

Mais e aflatoossine 2012: l'emergenza continua
Sabato 2 Marzo 2013 - CEN.SER, sala "Bisaglia" , via Porta Adige, 45. Rovigo

AFLATOSSINE: GENERALITA' E LORO GENESI



Prof. ROBERTO CAUSIN
DIP. TeSAF, Sez. Patologia Vegetale. UNIVERSITA' DI PADOVA



**LE MICOTOSSINE SONO SOSTANZE
TOSSICHE PER GLI ANIMALI E PER L'UOMO,
PRODOTTE DA FUNGHI MICROSCOPICI (muffe)**

Ne sono note alcune centinaia di tipi ed alcune di esse, probabilmente, hanno causato eventi di importanza storica (es. attorno all'anno 1000 l'Ergotismo in 140 anni causa più di 50 000 morti in Francia)

Sono state portate all'attenzione dei ricercatori attorno al 1960-61 in Inghilterra in occasione della "Turkey X Disease" che si scoprì essere causata da Aflatossine contenute in arachidi di provenienza brasiliana

I FUNGHI TOSSIGENI, nella stragrande maggioranza dei casi, sono:

- Ottimi **SAPROFITI**, in alcuni casi anche parassiti facoltativi (patogeni capaci di causare malattie)
- Quando sono anche patogeni, ad esclusione di pochi casi (Es. Gibberella dello stocco), sono dotati di scarsa virulenza
- Qualcuno può comportarsi da **ENDOFITA** per una parte più o meno lunga del suo ciclo

FUNGHI TOSSIGENI

Le specie più pericolose e note sono comprese nei generi:

Aspergillus

Fusarium

Penicillium

Va detto, però, che anche nei generi *Alternaria* e *Claviceps* si trovano ceppi dotati di elevata tossicità e diffusamente presenti nei nostri ambienti.

N.B. Altri generi sono importanti per la possibilità di produrre micotossine dannose all'uomo all'interno delle abitazioni. Sick building syndrome (SBS)

MICOTOSSINE E FUNGHI TOSSIGENI

UNA UNICA SPECIE FUNGINA PUO' PRODURRE PIU'
MICOTOSSINE

LA STESSA MICOTOSSINA PUO' ESSERE
PRODOTTA DA PIU' FUNGHI DI SPECIE DIVERSE

LA GRANELLA PUO' ESSERE CONTAMINATA DA
PIU' DI UNA MICOTOSSINA anche se in genere una
è prevalente

**LE PRINCIPALI MICOTOSSINE PRESENTI SU
GRANELLE DI CEREALI (E DI OLEAGINOSE) SONO:**



OCRATOSSINE

**TRICOTECENI (DON, T-2 ecc.) , FUMONISINE,
ZEARALENONE**

AFLATOSSINE

Circa 18 composti tra cui i più importanti sono:

B (B₁, B₂)

G (G₁, G₂)

M (M₁, M₂) ← LATTE

Si sviluppano con temp. tra i 24-25° C e i 29-30° C

Si trovano in granelle di cereali e oleaginose (arachidi) e loro derivati (ma anche in frutta secca, spezie, caffè, cacao...). Passano nel latte e derivati

Sicuramente CANCEROGENE (Gruppo 1 dello IARC)

PRINCIPALI CARATTERISTICHE DELLE AFLATOSSINE

HANNO

- basso peso molecolare
- alto punto di fusione
- stabilità alle alte temperature
- scarsa idrosolubilità

SONO

- intensamente fluorescenti se esposti a radiazioni vicine all' ultravioletto
- relativamente instabili se esposte agli u.v.

EFFETTI DELLE AFLATOSSINE SULL'UOMO

- **CARCINOMA EPATOCELLULARE**
favorito nei pazienti colpiti da epatite B
- **CIRROSI EPATICA NEI BAMBINI** (indian
childhood cirrhosis, ICC), provocata da M_1
proveniente dal latte materno
- **MUTAGENICITÀ**
- **IMMUNOSOPPRESSIONE**
ipoplasia timica, linfopenia T

Contenuto massimo ammesso di aflatossine in alcuni alimenti destinati all'uomo.

Tratto dal Regolamento UE n. 165/2010 della Commissione

Prodotti alimentari	Tenori massimi ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	B ₁	Somma di B ₁ , B ₂ , G ₁ e G ₂	M ₁
Aflatossine			
Granturco e riso da sottoporre a cernita o ad altro trattamento fisico prima del consumo umano o dell'impiego quali ingredienti di prodotti alimentari	5,0	10,0	—
Latte crudo ⁽⁶⁾ , latte trattato termicamente e latte destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte	—	—	0,050
Le seguenti specie di spezie: <i>Capsicum</i> spp. (frutti secchi dello stesso, interi o macinati, compresi peperoncini rossi, peperoncino rosso in polvere, pepe di Caienna e paprica) <i>Piper</i> spp. (frutti dello stesso, compreso il pepe bianco e nero) <i>Myristica fragrans</i> (noce moscata) <i>Zingiber officinale</i> (zenzero) <i>Curcuma longa</i> (curcuma) Miscele di spezie contenenti una o più delle suddette spezie	5,0	10,0	—
Alimenti a base di cereali e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini ⁽³⁾ ⁽⁷⁾	0,10	—	—
Alimenti per lattanti e alimenti di proseguimento, compresi il latte per lattanti e il latte di proseguimento ⁽⁴⁾ ⁽⁸⁾	—	—	0,025
Alimenti dietetici a fini medici speciali ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾ destinati specificamente ai lattanti	0,10	—	0,025*

Contenuto massimo ammesso di aflatossina nei prodotti destinati all'alimentazione degli animali.

Tratto dal Regolamento UE n. 574/2011 della Commissione

Sostanza indesiderabile	Prodotti destinati all'alimentazione degli animali	Contenuto massimo in mg/kg (ppm) di mangime con un tasso di umidità del 12 %
1. Aflatossina B ₁	Materie prime per mangimi	0,02
	Mangimi complementari e completi	0,01
	ad eccezione di:	
	— mangimi composti per bovini da latte e vitelli, ovini da latte ed agnelli, caprini da latte e capretti, suinetti e pollame giovane	0,005
— mangimi composti per bovini (eccetto bovini da latte e vitelli), ovini (eccetto ovini da latte ed agnelli), caprini (eccetto caprini da latte e capretti), suini (eccetto suinetti) e pollame (eccetto pollame giovane)	0,02	

Infezione di *Aspergillus* su Mais

Principali patogeni *A. FLAVUS* e *A. PARASITICUS*,

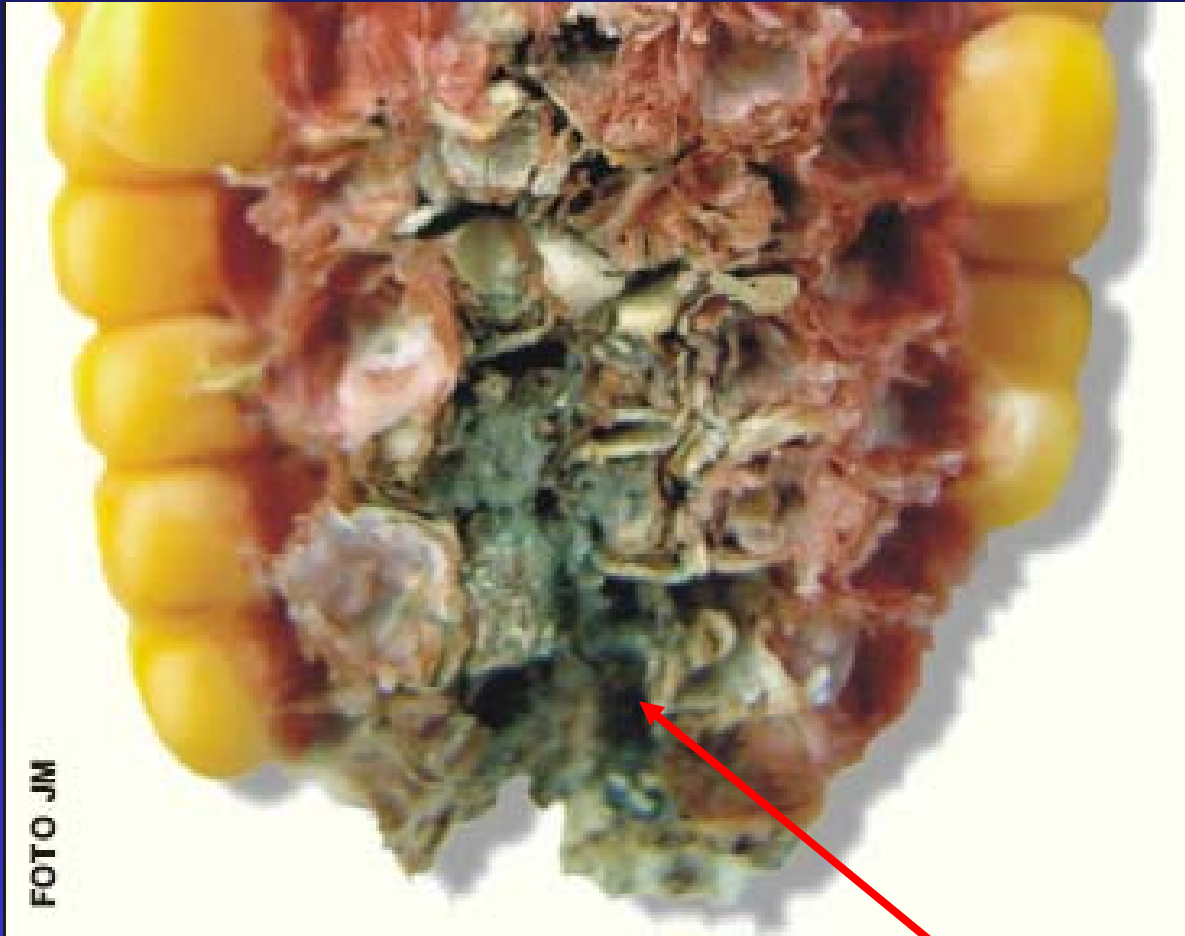
Termotolleranti, relativamente resistenti al secco; vivono bene con alte temperature e umidità.

Nel settentrione d'Italia, in annate con andamento stagionale normale, l'incidenza degli attacchi da *Aspergillus* in campo è modesta; **NON COSI' NEL 2012**

Questi organismi possono trovare condizioni più favorevoli al loro sviluppo nella fase di post-raccolta, in magazzino, con condizioni di umidità superiori al 15% (o inferiori se non omogenee), favoriti da temperature della massa dei cereali crescenti da 15 a 30 o più gradi

*Aspergillus
flavus*. su mais





Aspergillus sul tutolo

Percentuale media di ceppi produttori di micotossina nell'ambito di specie fungine tossigene (Da: A. Bottalico, Funghi tossigeni e micotossine: aspetti generali. Inf. Fitopat. 12/2002)

SPECIE FUNGINA	MICOTOSSINA CONSIDERATA	% MEDIA DI CEPPI PRODUTTORI
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatossina B ₁ e B ₂	45%
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatossine B e G	92%
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ocratossina A	17%
<i>Penicillium verrucosum</i>	Ocratossina A	62%
<i>Fusarium graminearum</i>	Zearalenone	93%
<i>Fusarium culmorum</i>	Deossinivalenolo (DON)	63%
<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisina	100%
<i>Fusarium proliferatum</i>	Fumonisina	100%

Acqua

IN PARTICOLARE PER ALCUNE SPECIE TOSSIGENE LA MINIMA AW TOLLERATA RISULTA

SPECIE	AW
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0.78 (0.77)
<i>Penicillium verrucosum</i>	0.79
<i>Aspergillus flavus</i>	0.80 (0.78)
<i>Fusarium verticillioides</i>	0.87
<i>Stachybotrys atra</i>	0.94

IN OGNI CASO, GENERALMENTE, LA PRODUZIONE DI MICOTOSSINE E' FAVORITA DA AW SUPERIORI A 0.90 O ATTORNO A QUESTO VALORE

Temperatura

RELATIVAMENTE ALLE ESIGENZE TERMICHE, I PRINCIPALI GENERI DI FUNGHI TOSSIGENI HANNO NECESSITA' DIVERSE. AD ESEMPIO:

SPECIE	TEMPERATURA (° C)		
	MIN.	OPT.	MAX
<i>Aspergillus flavus</i>	10	32	42
<i>Aspergillus ochraceus</i>	8	28	37
<i>Fusarium verticillioides</i>	3	25	37
<i>Penicillium verrucosum</i>	0	20	31

GENERALMENTE, LA PRODUZIONE DI MICOTOSSINE E' FAVORITA DA TEMPERATURE TRA (4) 20-30 (31) ° C

INFLUENZA DI ALCUNI FATTORI DI STRESS SULLA CONTAMINAZIONE DA MICOTOSSINE

FATTORI DI STRESS PER LA PIANTA

- COMPETIZIONE (MALERBE)
- STRESS IDRICO e nutrizionale

1 MINORE DIFESA DALLE INFEZIONI; SVILUPPO DEL FUNGO E' FAVORITO

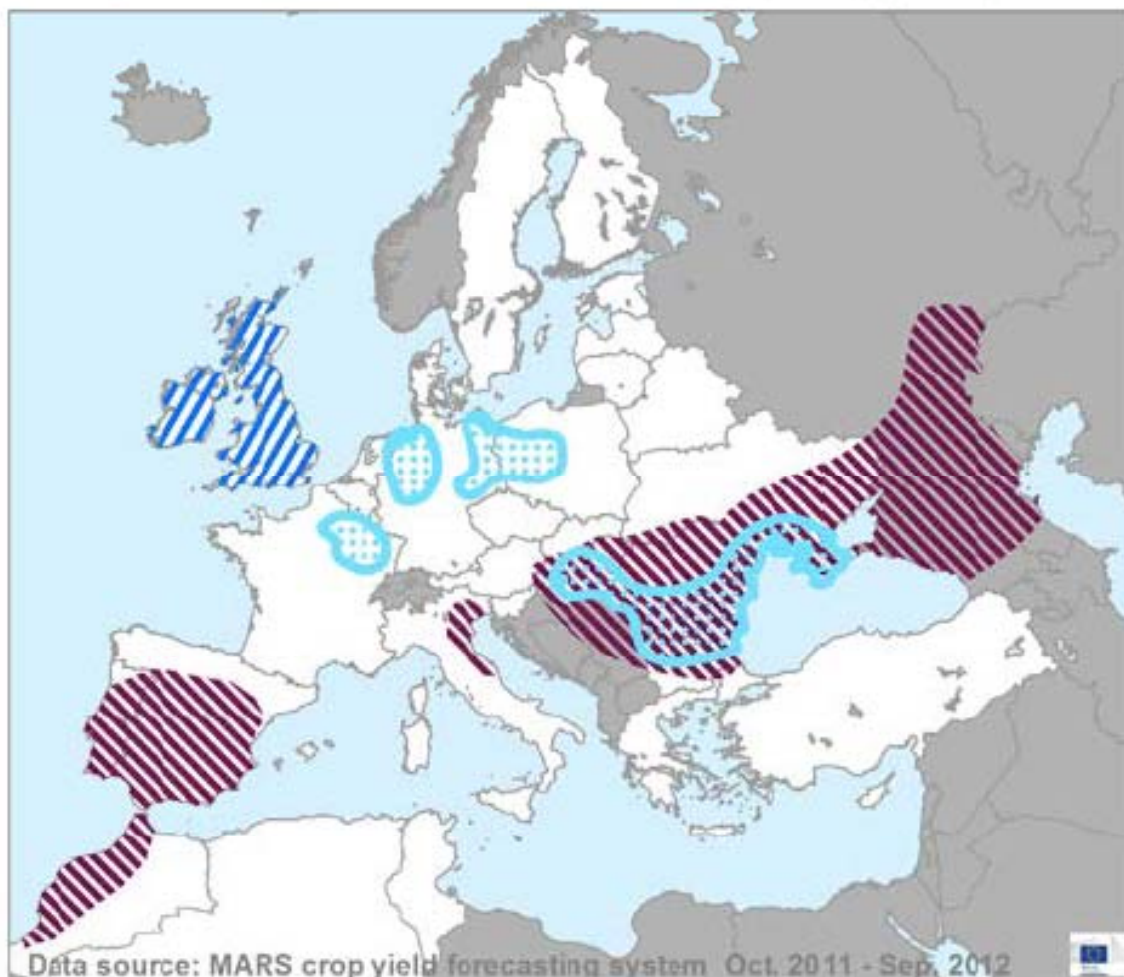
FATTORI DI STRESS PER IL FUNGO

- STRESS OSSIDATIVO

2 AUMENTO DELLA EFFICIENZA NELLA SINTESI DELLE MICOTOSSINE

1. Le piante stressate hanno una reazione meno efficace alle infezioni fungine, pertanto, in esse ci si aspetta una maggiore presenza di PATOGENI e un maggiore contenuto di micotossine
2. Gli stress biotici e abiotici stimolano la produzione di Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS). I ROS possono stimolare la biosintesi di micotossine in *F. verticillioides* e *A. flavus*

NEGATIVELY IMPACTED AREAS SEASON 2011/12



 Rain impact  Drought impact  Frost impact

(c) European Union 2012
Source: Joint Research Centre

Che fare ?

Nell'immediato, sulla granella raccolta

- DECONTAMINAZIONE FISICO-MECCANICA (pulizia e separazione con selezionatrici optomeccaniche ecc..)
- DETOSSIFICAZIONE CHIMICA (ammoniaca?)
- USI ALTERNATIVI degli scarti e delle partite non riducibili ai valori di legge

Per il futuro

- PREVENZIONE: applicare le buone pratiche agricole, di raccolta e conservazione
- PROMUOVERE LA RICERCA (ibridi resistenti, ceppi di *A. flavus* non tossigeni, uso di Agenti di Controllo Biologico, uso di altre sostanze)

PREVENZIONE delle contaminazioni da aflatossine

Il problema si presenta quando le condizioni climatiche sono favorevoli alle infezioni da *Aspergillo*, cioè CALDO e SICCA' ma ad inizio anno non possiamo prevederle

Nella gestione delle contaminazioni da aflatossine, e in generale da micotossine, la scelta imprenditoriale più importante, però, è quella di cessare di considerare il problema come una emergenza da affrontare quando le analisi sulla granella ne fanno emergere la presenza e quindi quando ormai è troppo tardi.

Bisogna, invece, considerare la prevenzione delle contaminazioni come una serie di interventi da mettere in atto regolarmente, tutti gli anni, indipendentemente dal fatto che poi la stagione si riveli o meno favorevole all'accumulo di micotossine.

PROMUOVERE LA RICERCA sulle possibilità di controllo delle infezioni da *Aspergillus* e contaminazioni da aflatossine

- Esistono fonti di **resistenza genetica** ma non risulta che vi siano in commercio ibridi con produttività adeguata, dichiarati resistenti
- Si possono isolare **ceppi di *A. flavus* incapaci di sintetizzare aflatossine**; questi distribuiti in quantità adeguate "rubano" spazio e risorse ai ceppi tossigeni diminuendone la presenza e quindi anche la quantità di aflatossine. Al momento non disponibili
- Esistono **organismi antagonisti** capaci di contrastare lo sviluppo dell'Aspergillo e/o di stimolare le difese naturali della pianta
- Esistono **prodotti chimici NON FITOSANITARI** che controllano le infezioni dell'Aspergillo e la quantità di aflatossine

.....Ma nel mais del 2012 ci sono solo aflatossine?

DESCRIZIONE ANALISI	RISULTATO	U	REC. %	UNITA' DI MISURA	LQ
AFLATOSSINE B1. B2. G1. G2					
Aflatossina B1	270	± 105	98 +	µg/kg	0,05
Aflatossina B2	7,4	± 3,0	89 +	µg/kg	0,05
Aflatossina G1	18	± 8	84 +	µg/kg	0,05
Aflatossina G2	0,36	± 0,16	78 +	µg/kg	0,05
FUMONISINE in LCMS					
Fumonisin B1	13000	± 3770	90 +	µg/kg	50
Fumonisin B2	2200	± 880	95 +	µg/kg	50
Fumonisin B1 + Fumonisin B2 sum	15200	± 3800		µg/kg	

DESCRIZIONE ANALISI	RISULTATO	U	REC. %	UNITA' DI MISURA	LQ
AFLATOSSINE B1. B2. G1. G2					
Aflatossina B1	5,7	± 2,2	98 +	µg/kg	0,05
Aflatossina B2	0,24	± 0,10	89 +	µg/kg	0,05
Aflatossina G1	0,11	± 0,05	84 +	µg/kg	0,05
Aflatossina G2	< LQ			µg/kg	0,05
FUMONISINE in LCMS					
Fumonisin B1	18000	± 5220	90 +	µg/kg	50
Fumonisin B2	4000	± 1200	95 +	µg/kg	50
Fumonisin B1 + Fumonisin B2 sum	22000	± 5280		µg/kg	

DESCRIZIONE ANALISI	RISULTATO	U	REC. %	UNITA' DI MISURA	LQ
AFLATOSSINE B1. B2. G1. G2					
Aflatossina B1	3,2	± 1,2	98 +	µg/kg	0,05
Aflatossina B2	0,24	± 0,10	89 +	µg/kg	0,05
Aflatossina G1	0,11	± 0,05	84 +	µg/kg	0,05
Aflatossina G2	< LQ			µg/kg	0,05
FUMONISINE in LCMS					
Fumonisin B1	5400	± 1566	90 +	µg/kg	50
Fumonisin B2	950	± 380	95 +	µg/kg	50
Fumonisin B1 + Fumonisin B2 sum	6350	± 1588		µg/kg	

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Roberto Causin Università di Padova, Dip. TeSAF, Sez. Patologia Vegetale

roberto.causin@unipd.it

