

Studio del microbiota fungino coltivabile durante il processo di insilamento

Simona Prencipe*** - Francesco Ferrero** - Ernesto Tabacco** - Maria Lodovica Gullino*** - Angelo Garibaldi* - Giorgio Borreani** - Davide Spadaro***

*Centro di competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

** Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali ed Alimentari, DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

La crescita di funghi e la presenza di micotossine nei mangimi determina ingenti perdite economiche e ha un importante impatto sulla salubrità dei prodotti finali e di conseguenza sulla salute umana. L'utilizzo di silo mais stoccati orizzontalmente e per lunghi periodi per la produzione di mangimi è una pratica utilizzata in Europa e Nord America. Questa matrice è particolarmente suscettibile al deterioramento aerobico a opera di lieviti e funghi in presenza di ossigeno. La conservazione avviene principalmente grazie all'anaerobiosi e alla presenza di batteri lattici che permettono l'acidificazione dei foraggi rendendo il substrato poco favorevole alla crescita fungina (Pahlow *et al.*, 2003). Le condizioni di stoccaggio risultano quindi essere di particolare importanza per evitare l'entrata di aria che favorisca lo sviluppo e la moltiplicazione di funghi micotossigeni con conseguenti perdite nutrizionali e deterioramento aerobico (Cheli *et al.* 2013), nonché la produzione di micotossine con effetti negativi sulla salute umana e animale (Fink-Gremmels, 2008). La conoscenza delle successioni microbiche nelle diverse fasi del processo di insilamento risulta quindi di particolare importanza (Spadaro *et al.*, 2015).

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di studiare i cambiamenti e l'evoluzione del microbiota fungino dalla raccolta a dopo conservazione (60 e 160 giorni) includendo un periodo di 14 giorni di esposizione aerobica, al fine di valutare e quantificare i potenziali rischi causati dalle recenti emergenze fitosanitarie quali, la presenza di funghi fitopatogeni e micotossigeni sulla qualità e sulla sanità degli alimenti zootecnici derivati (silomais, pastone di spiga, granella) e dei potenziali rischi di contaminazione da micotossine.

Le matrici sono state piastrate su PDA tramite metodo per diluizione seriale a cui è seguita una conta dei principali morfotipi rinvenuti, associati alle specie produttrici di micotossine. In seguito è stata eseguita l'identificazione molecolare tramite amplificazione di geni conservati, il fattore di allungamento trascrizionale per le specie

di *Fusarium*, la β -tubulina per le specie di *Penicillium* e la calmodulina per le specie appartenenti al genere *Aspergillus* section *Flavi*, *Nigri* e *Fumigati*.

In generale alla raccolta e per tutte le matrici, la comunità prevalente è rappresentata dal genere *Fusarium*, con le specie *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans* e *F. temperatum*. Questa comunità scompare all'apertura dopo 60 e 160 giorni di insilamento in favore del genere *Penicillium* rappresentato principalmente dalle specie *P. roqueforti*, *P. oxalicum* e *P. paneum* che tollerano basse concentrazioni di ossigeno e bassi valori di pH, e in misura minore dalle specie *Aspergillus flavus* e *A. fumigatus*. Durante l'esposizione all'aria la comunità viene sostituita da *A. flavus* e *A. fumigatus* che rappresentano la quasi totalità della popolazione fungina.

Grazie all'utilizzo di tecniche classiche di conta in piastra tramite utilizzo di terreni selettivi e di tecniche molecolari si è potuto isolare e identificare isolati di *A. flavus* e *A. fumigatus* dal campo, la cui presenza alla raccolta è solitamente mascherata dalle altre popolazioni fungine ad alta concentrazione.

Da questo studio possiamo osservare come la popolazione fungina totale venga ridotta significativamente in presenza di anaerobiosi e basso pH, ma non sufficientemente per evitare il successivo sviluppo dei principali funghi micotossigeni. La presenza di un elevato numero di isolati appartenenti al genere *Penicillium* e delle sezioni *Flavi*, *Nigri* e *Fumigati* del genere *Aspergillus*, principali responsabili della produzione di micotossine indica la necessità di combinare nuove pratiche agronomiche nelle diverse fasi produttive dei sistemi foraggeri per ridurre il rischio di contaminazione da funghi e micotossine e garantire la salubrità dei prodotti finali.

Ringraziamenti

Lavoro svolto con il contributo del progetto "SOST-MILK: Emergenze fitosanitarie del mais e sostenibilità della filiera latte piemontese" finanziato da Cassa di Risparmio di Cuneo.

Lavori citati

CHELI F., CAMPAGNOLI A., DELL'ORTO V. (2013) - Fungal populations and mycotoxins in silages: from occurrence to analysis. *Anim Feed Science and Technology*, 183, 1-16.

FINK-GREMMELS J. (2008) - Mycotoxins in cattle feeds and carryover to dairy milk: a review. *Food addit contam part a* 25, 172-180.

PAHLOW G., MUCK R. E., DRIEHUIS F., OUDE ELFERINK S. J. W. H., SPOELSTRA S. F. (2003) - Microbiology of ensiling. In: *Silage Science and Technology* (Buxton D. R., Muck R. E., Harrison J. H. coord.), Madison, WI: ASA, CSSA, SSSA, 42, 31-93.

SPADARO D., BUSTOS-LOPEZ DEL PILAR M., GULLINO M. L., PIANO S., TABACCO E., BORREANI G. (2015) - Evolution of fungal populations in corn silage conserved under polyethylene or biodegradable films. *Journal of Applied Microbiology*, 119, 510-520.