degli Studi di Firenze*

** *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali (DiSTA), Università di Bologna*

QUALITÀ TECNOLOGICHE

Molti studi sono stati condotti per definire come gli interventi agricoli e di miglioramento genetico possono influire sulle qualità tecnologiche dei cereali. Nel frumento è di particolare importanza la quantità e la qualità delle proteine di riserva, responsabili delle qualità reologiche delle farine. Due sono le specie di frumento più coltivate e precisamente il frumento tenero (*Triticum aestivum* L.) e il frumento duro (*T. turgidum* L. var *durum*). Le due specie differiscono per la struttura genomica (esaploide la prima e tetraploide la seconda), per le proprietà della granella e infine per le caratteristiche e l'uso dei prodotti derivati. Il frumento tenero è utilizzato prevalentemente per la produzione di pane e biscotti, mentre il frumento duro è destinato prevalentemente alla produzione di pasta. Questa differenziazione non è sempre valida, si può infatti ottenere dell'ottimo pane anche da alcune varietà di frumento duro e della pasta dal frumento tenero con l'aggiunta di uova come legante.

Diversi sono i tipi i classificazione del frumento: in base alla durezza della cariosside (soffice, semidura e dura), in base al colore della cariosside (bianca, ambra e rossa), in base all'habitus (primaverile e invernale).

Qualità della cariosside

La durezza della cariosside è conseguenza del modo in cui le diverse componenti della cariosside risultano impacchettate all'interno delle cellule della cariosside. È spesso riportata come la forza necessaria a rompere la cariosside e ridurla in fini particelle (farina e semola). La durezza della cariosside sembra essere influenzata dalla presenza di alcune proteine, le friabiline (Oda e Schofield, 1997). Quando queste proteine si trovano associate ai granuli di amido, come nel frumento tenero, si ha una riduzione della durezza della cariosside; mentre se non sono associate, come nel frumento duro, si ha una cariosside dura. Le sequenze aminoacidiche N-terminali hanno evidenziato che le friabiline sono composte da due proteine denominate puroindoline (PinA e PinB) (Greenwell, 1992; Jolly et al., 1993; Gautier et al., 1994; Morris et al., 1994; Oda e Schofield, 1997; Morris, 2002). I geni *pinA* e *pinB* sono localizzati sul braccio corto del cromosoma 5D (5DS) e la presenza di friabiline associata con la caratteristica della durezza della cariosside sono linked (Sourdille et al., 1996; Giroux e Morris, 1997).

L'amido è il composto più abbondante, costituisce infatti il 70-75% del peso secco della cariosside. L'amido, nelle sue due componenti amilosio e

amilopectina, influenza la capacità della farina di assorbire acqua durante l'impasto, il tempo di lievitazione dell'impasto, la conservabilità (tempo di rafforzamento), la tessitura e l'uniformità della mollica. Tutte queste qualità sono proprio associate alla percentuale di granuli di amido danneggiati durante le fasi di molitura, maggiore è il danneggiamento dei granuli di amido e maggiore sarà la quantità di acqua assorbita. La presenza di una certa percentuale di granuli danneggiati nella farina è considerata una caratteristica positiva per ottenere un pane di qualità, mentre è considerata negativa nella produzione di biscotti. Le caratteristiche dell'amido dipendono anche dai rapporti tra amilosio e amilopectina, le due componenti dell'amido. Generalmente l'amilosio (catena lineare di glucosio legame 1-4) costituisce il 20-25% dell'amido, mentre il complemento a cento è costituito dall'amilopectina (polimero di glucosio con legame 1-4 e ramificazioni 1-6). Il rapporto amilosio amilopectina è controllato geneticamente da una serie di geni *waxy* che codificano per alcune proteine definite Granular Bound Starch Synthase (GBSS), che sono predisposte per la sintesi dell'amilosio. I geni *waxy* si trovano sui cromosomi 7A, 4A e 7D.

Le proteine dell'endosperma costituiscono il 7-18% del peso secco della cariosside e sono formate per il 10-15% da albumine e globuline e per il resto da proteine di riserva: gliadine e glutenine. Le gliadine sono proteine monometriche mentre le glutenine sono polimeriche e formano legami disolfuro tra le diverse sub unità. Entrambe queste proteine costituiscono il glutine, quindi sono molto importanti nel determinare le qualità tecnologiche delle farine. Le glutenine, attraverso la formazione di polimeri proteici, determinano l'elasticità dell'impasto, mentre le gliadine, con la loro struttura globulare, conferiscono la viscosità al glutine (Shewry e Tatham, 1997). Per avere un buon impasto, sia per la produzione di pane che di pasta, sono importanti la quantità di proteine e la loro qualità. Il contenuto di proteine è determinato da fattori genetici multi fattoriali che sono fortemente influenzati dall'ambiente, dall'andamento climatico e dalla conduzione agronomica. La qualità delle proteine è invece un carattere a controllo genetico semplice con loci con allelismo multiplo. L'interazione tra i diversi alleli dei loci predisposti alla sintesi delle gliadine e delle glutenine e la quantità proteica determinano tutta la serie delle diverse qualità del glutine responsabili delle proprietà delle farine e delle semole. I geni che controllano la sintesi delle proteine di riserva sono localizzati sui cromosomi 1 e 6 di tutti i genomi presenti nel frumento (A e B nel frumento duro e A, B e D nel frumento tenero). Le glutenine si suddividono in due frazioni: quelle ad alto peso molecolare (HMW) e quelle a basso peso molecolare (LMW); i geni predisposti per la loro sintesi sono: *Glu-A1*,

PROTEINE	CROMOSOMA			LOCUS		
GLIADINE						
γ e ω	1AS	1BS	1DS	<i>Gli-A1</i>	<i>Gli-B1</i>	<i>Gli-D1</i>
α e β	6AS	6BS	6DS	<i>Gli-A2</i>	<i>Gli-B2</i>	<i>Gli-D2</i>
GLUTENINE						
LMW	1AS	1BS	1DS	<i>Glu-A3</i>	<i>Glu-B3</i>	<i>Glu-D3</i>
HMW	1AL	1BL	1DL	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>

Tab. 1 *Controllo genetico delle proteine del glutine*

CONTENUTO DEL PIGMENTO	BUONA QUALITÀ	MEDIA QUALITÀ
Estrazione di β -carotene (ppm/s.s.)	> 5	3-5
Indice di giallo metodo colorimetrico	> 23,5	19,0-23,0

Tab. 2 *Valutazione dell'indice di giallo*

Glu-B1 e *Glu-D1* per le HMW e *Glu-A3*, *Glu-B3* e *Glu-D3* per le LMW (tab. 1). La frazione delle glutenine ad alto peso molecolare HMW è stata associata alla forza dell'impasto e quindi alle qualità panificatorie delle farine (Payn, 1987), mentre la frazione a basso peso molecolare LMW determina le qualità visco-elastiche dell'impasto. L'influenza delle gliadine sulla qualità del glutine, non è stata ancora del tutto chiarita. Le gliadine, in base alla loro mobilità elettroforetica, sono state suddivise in α , β , γ e ω gliadine (tab 1). Le frazioni γ e ω sono codificate da geni *Gli-A1* e *Gli-B1* e *Gli-D1* localizzati sui bracci corti dei cromosomi 1 dei genomi A, B e D (A1S, B1S e D1S); mentre le frazioni α e β sono codificate da geni *Gli-A2*, *Gli-B2* e *Gli-D2* localizzati sui bracci corti dei cromosomi 6 di tutti e tre i genomi del frumento tenero e dei due genomi nel frumento duro (tab 1). Nel frumento duro è stata trovata un'associazione tra due alleli della frazione γ e precisamente la componente γ -45 associata positivamente con la buona qualità del glutine e la γ -42 associata con le qualità negative del glutine. Questa associazione comunque non dipende direttamente dalle componenti gliadiniche ma dal fatto che queste due varianti sono codificate da geni *Gli-B1* associati geneticamente con il locus *Glu-B3* che presenta alleli delle LMW direttamente responsabili della qualità del glutine (Payn et al., 1984).

Un altro carattere che negli ultimi anni è sempre più considerato indice di buona qualità del frumento duro è il colore della semola (indice di giallo), dovuto alla presenza nell'endosperma di pigmenti gialli come la xantofilla e la luteina. L'indice di giallo è valutato in base all'estrazione di beta carotene e alla sua valutazione con spettrofotometro (Ugarcic-Hardi et al., 1999) o

con metodo colorimetrico. Nella tabella 2 sono riportati i valori in base alla valutazione della semola.

Attività enzimatica

L'attività α -amilasica è associata alla qualità dell'impasto per la produzione del pane, idrolizza l'amido e questo determina una diminuzione delle qualità dell'impasto che va incontro a perdita di integrità. Questa capacità viene misurata mediante il tempo di caduta (*falling number*). Maggiore è il tempo in cui l'impasto rimane integro e migliore sarà la proprietà panificatoria, dato che le α -amilasi hanno una minore attività. L'attività delle α -amilasi è associata alle precipitazioni che si verificano nei giorni antecedenti la raccolta, queste infatti possono stimolare la germinazione della cariosside con conseguente attivazione degli enzimi predisposti allo sviluppo dell'embrione.

Altri enzimi importanti sono quelli responsabili dell'imbrunimento dell'impasto, soprattutto per la produzione di pasta fresca, legati all'attività delle polifenolo ossidasi (PPO) localizzate negli strati esterni della crusca, che trasformano i fenoli in polifenoli determinando così la colorazione scura della pasta fresca di tipo integrale. Un altro enzima è la lipossigenasi (LOX) che determina, attraverso l'ossidazione della luteina, la diminuzione della colorazione gialla durante la preparazione della pasta.

Resa in semola

Dalla molitura delle cariossidi si ottengono farina e semola rispettivamente dal frumento tenero e duro. La durezza della cariosside influenza molto la resa in semola e anche i maggiori o minori danni ai granuli di amido. Nel caso del frumento duro i granuli di amido vengono maggiormente danneggiati durante le fasi di molitura rispetto al frumento tenero. La produzione di semola è circa il 60-65%. La resa in semola è funzione del contenuto di ceneri, il peso specifico delle cariossidi e il contenuto proteico. Altra caratteristica da considerare nella qualità del frumento è la volpatura, determinata da particelle scure dovute alla presenza sulla cariosside di alcuni patogeni come *Bipolaris* spp. e *Alternaria* spp., che disperdono puntini neri nella semola. La presenza di cariossidi bianconate o parzialmente bianconate determina la diminuzione della resa in semola, in quanto la frattura della cariosside risulta farinosa e non vitrea determinando così la produzione di farina e non di semola.

TIPO O SUB-SPECIE	CARATTERISTICHE	UTILIZZO
Mais everta	Semi piccoli con endosperma vitreo e ricco di proteine.	Pop-corn.
Mais indurata	Cariossidi grandi rotondeggianti, vitree nella parte esterna dell'endosperma e farinose internamente.	Alimentazione umana.
Mais indentata	Cariossidi leggermente schiacciate con una depressione sul dorso. Molto produttivo.	Alimentazione animale.
Mais saccharata	Cariosside ricca di zuccheri solubili con poco amido. A maturità la cariosside diventa grinzosa.	Raccolto alla maturazione latteosa, è utilizzato come ortaggio nell'alimentazione umana. Viene anche inscatolato per conservarlo fresco.
Mais amilacea	Amido composto prevalentemente da amilosio.	Estrazione di amido
Mais ceratina	Mais ceroso, l'amido è composto prevalentemente da amilopectina.	Estrazione di amido

Tab. 3 *Tipi di mais*

Produzione di farina

Dalla molitura del frumento tenero si ottiene la farina per la produzione di pane e biscotti. Cariossidi dure o semi dure sono preferite per la produzione di pane. Infatti la durezza della cariosside determina durante la molitura una parziale rottura dei granuli di amido, quindi si ha un maggiore assorbimento dell'acqua durante l'impasto. La quantità di acqua assorbita influenza la struttura della mollica, il rapporto crosta mollica e il tempo di raffermamento del pane.

Cariosside di mais

Nel caso del mais la qualità della granella è legata ai tipi di mais commerciabili (tab. 3) e ad alcune prove che sono state eseguite per incrementare il contenuto dell'aminoacido lisina presente nella cariosside. Sono stati ottenuti dei mutanti ad alto contenuto di lisina denominati *Opaque*, questi comunque, anche se hanno un maggiore contenuto di lisina, presentano caratteristiche produttive e qualitative della cariosside molto scarse, quindi non sono stati molto utilizzati nella coltivazione.

La qualità delle cariossidi di mais è principalmente determinata dal contenuto proteico e dalla composizione aminoacidica, è inoltre fortemente legata al tipo di coltivazione, di raccolta e di conservazione delle cariossidi stesse. I

problemi maggiori possono derivare dalla presenza di alcuni funghi patogeni in grado di rilasciare micotossine nella cariosside. La presenza di micotossine e di altre sostanze tossiche sarà trattata in un capitolo specifico.

I diversi fattori produttivi determinano non solo l'incremento della quantità di seme, ma anche l'aumento della concentrazione dell'amido e una riduzione della concentrazione di proteine nelle cariossidi. Questa relazione inversa tra produzione e concentrazione delle proteine (M^CDermitt e Loomis, 1981) è stata osservata anche in altri cereali, come il frumento, l'orzo e l'avena. La relazione inversa tra produzione e percentuale proteica è stata osservata anche nel selezionare genotipi altamente produttivi e genotipi con alto contenuto proteico.

Anche analizzando le relazioni tra la concimazione azotata, la produzione e la percentuale di proteine della cariosside, si osserva, a livelli alti di azoto, che la produzione di granella e di proteine generalmente aumenta, mentre la concentrazione delle proteine diminuisce (Anderson et al., 1984; Oikeh et al., 1998). L'incremento del contenuto di proteine nel mais è dovuto principalmente all'accumulo nella cariosside di zeina (Tsai et al., 1993).

Caratteristiche sanitarie delle farine

È essenziale, al fine di tutelare la salute pubblica, mantenere i contaminanti a livelli accettabili sul piano tossicologico (Regolamento CE N. 1881/2006). I tricoteceni e le aflatossine sono le micotossine più conosciute, in grado di provocare malattie e di portare alla morte sia nell'uomo che negli animali.

Molti sono gli aspetti da considerare per poter ottenere e definire un prodotto sano e non contaminato da sostanze pericolose. In questa trattazione non verranno comunque considerate quelle sostanze derivate dall'attività di coltivazione come la presenza di fitofarmaci, di diserbanti e disseccanti, ecc. che possono essere presenti nei prodotti agricoli.

SICUREZZA ALIMENTARE

La sicurezza è prioritaria in ogni fase della catena alimentare. Il comitato "Joint FAO/WHO Expert" sugli additivi alimentari (JECFA), fornisce consulenze scientifiche sulle valutazioni tossicologiche ed epidemiologiche all'esposizione a diversi alimenti, raccomandazioni sui contaminanti specifici (Milićević et al., 2010). In Europa, l'autorità europea per la sicurezza alimen-

tare (European Food Safety Authority - EFSA) è stata fondata nel 2002. Essa collabora con organizzazioni internazionali dal momento che l'approvvigionamento alimentare in Europa è diventato sempre più globalizzato. EFSA agisce come una fonte indipendente di consulenza scientifica per la valutazione dei rischi associati alla catena alimentare in molti settori, tra cui i contaminanti alimentari. La valutazione del rischio riguarda principalmente le sostanze che sono genotossiche (influenzano il DNA cellulare) o cancerogene. Le informazioni ottenute dall'EFSA invia le informazioni alle Commissioni della Comunità Europea, le quali formulano i Regolamenti delle Commissioni (CR) dove vengono fissati i livelli massimi di contaminanti nei prodotti alimentari. Nessun limite viene fornito circa la presenza di alcune sostanze come gli inibitori delle amilasi, l'acido fitico e la lectina, tutte considerate come tossine alimentare naturali (Regolamento CE N. 1881/2006; Dolan et al., 2010). Tra i diversi contaminanti, quelli considerati più pericolosi dalla UE includono le micotossine fungine, i metalli pesanti, i nitrati, le diossine, i bifenili policlorurati e gli idrocarburi policiclici aromatici (Regolamento CE N. 1881/2006). L'acrilamide, è anche classificata come una tossina (CIAA, 2009; Dolan et al., 2010).

I principali contaminanti della catena alimentare presenti prevalentemente nei vegetali sono: le micotossine (aflatossine, tricoteceni, fumonisine, ecc.), l'acrilamide e alcuni metalli pesanti. Il miglioramento della sicurezza degli standard qualitativi delle colture vegetali deve pertanto prendere in considerazione queste sostanze contaminanti. Il livello di contaminazione è influenzato dal genotipo, dall'ambiente e dalla gestione colturale. A seguito di una descrizione di ciascuna classe di contaminanti, sarà fornita una breve panoramica delle misure da adottare per ridurre la contaminazione nelle colture prima del raccolto. La descrizione sarà incentrata sulle pratiche agricole attuali e sulle tecnologie future, che sono attualmente in fase di sviluppo dalla ricerca. Queste tecnologie includono: 1) strategie di miglioramento genetico che si avvale di germoplasma resistente; 2) l'ingegneria genetica; 3) il controllo biologico.

Aflatossine

Le aflatossine sono prodotte da tutti i ceppi di *Aspergillus parasiticus* e da alcuni ceppi di *A. flavus* che infettano le colture sia prima che dopo il raccolto, contaminando sia gli alimenti che i mangimi. Tra i cereali e le colture oleaginose colonizzate da *Aspergillus*, il mais, l'arachide e il cotone sono quelli

che hanno il più alto rischio di contaminazione da aflatossine (Klich, 2007). Le quattro principali classi di aflatossine (derivati difuranocumarinici) includono B1, B2, G1 e G2. Altre due forme indicate come M1 e M2 si rilevano nel latte, e quindi nei prodotti lattiero-caseari in genere, di bovini alimentati con farine di granturco e di semi di cotone, contaminati rispettivamente da B1 e B2 (Bennett e Klich, 2003). L'aflatossina B1 è la forma predominante ed è stata classificata come una sostanza cancerogena genotossica per l'uomo soprattutto per il fegato (Bennett e Klich, 2003). Conseguentemente è stato fissato, per la B1 e per le aflatossine totali, un limite massimo rispettivamente di 2,0 e 4,0 µg/kg (ppb) nei prodotti alimentari (Regolamento CE N. 1881/2006).

Il controllo delle malattie per il mais, l'arachide e il cotone, viene effettuato principalmente, attraverso le pratiche agricole anche se queste, non sempre sono possibili e/o sufficienti a impedire la contaminazione da aflatossine. La strategia generale adottata è quella di modificare le condizioni in cui la coltura si sviluppa per ridurre l'incidenza dell'infezione (Munkvold, 2003; Klich, 2007). La contaminazione delle colture può essere suddivisa in due fasi distinte (Cotty e Jaime-Garcia, 2007). La prima fase si verifica sulle colture in via di sviluppo, dove la colonizzazione avviene principalmente come conseguenza di ferite provocate da insetti, stress termici e stress idrici. La seconda fase si verifica tra la maturazione e il consumo, in presenza di umidità sia in campo che durante la conservazione. Nel mais, la combinazione di pratiche agricole pre-raccolta, comprendenti la semina precoce, il ridotto numero di piante, l'irrigazione e le lavorazioni, hanno mostrato di essere efficaci nel ridurre la contaminazione (Munkvold, 2003; Cotty e Jaime-Garcia, 2007). L'utilizzo di cultivar adattate, il diserbo delle infestanti, il controllo degli insetti e la raccolta tempestiva non appena il seme è maturo, sono ulteriori strategie da adottare per ridurre la suscettibilità della coltura alle infezioni di *Aspergillus* e, conseguentemente limitare la produzione di aflatossine (Klich, 2007). In alcune parti del mondo (es. USA) sono disponibili modelli con dati meteo regionali e informazioni sulla dinamica delle popolazioni di insetti in grado di aiutare gli agricoltori a prendere decisioni appropriate nella gestione delle colture (Munkvold, 2003),

Il miglioramento genetico nel mais è stato finalizzato soprattutto a migliorare la resistenza alle aflatossine e molte linee inbred sono state individuate. Il database "Resistance Associated Sequence Database (CFRAS)" (<http://ag-base.msstate.edu/>) è stato creato per integrare, in un'unica fonte, tutti i dati esistenti relativi alla genomica e alla proteomica. Esso fornisce informazioni e assistenza al miglioramento genetico, al fine di identificare genotipi di mais

resistenti alle aflatossine prodotte dai funghi *Aspergillus* (Kelley et al., 2010). L'obiettivo è quello di aiutare i ricercatori a valutare il ruolo dei geni così da identificare i geni candidati importanti e responsabili della resistenza all'aflatossina (Kelley et al., 2010). Nell'arachide, sono stati fatti fino a oggi, pochi progressi per il miglioramento della resistenza alle aflatossine, ciò a causa del basso livello di resistenza esistente nel germoplasma (infezione del seme e produzione di aflatossine), l'elevata interazione tra genotipo e ambiente, la mancanza di affidabili protocolli di screening e una scarsa conoscenza del controllo genetico della resistenza (Nigam et al., 2009). Sebbene, siano stati segnalati genotipi resistenti, la comprensione dei meccanismi che inducono la resistenza, sono ancora in fase di studio (Nigam et al., 2009).

Poiché, non ci sono né varietà e né genotipi di cotone resistenti, prerequisito importante per capire i meccanismi e ottenere, attraverso la selezione, individui resistenti, il miglioramento genetico è principalmente incentrato sulle tecniche molecolari di trasformazione utilizzando geni antifungini (Rajasekaran et al., 2006). Tecniche molecolari sono anche utilizzate nell'arachide e nel mais per trasferire geni antifungini e geni inibitori della biosintesi delle aflatossine. Alcune ricerche, attualmente in corso, hanno come obiettivo quello di analizzare l'effetto dei metaboliti secondari, che bloccano o eliminano gli effetti mutagenici dell'aflatossina (Madrigal-Santillán et al., 2010). Una strategia di resistenza alternativa è quella del controllo biologico. Alla base di questo approccio c'è la capacità di alcuni ceppi fungini, non produttori di tossine, di entrare in competizione, una volta irrorati nel campo, con i ceppi tossicogenici e quindi di ridurre la presenza (Cotty e Mellon, 2006). L'esclusione competitiva dai ceppi non-aflatossigenici è disponibile in commercio, negli Stati Uniti, per la coltivazione del cotone (ceppo AF36) e dell'arachide (Alfa-Guard) (Klich, 2007).

Tricoteceni

I tricoteceni (TCT) hanno attività genotossica e sono prodotti da specie di *Fusarium*, in particolare *F. graminearum* e *F. culmorum*. Il genere *Fusarium* comprende funghi che infettano prevalentemente i cereali nelle regioni temperate dell'America, dell'Europa e dell'Asia (EU Commission, 1999), soprattutto negli ultimi anni a causa di estati relativamente calde e umide. La fusariosi della spiga (*Fusarium Head Blight* FHB) provoca una drastica riduzione delle rese e della qualità della granella. L'accumulo di TCT nel grano costituisce un problema di sicurezza da non sottovalutare (Snijders, 2004; Foroud e

Eudes, 2009). Il frumento e l'orzo sono i cereali più suscettibili alle infezioni di *Fusarium* (Edwards, 2004).

Le due classi principali di TCT sono il tipo A e il tipo B. Il tipo A è più tossico e comprende la tossina T-2, tossina HT-2 e 4,15-diacetossiscirpenolo (4,15-DAS). Il tipo B include il deossinivalenolo (DON) e le forme acetilate (3- e 15-ADON). DON è più diffuso in Europa. Le micotossine TCT sono stabili al calore e non vengono eliminate dagli alimenti durante i processi di trasformazione e cottura; agiscono inibendo la sintesi sia del DNA e dell'RNA che delle proteine a livello dei ribosomale (EU Commission, 1999). Il livello massimo di DON è 1750 µg/kg nel frumento e nel mais non trasformati e 1250 µg/kg negli altri cereali sempre non trasformati. Negli alimenti trasformati il limite è di 500 µg/kg per il pane e i prodotti da forno, 750 µg/kg per la pasta e 200 µg/kg per i prodotti destinati all'infanzia (Regolamento CE N. 1831/2003).

Tra i fattori di rischio che favoriscono le infezioni di *Fusarium* e l'accumulo di DON abbiamo: il mais quando è usato come preceSSIONe della coltura di frumento (gli stocchi di mais sono un'importante fonte di inoculo), aratura superficiale, l'utilizzo di varietà di grano mediamente o altamente sensibili, un andamento climatico caldo umido durante la fioritura. Le misure preventive dovrebbero idealmente escludere l'impiego del mais come preceSSIONe e ricorrere all'aratura per la preparazione del terreno. Tuttavia, visti i vantaggi economici derivanti dalla coltivazione del mais e dall'utilizzo delle pratiche di *minimum tillage*, è improbabile che in futuro si riduca l'incidenza di *Fusarium* (Yuen e Schoneweis, 2007). Inoltre, il crescente interesse verso le colture non-food, fa sì che molte colture alimentari siano sostituite dal mais per la produzione di biocarburanti, con un conseguente aumento del carico di inoculo nel suolo. Ciò comporterà enormi problemi per le colture cerealicole, tra le quali orzo e frumento, che seguiranno il mais nella rotazione, (Foroud e Eudes, 2009).

Molte attività di ricerca sono state condotte per comprendere i meccanismi di resistenza, al fine di selezionare varietà resistenti all'FHB (Snijders, 2004; Boutigny et al., 2008; Foroud e Eudes, 2009). Diversi meccanismi di resistenza sono stati individuati e descritti dettagliatamente nel lavoro di *review* di Foroud e Eudes (2009). Le differenze fisiologiche a livello della biologia florale tra il mais e gli altri cereali, fanno sì che la resistenza al marciume rosso (*Fusarium graminearum*) nel mais è distinta in una resistenza alla penetrazione a livello delle setole stimma-stilo e in un'altra resistenza alla diffusione della malattia del seme. Queste forme di difesa sono analoghe ai meccanismi di resistenza all'FHB di Tipo I e di Tipo II osservati in altri cereali. I

meccanismi di resistenza riportati nei cereali sono stati classificati in cinque diverse tipologie: Tipo I resistenza alle infezioni iniziali; Tipo II resistenza alla diffusione della malattia; Tipo III resistenza alle infezioni della cariosside; Tipo IV tolleranza sia all'FHB che al TCT; Tipo V resistenza all'accumulo di TCT. Il Tipo V si suddivide a sua volta in due sottoclassi: Tipo V-1 (classe 1) dove le piante sono capaci di modificare chimicamente i TCT, determinandone una degradazione delle tossine (detossificazione); Tipo V-2 (classe 2) si riferisce alla capacità dei genotipi di inibire la biosintesi dei TCT dei funghi che li hanno infettati (Boutigny et al., 2008).

Tutti i meccanismi di resistenza sono caratteri multifattoriali, inoltre non sono state identificate associazioni tra questi caratteri e quelli agronomici. Per facilitare la selezione di individui resistenti, per i caratteri di resistenza Tipo 1 e Tipo 2, sono stati usati marcatori molecolari (Quantitative Trait Loci – QTL). Come riportato da Boutigny et al. (2008) e da Foroud e Eudes (2009), sarebbe importante sviluppare tecniche QTL per la resistenza di Tipo V.

Recenti ricerche, ancora in corso (Yu et al., 2010), riportano marcatori QTL per la resistenza all'FHB (Tipo II), associati a livelli ridotti di DON (Tipo V), identificati nel germoplasma americano di orzo. I QTL identificati descrivono circa il 14% della varianza del grado di tolleranza alla FHB, osservata in sei ambienti (compresi gli USA, Canada e Cina) dove la FHB è una grave malattia per l'orzo (Yu et al., 2010).

L'ingegneria genetica è vista come una tecnica vantaggiosa per trasferire la resistenza alla Fusariosi. L'ingegneria genetica può essere un metodo valido solo se si considerano i meccanismi di resistenza del Tipo V, che coinvolgono l'espressione dei geni con azione detossificante (Tipo V-1) o inibente (Tipo V-2) del DON, selezionando *in vitro* geni candidati (Boutigny et al., 2008).

Lo sviluppo di strategie per il controllo biologico del DON non è così avanzato come quello delle aflatossine e nessun agente biologico è stato registrato. L'uso di antagonisti microbici (ceppi di batteri e lieviti) vengono segnalati nel ridurre l'incidenza di *F. graminearum* e l'accumulo di DON nella cariosside, le ricerche sono ancora in corso (Yuen e Schoneweis, 2007).

Fumonisine

Le fumonisine (FUM) sono prodotte da *Fusarium verticillioides* (*moniliforme*) e *Fusarium proliferatum* e colpiscono soprattutto il mais e i cereali in genere, provocando un indebolimento delle piantine, e il marciume dello stocco e il marciume rosa della spiga nel mais prodotto in Europa e negli Stati Uniti.

Esistono tre classi di FUM, vale a dire, B1, B2 e B3. B1 è la classe dominante e la forma più tossica (Bennett e Klich, 2003). Le fumonisine sono cancerogene e il potenziale cancerogeno viene ipotizzato essere mediato attraverso la trasduzione del segnale intracellulare. Le fumonisine sono simili strutturalmente agli sfingolipidi, importanti nella trasmissione di segnale all'interno delle cellule, determinando l'alterazione delle funzioni cellulari (Milićević et al., 2010). Una forte associazione è stata trovata con il cancro dell'esofago nell'uomo (Bennett e Klich, 2003). Livelli massimi sono fissati a 2,0 µg/kg per il mais non trasformato (Regolamento CE N. 1881/2006).

Tra le pratiche agricole che hanno dimostrato di ridurre il rischio di FUM nel mais abbiamo: controllo degli insetti, utilizzo di varietà resistenti agli insetti, rimozione dei residui preceSSIONE della coltura precedente e stoccaggio del seme a condizioni di umidità adeguate (Munkvold, 2003; Edwards, 2004; Ariño et al., 2009). Un'elevata fertilizzazione azotata porta a un aumento dei livelli di fumonisine nel mais, mentre il sistema di coltivazione, il tipo di irrigazione e l'epoca di raccolta non hanno avuto alcun effetto significativo (Ariño et al., 2009). L'impiego di varietà di mais adattate può ridurre l'infezione da fumonisine (Munkvold, 2003).

Analogamente a quanto visto per la resistenza al DON, la selezione assistita con marcatori potrebbe rivelarsi molto utile quando il breeding per la resistenza al *Fusarium* responsabile del marciume della pannocchia o della contaminazione da fumonisine, perché difficili da identificare nel fenotipo e fortemente influenzata dall'ambiente (Ding et al., 2008). È stata rilevata la presenza di una variazione genetica quantitativa per la resistenza a *Fusarium* che è responsabile del marciume della spiga e della contaminazione da fumonisine tra linee inbred e ibridi di mais (Clements and White, 2004). Negli ultimi anni sono stati selezionati QTLs e si prevede possano avere un'applicazione diretta come marcatori nei programmi di miglioramento genetico del mais indirizzati al miglioramento della resistenza al marciume della pannocchia (Ding et al., 2008, Vanopdorp e Koehler, 2010). Una ricerca è in corso per comprendere le interazioni molecolari tra il funghi e pianta, non ancora ben conosciute, utilizzando linee di mais resistenti e sensibili alle fumonisine (Lanubile et al., 2010).

La contaminazione da *F. verticillioides* è stato dimostrato essere strettamente correlata con la gravità delle lesioni degli insetti e conseguentemente, mais Bt transgenico, presenta un minor rischio di contaminazione da fumonisine (Munkvold, 2003). Isolati di *F. verticillioides* che non producono fumonisine possono essere utilizzati come agenti di controllo biologico competitivo per escludere i ceppi tossici, (Cotty e Mellon, 2006).

Acrilamide

L'acrilamide, sostanza cancerogena e genotossica negli animali, si forma in molti prodotti alimentari preparati ad alte temperature ($> 120\text{ }^{\circ}\text{C}$). I cereali e i prodotti derivati (pane, biscotti e cereali da colazione ottenuti da grano e segale), il caffè, e in particolare la patata (patatine, patata fritta) offrono la più alta esposizione all'acrilamide (Seal et al., 2008). La sua formazione è ottenuta dalla reazione di Maillard, coinvolgendo gli zuccheri riducenti (glucosio e fruttosio) e l'aminoacido asparagina (Asn). Nella patata l'Asn è relativamente abbondante, mentre gli zuccheri limitano la formazione dell'acrilamide, diventando così le sostanze determinanti per la formazione dell'acrilamide nei prodotti trasformati. Al contrario, gli zuccheri riduttori risultano abbondanti nei cereali mentre l'Asn è il fattore che incide sulla formazione di acrilamide nei prodotti da forno (Mattucumaru et al., 2008). Nel caffè, l'acrilamide non è correlata con gli zuccheri ed è solo debolmente associata con l'Asn (Seal et al., 2008).

La Confederazione delle Industrie Alimentari e delle Bevande (CIAA) dell'Unione Europea, in stretta collaborazione con le autorità nazionali e la Commissione Europea, ha sviluppato un "toolbox" per evidenziare i mezzi, agronomici e tecnologici, utili per abbassare i livelli di acrilamide nei prodotti alimentari. Molti sono gli sforzi che attualmente si stanno facendo per ridurre i livelli di acrilamide nei prodotti alimentari, e pertanto non è stato ancora possibile definire sia i livelli di esposizione all'acrilamide che impostare i limiti per i diversi prodotti alimentari (CR EC N. 2010/307/EU).

Tra i principali fattori che in fase di pre-raccolta (pre-harvest) contribuiscono all'aumento degli zuccheri abbiamo: la raccolta dei tuberi immaturi, l'esposizione ad alte temperature e/o una carenza di acqua nel suolo durante la crescita, un aumentato della fertilizzazione in termini N e S (Kumar et al., 2004). Nell'"*Acrylamide Toolbox*" più recente (CIAA, 2009), tra le misure agronomiche di pre-raccolta da adottare e indicate dall'industria abbiamo: la raccolta dei tuberi maturi e la scelta della varietà più precoci. Anche il potassio (K) è considerato un elemento minerale che ha un effetto positivo nel ridurre gli zuccheri riducenti (Kumar et al., 2004; Seal et al., 2008; Whittaker et al., 2010), ma nonostante ciò le ricerche riguardanti il controllo della nutrizione minerale sull'espressione degli zuccheri nel tubero manifestano ancora delle incertezze (CIAA, 2009) e necessitano pertanto di essere ulteriormente approfondite.

Nei cereali, la composizione in zuccheri non è un fattore determinante la produzione di acrilamide, pertanto l'attività di ricerca in questo campo è

indirizzata soprattutto alla riduzione dell'Asn (CIAA, 2009). Un incremento di N porta a un aumento del contenuto sia delle proteine che dell'Asn (Mattucumaru et al., 2008). Viene inoltre sottolineata l'importanza nel mantenere buoni livelli di zolfo (S) nella coltivazione di cereali (CIAA, 2009), dato che a un basso livello dell'elemento è associato un livello alto di Asn e di conseguenza un rischio elevato di formazione dell'acrilamide. Altra misura importante da adottare per ridurre il rischio di acrilamide è quella di evitare il manifestarsi di carenze in K e P (Mattucumaru et al., 2008; Curtis, 2009). L'esistenza di una forte interazione tra genotipo, ambiente e pratiche colturali fa sì che un maggiore lavoro dovrebbe essere fatto a priori dalle ditte di consulenza per dare informazioni agli agricoltori e ai *breeders* sulle migliori pratiche colturali da adottare nella coltivazione della patata e del grano (Mattucumaru et al., 2008; Curtis et al., 2009; Whittaker et al., 2010).

Il caffè, essendo una pianta perenne con una produttività per più di 20 anni è di più difficile gestione a differenza della patata e dei cereali, dove gli interventi per ridurre il rischio di acrilamide possono essere effettuati annualmente. Non sono al momento disponibili, per questa coltura, dati sull'impatto che le pratiche colturali hanno sui precursori dell'acrilamide. Inoltre data la coltivazione specifica e le condizioni climatiche necessarie, eventuali interventi che potenzialmente potrebbero essere effettuati sulla coltura di caffè, sarebbero di lungo effetto (Seal et al., 2008).

Al miglioramento genetico in patata è stato richiesto di sviluppare varietà nuove con basso contenuto in zuccheri riduttori e/o effetto più resistenti all'effetto di addolcimento dovuto al freddo (CIAA, 2009). Particolare attenzione è stata messa nello screening di differenti cultivar di patata aventi grandi differenze nel potenziale di accumulo dell'acrilamide basato sulla riduzione del contenuto in zucchero. La valutazione della qualità delle patatine fritte (chip) richiede tuttavia diversi anni di test, numeri sufficienti di tuberi e deve essere eseguita in una fase avanzata di sviluppo della varietà (Li et al., 2005). Marcatori diagnostici, ottenuti da QTLs, sono stati sviluppati e sono considerati un'alternativa rapida per fini di screening. La variazione della qualità delle patatine fritte (chip) espressa come potenziale di acrilamide e del contenuto di amido è associata con la variazione del DNA più loci candidati (Li et al., 2008). Gli effetti pleiotropici di più singoli alleli, coinvolti nel metabolismo dei carboidrati, hanno dimostrato di essere sia positivi (più amido, migliore qualità delle chip, meno zuccheri riducenti) che negativi (meno di amido, peggiore qualità delle chip, più zuccheri riducenti) (Li et al., 2008). Curtis e collaboratori (2009) hanno evidenziato nel frumento la presenza di un controllo genetico nella concentrazione di asparagina libera e degli al-

tri aminoacidi liberi, il sistema di allevamento potrebbe quindi svolgere un ruolo importante nel ridurre il rischio di acrilamide nel frumento. Dovrebbe pertanto essere possibile identificare QTL in frumento per la bassa concentrazione di asparagina.

Geni bersaglio nel metabolismo dei carboidrati e degli aminoacidi per ridurre i precursori dell'acrilamide sono stati identificati in laboratorio (Rommens et al., 2006), utilizzando tecniche di inibizione dell'RNA per ridurre il geni di espressione che codificano per due enzimi coinvolti nella degradazione dell'amido in patata durante la fase di immagazzinamento in cella fredda. Sia i livelli di glucosio che la formazione di acrilamide sono risultati significativamente più bassi nelle linee di patata transgeniche rispetto ai controlli (Rommens et al., 2006). Nella patata il silenziamento dei due geni dell'asparagina sintetasi ha dato luogo a una interessante riduzione sia dell'asparagina che della formazione di acrilamide nei prodotti fritti (Rommens et al., 2008). Sia nella patata che nel frumento, i geni che codificano per questi enzimi sono tutti potenzialmente candidati sia alla manipolazione genetica che allo sviluppo di marcatori genetici per programmi di miglioramento genetico. È stato suggerito che, con potrebbe essere interessante, per il consumatore, dichiarare i livelli molto bassi di acrilamide, fornendo così il mercato di una nuova possibilità di scelta (Rommens et al., 2008).

Metalli pesanti

L'inquinamento da metalli pesanti incide su vaste aree dell'Europa e in tutto il mondo. La contaminazione delle piante commestibili avviene prevalentemente attraverso i suoli inquinati come una conseguenza dell'attività industriale, del traffico e della produzione di energia (Pushenreiter et al., 2005). Cadmio (Cd), piombo (Pb) e mercurio (Hg) sono di particolare interesse nell'Unione Europea. Nei prodotti alimentari sono stati fissati (Regolamento CE N. 1881/2006) per questi elementi dei limiti di seguito riportati: per il Pb i limiti fissati sono di 200 µg/kg per i cereali e i prodotti di leguminose, 300 µg/kg per le verdure della famiglia delle Brassicaceae e 100 µg/kg per le altre verdure; per il Cd 100 µg/kg per i cereali lavorati e 200 µg/kg per i cereali integrali, 50,0 µg/kg per gli ortaggi in generale esclusi i vegetali da foglia il cui limite è 200 µg/kg, 100 µg/kg è il limite indicato per le carote, le patate, il sedano ecc.; infine per il Hg i limiti non sono applicabili per i cereali e gli ortaggi.

Le misure agricole che possono essere utilizzate per ridurre l'assorbimento dei metalli pesanti sono diverse come quella di evitare la coltivazione di pian-

te con elevata capacità di assorbimento di metalli pesanti come le carote, gli spinaci e la lattuga in aree inquinate (aree situate vicino ai siti industriali, nei pressi di grandi città e/o vicino alla industria mineraria). La scelta di piante con una minore capacità di assorbimento, come i legumi e i cereali, può ridurre significativamente la contaminazione delle parti commestibili. L'applicazione di entrambi gli ammendanti organici e inorganici del suolo è indicato per ridurre significativamente l'accumulo dei metalli pesanti. Ulteriori metodi efficaci per ridurre il trasferimento del metallo nella catena alimentare includono la rotazione delle colture industriali e delle colture da bioenergia (Pushenreiter et al., 2005).

Phytoremediation è l'utilizzo di specie vegetali per rimuovere i metalli pesanti dai suoli contaminati. Offre un approccio di controllo biologico che è sicuro, economico e sostenibile. Un elenco delle specie di piante che può essere utilizzato per il *phytoremediation* di Cd e Hg, nonché gli altri elementi vengono descritti nel *review* di Mudgal et al. (2010). Le piante adatte per il *phytoremediation* devono possedere le seguenti caratteristiche: capace di tollerare i metalli pesanti, avere di una rapida crescita, avere un accumulo metallico alto ed essere facile da raccogliere. La maggior parte delle piante che dimostra la capacità di accumulare alti livelli dei metalli pesanti (chiamate *hyperaccumulators*) ha, purtroppo, una lenta crescita con una bassa biomassa. Quindi studi di ingegneria genetica, attualmente in corso, offrono la possibilità di migliorare la *phytoremediation*. L'idea è quella di utilizzare le piante che producono abbondante biomassa, inserendo a queste geni che codificano per le proteine coinvolte: nella trasformazione del metallo; nel trasporto del metallo; nella chelazione del metallo (Zhang et al., 2006; Mudgal et al., 2010).

Nitrato

Il nitrato si accumula nella frutta e nella verdura. Le verdure a foglia, come la lattuga e gli spinaci sono particolarmente a rischio. I nitrati e nitriti non sono come tali cancerogeni, ma il nitrito potrebbe reagire con le ammine dietetiche per formare, in ambiente acido le nitrosamine che sono cancerogene. Tali effetti sono stati riportati in esperimenti sugli animali (Katan, 2009). La methaemoglobinemia, determinata da eccesso di nitrati (l'eccessiva conversione dell'emoglobina in metaemoglobina, rendendola incapace di trasportare l'ossigeno) si verifica nei bambini, dopo il consumo di acqua contaminata. I livelli massimi riportati nella gamma di ortaggi a foglia varia-

no da 2500 a 4000 µg/kg, a seconda della stagione di raccolta (Regolamento CE N. 1881/2006).

Le strategie di gestione di azoto per ridurre il nitrato prevedono: l'adozione di opportune rotazioni delle colture, minimo aratura, scelta delle modalità e tempi per l'applicazione del N, e dose appropriata di concime (Dinnes et al., 2002).

LA QUALITÀ FUNZIONALE O SALUTISTICA

Concetti introduttivi

Nel concetto di qualità vengono comunemente inclusi diversi aspetti che comprendono sia caratteristiche intrinseche (definiti anche attributi primari di qualità) ed estrinseche (definiti anche attributi secondari di qualità) al prodotto. Fra le caratteristiche intrinseche di un prodotto alimentare, la sua qualità funzionale, sta assumendo sempre più importanza, sia in virtù della sempre maggiore richiesta da parte dei consumatori sia per l'attenzione che il mondo della ricerca riserva a questo settore di studio. Tuttavia, il concetto di alimento funzionale non può essere considerato del tutto una novità degli ultimi decenni della storia alimentare dell'uomo: in particolare l'idea di veicolare proprietà salutistiche con il cibo può essere a tutti gli effetti considerata ancestrale. La relazione tra alimentazione e salute è stata ricercata anche nell'antichità. Sir William Osler affermava: «il desiderio di assumere sostanza benefiche è una caratteristica che distingue l'uomo da tutte le altre creature» (Bean, 1968). Esistono prove che già gli uomini di Neanderthal, circa 60.000 anni fa, utilizzassero alcune piante come la malvarosa (*Alcea rosea* L.) come fonte di sostanze medicinali: ancora oggi a livello mondiale questa specie è utilizzata in diverse etno-farmacopee. Erbe medicinali sono state rinvenute nell'intestino della mummia di Similaun, l'uomo ghiacciato rinvenuto recentemente nella zona alpina tra Italia e Austria e vissuto circa 5300 anni fa (Cappaso, 1998). Ippocrate, unanimemente considerato il padre della medicina, ha scritto e discusso in maniera estensiva del ruolo preventivo e benefico degli alimenti. Fondamentalmente l'approccio terapeutico di Ippocrate era basato sul ripristino dell'equilibrio delle funzioni vitali dell'uomo tramite l'utilizzo della cosiddetta *vis medicatrix naturae*, ovvero del potere curativo degli alimenti: tale approccio viene sintetizzato nel famoso aforisma «fa che il cibo sia la tua medicina, e che la tua medicina sia il cibo» (Fielding, 1996). Tuttavia, solo a partire dal XIX secolo con l'affermarsi della moderna chimica analiti-

ca, nonché delle scienze farmaceutiche e mediche, lo studio degli alimenti ha potuto essere incentrato su di un approccio scientifico ovvero basato su relazioni sperimentali di causa ed effetto. In particolare, solo nei primi anni del XX secolo è stato possibile scoprire che gli alimenti potevano contenere, oltre ai canonici quattro costituenti fino ad allora noti, ovvero lipidi, carboidrati, proteine e minerali, una quinta classe di composti, a cui vennero da subito riconosciuti effetti benefici per la salute dell'uomo. Tale quinta classe di composti alimentari fu inizialmente definita, dal biochimico polacco Casimir Funk, «ammine vitali», dalla cui contrazione deriva l'attuale definizione di vitamine (Seibel, 1999). Il ruolo delle vitamine nel prevenire specifiche patologie fu poi confermato da successive osservazioni, come nel caso della vitamina C (acido ascorbico) per lo scorbuto, la vitamina B1 (tiamina) per il beriberi, la vitamina B3 (niacina) per la pellagra. Merita sottolineare che la scoperta delle proprietà salutistiche delle vitamine ha permesso di affermare, nel moderno settore medico, il concetto di prevenzione delle patologie. Infatti, le vitamine non trovano solo un'applicazione pratica nella cura di specifiche patologie nella loro forma acuta, ma il loro consumo consente la prevenzione delle medesima patologie.

Conseguentemente, non è sorprendente che nei primi anni del 1900 si sia affermato commercialmente il primo "alimento funzionale", ovvero il sale da cucina addizionato con iodio per la prevenzione dei disturbi della tiroide (varie forme di ipotiroidismo quali il gozzo). Tuttavia, il XX secolo vede anche il trionfo della chimica di sintesi nel nascente settore della industria farmaceutica, che tenderà progressivamente a rimpiazzare i rimedi basati su estratti naturali con molecole sintetiche. La storia moderna dell'industria farmaceutica ha inizio nel 1897, quando Friederich Bayer e i suoi collaboratori introdussero nel mercato mondiale l'acido acetil salicilico (aspirina) ottenuto tramite sintesi chimica (Raskin et al., 2002). L'aspirina, altro non è che un analogo sintetico dell'acido salicilico, presente in diverse specie vegetali, noto all'uomo da tempo immemore quale specifico rimedio per gli stati febbrili. A partire dall'immissione sul mercato mondiale dell'aspirina, l'industria farmaceutica ha avuto uno sviluppo di incredibile portata, con un impatto estremamente rilevante nella prevenzione e trattamento di sempre più numerose patologie, contribuendo decisamente al progressivo aumento della vita media, osservato in tutte quelle Nazioni che hanno potuto accogliere "l'innovazione farmaceutica". Tuttavia, l'approccio, comunemente definito della "opzione pillola", ha avuto come ripercussione un progressivo ridimensionamento dello storico legame tra alimenti e prevenzione delle patologie (Raskin et al., 2002). Sostanzialmente, per i primi 70-80 anni del XX secolo, il concetto di Ippocrate

del cibo come medicamento è caduto in disuso con l'avvento della moderna terapia farmacologica. Inoltre, nei primi 50 anni del XX secolo l'obiettivo della ricerca scientifica è risultato prevalentemente focalizzato sulla prevenzione della carenze nutrizionali. L'enfasi posta per contrastare la sotto-nutrizione ha dovuto essere profondamente rivista, in particolare nei Paesi occidentali, quando a partire dagli anni 70 del passato secolo, le patologie legate all'eccessiva nutrizione (obesità, diabete, disturbi cardio-vascolari, cancro) sono diventate un vero e proprio problema sociale. Proprio a partire dagli anni 70 del passato secolo, diverse ricerche hanno permesso di identificare composti fisiologicamente attivi negli alimenti di origine vegetale e animale (rispettivamente definiti composti fitochimici e zoochimici), con elevate potenzialità nel ridurre i rischi di molte patologie associate alla sovra-nutrizione. Se a questo si aggiunge il progressivo invecchiamento della popolazione nei Paesi occidentali, la maggiore consapevolezza dei consumatori nell'ottimizzare il proprio stato di salute, nonché i numerosissimi progressi delle tecnologie alimentari, risulta facilmente spiegabile la grande espansione del mercato globale degli alimenti funzionali, osservata a partire dagli anni 90 del passato secolo. Il concetto di alimento funzionale è stato per la prima volta sviluppato in Giappone tra il 1984 e il 1986 nell'ambito di un programma sviluppato dal Ministero dell'Educazione, della Scienza e della Cultura, in cui furono identificate tre principali funzioni degli alimenti (Kwak e Jukes, 2001). La prima funzione attiene al suo ruolo nutrizionale, la seconda funzione riguarda la sua componente sensoriale (aroma, sapore) in grado di determinare il livello di accettazione da parte del consumatore, mentre la terza funzione riguarda la capacità di alcuni alimenti, nel contesto complessivo della dieta, di prevenire l'insorgenza di precise patologie (Arai, 1996). A partire dal 1988 il Ministero della Salute giapponese, nel tentativo di ridurre i costi della sanità pubblica principalmente dovuti al progressivo invecchiamento della popolazione, cominciò a delineare nuovi sistemi di regolazione per la registrazione di alimenti, certificati per definite e scientificamente provate azioni benefiche (Arai, 1996). Da allora, il concetto di alimento funzionale è andato diffondendosi anche nei Paesi occidentali. È bene sottolineare che non esiste un'unica ed esaustiva definizione di alimento funzionale. Una tra le più comunemente adottate è quella della American Diet Association (ADA): «Gli alimenti funzionali sono alimenti in grado di apportare benefici effetti per la salute indipendentemente dal loro valore nutrizionale» (ADA, 2007). Viceversa per l'International Food Information Council (IFIC) il termine "*alimento funzionale*" include «qualsiasi alimento o qualsiasi componente alimentare in grado di fornire un beneficio alla salute indipendentemente dal suo valore nutrizio-

INTEGRATORE ALIMENTALE	ALIMENTO FUNZIONALE
Può anche essere classificato come alimento, dal momento che è edibile e solitamente non è classificato come medicinale, ma si presenta in forme maggiormente simili a un medicinale (pillola, tavoletta, capsula, ampolla) che non a un alimento	Si presenta esattamente nella stessa forma di un qualsiasi altro alimento e può essere consumato giornalmente nella dieta
Può apportare benefici per la salute dell'uomo, ma non sempre può essere considerato sicuro e privo di effetti collaterali (ad esempio integratori a base di erbe officinali)	Può apportare benefici per la salute dell'uomo al di là del suo valore nutrizionale e può essere considerato sicuro e privo di effetti collaterali
Non è utilizzato come un alimento convenzionale e non può sostituire gli altri alimenti della dieta	Può anche svolgere un ruolo principale, in termini di apporto calorico bilanciato, all'interno della dieta

Tab. 4 *Le tre principali caratteristiche che permettono di distinguere un integratore alimentare da un alimento funzionale*

nale» (IFIC, 2007). Tra queste due differenti definizioni è possibile riscontrare una prima discrepanza che di fatto ancora divide il mondo della ricerca in relazione al tema degli alimenti funzionali. Il dibattito riguarda se classificare gli integratori alimentari alla stessa stregua di un alimento funzionale ovvero considerarli semplicemente una diversa forma per veicolare componenti bioattivi (Clydesdale, 2004). Tuttavia, dal momento che a livello mondiale gli integratori alimentari sono nella maggioranza dei casi definiti legalmente in maniera distinta rispetto agli alimenti, appare illogico includere in una stessa definizione sia gli alimenti funzionali che gli integratori. Sostanzialmente è poi possibile identificare almeno tre caratteristiche fondamentali che permettono di distinguere gli alimenti funzionali dagli integratori alimentari (tab. 4).

Infine un altro argomento di dibattito riguarda la definizione di quale tipo di alimento dovrebbe essere incluso nell'ampia categoria degli alimenti funzionali. Alcuni autori preferiscono includere esclusivamente prodotti alimentari che in qualche modo siano stati manipolati e/o fortificati, escludendo di fatto quegli alimenti definiti "alimenti funzionali naturali" (Kotilainen et al., 2006). Tuttavia nell'ultimo decennio un'abbondante letteratura ha evidenziato effetti benefici e salutistici di alimenti non sottoposti a particolari processi di trasformazione. Oggi è chiaro che un'ampia gamma di alimenti non trasformati possono essere a tutti gli effetti considerati come alimenti funzionali (ad esempio gli ortaggi e la frutta) (Kwak e Jukes, 2001). Pertanto restringere il termine "alimento funzionale" esclusivamente ad alimenti trasformati appare come una discriminazione nei confronti di tanti alimenti non trasformati, dotati di evidenti proprietà benefiche. Appare quindi sensato identificare due sotto-categorie della vasta classe degli alimenti funzionali: alimenti non trasformati (o ordinari) e alimenti trasformati (o fortificati/arricchiti) (tab. 5).

CATEGORIA	TIPO	ESEMPIO	BENEFICIO SALUTISTICO
Non trasformato	Alimento contenente naturalmente una quantità sufficiente di uno o più composti benefici (non necessariamente un macro- o un micro-nutriente) in grado di indurre effetti fisiologici misurabili.	Beta-glucani nell'orzo, isoflavoni nella soia	Protezione delle funzioni cardio-vascolari
	Alimento in cui uno o più composti benefici sono stati aumentati tramite modifiche delle condizioni di allevamento, manipolazione genetica o altro	Uova a elevato contenuto in omega-3 tramite l'uso di mangimi speciali, irradiazione con UV di germogli di soia per incrementarne il contenuto in isoflavoni	Protezione delle funzioni cardio-vascolari
Trasformato	Alimento in cui il contenuto di uno o più composti benefici, normalmente presenti in tale alimento, sia stato incrementato tramite fortificazione	Pane arricchito con crusca	Riduzione dell'incidenza del tumore al colon
	Alimento in cui il contenuto di uno o più composti benefici, normalmente non presenti in tale alimento, sia stato incrementato tramite fortificazione e modifica delle procedure di preparazione alimentare	Margarina formulate con fitosteroli	Riduzione del livello ematico di colesterolo
	Alimento in cui la natura, la biodisponibilità di un componente funzionale sia stata modificata tramite specifiche tecniche di processo	Fermentazioni con specifici batteri per la produzione di peptidi bioattivi	Riduzione del livello ematico di colesterolo
	Alimento in cui una componente potenzialmente dannosa per la salute dell'uomo sia stata rimossa, ridotta nel suo contenuto o sostituita con composti benefici	Gomme da masticare allo xilitolo (in sostituzione di altri zuccheri)	Prevenzione delle carie dentali

Tab. 5 *Le principali categorie e tipologie di alimenti funzionali (modificata da Roberfroid, 2002; Kotilainen et al., 2006)*

Metabolismo delle piante e ruolo ecologico dei metaboliti secondari

I metaboliti secondari (definiti anche fitochimici) hanno riscontrato un notevole interesse da parte della comunità scientifica in quanto risultano essere i “principi

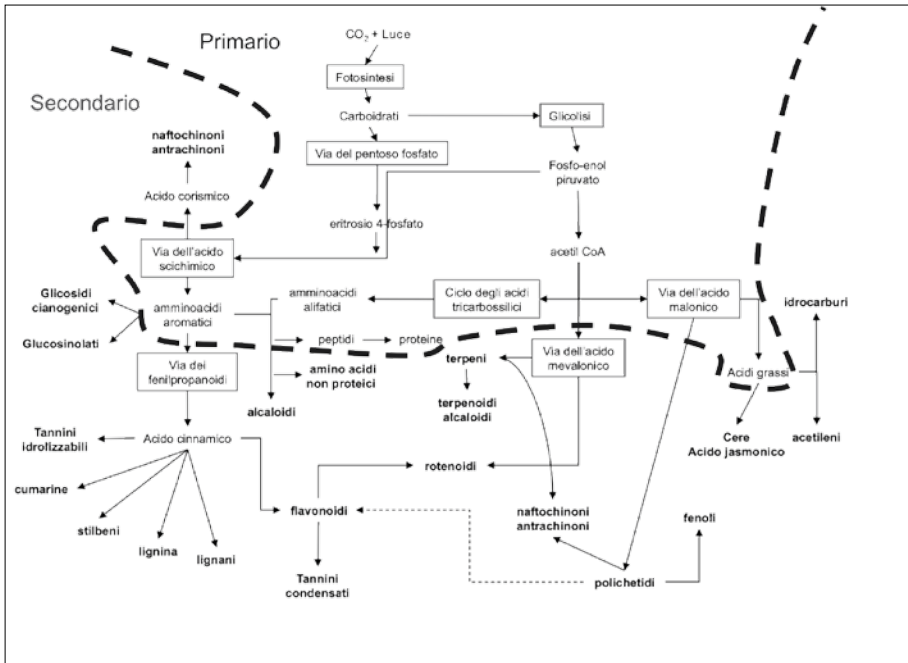


Fig. 1 *Metabolismo primario e secondario negli organismi vegetali*

attivi” responsabili dell’azione farmacologica esercitata sull’uomo della maggior parte degli alimenti funzionali. Infatti, i composti fitochimici secondari sono in grado di legarsi con specifici bersagli terapeutici, inducendo benefici effetti fisiologici per il mantenimento dello stato di salute dell’uomo, la prevenzione delle malattie o per il miglioramento terapeutico di patologie in corso.

Le sostanze coinvolte nel biochimismo delle piante possono essere sommariamente distinte in due gruppi principali:

- metaboliti primari (carboidrati, proteine, lipidi, acidi nucleici) indispensabili per i processi di accrescimento e riproduzione;
- metaboliti secondari, derivati dai metaboliti intermedi tramite l’attivazione di specifiche vie enzimatiche.

Il metabolismo primario è abbastanza simile in tutte le forme viventi, dai batteri alle piante all’uomo e le sostanze che si formano (metaboliti primari) assolvono le funzioni essenziali alla crescita e alla vita dell’organismo quali la nutrizione e i processi metabolici.

I vegetali utilizzano anche altre vie metaboliche, attraverso le quali producono una grande varietà di composti che in genere non sono di apparente utilità, ovvero i cosiddetti metaboliti secondari (fig. 1). Essi hanno una di-

stribuzione più limitata in natura, si trovano soltanto in specifici organismi o gruppi di organismi e sono espressione dell'individualità della specie.

I prodotti secondari sono raggruppati in varie classi suddivise in genere in base alla loro struttura chimico-organica e all'origine biosintetica. Complessivamente vengono identificate le seguenti tre classi principali:

Alcaloidi. Sono sostanze organiche che, tranne poche eccezioni, hanno carattere basico, conferito da uno o più atomi di azoto di tipo amminico normalmente facente parte di un sistema eterociclico. Spesso mostrano una pronunciata attività farmacologica o tossicologica, anche a piccole dosi, sia nell'uomo che nell'animale: svolgono principalmente funzioni a carico del SNC (depressivi, eccitanti), del sistema circolatorio, gastrointestinale, sulla muscolatura liscia come spasmolitici e possono avere funzione antifungina, antitumorale e antibiotica. Basta ricordare al riguardo esempi come la morfina e gli alcaloidi dell'oppio, la stricnina e gli alcaloidi indolici, la tubocurarina e gli alcaloidi curarizzanti. Molti di questi costituenti sono usati clinicamente come tali o per l'emisintesi di specialità medicinali.

Terpeni e terpenoidi. Costituiscono una classe di composti fitochimici molto vasta. Hanno comune origine biosintetica dovuta all'unione di elementi a 5 atomi di carbonio (C5) denominati unità isopreniche. La biosintesi dei terpeni parte dall'acetil CoA e prosegue attraverso la via dell'acido mevalonico sino alla sintesi di monoterpeni (2C5), sesquiterpeni (3C5), diterpeni (4C5), triterpeni (6C5), tetraterpeni (8C5) e politerpeni [(C5)*n*]. Spesso queste sostanze vengono chiamate anche isoprenoidi e comprendono alcuni ormoni (gibberelline e acido abscissico) con funzione regolatrice, sostanze che agiscono in fenomeni allelochimici, pigmenti utilizzati per l'assorbimento della luce come i carotenoidi, una porzione della molecola della clorofilla, ma anche sostanze delle quali non è ancora nota la funzione, come la trementina e le gomme.

Composti fenolici. Comprendono un ampio spettro di sostanze molto eterogenee ma tutte caratterizzate dalla presenza di un anello aromatico con uno o più sostituenti ossidrilici. La grande varietà di strutture fenoliche riflette una altrettanto grande diversificazione delle loro funzioni: possono fungere da pigmenti florali a basso peso molecolare (antocianine), da supporto meccanico (lignine), da antibiotici, da schermo nei confronti delle radiazioni UV, da repellenti per insetti e da segnali nelle interazioni pianta-microrganismi. Tra i composti fenolici più conosciuti vi sono i flavonoidi, composti fitochimici con spiccate proprietà antiossidanti e anti-tumorali.

Nonostante che i tre gruppi di fitocostituenti sopra considerati (terpeni, alcaloidi e fenoli) siano estremamente vasti, le piante producono molti altri

ALLELOCHIMICI	CARATTERISTICHE FUNZIONALI/ECOLOGICHE	CLASSI CHIMICHE RAPPRESENTATIVE
Allomoni	Difesa dalla predazione operata da organismi fitofagi (vertebrati, insetti) Difesa da organismi patogeni (virus, batteri, funghi) Meccanismi di competizione con altri organismi vegetali (allelopatia) Protezioni da fattori abiotici di stress (carenza idrica e nutrizionale, salinità, eccesso di radiazioni UV, squilibri termici da basse e alte temperature)	Flavonoidi, alcaloidi, glucosinolati, glucosidi ciano-genetici
Sinomoni	Meccanismi di attrazione di organismi animali (insetti, vertebrati) per l'impollinazione e/o la dispersione di semi e frutti	Antocianidine, calconi, auron, flavoni, flavonoli
Cairomoni	Meccanismi di segnalazione per l'identificazione della pianta ospite da parte di microrganismi (batteri rizosferici, batteri simbiotici) e/o organismi animali (insetti e vertebrati nemici naturali di organismi fitofagi)	Isoflavoni, terpenoidi

Tab. 6 *Classificazione eco-fisiologica dei composti allelochimici di origine vegetale*

composti secondari quali ad esempio i glucosidi cianogenetici, i glucosinolati, le betalaine.

Per molti anni i metaboliti secondari sono stati considerati poco più che semplici prodotti di scarto senza una apparente funzione. In seguito Czapek (1921) li definì «*enprodukt*» in quanto sosteneva che derivassero dal metabolismo dell'azoto, grazie a “modificazioni secondarie” quali, ad esempio, le deaminazioni (Maffei, 1999). La loro definizione concettuale di “prodotti di escrezione” o “prodotti finali del metabolismo” partiva dal presupposto che l'irregolarità della loro presenza nelle piante stava a indicare la loro non indispensabilità. Si ritenevano pertanto primari quei composti coinvolti nei processi metabolici essenziali e ubiquitari mentre secondari furono indicati tutti gli altri componenti (Maffei, 1999).

Oggi sappiamo che molti dei metaboliti secondari svolgono la funzione di mediatori di segnali chimici e che sono indispensabili per la sopravvivenza delle specie vegetali. Negli organismi vegetali ad esempio molti di questi svolgono un'importante funzione adattativa nella protezione contro gli erbivori e gli agenti fitopatogeni, agiscono nei meccanismi di attrazione degli impollinatori e per la dispersione dei propaguli mediata da insetti. Altri metaboliti secondari svolgono invece un ruolo fondamentale come agenti chimici allelopatici nei fenomeni di competizione tra le piante stesse. Gli organismi vegetali, non presentando una specializzazione dei loro tessuti paragonabile a quella del mondo animale, e data la loro sostanziale immobilità attuano la loro lotta

per la sopravvivenza nell'ambiente mediante una miriade di metaboliti secondari, che indipendentemente dalla loro origine biosintetica, vengono definiti allelochimici: con tale definizione vengono pertanto inclusi tutti i composti del biochimismo vegetale per cui sia stato possibile identificare precise funzioni ecologiche.

Concettualmente è possibile distinguere gli allelochimici in tre differenti categorie: allomoni, sinomoni e cairomoni (tab. 6). È interessante sottolineare come nella categoria degli allomoni, ovvero composti coinvolti nei meccanismi di difesa in risposta a stress biotici (ad es. predazione, patogeni) e abiotici (ad esempio carenza idrica, carenze nutrizionali, eccessi termici, eccessi di radiazione), possano essere ascritti la maggior parte dei prodotti del metabolismo secondario.

EFFETTI AMBIENTALI E GENETICI SULLA QUALITÀ FUNZIONALE DI SPECIE DI INTERESSE AGRARIO

Nel corso degli ultimi millenni la tecnica agronomica è stata sviluppata e progressivamente affinata allo scopo di assicurare per le specie di interesse agrario la massima produttività. Tale obiettivo è perseguito assicurando alle piante in allevamento le condizioni ottimali per poter esprimere, in interazione con i fattori ambientali ed edafici, le proprie potenzialità produttive. In altri termini l'approccio consiste nell'ottimizzare le risorse a disposizione delle piante in allevamento e al contempo di gestire l'insieme dei fattori biotici e abiotici, che inducendo condizioni di stress possono limitare la resa areica. Per ogni singola specie di interesse agrario la relativa tecnica di coltivazione si è progressivamente evoluta in accordo a tale principio: la scelta dell'epoca di semina, la modalità di impianto, le lavorazioni del terreno, l'irrigazione, la concimazione, le tecniche di difesa dai patogeni e dalle specie infestanti, le procedure di raccolta risultano mirate a ridurre al minimo gli stress biotici (agenti patogeni, predazione, competizione intraspecifica, competizione con le infestanti ecc.) e abiotici (carenze nutrizionali, carenza idrica, danni da alte o basse temperature, eccesso di radiazione solare etc.) che inibendo il metabolismo primario (metabolismo delle proteine, zuccheri, lipidi, acidi nucleici) limitano direttamente anche la resa quantitativa. In linea di massima, tale generalizzazione risulta applicabile per tutte quelle specie di interesse agrario, il cui prodotto raccolto sia dato da composti del metabolismo primario (proteine, zuccheri, lipidi), indipendentemente dalla loro localizzazione (semi, frutti, parti verdi della piante, intera biomassa vegetativa, apparato

METABOLITI SECONDARI	SPECIE	STRESS INDOTTO	EFFETTO	RIFERIMENTO
Acidi clorogenici	<i>Helianthus annuus</i>	Idrico	Alto incremento (fino a 10 volte)	Del Moral, 1972
Flavonoidi totali	<i>Pisum sativum</i>	Idrico	Forte incremento (45%)	Nogues et al., 1998
Antocianine	<i>Pisum sativum</i>	Idrico	Forte incremento (oltre 80%)	Nogues et al., 1998
Trigonellina	<i>Glycine max</i>	Idrico	Incremento significativo	Cho et al., 2003
Glucosinolati	<i>Brassica napus</i>	Idrico	Alto incremento (fino a 5 volte)	Jensen et al., 1996
Glucosinolati	<i>Brassica napus</i>	Idrico	Incremento significativo	Bouchereau et al., 1996
Flavonoidi totali	<i>Horodeum vulgare</i>	Salino	Incremento significativo	Ali e Abbas, 2003
Trigonellina	<i>Glycine max</i>	Salino	Forte incremento (oltre 50%)	Cho et al., 1999
Glicinebetaine	<i>Trifolium repens</i>	Salino	Alto incremento (fino a 5 volte)	Varshney et al., 1988
Di- e poliammine	<i>Oryza sativa</i>	Salino	Alto incremento (fino a 2 volte)	Krishnamurthy et al., 1989
Glicinebetaine	<i>Triticum aestivum</i>	Salino	Alto incremento (fino a 5 volte)	Krishnamurthy et al., 1990

Tab. 7 Effetto di stress indotti nell'incrementare il contenuto di vari metaboliti secondari in specie di interesse agrario (modificata da Selmar, 2008)

radicale). All'opposto, la maggior parte dei principi attivi, che conferiscono qualità funzionali, appartengono al metabolismo secondario, che manifesta un biochimismo regolato da meccanismi antitetici rispetto al metabolismo primario. I prodotti del metabolismo secondario sono in linea di massima sostanze multi-funzionali (ovvero in grado di assolvere molteplici azione fisiologiche ed ecologiche) coinvolte nei processi di ripristino dell'omeostasi cellulare in seguito a eventi, quali gli stress biotici e abiotici, che ne abbiano compromesso l'equilibrio. È pertanto evidente come l'elicitazione, indotta da fattori di stress biotici e abiotici, si possa ripercuotere positivamente sulla resa in principi attivi. La cosiddetta "manipolazione colturale", definita anche "elicitazione deliberata", viene sempre più riconosciuta come una strategia efficace per implementare l'accumulo di metaboliti secondari in specie di interesse agrario, come testimoniato da diversi lavori sperimentali e di revisione, disponibili in letteratura (tab. 7) (Lila 2006; Selmar, 2008; Bagnaresi et al., 2008). Sostanzialmente l'approccio consiste nell'imporre, durante il ciclo colturale, trattamenti stressanti (ad esempio stress termico, nutrizionale, idrico, salino) o nel simulare stress di natura biotica (quali la lacerazione meccani-

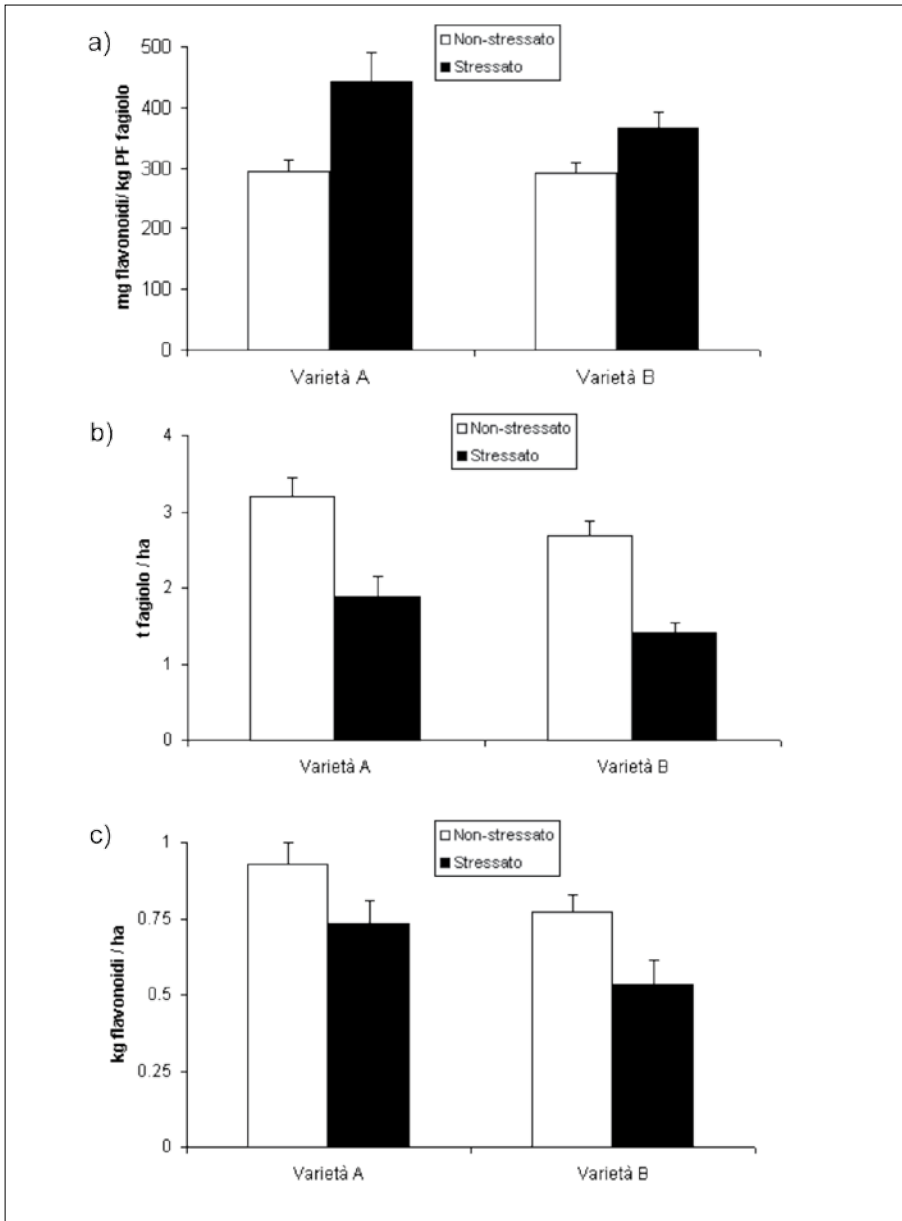


Fig. 2 Effetto dello stress idrico (barre nere) sull'accumulo di flavonoidi (mg flavonoidi/kg peso fresco seme \pm errore standard) nel seme di due varietà di fagiolo comune (*Phaseolus vulgaris* L.) (A), sulla resa in granella (t/ha \pm errore standard) (B) e in flavonoidi (kg flavonoidi/ha \pm errore standard) (C)

ca dei tessuti vegetali). Se da una parte l'elicitazione deliberata offre diversi spunti interessanti, dall'altra risulta una tecnica ancora non ben definita per le diverse specie di interesse agrario. Il primo punto da sciogliere è relativo alla tempistica di applicazione e alla durata dello stress e/o degli stress combinati durante il ciclo della pianta. È evidente che specie diverse possono avere modalità di risposta completamente antitetiche, e risulta impossibile prevedere a priori la durata e l'intensità dello stress idonei a generare effetti tangibili relativamente alla concentrazione dei principi attivi nel prodotto raccolto. In linea generale, le specie vegetali manifestano due differenti tipologie di strategie: alcune specie sintetizzano e accumulano costitutivamente principi attivi del metabolismo secondario, altre tendono ad avviare la sintesi e l'accumulo solo in risposta a precisi stimoli (stress) ambientali. Quindi, un primo aspetto da tenere in debito conto per poter procedere a un'applicazione in pieno campo della elicitazione deliberata è quella di riuscire a definire sperimentalmente la tempistica di applicazione e la durata dello stress, dal momento che tali informazioni basilari non sono disponibili in letteratura per la maggior parte delle specie vegetali. Relativamente alla durata dello stress applicato durante l'elicitazione deliberata, non deve essere dimenticato che qualunque fattore di stress si ripercuote in modo decisamente negativo sulla resa quantitativa. Infatti, metabolismo primario e secondario competono per comuni precursori biosintetici: l'incremento della concentrazione dei metaboliti secondari, a seguito della stimolazione operata da fattori stressanti biotici e/o abiotici, porta immancabilmente a una contrazione della produzione di metaboliti primari. È quindi evidente che la manipolazione colturale deve forzatamente riuscire a conciliare resa quantitativa e resa qualitativa. Sfortunatamente nella maggior parte degli studi pubblicati in letteratura, relativi all'effetto degli stress sulla sintesi e accumulo di metaboliti secondari, mancano i dati relativi alla resa. Di conseguenza, non può essere escluso che l'incremento della concentrazione di metaboliti secondari, rispetto a piante non-stressate, sia da ritenersi putativo in quanto la maggiore concentrazione di metaboliti secondari per singola pianta potrebbe non compensare la minore resa complessiva.

Nell'esempio riportato in figura 2 è possibile notare come lo stress idrico (assenza di irrigazione per l'intero ciclo produttivo) induca nel fagiolo comune un significativo incremento nel contenuto in flavonoidi totali del seme, del 32 e 20% rispettivamente per la varietà A e B. Tuttavia lo stress prolungato (con un deficit idrico medio per le tesi stressate pari a oltre 250 mm) ha avuto pesanti ripercussioni in termini di resa produttiva, con una sua riduzione media pari a oltre il 45% (fig. 2B). Pertanto la maggior concentrazione di principi attivi nelle tesi stressate non ha potuto compensare la

minore resa produttiva: infatti, le tesi non stressate hanno evidenziato una resa media in flavonoidi per unità di superficie coltivata significativamente superiore (mediamente del 25%) rispetto alle tesi sottoposte a stress (fig. 2C). È evidente che il guadagno in qualità dovuto a una maggior concentrazione di principi attivi è stato vanificato da una forte penalizzazione nella resa totale in granella. Complessivamente, l'esempio riportato in precedenza evidenzia come la manipolazione colturale, basata sull'applicazione deliberata di eventi stressanti, sia senza dubbio un'incoraggiante nuova strategia produttiva atta a migliorare la qualità funzionali dei seminativi, ma che tuttavia richiede, per una sua applicazione di successo, una più solida e comprensiva conoscenza degli effetti che i diversi approcci di manipolazione colturale inducono sui fattori produttivi, primo fra tutti sull'accumulo di sostanza secca. Tale conoscenza risulta di primaria importanza per poter gestire in maniera ottimale una manipolazione colturale basata sull'applicazione di stress "controllati", ovvero in grado di ottimizzare il contenuto in principi attivi, ma con una limitata penalizzazione in termini di resa quantitativa. Al fine di superare le limitazioni dell'applicazione di fattori stressanti sulla resa produttiva, nuove prospettive vengono offerte dall'utilizzo di composti di sintesi in grado di stimolare il metabolismo secondario.

Nelle piante la catena di trasduzione dei diversi segnali ambientali (tra cui anche quelli direttamente collegati a fattori di stress biotici e abiotici) può includere diversi composti, quali ad esempio l'acido salicilico, l'acido α -aminobutirrico, diverse poliammine e l'acido jasmonico, che tra le varie attività fisiologiche in relazione all'accrescimento e lo sviluppo della pianta agiscono inducendo un incremento della sintesi e accumulo di metaboliti secondari. Diversi studi in ambiente controllato hanno permesso di evidenziare come la somministrazione esogena di tali composti induca in diverse specie vegetali un marcato stimolo del metabolismo secondario, con conseguente incremento di concentrazioni per diverse classi di composti (polifenoli, alcaloidi, terpeni) (Gundlach et al., 1992; Godoy-Hernandez e Loyola-Vargas, 1997; Kaur e Gupta, 2005). Si deve comunque sottolineare che i sopramenzionati composti sono ancora allo stato attuale prodotti strettamente sperimentali, e pertanto non ancora registrati per un loro utilizzo in pieno campo. Quindi anche l'elicitazione chimica, prima di poter vedere una sua applicazione in pieno campo, richiederà un attento lavoro di ricerca, mirato anche a valutarne l'effettiva efficienza a fronte di un inevitabile incremento dei costi di produzione.

Il concetto di "manipolazione colturale" trova già da ora una sua attualità nel dibattito relativo alla qualità nutrizionale e funzionale dei prodotti

dell'agricoltura convenzionale e di quella biologica. La controversia è attualmente maggiormente focalizzata su frutta e ortaggi, che nel contesto di una dieta equilibrata rappresentano le principali fonti di antiossidanti, sotto forma di polifenoli (in particolare acidi fenolici e flavonoidi). Da qualche decennio i ricercatori si chiedono se i livelli di antiossidanti fenolici (e di altri antiossidanti derivanti dal metabolismo secondario delle piante) siano più bassi in prodotti ottenuti in regime convenzionale, in quanto complessivamente l'agro-tecnica associata a questa modalità produttiva (con particolare riferimento all'utilizzo di fitofarmaci per il controllo dei patogeni e per la gestione della competizione esercitata dalle infestanti) agirebbe inibendo la sintesi dei metaboliti secondari coinvolti nei processi difensivi delle piante. Come già evidenziato in precedenza, le piante producono metaboliti secondari (allomoni) quali composti difensivi in risposta a stress biotici e abiotici. Pertanto, le piante allevate in regime biologico risulterebbero maggiormente esposte a fattori stressanti (maggiore competizione con le infestanti, maggiore esposizione ad agenti patogeni e a insetti fitofagi) e quindi accumulerebbero nei propri tessuti una maggiore quantità di metaboliti secondari (Dixon e Paiva, 1995). Nel confronto tra agricoltura convenzionale e biologica, altri autori pongono l'attenzione sul diverso approccio agro-tecnico alla fertilizzazione. Tipicamente in regime biologico l'azoto viene fornito in forme non rapidamente disponibili per la coltura, a differenza di quanto generalmente avviene in regime convenzionale. La biodisponibilità dell'azoto ha una notevole influenza nell'indirizzare le attività biosintetiche delle piante. Diversi studi hanno evidenziato che a una bassa disponibilità di nutrienti corrisponde una più bassa concentrazione di composti fenolici antiossidanti (Sander e Heitefuss, 1998; Stout et al., 1998; Wilkens et al., 1996; Doll, 1994). Varie teorie sono state elaborate per giustificare tali evidenze sperimentali quali l'ipotesi del bilancio carbonio/nutrienti, del bilancio tra accrescimento e differenziazione, e del modello della competizione della sintesi proteica (Bryant et al., 1983; Herms e Mattson, 1992; Jones e Hartley, 1999). Complessivamente, queste teorie, seppure con differenti giustificazioni fisiologiche, sostengono che a un'elevata disponibilità di nutrienti corrisponde un maggiore flusso di carbonio verso il metabolismo primario, ovvero un maggior investimento nei processi di accrescimento e sviluppo, e una riduzione del flusso di carbonio diretto al metabolismo secondario e alla sintesi/accumulo di composti fenolici antiossidanti. Resta comunque il fatto che analizzando la vasta bibliografia disponibile sull'argomento risulta non facile trarre conclusioni definitive.

A titolo di esempio, nel lavoro di revisione di Rembialkowska (2007), basato sul lavoro di Worthington (2001) e i cui risultati sono sintetizzati

COMPOSTI	DIFFERENZA MEDIA (%)	RANGE (%)	NUMERO DI STUDI
Vitamina C	+28.7	Da -38 a +135.5	21
Composti fenolici	+119.3	Da -56.6 a +734.2	15
Ferro	+21.1	Da -73 a +240	16
Magnesio	+29.3	Da -35 a +120.6	17
Fosforo	+13.6	Da -44 a +240	18

Tab. 8 *Contenuto in diversi componenti desiderabili in frutta, ortaggi e cereali prodotti in regime biologico rispetto agli stessi prodotti ottenuti in regime convenzionale (Rembalkowska, 2007; Worthington, 2001)*

in tabella 8 vengono evidenziate significative differenze in termini di contenuto di minerali, vitamina C e composti fenolici in frutta, ortaggi e cereali ottenuti in regime biologico rispetto ai medesimi prodotti ottenuti in regime convenzionale. All'opposto, un recente studio di meta-analisi della letteratura disponibile, per altro basato su solo 11 lavori pubblicati nell'ultimo decennio, esclude qualsiasi effetto salutistico di svariati alimenti prodotti in regime biologico rispetto agli stessi alimenti prodotti in regime convenzionale (Dangour et al., 2009). Oltre a una non secondaria componente ideologica che spesso ancora divide il giudizio in merito a qualsiasi argomento relativo alla agricoltura convenzionale e biologica, è importante riconoscere che queste due approcci agro-tecnici rappresentano sistemi dinamici che possono profondamente differenziarsi in funzione di specifici fattori climatici e ambientali, della qualità del suolo, della prevalenza di determinati patogeni, nonché dell'attitudine dell'agricoltore. Risulta di per sé estremamente difficile, da un punto di vista metodologico, voler raffrontare la qualità nutrizionale e funzionale di un qualsiasi prodotto agricolo ottenuto in agro-sistemi differenti, non solo per l'agro-tecnica adottata, ma anche per le condizioni ambientali e pedologiche.

In altri termini nella maggior parte dei lavori disponibili, non è possibile distinguere gli eventuali effetti ambientali da quelli di natura genetica, in quanto spesso non vengono riportate precise indicazioni in merito alle condizioni ambientali dei sistemi produttivi analizzati nonché ai genotipi oggetto di studio. Infatti, la composizione in metaboliti secondari non solo varia in funzione della specie, ma anche del genotipo. Se da una parte il genotipo ha un ruolo primario nel determinare la composizione qualitativa in metaboliti secondari, dall'altra i diversi fattori dell'ambiente hanno una forte incidenza nel determinarne l'espressione quantitativa (Dixon e Paiva, 1995). Ad esempio, nella soia (*Glycine max*) elevate temperature nella fase di maturazione dei baccelli riducono significativamente il contenuto di iso-flavoni accumulati a livello del seme, mentre nel fagiolo comune (*Phaseou-*

lus vulgaris) sono stati osservati sia genotipi che traggono vantaggio, nell'accumulare flavonoli in forma glicosidica, da più basse temperature nella fase di maturazione del legume, sia genotipi che all'opposto manifestano un comportamento diametralmente opposto traendo vantaggio da temperature medie più elevate (Carrao-Panizzi et al., 1999; Whittaker et al., 2009). Tale esempio evidenzia la difficoltà oggettiva di operare una selezione varietale per i seminativi con presupposti innovativi, ovvero un *breeding* mirato all'ottenimento di varietà caratterizzate da certificate proprietà funzionali. Affinché il processo di selezione possa portare risultati soddisfacenti è necessario che vengano soddisfatte alcune condizioni fondamentali (Bagnaresi et al., 2008).

Disponibilità di un'ampia collezione di germoplasma

La collezione, costituita sia da materiale di recente e antica costituzione, dovrebbe manifestare la più ampia variabilità per i caratteri di interesse (metaboliti secondari). In particolare dovrebbe essere la più rappresentativa possibile dei diversi profili metabolici che caratterizzano molte specie di interesse agrario. A titolo esemplificativo, in un recente lavoro sono stati valutati, tramite analisi in spettrometria di massa (ESI-TOF-MS), i profili metabolomici di 2 varietà di antica costituzione (Senatore Cappelli, Urria) e di 7 varietà moderne (Anco Marzio, Claudio, Iride, Levante, Orobol, Sollex e Svevo) di frumento duro (Dinelli et al., 2009). Il materiale era stato allevato in una medesima località, al fine di evitare per i genotipi oggetto di indagine differenti influenze ambientali. Le analisi in HPLC-TOF-MS hanno portato all'identificazione di oltre 70 composti fenolici, tra i quali cumarine, acidi fenolici, antocianine, flavoni, isoflavoni, protoantocianidine, stilbeni e lignani. Come evidenziato nella tabella 9, i due genotipi di antica costituzione hanno evidenziato mediamente una significativa maggior ricchezza sia in composti fenolici legati (di minore biodisponibilità) che in composti fenolici liberi (maggiormente biodisponibili). Tra i due gruppi di varietà è risultato inoltre significativamente differente anche il numero medio di forme isomeriche: tale evidenza sperimentale suggerisce che Senatore Cappelli e Urria siano in grado di attivare vie bio-sintetiche alternative, con tutta probabilità non espresse nelle varietà di recente costituzione. Un analogo studio è stato condotto confrontando i profili metabolomici di 16 varietà di antica costituzione (Andriolo, Autonomia A, Autonomia B, Benico, Bianco Nostrale, Canove, Carosello, Frassineto, Gentil Bianco, Gentil

VARIETÀ	COMPOSTI TOTALI ^a	LIBERI			LEGATI	
		ISOMERI TOTALI	COMPOSTI UNICI	COMPOSTI TOTALI ^a	ISOMERI TOTALI	COMPOSTI UNICI
Antiche	4,4 (b) ^b	2,0 (b)	0,6	8,6 (b)	4,0 (b)	0,7
Moderne	8,7 (a)	7,7 (a)	1,3	12,7 (a)	10,7 (a)	0,7

^a Isomeri esclusi
^b Medie seguite dalla stessa lettera o da nessuna lettera non sono significativamente differenti per P < 0.05.

Tab. 9 *Valori medi di composti totali, isomeri totali e composti unici identificati negli estratti fenolici liberi e legati di varietà di antica (Senatore Cappelli, Urria) e di moderna (Anco Marzio, Claudio, Iride, Levante, Orobol, Solex e Svevo) costituzione di frumento duro (Dinelli et al., 2009)*

Rosso, Gentil Rosso mutico, Inalettabile, Marzuolo d'Aqui, Marzuolo Val Pusteria, Sieve, Verna), e di 6 varietà moderne (Bilancia, Bolero, Eureka, Mieti, Nobel, Palesio) di frumento tenero (Dinelli et al., 2010). Anche in questo caso le 22 varietà sono state allevate in una medesima località, al fine di evitare per i genotipi oggetto di indagine differenti influenze ambientali. Le analisi in HPLC-TOF-MS hanno portato all'identificazione di oltre 60 differenti composti fenolici, appartenenti alle classi chimiche delle cumarine, degli acidi fenolici, delle antocianine, dei flavoni, degli isoflavoni, delle protoantocianidine, degli stilbeni e dei lignani. L'interpretazione degli spettri di massa ha permesso di evidenziare notevoli differenze tra i profili fitochimici delle 22 varietà studiate. Sulla base della similarità dei profili fitochimici i genotipi di antica costituzione sono stati suddivisi in due gruppi. Il gruppo formato da Bianco Nostrale, Frassineto, Gentil Rosso, Gentil Rosso mutico, Marzuolo d'Aqui e Verna ha evidenziato, sia nella frazione libera che in quella legata, un numero medio di composti fenolici e di isomeri totali significativamente maggiore rispetto alle altre varietà oggetto di studio (tab. 10). Il contenuto peculiare in composti fenolici bioattivi di tali varietà di antica costituzione suggerisce un loro utilizzo in programmi di miglioramento genetico finalizzati all'ottenimento di varietà con caratteri qualitativi di pregio e un più elevato contenuto in composti benefici per la salute. Tra le varietà moderne, Nobel e Palesio sono risultati i genotipi caratterizzati da un contenuto quali-quantitativo in polifenoli biotivi superiore rispetto alle altre varietà di recente costituzione.

Studio degli effetti sull'alimentazione umana

Prove condotte su persone per valutare gli effetti, del consumo alimentare a

VARIETÀ	COMPOSTI TOTALI ^A	LIBERI			LEGATI	
		ISOMERI TOTALI	COMPOSTI UNICI	COMPOSTI TOTALI ^A	ISOMERI TOTALI	COMPOSTI UNICI
Antiche 1	11,0 (a) ^b	5,1 (a)	0,6 (a)	18,6 (a)	7,0 (a)	0,5 (a)
Antiche 2	5,8 (ab)	2,1 (ab)	0,2 (a)	12, 3 (b)	4,0 (b)	0,2 (a)
Moderne	3,5 (b)	0,8 (b)	0,2 (a)	13,3 (b)	4,5 (b)	0,3 (a)

^a Isomeri inclusi
^b Medie seguite dalla stessa lettera o da nessuna lettera non sono significativamente differenti per P < 0.05.

Tab. 10 Valori medi di composti totali, isomeri totali e composti unici identificati negli estratti fenolici liberi e legati di varietà di antica (distinte in “Antiche 1” = Bianco Nostrale, Frassineto, Gentil Rosso, Gentil Rosso mutico, Marzuolo d’Aqui, Verna e in “Antiche 2” = Andriolo, Autonomia A, Autonomia B, Benco, Canove, Carosello, Gentil Bianco, Inalettabile, Marzuolo Val Pusteria, Sieve) e di moderna (Bilancia, Bolero, Eureka, Mieti, Nobel, Palesio) costituzione di frumento tenero (Dinelli et al., 2010)

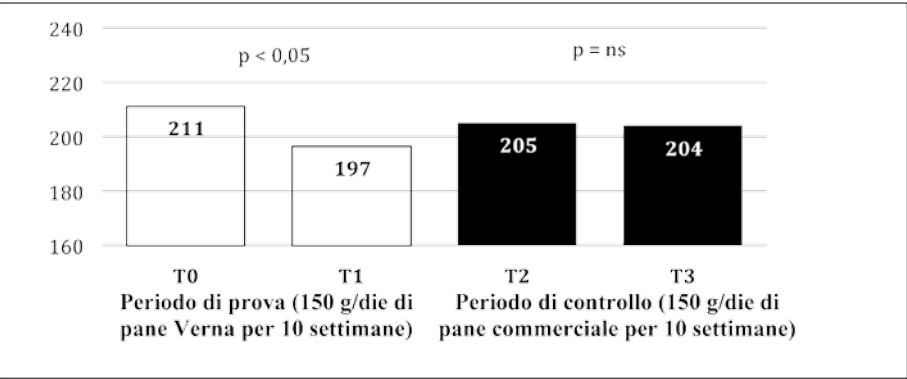


Fig. 3A Profilo lipidico: Colesterolo totale (mg/dL)

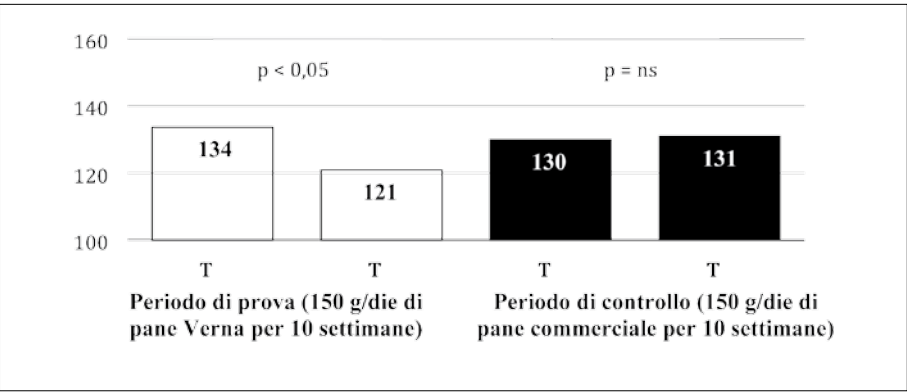


Fig. 3B Profilo lipidico: Colesterolo “cattivo” LDL (mg/dL)

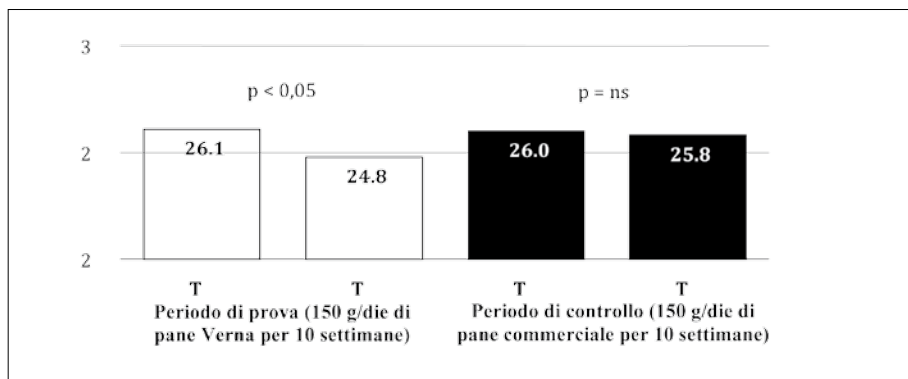


Fig. 4A Viscosità del sangue intero ad alta shear rate 94,500 s⁻¹ (mPA*s)

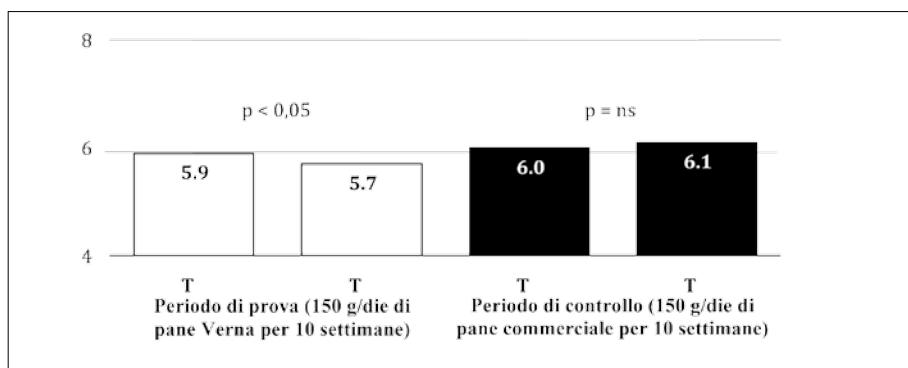


Fig. 4B Viscosità del sangue intero a bassa shear rate 0.512 s⁻¹ (mPA*s)

breve termine di pane ottenuto con farine di tipo 2 prodotte da una vecchia varietà di frumento (Verna), caratteristica della Toscana, su alcuni parametri relativi al processo aterosclerotico. Venti soggetti sani (età media 39,5 anni) hanno seguito per 10 settimane una dieta contenente il pane (150 g/giorno) prodotto con il frumento testato (periodo di prova) e per lo stesso periodo una dieta contenente pane disponibile in commercio nella stessa quantità (periodo di controllo). I profili lipidici (fig. 3A, 3B) infiammatori ed emoreologici (fig. 4A, 4B) sono stati valutati prima e dopo l'intervento alimentare. Il periodo di prova ha mostrato un significativo miglioramento ($P < 0,05$) del colesterolo totale (prima dell'intervento $211,2 \pm 10,8$ mg/dL; dopo l'intervento $196,5 \pm 9,8$ mg/dL) e dei livelli di colesterolo lipoproteico a bassa densità (prima dell'intervento $137,5 \pm 8,1$ mg/dL; dopo l'intervento $119,5 \pm 7,5$ mg/dL), mentre non sono stati osservati dei cambiamenti significativi nel periodo di controllo (fig.

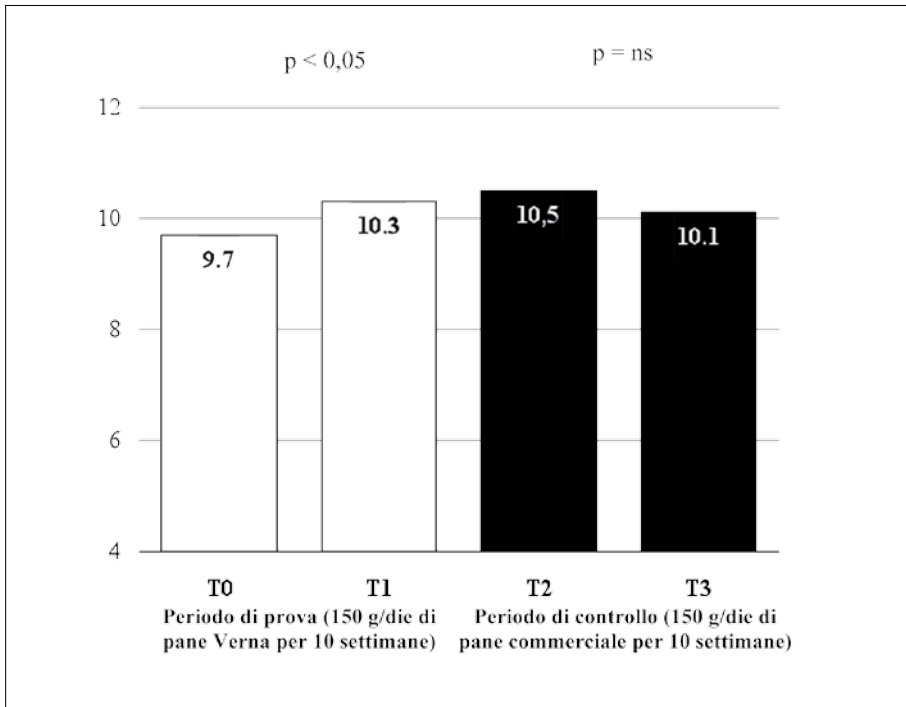


Fig. 5 *Profilo Emoreologico: Tasso di filtrazione eritrocitaria %*

3A, 3B). Per quanto riguarda i parametri infiammatori ed emoreologici, il periodo di prova ha mostrato un significativo decremento di alcuni dei parametri oggetto d'indagine (interleuchina-8 [pre-intervento vs. post-intervento $67,4 \pm 10,7$ vs. $43,9 \pm 4,1$ pg/mL], viscosità del sangue umano a velocità alta [rispettivamente $4,36 \pm 0,03$ vs. $4,32 \pm 0,03$ mPa *s] e bassa [rispettivamente $26,1 \pm 0,4$ vs. $24,8 \pm 0,5$ mPa *s] (fig. 4) e filtrazione degli eritrociti [rispettivamente $8,4 \pm 0,7\%$ vs. $9,1 \pm 0,6\%$]) relativi dopo il periodo di controllo, che non ha mostrato significativi cambiamenti (fig. 5). Il consumo alimentare a breve termine di pane di farina tipo 2 ottenuto da una vecchia varietà di frumento sembra imporre condizioni ottimali per quanto riguarda i più bassi livelli correnti di *markers* aterosclerotici (Sofi et al. 2009).

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

L'identificazione dei principi attivi di interesse, dei loro precursori e degli eventuali prodotti di degradazione (metabolomica), unitamente all'identificazione degli en-

zimi chiave che ne regolano la sintesi e l'accumulo nei diversi tessuti vegetali (proteomica) rappresentano le basi teoriche per giungere a una precisa definizione delle basi geniche in grado di ottimizzare il lavoro di selezione. Negli ultimi decenni progressi notevoli sono stati registrati in merito alla definizione delle vie biosintetiche del metabolismo secondario. Tuttavia le conoscenze risultano ancora non complete: infatti, a fronte di un progresso nella conoscenza dei *pathway* metabolici principali, restano ancora numerose lacune per tutte le vie biosintetiche secondarie (ad esempio per le numerose vie biosintetiche alternative che a partire da un medesimo principio attivo aglicone portano alla sintesi di numerose isoforme glicosilate). Inoltre è ancora piuttosto limitato il numero di geni isolati per reazioni chiave del metabolismo secondario o per *step* di regolazione. I fattori ambientali hanno una notevole influenza nel determinare l'espressione dei prodotti del metabolismo secondario. Risulta fondamentale nei programmi di miglioramento un'attenta valutazione di quanto un determinato carattere sia influenzato dai fattori ambientali o viceversa sia determinato da fattori genetici. Pertanto, al fine di determinare il livello di ereditabilità di un carattere è necessario condurre prove in pieno campo, ripetute in ambienti differenti e per diversi anni, distinguendo la quota di variabilità geneticamente determinata da quella determinata dai fattori dell'ambiente.

Date queste premesse si intuisce come un simile lavoro di miglioramento richieda l'integrazione di diverse competenze delle scienze *-omiche* (metabolomica, proteomica, genomica) e come sia possibile identificare diverse criticità (disponibilità di un'ideale collezione di germoplasma, limitate informazioni delle basi metabolomiche, proteomiche e genomiche del metabolismo secondario, difficoltà nella stima dell'ereditabilità dei caratteri) che rendono il lavoro di selezione difficoltoso ed economicamente costoso.

RIASSUNTO

Nell'ambito delle produzioni agricole possono essere considerati diversi aspetti per definire il concetto di qualità, che può comprendere aspetti tecnologici, sanitari e funzionali. La complessità nel definire la qualità e gli aspetti da considerare per ottenere una valutazione globale dell'alimento, rendono la valutazione molto complicata. Per anni il miglioramento genetico, e le tecniche agronomiche, sono stati orientati nel definire parametri legati alle caratteristiche produttive e tecnologiche, ignorando quasi del tutto gli aspetti legati alla nutrizione. Oggi con le nuove tecnologie di analisi è possibile valutare molto più integralmente un prodotto ottenuto dall'attività agricola, considerando tutti quei metaboliti secondari che sono spesso responsabili del sapore, dell'odore e delle qualità funzionali di un alimento. Quindi è possibile orientare il miglioramento genetico e le tecniche agronomiche, per ottenere il giusto compromesso tra gli aspetti produttivi, tecnologici, sanitari e di qualità alimentare e funzionale, per ottenere prodotti nel rispetto dell'ambiente e dell'organismo che se ne nutre.

ABSTRACT

In the sphere of agricultural production, different aspects, including those technological, sanitary and functional, may be considered when defining the concept of quality. The difficulty in defining quality, as well as the aspects that must be considered to obtain a global evaluation of the food produced, render the evaluation complex. For years, genetic improvement and agronomical techniques were orientated towards defining parameters linked to productive and technological characteristics, whereas most aspects pertaining to nutrition were ignored. Nowadays, with the new analytical technologies available, it is possible to perform more integrated assessments of food products obtained from agricultural activities. Of importance is the assessment of all secondary metabolites, responsible for the taste, smell and functional quality of the food. Therefore, it is feasible to orient genetic improvement and agronomical techniques to obtain the correct compromise between productive, technological and sanitary aspects, in order to attain food products that are both beneficial to human/animal health and the environment.

BIBLIOGRAFIA

- ALI R.M., ABBAS H.M. (2003): *Response of salt stressed barley seedlings to phenylurea*, «Plant Soil Environment», 49(4), pp. 158-162.
- AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION (2007): *Functional foods: what they are?*, American Diet Associations Public Relation Team. http://www.eatright.org/cps/rde/xchg/ada/hs.xls/home_4415_ENU_HTML.htm.
- ANDERSON E.L., KAMPRATH E.J., AND MOLL R.H. (1984). *Nitrogen fertility effects on accumulation, remobilization and partitioning of N and dry matter in corn genotypes differing in prolificacy*. «Agronomy Journal», 76, pp. 397-404.
- ARAI S. (1996): *Studies on functional foods in Japan - state of the art*, «Bioscience Biotechnology Biochemistry», 60, pp. 9-15.
- ARIÑO A., HERRERA M., JUAN T., ESTOPANAN G., CARRAMINANA J. J., ROTA C., HERRERA A. (2009): *Influence of Agricultural Practices on the Contamination of maize by fumonisin mycotoxins*, «Journal of Food Protection», 72, pp. 898-902.
- BAGNARESI P., CATTIVELLI L., TRONO D., RANALLI P. (2008): *Strategie per l'accumulo nelle piante di prodotti di interesse nutrizionale ed industriale*, in *Le piante industriali per un'agricoltura multifunzionale*, a cura di Ranalli P., Edizioni Avenue media, Bologna-Milano, pp. 1-20.
- BEAN W.B. (1968): *Sir William Osler: aphorisms from his beside teaching and writing*, C.C. Thomas Edition, Springfield, IL, USA.
- BENNETT J.W., KLICH M.A. (2003): *Mycotoxins*, «Clinical Microbiology Review» 16, pp. 497-516.
- BOUCHEREAU A., CLOSSAIS-BESNARD N., BENSABOUD A., LEPORT L., RENARD M. (1995): *Water stress effects on rapeseed quality*, «European Journal of Agronomy», 5, pp. 19-30.
- BOUTIGNY A-L., RICHARD-FORGET F., BARREAU C. (2008): *Natural mechanisms for cereal resistance to the accumulation of Fusarium trichothecenes*, «European Journal of Plant Pathology», 121, pp. 411-423.

- BRYANT J., CHAPIN I., KLEIN D. (1983): *Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory*, «Oikos», 40, pp 357-368.
- CAPASSO L. (1998): *5300 years ago, the Ice Man used natural laxatives and antibiotics*, «Lancet», 352, pp. 1864-1870.
- CARRAO-PANIZZI M.C., BELEIA A.D., KITAMURA K., OLIVEIRA M.C.N. (1999): *Effects of genetics and environment on isoflavone content of soybean from different regions of Brazil*, «Pesquisa Agropecuária Brasileira», 34, pp. 1787-1795.
- CHO Y., LIGHTFOOT D.A., WOOD A.J. (1999): *Trigonelline concentrations in salt stressed leaves of cultivated Glycine max*, «Phytochemistry», 52 (7), pp. 1235-1238.
- CHO Y., NJITIV N., CHEN X., LIGHTFOOT D.A., WOOD A.J. (2003): *Trigonelline concentration in field-grown soybean in response to irrigation*, «Biologia Plantarum», 46 (3), pp. 405-410.
- CIAA (2009): Acrylamide Toolbox. Confederation of food and Drink Industries of the EEC Revision 12. 2009, http://www.ciaa.eu/documents/brochures/ac_toolbox_20091216.pdf
- CLEMENTS M.J., WHITE D.G. (2004): *Identifying sources of resistance to aflatoxin and fumonisin contamination in corn grain*, «Journal of Toxicology», 23, pp. 381-396.
- CLYDESDALE F. (2004): *Functional foods: opportunities and challenges*, «Food Technology», 58, pp. 35-40.
- COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EN:PDF>
- COMMISSION REGULATION (EC) No 2010/307/EU. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:137:0004:0010:EN:PDF>
- COTTY P.J., MELLON J.E. (2006): *Ecology of Aflatoxin producing fungi and biocontrol of aflatoxin contamination*, «Mycotoxin Research», 22, pp. 110-117.
- COTTY P.J., JAIME-GARCIA R. (2007): *Influences of climate on aflatoxin-producing fungi and aflatoxin contamination*, «International Journal of Food Microbiology», 119, pp. 109-115.
- CURTIS T.Y., MATTUCUMARU N., SHREWRY P.R., PARRY M.A.J., POWERS S.J., ELMORE J.S., OTTRAM D.S., HOOK S., FORD N.G. (2009): *Effects of genotype and environment on free amino acid levels in wheat grain: Implications for acrylamide formation during processing*, «Journal of Agricultural Food Chemistry», 57, pp. 1013-1021.
- DANGOUR A., AIKENHEAD A., HAYTER A., ALLEN E., LOCK K., UAUY R. (2009): *Comparison of putative health effects of organically and conventionally produced foodstuffs: a systematic review*, Report for the Food Standards Agency, London School of Hygiene & Tropical Medicine, disponibile in <http://www.food.gov.uk/news/newsarchive/2009/jul/organic>.
- DINELLI G., DI SILVESTRO R., MAROTTI I., BOSI S., BREGOLA V., CATIZONE P., GHISELLI L., WHITTAKER A., BENEDETTELLI S., SEGURA CARRETERO A. (2010): *Profili Metabolomici di Varietà Antiche e Moderne di Frumento Tenero (Triticum aestivum L.)*, in Atti del XXXIX Convegno Nazionale Società Italiana di Agronomia, Roma, 21-23 settembre 2010, pp. 87-89.
- DINELLI G., SEGURA CARRETERO A., DI SILVESTRO R., MAROTTI I., FU S., BENEDETTELLI S., GHISELLI S., FERNANDEZ-GUTIERREZ A. (2009): *Determination of phenolic compounds in modern and old varieties of durum wheat using liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry*, «Journal of Chromatography A», 1216, pp. 7229-7240.
- DING J-Q., WANG X-M., CHANDER S., YAN J-B., LI J-H. (2008): *QTL mapping of resi-*

- stance to *Fusarium* ear rot using a RIL population in maize, «Molecular Breeding», 22, pp. 395-403.
- DINNES D.L., KARLEN D.G., JAYNES D.B., KASPAR T.C., HATFIELD J.-L., COLVIN T.S. CAMBARDELLA C.A. (2002): *Nitrogen management strategies to reduce nitrate leaching in tile-drained Midwestern soils*, «Agronomy Journal», 94, pp. 153-171.
- DIXON R.A., PAIVA N.L. (1995): *Stress-induced phenylpropanoid metabolism*, «Plant Cell», 7 (7), pp. 1085-1097.
- DOLAN L.C., MATULKA R.A., BURDOCK G.A. (2010): *Naturally Occurring Food Toxins*, «Toxins», 2, pp. 2289-2332.
- DOLL H. (1994): *Phenolic compounds in barley varieties with different degree of partial resistance against powdery mildew*, «Acta Horticulturae», 381, pp. 576-582.
- EDWARDS S.G. (2004): *Influence of agricultural practices on fusarium infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins*, «Toxicology Letters», 153, pp. 29-35.
- EUROPEAN COMMISSION (1999): *Fusarium toxins in Food safety. From the farm to the fork*, http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/aflatoxins_en.htm.
- FIELDING G.H. (1996): *History of Medicine*, Philadelphia W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA.
- FOROUD N.A., EUDES F. (2009): *Trichothecenes in cereal grains*, «International Journal of Molecular Science», 10, pp. 147-173.
- GAUTIER M.F., ALEMAN M.E., GUIRAO A., MARION D., JOUDRIER P. (1994): *Triticum aestivum puroindolines, two basic cystine-rich seed proteins: cDNA sequence analysis and developmental gene expression*, «Plant Molecular Biology», 25, pp. 43-57.
- GIROUX M.J. AND MORRIS C.F. (1998): *Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b*, «Proceedings of the National Academy of Sciences USA», 95, pp. 6262-6266.
- GIROUX M.J., MORRIS. F.C. (1997): *A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch surface friabilin*, «Theoretical Applied Genetics», 95, pp. 857-864.
- GODOY-HERNANDEZ G., LOYOLA-VARGAS V.M. (1997): *Effect of acetylsalicylic acid on secondary metabolism of Catharanthus roseus tumor suspension cultures*, «Plant Cell Reports», 16, pp. 287-290.
- GREENWELL P. (1992): *Biochemical studies of endosperm texture in wheat*, «Chorleywood Digest», 118, pp. 74-76.
- GUNDLACH H., MULLER M.J., KUTCHAN T.M., ZENK M.H. (1992): *Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures*, «Proceedings of the National Academy of Science of the United State of America», 89, pp. 2389-2393.
- HERMS D.A., MATTSON W.J. (1992): *The dilemma of plants: to grow or defend*, «The Quarterly Review of Biology», 67, pp. 283-335.
- HU Z.-Q., LI H.-P., GLINKA E., LIAO Y.-C. (2008): *Antibody-mediated prevention of Fusarium mycotoxins in the field*, «International Journal of Molecular Science», 9, pp. 1915-1926.
- INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL FOUNDATION (2007): *Food and health survey: consumer attitudes toward functional food*. http://www.foodinsight.org/Content/6/IFICECExecSumSINGLE_vF2.pdf.
- JENSEN C.R., MOGENSEN V.O., MORTENSEN G., FIELDSSEND J.K., MILFORD G.F.J., ANDERSEN M.N., THAGE J.H. (1996): *Seed glucosinolate, oil and protein contents of field-grown rape (Brassica napus L.) affected by soil drying and evaporative demand*, «Field Crops Research», 47, pp. 93-105.

- JOLLY C.J., RAHMAN S., KORTT A.A., HIGGINS T.J.V. (1993): *Characterisation of the wheat Mr 15000 "grain-softness protein" and analysis of the relationship between its accumulation in the whole seed and grain softness*, «Theoretical Applied Genetics», 86, pp. 589-597.
- JONES C.G., HARTLEY S.E. (1999): *A protein competition model of phenolic allocation*, «Oikos», 86, pp. 27-44.
- KATAN M.B. (2009): *Nitrate in foods: harmful or healthy?*, «American Journal of Clinical Nutrition», 90, pp. 11-12.
- KAUR N., GUPTA A.K. (2005): *Signal transduction pathways under abiotic stresses in plants*, «Current Science», 88, pp. 1771-1780.
- KELLEY R.Y., GRESHAM C., HARPER J., BRIDGES S.M., Warburton M.L., HAWKINS L.K., PECHANOVA O., PEETHAMBARAM B., PECHAN T., LUTHE D.S., MYLROIE J.E., ANKALA A., OZKAN S., HENRY W.B., WILLIAMS W.P. (2010): *Integrated database for identifying candidate genes for Aspergillus flavus resistance in maize*, «BMC Bioinformatics», 11 (Suppl 6) S25, pp. 1-9.
- KLICH M.A. (2007): *Aspergillus flavus: the major producer of aflatoxin*, «Plant Molecular Pathology», 8, pp. 713-722.
- KOTILAINEN L., RAJALAHTI R., RAGASA C., PEHU E. (2006): *Health enhancing foods: opportunities for strengthening the sector in developing countries*, Discussion paper 30, Agriculture and Rural Development, the World Bank, Washington, DC.
- KRISHNAMURTHY R., BHAGWAT K.A. (1989): *Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars*, «Plant Physiology», 91, pp. 500-504.
- KRISHNAMURTHY R., BHAGWAT K.A. (1990): *Accumulation of choline and glycinebetaine in salt-stressed wheat seedlings*, «Current Science», 59 (2), pp. 111-112.
- KUMAR D., SINGH B.P., KUMAR P. (2007): *An overview of the factors affecting sugar content of potatoes*, «Annals of Applied Biology», 145, pp. 247-256.
- KWAK N.S., AND JUKES D.J. (2001): *Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept*, «Food Control», 12, pp. 99-107.
- LANUBILE A., PASINI L., MAROCCO A. (2010): *Differential gene expression in kernels and silks of maize lines with contrasting levels of ear rot resistance after Fusarium verticillioides infection*, «Journal of Plant Physiology», 167, pp. 1398-1406.
- LI L., PAULO M.-J., STRAHWALD J., LÜBECK J., HOFFERBERT H.-R., TACKE E., JUNGHANS H., WUNDER J., DRAFFEHN A., VAN EUWWIJK F., GEBHARDT C. (2008): *Natural genetic variation at candidate loci is associated with potato chip colour, starch content, yield and starch yield*, «Theoretical Applied Genetics», 116, pp. 1167-1181.
- LI L., STRAHWALD J., HOFFERBERT H.-R., LÜBECK J., TACKE E., JUNGHANS H., WUNDER J., GEBHARDT C. (2005): *DNA variation at the Invertase Locus in GE/GF is associated with tuber quality traits in populations of potato breeding clones*, «Genetics», 170, pp. 813-821.
- LILA M.A. (2006): *The nature-versus-nurture debate on bioactive phytochemicals: the genome versus terroir*, «Journal of the Science of Food and Agriculture», 86, pp. 2510-2515.
- MADRIGAL-SANTILLÁN E., MORALES-GONZÁLEZ J.A., VARGAS-MENDOZA N., REYES-RAMÍREZ P., CRUZ-JAIME S., SUMAYA-MARTÍNEZ T., PÉREZ-PASTÉN P., MADRIGAL-BUJADA E. (2010): *Antigenotoxic Studies of Different Substances to Reduce the DNA Damage Induced by Aflatoxin B1 and Ochratoxin A.*, «Toxins», 2, pp. 738-757.
- MAFFEI M. (1999): *Metabolismo e prodotti secondari delle piante*, UTET Libreria, Torino.
- MATTUCUMARU N., ELMORE J.S., CURTIS T., MOTTRAM D.S., PARRY M.A.J., HALFORD

- N.G. (2008): *Reducing acrylamide precursors in raw materials derived from wheat and potato*, «Journal of Agricultural Food Chemistry», 56, pp. 6167-6172.
- McDERMITT D.K. AND LOOMIS S.R. (1981): *Elemental composition of biomass and its relation to energy content, growth efficiency, and growth yield*, «Annals of Botany», 48, pp. 275-290.
- MILIČEVIĆ D.R., ŠKRINJAR M., BALTIĆ T. (2010): *Real and Perceived Risks for Mycotoxin Contamination in Foods and Feeds: Challenges for Food Safety Control*, «Toxins», 2, pp. 572-592.
- MORRIS C.F., GREENBLATT G.A., BETTGE A.D., MALKAWI H.I. (1994): *Isolation and characterization of multiple forms of friabilin*, «Journal Cereal Science», 21 pp. 167-174.
- MORRIS F.C. (2002): *Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness*, «Plant Molecular Biology», 48, pp. 633-647.
- MUDGAL V., MADAAN N., MUDGAL A. (2010): *Heavy metals in plants: phytoremediation: Plants used to remediate heavy metal pollution*, «Agriculture and Biology Journal of North America», <http://www.scribbr.org/abjna>.
- MUNKVOLD G.P. (2003): *Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize*, «Annual Review of Phytopathology», 41, pp. 99-116.
- NIGAM S.N., WALIYAR F., ARUNA R., REDDY S.V., LAVA KUMAR P., CRAUFURD P.Q., DIALLO A.T., NTARE B.R., UPADHYAYA H.D. (2009): *Breeding peanut for resistance to aflatoxin contamination at ICRISAT*, «Peanut Science», 36, pp. 42-49.
- ODA S., SCHOFIELD J.D. (1997): *Characterisation of friabilin polypeptides*, «Journal of Cereal Science», 26, pp. 29-36.
- OIKEH S.O., KLING J.G., OKORUWA A.E. (1998): *Nitrogen management effects on maize grain quality in the West Africa moist savanna*, «Crop Science», 28, pp. 1056-1061.
- PAYN P.I., JACKSON E.A., HOLT L.M. (1984): *The association between gliadin g-45 and gluten strength in durum wheat varieties. A direct causal effect or the result of genetic linkage?*, «Journal of Cereal Science», 2, pp. 73-81.
- PUSCHENREITER M., HORAK O., HARTL W. (2005): *Low-cost agricultural measures to reduce heavy metal transfer into the food chain – a review*, «Plant Soil Environment», 51, pp. 1-11.
- RAJASEKARAN K., CARY J.W., CLEVELAND T.E. (2006): *Prevention of preharvest aflatoxin contamination through genetic engineering of crops*, «Mycotoxin Research», 22, pp. 118-124.
- RASKIN I., RIBNICKY D.M., KOMARNYTSKY S., ILIC N., POULEV A., BORIJUK N., BRINKER A., MORENO D.A., RIPOLI C., YAKOBY N., O'NEAL J.M., CONRWELL T., PASTOR I., FRIDLINDER B. (2002): *Plants and human health in the twenty-first century*, «TRENDS in Biotechnology», 20 (12), pp. 522-531.
- REMBIALKOWSKA E. (2007): *Quality of plant products from organic agriculture*, «Journal of Science Food Agriculture», 87, pp. 2757-2762.
- ROBERFROID M.B. (2002): *Global view on functional foods: European perspectives*, «British Journal of Nutrition», 88, pp. 133-138.
- ROMMENS C.M., YAN H., SWORDS K., RICHAEAL C., YE J. (2008): *Low-acrylamide French fries and potato chips*, «Plant Biotechnology Journal», 6, pp. 843-853.
- ROMMENS C.M., YE J., RICHAEAL C., SWORDS K. (2006): *Improving potato storage and processing characteristics through all-native DNA transformation*, «Journal of Agricultural Food Chemistry», 54, pp. 9882-9887.
- SANDER J.F., HEITEFUSS R. (1998): *Susceptibility to Erysiphe graminis f. sp. tritici and phenolic acid content of wheat as influenced by different levels of nitrogen fertilization*, «Journal of Phytopathology», 146, pp. 495-507.

- SEAL C.J., DE MUL A., EISENBRAND G., HAVERKORT A.J., FRANKE K., LALLJIE S.P.D., MYKKÄNEN H., REIMERDES E., SCHOLZ G., SOMOZA V., TUIJTELAARS S., VAN BOEKEL M., VAN KLAVEREN J., WILCOCKSON S.J., WILMS L. (2008): *Risk-benefit considerations of mitigation measures on acrylamide content of foods – a case study on potatoes cereals and coffee*, «British Journal of Nutrition», 99, pp. 1-46.
- SEIBEL M.M. (1999): *The role of nutrition and nutritional supplement's in women's health*, «Fertility and Sterility», 72, pp. 579-584.
- SELMAR D. (2008): *Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants*, «Agriculture and Forestry Research», 58, pp. 139-144.
- SHEWRY P.R., TATHAM A.S. (1997): *Disulfide bond in wheat gluten proteins*, «Journal of Cereal Science», 25, pp. 207-227.
- SNIJDERS C.H.A. (2004): *Resistance in wheat to Fusarium infection and trichothecene formation*, «Toxicology Letters», 153, pp. 37-46.
- SOFI F., GHISELLI L., CESARI F., GORI A.M., MANNINI L., CASINI A., VAZZANA C., VECCHIO V., GENSINI G.F., ABBATE R., AND BENEDETTELLI S. (2010): *Effects of Short-Term Consumption of Bread Obtained by an Old Italian Grain Variety on Lipid, Inflammatory, and Hemorheological Variables: An Intervention Study*, «Journal of Medical Food», 13 (3), pp. 1-6.
- SOURDILLE P., PERRETANT M.R., CHARMET G., LEROY P., GAUTIER M.F., JOUDRIER P., NELSON J.C., SORRELLS M.E., BERNARD M. (1996): *Linkage between RFLP markers and genes affecting kernel hardness in wheat*, «Theoretical Applied Genetics», 93 pp. 580-586.
- STOUT M.J., BROVONT R.A., DUFFEY S.S. (1998): *Effect of nitrogen availability on expression of constitutive and inducible chemical defenses in tomato*, «Journal of Chemical Ecology», 24, pp. 945-963.
- TSAI C.Y., WARREN H.L., HUBER D.M., BRESSEN R.A. (1993): *Interactions between the kernal N sink, grain yield and protein nutritional quality of maize*, «Journal of the Science of Food and Agriculture», 34, pp. 255-263.
- UGARCIC-HARDI Z., PERIC L., STRELEC I., KOCEVA D. (1999): *Comparison of colorimetric and spectrophotometric methods for color determination in pasta*, «Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung», A 208, pp 383-387.
- VANOPDORP N., KOEHLER K. (2010): *Genetic loci associated with fusarium ear rot (fer) resistance in maize and generation of improved fer resistant maize inbred lines*, Document Type and Number: United States Patent Application 20100269212.
- VARSHNEY K.A., GANGWAR L.P. (1988): *Choline and betaine accumulation in Trifolium alexandrinum L. during salt stress*, «Egyptian Journal of Botany», 31 (1-3), pp. 81-86.
- WHITTAKER A., MARTINELLI T., BENEDETTELLI S., DI SILVESTRO R., BOSI S., MAROTTI I., DINELLI G. (2009): *Variabilità delle componenti nutrizionali, funzionali e antinutrizionali in Phaseolus vulgaris L. (Ecotipo Zolfino del Pratomagno) in funzione dell'ambiente di coltivazione*, in Atti del XXXVIII Convegno Nazionale Società Italiana di Agronomia, Firenze, 21-23 settembre 2009, pp. 459-460.
- WHITTAKER A., MAROTTI I., DINELLI G., CALAMAI L., ROMAGNOLI S., MANZELLI M., PALCHETTI E., VECCHIO V., BENEDETTELLI S. (2010): *The influence of tuber mineral element composition as a function of geographical location on acrylamide formation in different italian potato genotypes*, «Journal of the Science of Food and Agriculture», 90, pp. 1968-1976.
- WILKENS R.T., SPOERKE J.M., STAMP N.E. (1996): *Differential responses of growth and two soluble phenolics of tomato to resource availability*, «Ecology», 77, pp. 247-258.

- WORTHINGTON V. (2001): *Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables and grains*, «Journal of Alternative Complementary Medicine», 7, pp. 161-173.
- YU G.T., FRANCKOWIAK J.D., NEATE S.M., ZHANG B., HORSLEY R.D.A (2010): *A native QTL for Fusarium head blight resistance in North American barley (Hordeum vulgare L.) independent of height, maturity, and spike type loci*, «Genome», 53, pp. 111-118.
- YUEN G.Y., SCHONEWEIS S.D. (2007): *Strategies for managing Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat*, «International Journal of Food Microbiology», 119, pp. 126-130.
- ZHANG R-Q., TANG C-F, WEN S-Z, LIU Y-G, LI K-L. (2006): *Advances in Research on genetically engineered plants for metal resistance*, «Journal of Integrative Plant Biology», 48, pp. 1257-1265.

Finito di stampare in Firenze
presso la tipografia editrice Polistampa
nell'ottobre 2011