

Il biocontrollo di *Aspergillus flavus* come prevenzione della contaminazione da aflatossine nella coltura del mais

Paola Battilani



Aspergillus flavus & aflatossine



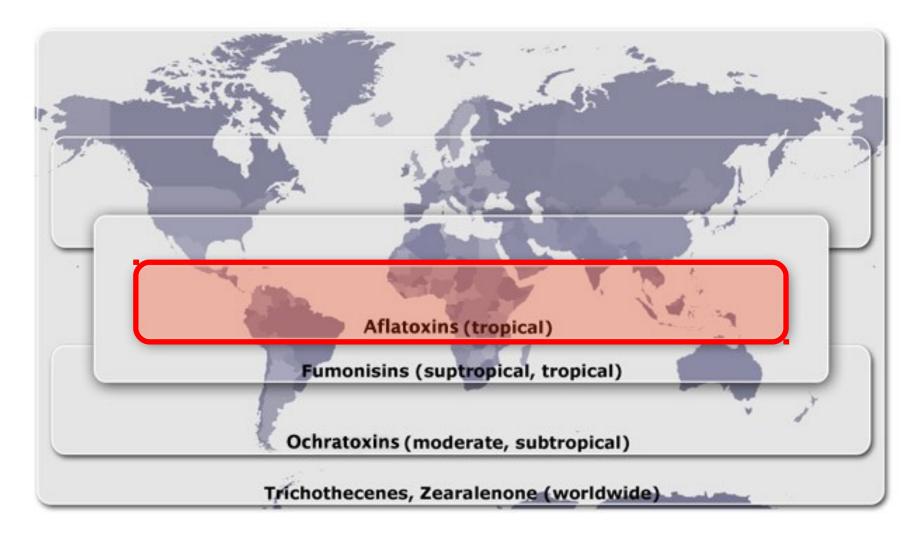




	Tmin	Tmax	Topt	a _w min
Crescita	12	48	36-38	0.78
Produzione AF	20	30	25-30	0.78

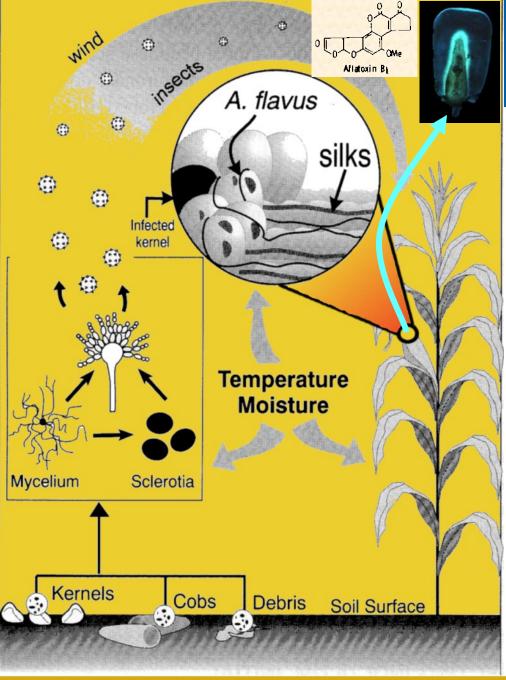


Micotossine nel mondo





Aspergillus flavus Ciclo di infezione

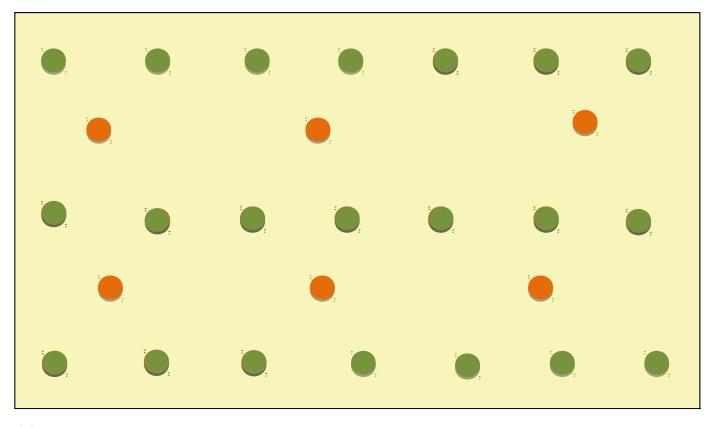


Gary Payne, N. C. State University



Principio del biocontrollo

Esclusione per competizione



- Ceppi <u>produttori</u> di aflatossine
- Ceppi <u>non produttori</u> di aflatossine



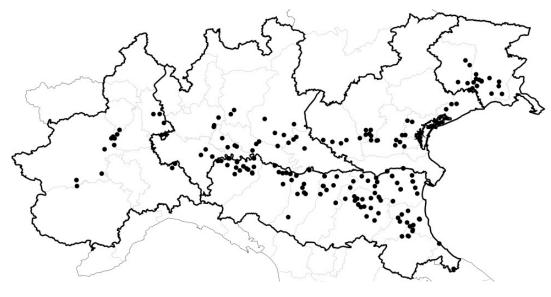
Cosa è stato cercato

- Funghi autoctoni
- •Non tossigeni (senza i geni necessari alla produzione)
- •Forti competitori con i ceppi tossigeni
- Efficaci in pieno campo, facili da utilizzare



Raccolta isolati italiani

138 isolati da 5 regioni del nord Italia 2003-2010



- Emilia Romagna
- •Friuli Venezia Giulia
 - Lombardia
 - Piemonte
 - Veneto



Gruppi di compatibilità vegetativa

La compatibilità vegetativa è la capacità di isolati di *Aspergillus flavus* di fondere le proprie ife e di formare un eterocarion (Leslie, 1993)



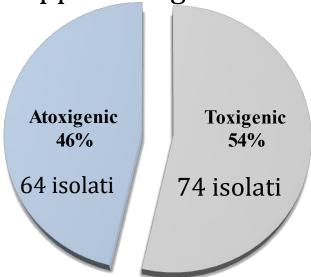


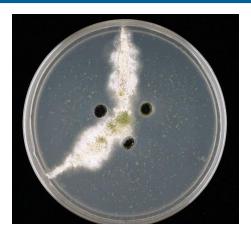




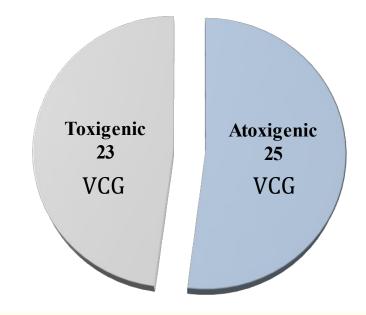
Caratterizzazione

Individuazione ceppi atossigeni



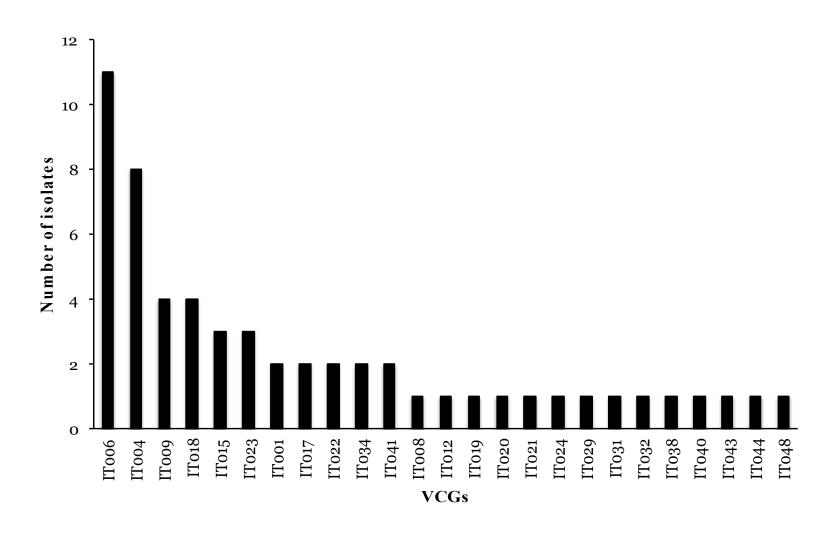


Definizione gruppi di compatibilità vegetativa (VCG)





VCGs atossigene





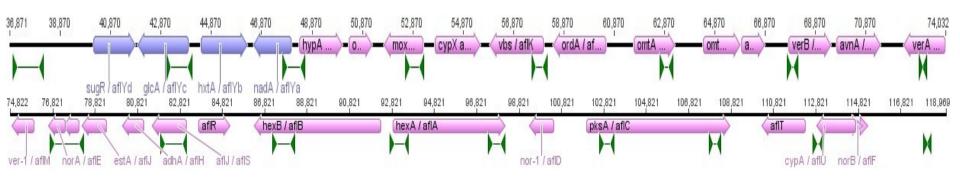
VCG IT006

Isolato	Anno	Regione	Località
A2057	2003	Piemonte	Torino
A2076	2003	Veneto	Verona
A2085	2004	Emilia Romagna	Reggio Emilia
A2098	2004	Emilia Romagna	Bologna
A2105	2004	Emilia Romagna	Modena
A2109	2004	Emilia Romagna	Piacenza
A2292	2008	Lombardia	Cremona
A2296	2008	Lombardia	Cremona
A2301	2008	Lombardia	Cremona
A2314	2009	Lombardia	Cremona
A2331	2010	Emilia Romagna	Modena

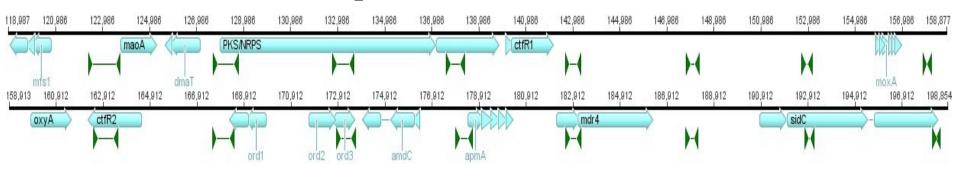


Geni per produzione tossine

Cluster Aflatossine

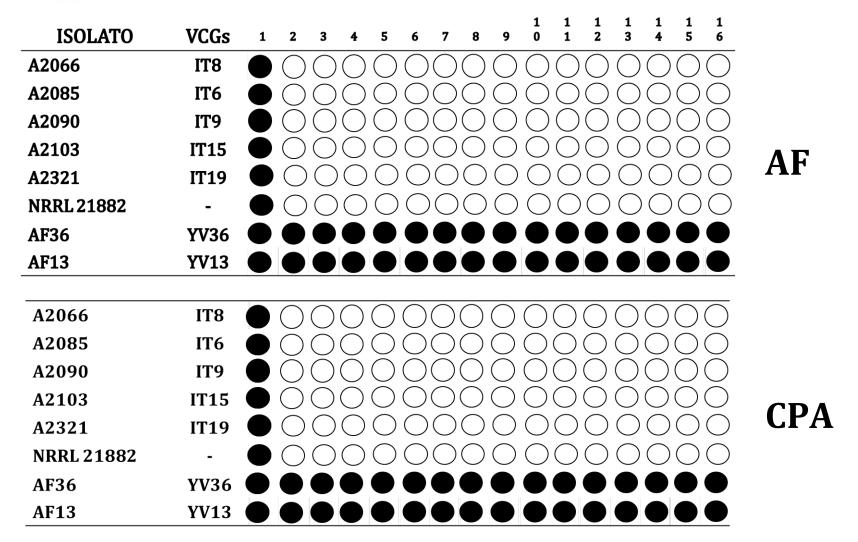


Cluster CPA (acido ciclopiazonico)



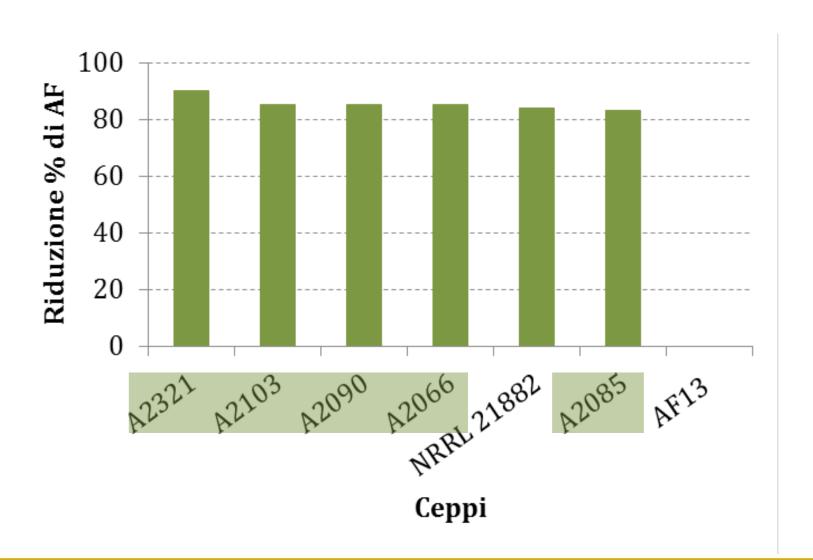


Verifica geni per produzione tossine





Isolati italiani più competitivi

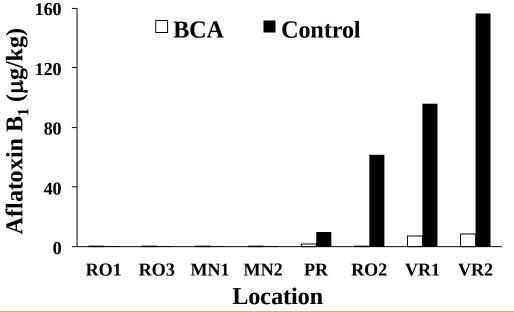


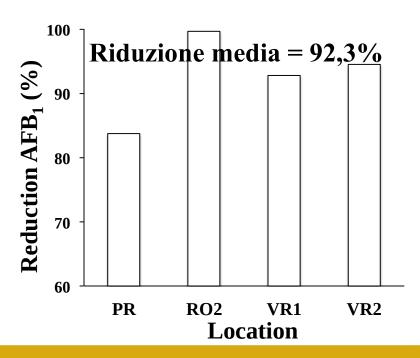


Efficacia in campo – anno 2012



- 8 campi, 6 località
- 1 ha controllo/1 ha trattato
- ➤ 25 kg/ha di prodotto, 2 ceppi

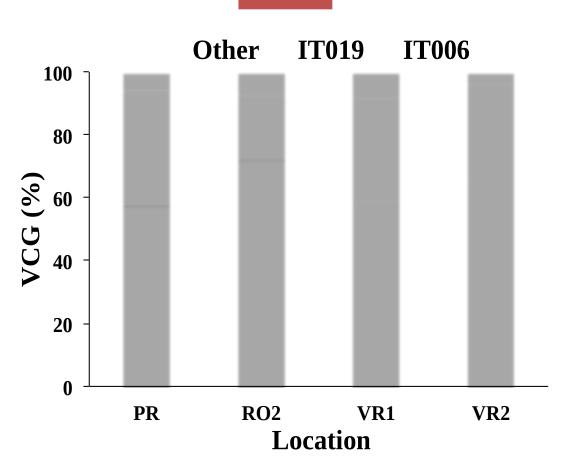






Recupero VCG







Dal laboratorio al campo







Il prodotto





La distribuzione



Prime collaborazioni con Pioneer



Verso l'impiego in campo...

- Deposito ceppo: MUCL 54911 (Maggio 2013)
- Deposito Brevetto





Oltre la ricerca

- Verifiche per la registrazione
- Prove in centro di saggio
- Prove su larga scala
- Preparazione dossier
- Autorizzazioni
- Distribuzione



Studi di efficacia

2013

- •16 siti
- •1 ha trattato & 1 ha testimone
- •25 kg/ha AF-X1
- •5 no contaminatione
- •Riduzione oltre 84%

2015

- •5 siti
- •1 ha trattato & 1 ha testimone
- •10 kg/ha & 25 kg/ha
- •3 no contaminatione
- •Riduzione oltre 80%

2014

- •33 siti
- •1 ha trattato & 1 ha testimone
- •25 kg/ha
- •10 kg/ha (13)
- •no contaminazione

2016

- •5 siti
- •1 ha trattato & 1 ha testimone
- •10 kg/ha & 25 kg/ha



COSA E' AF-X1?

- Aspergillus flavus MUCL54911
- **AF-X1** è UN FITOFARMACO BIOLOGICO
 - 2.1 Classificazione della sostanza o miscela II prodotto non è classificato pericoloso ai sensi delle disposizioni di cui alle Direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e/o del Regolamento CE 1272/2008 (CLP e successive modifiche ed adeguamenti
- Dal punto di vista tecnico AF-X1 è sorgo devitalizzato conciato con spore del ceppo selezionato di Aspergillus

II prodotto



PERCHE' IL SORGO COME VETTORE?

- Matrice amidacea di prezzo inferiore
- Forma e dimensioni ottimali per la semplice distribuzione:
 - Seme piccolo e quindi maggiore numero di punti di inoculo
 - Peso adeguato per distribuzione con girello
 - Trattamento efficace in concia
 - Possibilità di distribuzione con granulatore



E' EFFICACE SU ALTRI FUNGHI?

Nessuna efficacia su Fusarium ed altre generi di funghi



I fusarium, in funzione dell'ambiente, ed in particolare delle temperature e dell'umidità, possono produrre diverse micotossine:

- •FUMONISINE
- •DON
- •ZEARALENONE



Prodotto fitosanitario







GRANULARE 12,5 Kg e



In collaborazione con:

CONSORZI AGRARI d'ITALIA
SOCIETÀ CONSORTILE PER AZIONI

AF-X1 2016

AGENTE DI BIOCONTROLLO IN FORMA GRANULARE A BASE DI ASPERGILLUS FLAVUS CEPPO MUCL54911
PER MAIS DA DESTINARE AD USO MANGIMISTICO

COMPOSIZIONE

100 g di AF-X1 contengono:

Aspergillus flavus ceppo MUCL 54911* g 0.0008 *1.0 x10⁵ UFC/g

Coformulanti e inerti q.b. a g 1

Contiene Aspergillus flavus: può provocare una reazione allergica

CONSIGLI DI PRUDENZA:

P102 Tenere fuori dalla portata dei bambini.

PREVENZIONE

P262 Evitare il contatto con gli occhi, la pelle o gli indumenti. P270 Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi.

SMALTIMENTO:

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione locale vigente.

INFORMAZIONI SUPPLEMENTARI SUI PERICOLI: EUH401 Per evitare rischi per la salute umana e per l'ambiente, seguire le istruzioni per l'uso.

INFORMAZIONI PER IL MEDICO

In caso di incidente o di malessere consultare immediatamente il medico (se possibile, mostrargli l'etichetta). Consultare un Centro Antiveleni

Titolare dell'autorizzazione:

Pioneer Hi-Bred Italia S.r.l. Via Pari Opportunità 2 26030 Gadesco Pieve Delmona (CR) – Italia

Tel. +39 0372 841611

Officina di produzione:

CHEMIA S.p.A.

S.S. 255 km 46 – 44047 – S.Agostino (FE) – Italia Tel. 0532 848477

Autorizzazione Ministero della Salute n 16728 del 21 aprile 2016

Contenuto netto: kg 12,5

Lotto nº S16D16 del 04/16

PRESCRIZIONI SUPPLEMENTARI

Non contaminare l'acqua con il prodotto e il suo contenitore. Immagazzinare nei contenitori originali e fuori dalla portata dei bambini, preferibilmente in un'area chiusa a chiave. Evitare la luce diretta. Tenere i contenitori ben chiusi in un luogo secco, fresco e hen ventilati.

Usare indumenti di protezione per agenti biologici, classificati come dispositivi di protezione individuale e con relativa marcatura CE per la protezione da agenti biologici e guanti in gomma nitrilica (spessore minimo 0,40 mm), marcati CE.

CARATTERISTICHE

AF-XI è un agente di biocontrollo a base del ceppo atossigeno MUCLS4911 di A. flavus, in grado di ridurre il contenuto di aflatossine nel mais. Aspergillus flavus MUCL54911 è naturalmente presente nell'ambiente. Quando il prodotto viene applicato alla coltura, compete con i ceppi di A. flavus che producono le aflatossine e ne limita la presenza.

DOSI E MODALITÀ DI IMPIEGO

Mais

Dose: 25 kg/ha di prodotto distribuiti a pieno campo, impiegando spandiconcime centrifughi o pneumatici opportunamente tarati. Il prodotto non deve essere interrato.

Numero di trattamenti: 1

Epoca di impiego: intervenire allo stadio BBCH 30-39 del mais (tra inizio allungamento dello stelo e 9 o più nodi visibili)

COMPATIBILITÀ

Evitare miscele con altri prodotti che potrebbero danneggiare il microrganismo

Intervallo di sicurezza: non necessario

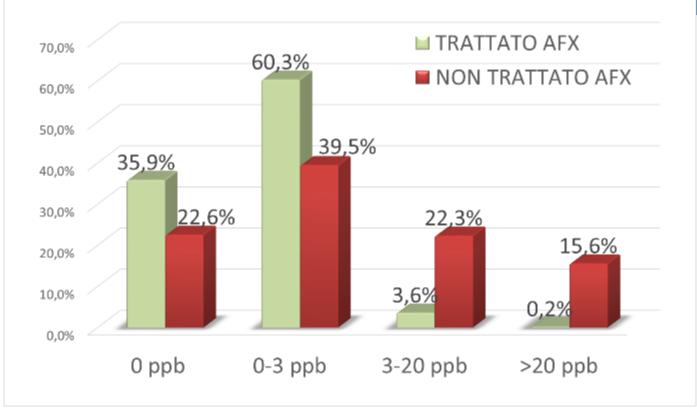
ATTENZIONE: da impiegarsi esclusivamente in agricoltura, per gli usi e alle condizioni riportate in questa etichetta. Chi impiega il prodotto è responsabile degli eventuali danni derivanti da un uso improprio del preparato. Il rispetto di tutte le indicazioni contenute nella presente etichetta è condizione essenziale per assicurare l'efficacia del trattamento e per evitare danni alle piante, alle persone ed agli animali. Non applicare con mezzi aerei. Per evitare rischi per l'uomo e per l'ambiente seguire le istruzioni per l'uso. Operare in assenza di vento. Smaltire le confezioni secondo le norme vigenti. Il contenitore completamente svuotato non deve essere disperso nell'ambiente. Il contenitore non può essere riutilizzato.

La granella trattata prima di essere introdotta nella razione deve soddisfare le condizioni di cui alla raccomandazione CE/576/2006, e quindi il livello di contaminazione da zearalenone, deossinivalenolo, ocratossina e fumonisine deve essere tale da rispettare quanto riportato nella Raccomandazione stessa: "Nel caso di cereali e prodotti a base di cereali somministrati direttamente agli animali occorre prestare particolare attenzione a che il loro utilizzo nella razione giornaliera non comporti un'esposizione degli animali a tali micotossine superiore a quelle che comporterebbe una razione giornaliera composta esclusivamente da mangimi completi."

Etichetta autorizzata con D.D. del 21 aprile 2016 Validità dal 21 aprile 2016 al 18 agosto 2016







TRATTATO AF-X1

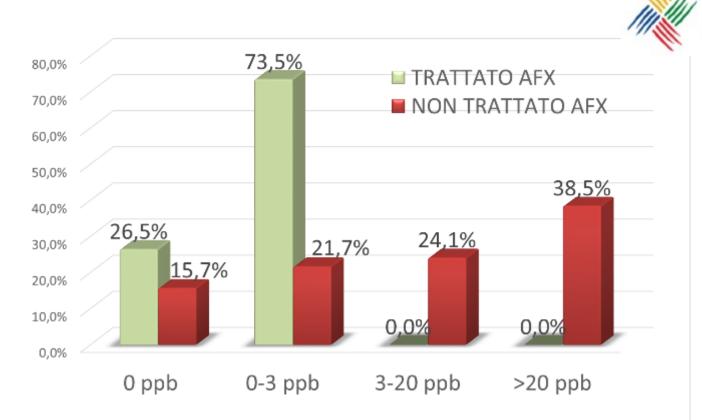
- •IL 96,2 % DEL PRODOTTO É INFERIORE A 3 PPB
- •IL 99,8 % DEL PRODOTTO É INFERIORE A 20 PPB

NON TRATTATO AF-X1

- •IL 37,9 % DEL PRODOTTO E' SUPERIORE A 3 PPB
- •IL 15,6 % DEL PRODOTTO E' SUPERIORE A 20 PPB







CONSORZIO AGRARIO DEL NORDEST

TRATTATO AF-X1

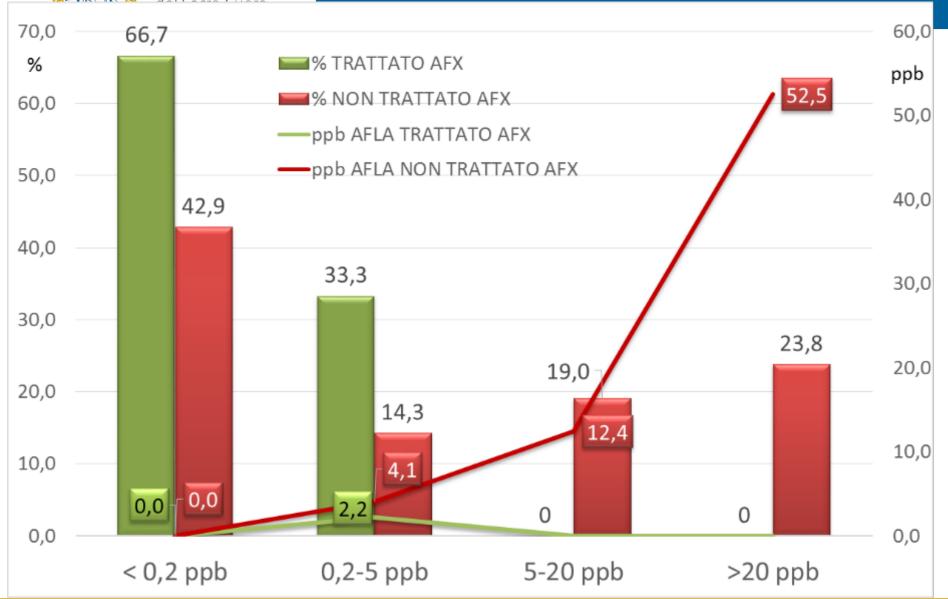
TUTTO IL PRODOTTO HA CONTAMINAZIONI INFERIORI A 3 PPB

NON TRATTATO AF-X1

IL 62,6 % DEL PRODOTTO E' SUPERIORE A 3 PPB

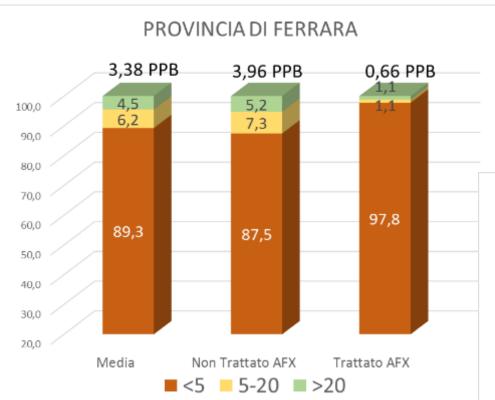


Modena

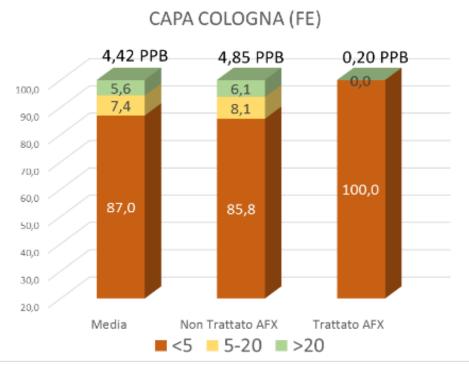




Ferrara



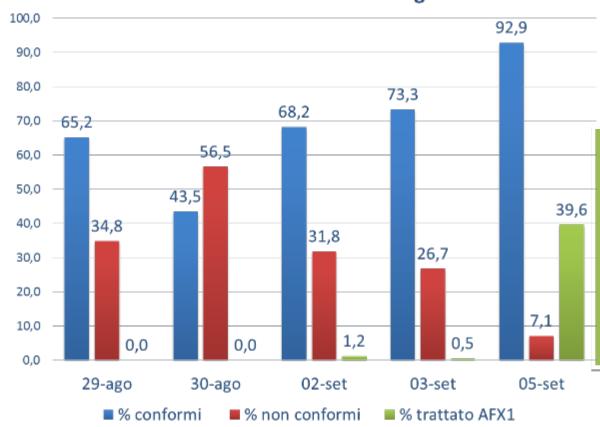






Rovigo

Andamento Raccolte Rovigo



COOPERATIVA CER.MA

VIA COLOMBANO 62 45030 CASTELNOVO BARIANO (RO)

L'introduzione del 39,6 % di granella trattata AFX consente un abbattimento del mais non conforme all'essiccatoio al 7,1 %.







ASSOCIAZIONE ALLEVATORI FRIULI VENEZIA GIULIA

LABORATORIO ANALISI

Laboratorio accreditato ACCREDIA n. 0878

Sede Uffici - Laboratorio Analisi : Via XXIX ottobre, 9/B, 33033 Codroipo UD tel.: 0432/824225-8 fax: 0432/824286 e-mail: laboratorio@eafvg.lt CF e P.I/X 00167190306 - N. iscrizione R.E.A. 210845





Laboratorio Microbiologia Rapporto di prova MIC/5879/16/N

N.ro di protocollo: 5654 del 26-09-2016

Codroipo, li 2 6 SFT, 2016

Spett.le ZANONE MAURO STRADA DEI CASALI ZANON 13 33043 CIVIDALE DEL FRIULI (UD)



In seguito al monitoraggio delle raccolte, 3 stalle sono state alimentate con le farine trattate con AFX riscontrando risultati molto positivi sulla qualità del latte

Campione/i di: Latte vaccino (1)

Data del prelievo: 26 set 2016, ore: 10:50

Luogo di prelievo: azienda 026UD091

Campionamento eseguito da: Dr.ssa B. Moretti

Procedura di campionamento: campionamento eseguito dal richiedente Descrizione campione: ca 150 ml di latte crudo di massa in flacone sterile

Consegnato da: Sig. F. Simsig (AAFVG)

Numero campioni ricevuti: 1 (uno).

Data ricevimento campioni: 26 set 2016, ore: 12:20

Data inizio analisi: 26 set 2016 e fine analisi: 26 set 2016

Metodi di prova:

Latte vaccino

Aflatossina M1: ISO 14675: 2003 (IDF 186:2003)

Risultati analitici:

1. Latte vaccino

5879/1. N.ro accet.: 11592

Analisi

Aflatossina M1

7,00 ng/kg

L'Analista Dott.ssa Virginia Picech Il Responsabile del Laboratorio Dott, Marco Tavano





Le collaborazioni

> Collaborazione con Pioneer

- Acquisizione dei diritti commerciali del prodotto/brevetto
- Avvio dell'iter di impiego e registrativo

➤ Collaborazione con Coldiretti e Consorzi agrari d'Italia

- Collaborazione nell'iter di impiego e registrativo
- Preparazione del prodotto commerciale







AGRISYSTEM

Antonio Mauro

Peter J. Cotty



OF ARIZONA.

Giorni P. Pietri A.

AFLARID

MIPAF Prof. G. Piva

Grazie dell'attenzione