



Metodi alternativi alla lotta chimica per la prevenzione e il contenimento delle micotossine

Davide Spadaro

DISAFA e AGROINNOVA

Università di Torino





Micotossine frequenti nei prodotti vegetali

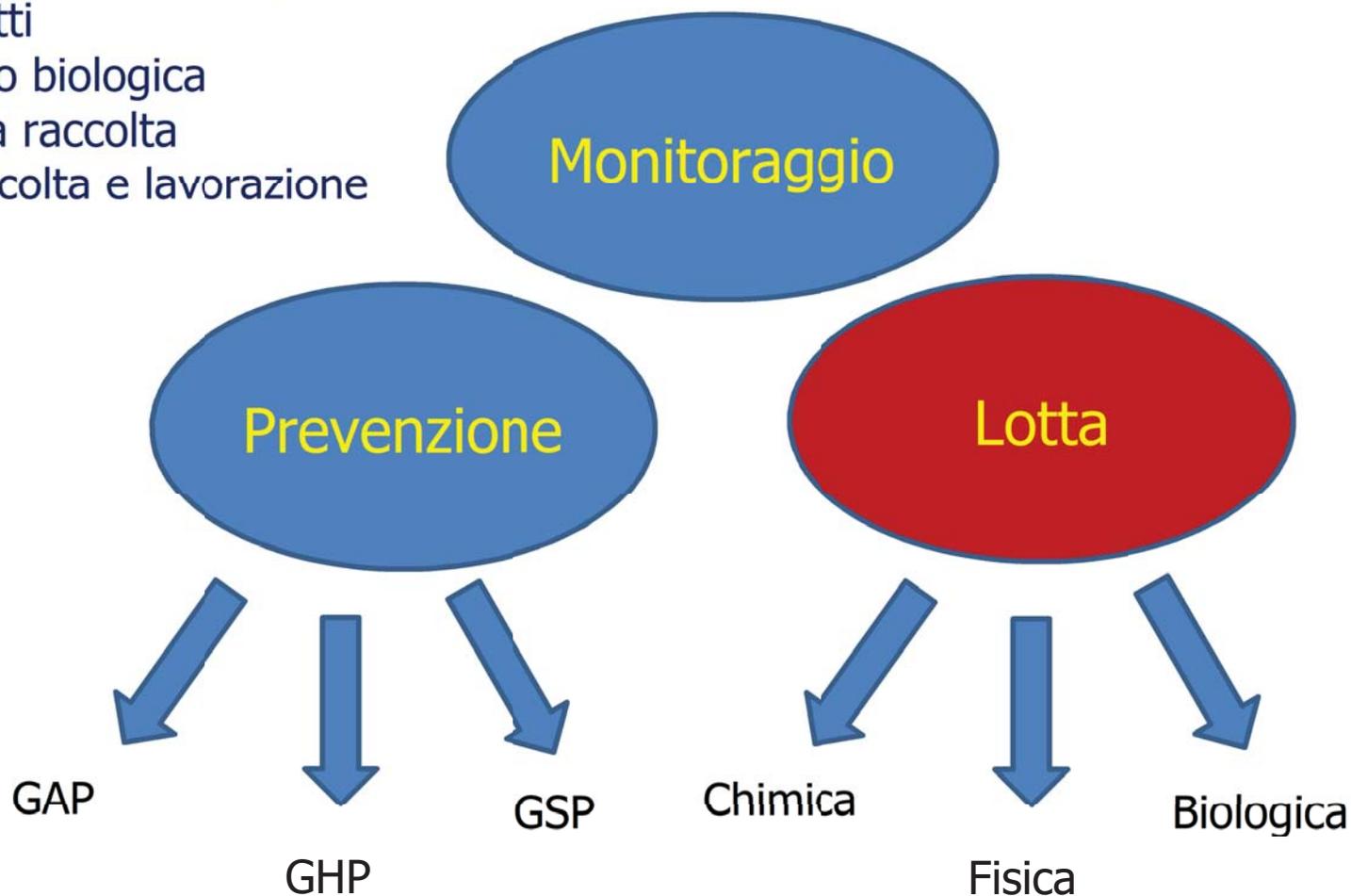
FAO: 25% alimenti contaminati significativamente da micotossine.

MICOTOSSINE	ALIMENTI	SPECIE FUNGINE
Aflatossine B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	Mais, arachidi, spezie, frutta secca e disidratata (castagne, nocciole, pistacchi)	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
Ocratossina A	Cereali, caffè, vino, birra	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>
Patulina	Succhi di frutta	<i>Penicillium expansum</i>
Deossinivalenolo	Cereali	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>
Zearalenone	Mais	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>
Fumonisine	Mais, cereali (riso)	<i>Fusarium verticillioides</i> (<i>F. moniliforme</i>), <i>F. proliferatum</i>
Alternaria-tossine	Prodotti ortofrutticoli	<i>Alternaria alternata</i> , <i>A. japonica</i> , <i>A. arborescens</i> , <i>A. tenuissima</i> , <i>A. brassicicola</i>



Prevenzione e difesa

- Buone pratiche agricole
- Scelta di varietà resistenti
- Concia del seme
- Rotazioni colturali /sistema colturale
- Irrigazioni e fertilizzazioni equilibrate
- Lotta agli insetti
- Lotta chimica o biologica
- Momento della raccolta
- Tempo tra raccolta e lavorazione



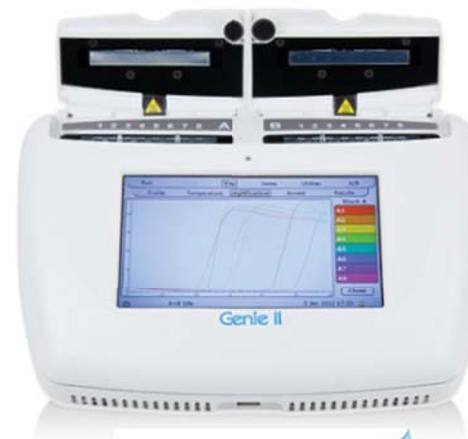


Diagnosi e monitoraggio

Analisi quantitativa (qPCR)

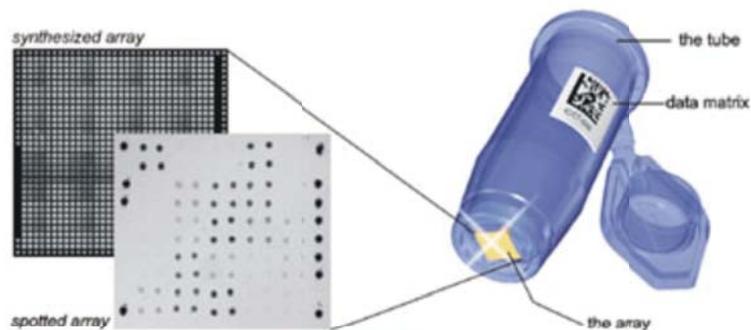


Diagnostica di campo (LAMP)

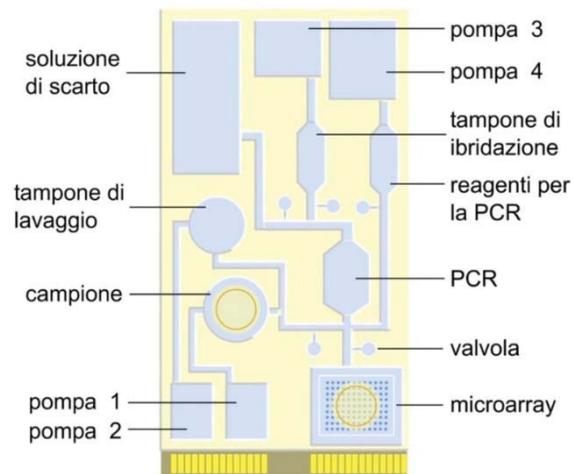


OptiGene 

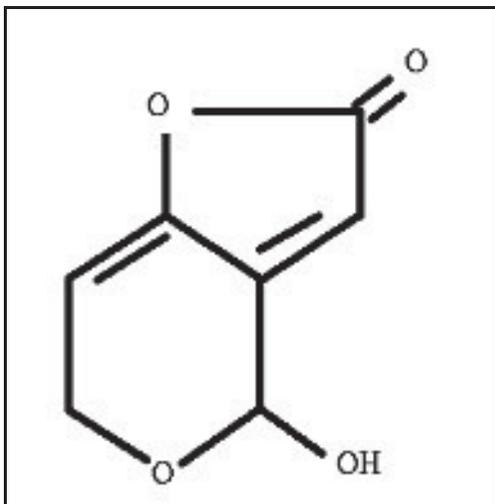
Analisi multipla (microarray)



Analisi in tempo reale, integrazione con IT (LOC)



Marciumi post-raccolta e patulina



Penicillium expansum

**Marciume verde-azzurro
di mele e pere**

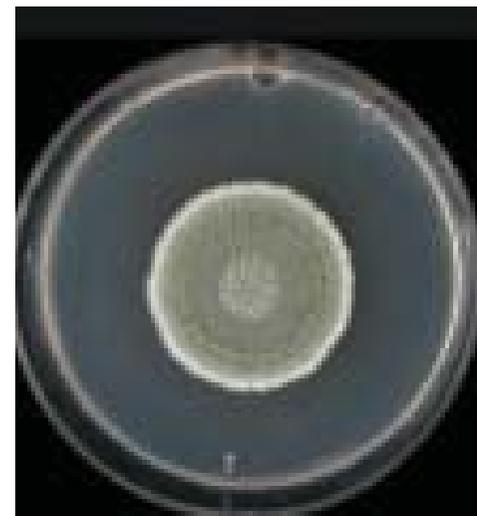


Penicillium griseofulvum



Prima segnalazione in Italia
(*Spadaro et al 2011*)

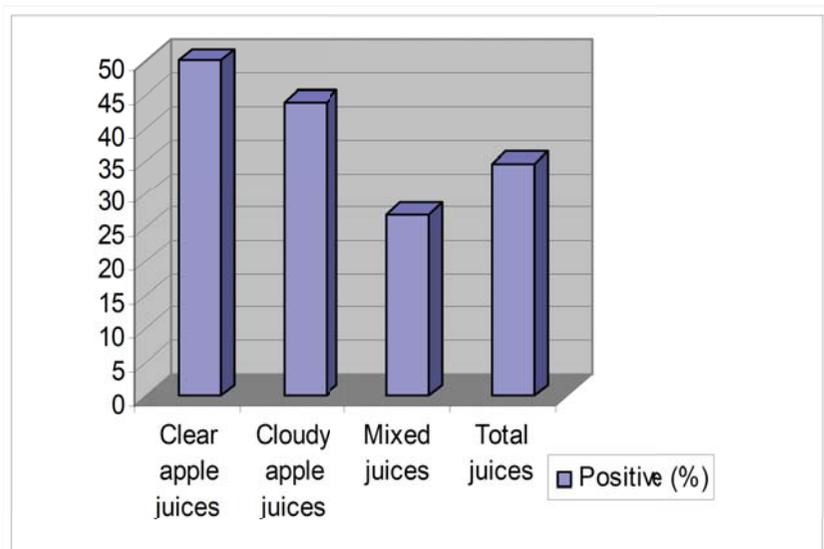
Sequenziamento del genoma
(*Banani et al 2016*)



Tossicità, limiti, presenza

Sintomi acuti: convulsioni, edema, infiammazione intestinale e vomito.

Effetti cronici: genotossicità, immunotossicità e neurotossicità nei roditori.



Succhi di mela puri e misti:
34,8% (media: 6,42 $\mu\text{g kg}^{-1}$).

Spadaro et al., 2007, Food Control

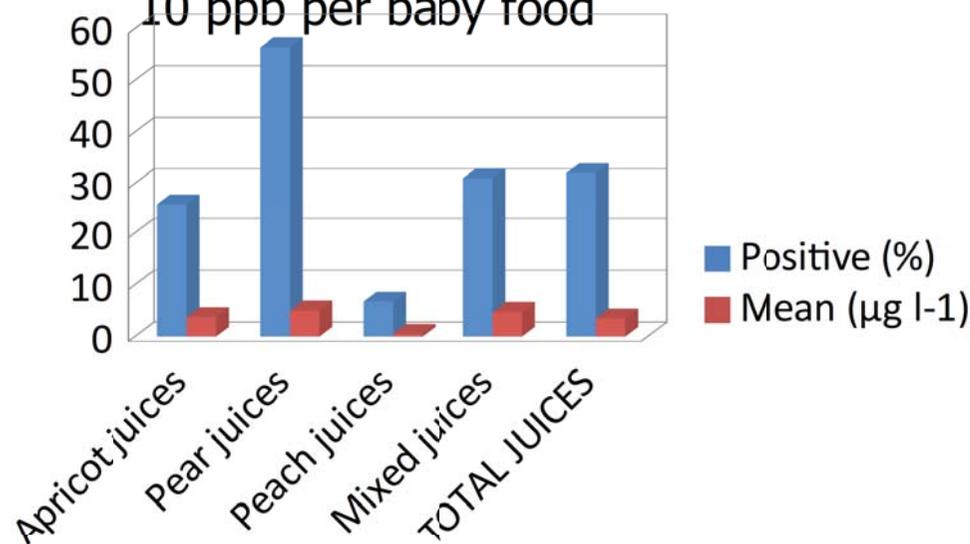
COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006
of 19 December 2006

setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs

(Text with EEA relevance)

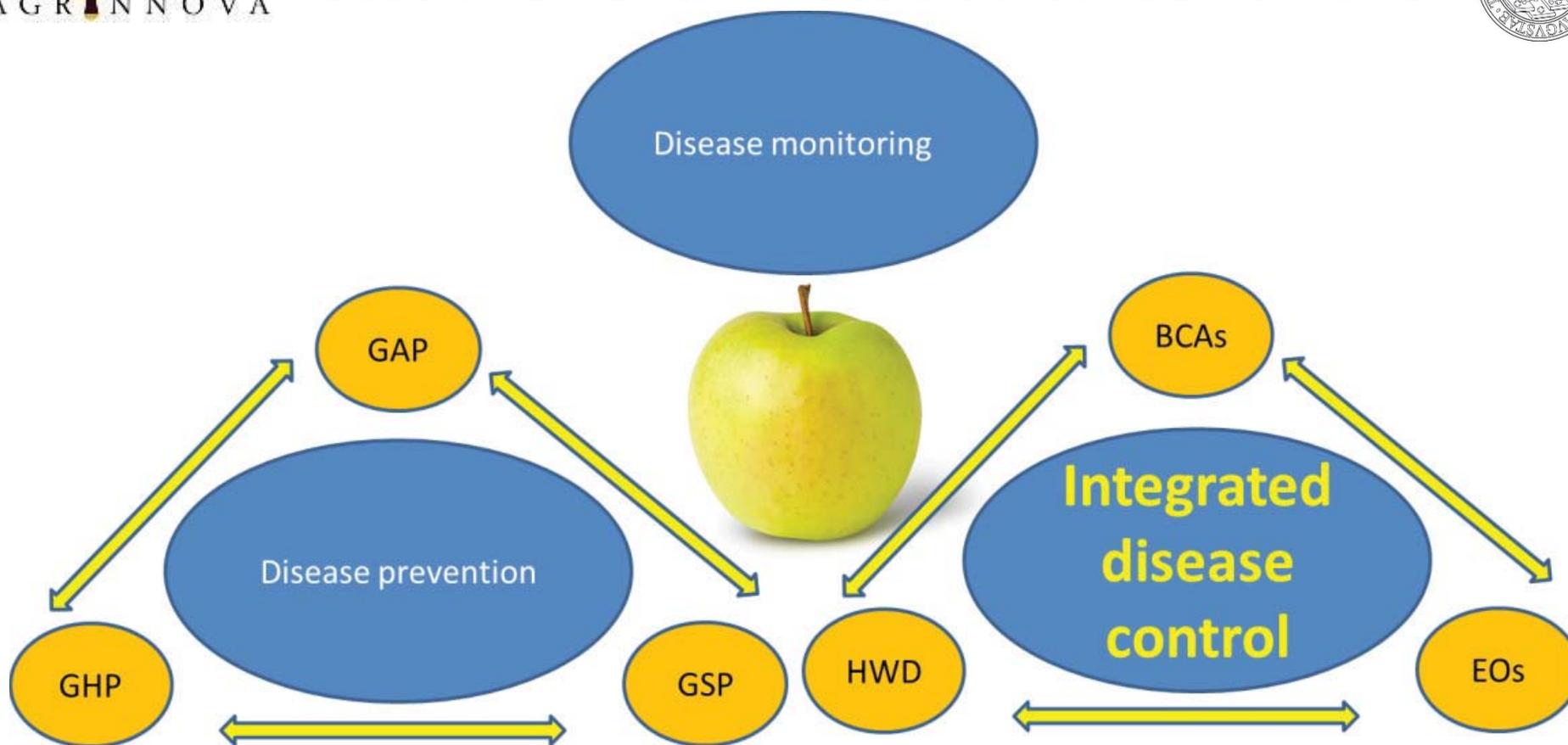
(OJ L 364, 20.12.2006, p. 5)

50 ppb per succhi di mela e sidro
25 ppb per prodotti solidi a base di mela
10 ppb per baby food



Succhi di pera, pesca, albicocca e misti.
32,0% (3,53 $\mu\text{g kg}^{-1}$)

Spadaro et al., 2008, Food Addit Contam B



- Attenta manipolazione dei frutti
- Accurata selezione
- Igiene dei locali e pulizia dei contenitori
- Pratiche di conservazione (AC, ULO)/confezionamento (MAP)
- Controlli su qualità e stato fitosanitario



Precoce: ingiallimento ed allungamento del fusto di riso (GA)

Tardiva: micelio bianco-rosa a colletto e base del fusto



DIRETTIVE

DIRETTIVA DI ESECUZIONE 2012/1/UE DELLA COMMISSIONE

del 6 gennaio 2012

che modifica l'allegato I della direttiva 66/402/CEE del Consiglio per quanto riguarda le condizioni che devono essere soddisfatte dalla coltura di *Oryza sativa*

(Testo rilevante ai fini del SEE)

☐sementi di base:

max 2 piante con bakanae/200 m²

☐sementi certificate 1°generazione:

max 4 piante con bakanae/200 m²

☐sementi certificate 2°generazione:

☐max 8 piante con bakanae 200/m²

La diagnosi

Fusarium fujikuroi

Trasmesso per seme

Monitoraggio (*Amatulli et al. 2010, Plant Pathol*)

PCR e qPCR (*Amatulli et al. 2012, Eur J Plant Pathol*)

Taqman (*Amaral Carneiro et al. 2017, Phytopathology*)

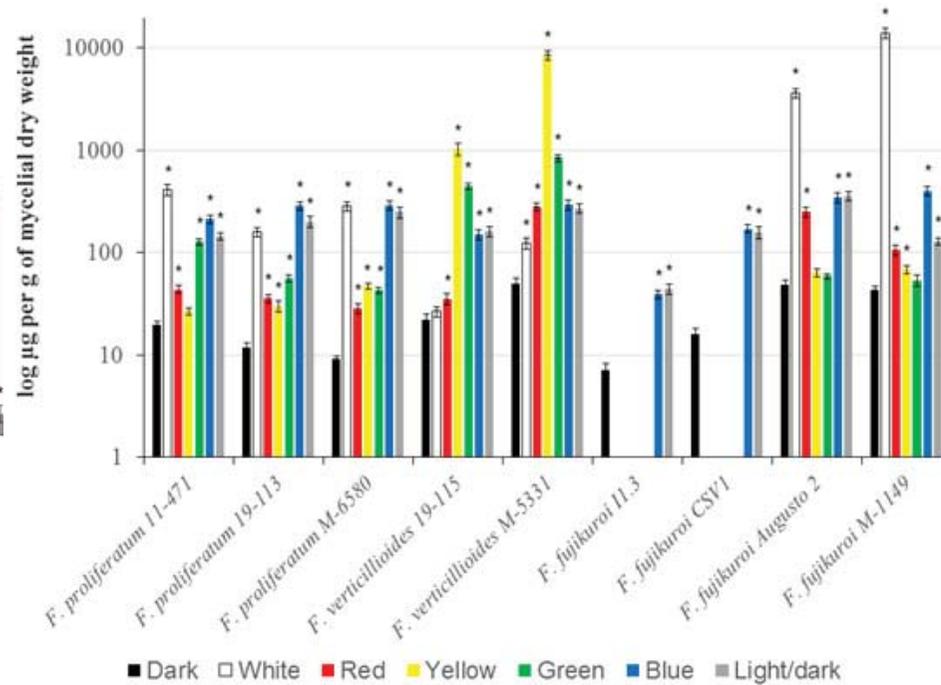
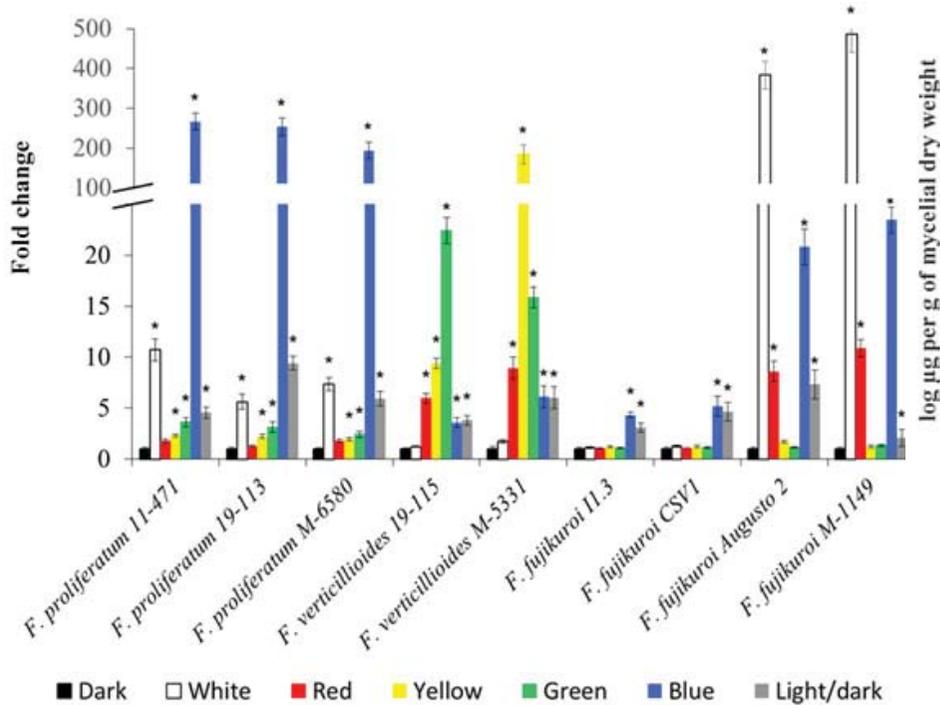
LAMP (*Franco Ortega et al. 2018, Plant Disease*)

I geni per il metabolismo secondario sono spesso raggruppati in cluster nei genomi fungini.



Espressione di *FUM1* (PKS)

Produzione di FB1



Diverse condizioni luminose

Matic et al. 2013, Int J Food Microbiol

Genotipo R inoculato:

Alte fitoalessine

Genotipo S inoculato:

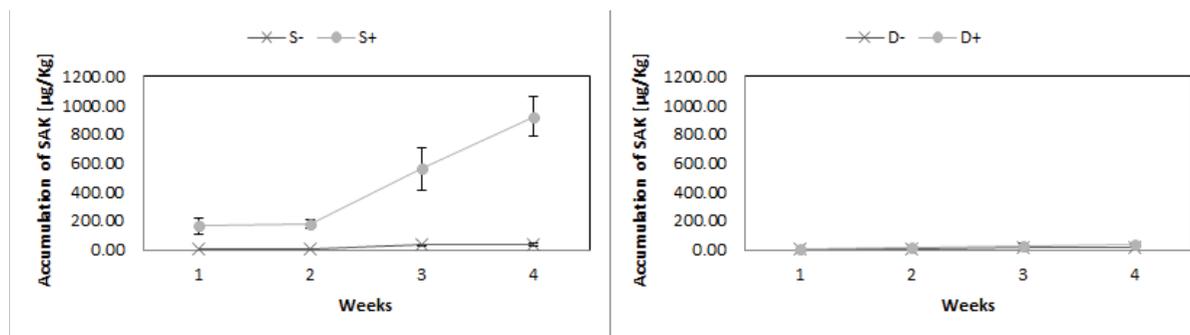
Produzione di GA₃ riduce JA

SA leggermente superiore

Alto AbA

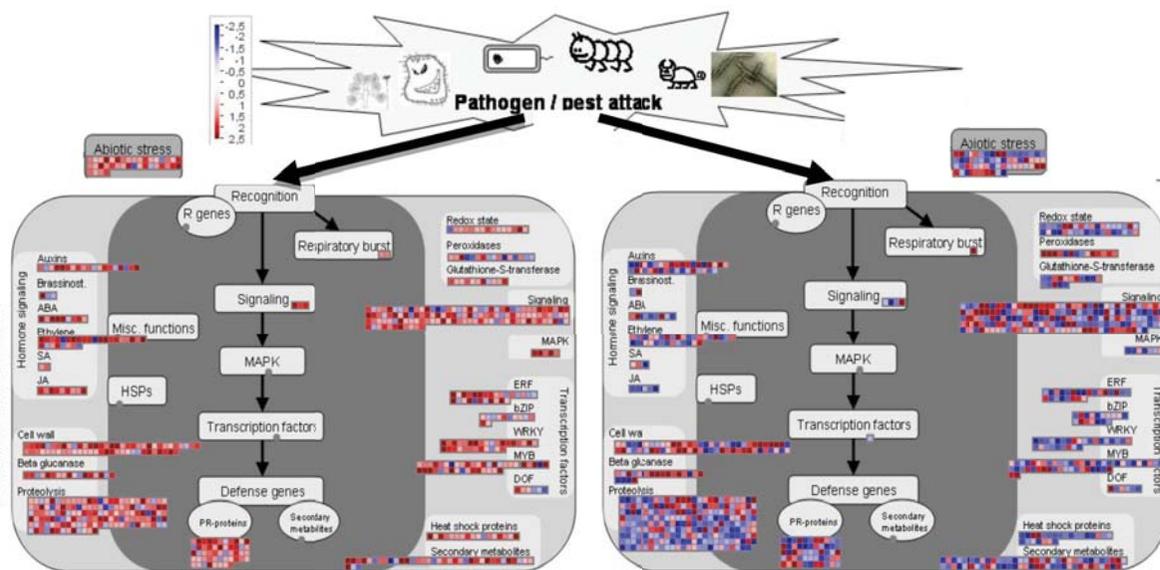
Basse fitoalessine

Siciliano et al., 2015 J. Agr. Food Chem.



cv resistente

cv suscettibile



cv resistente
(più upregolati)

cv suscettibile
(più downregolati)

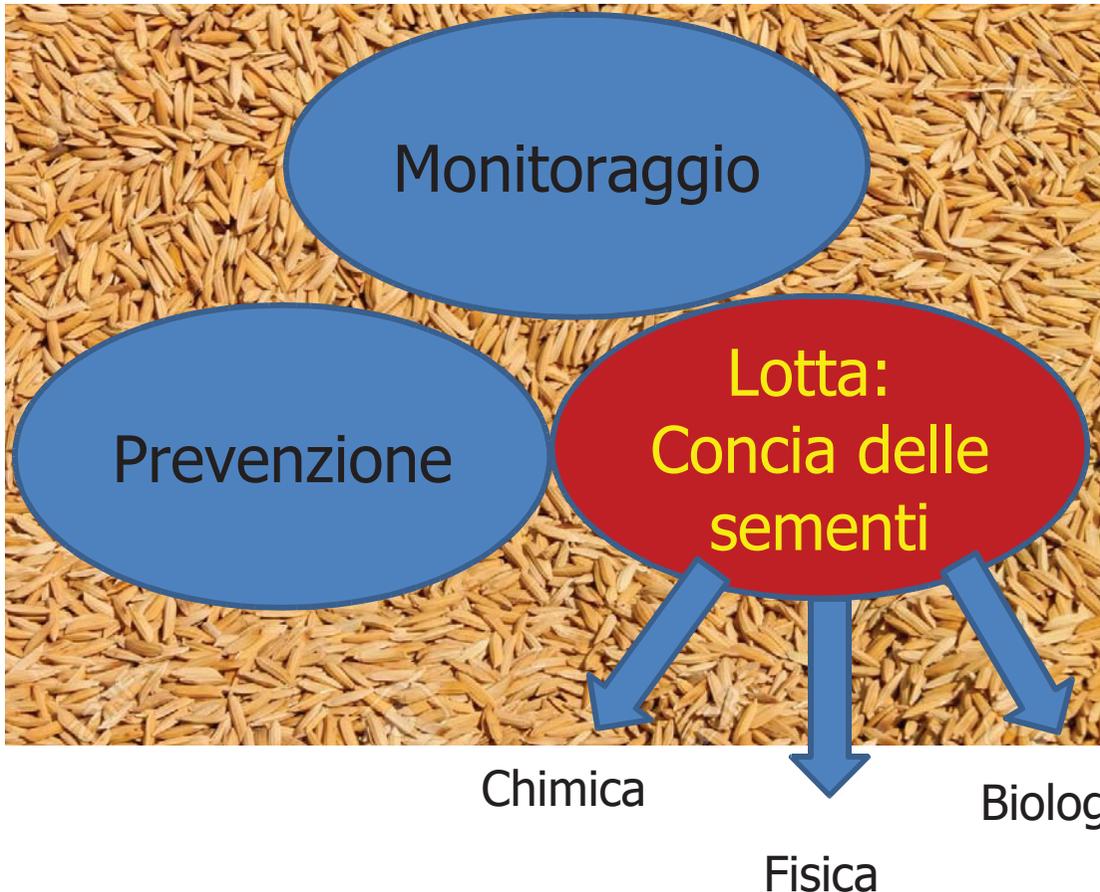
Meccanismi di difesa molto divergenti tra genotipo S e R.



Selezione varietale
Screening su 150 cv
GWAS: regioni geniche associate a resistenza a fusariosi.

Matic et al., 2016, BMC Genomics
Volante et al., 2017, Rice

Gestione delle malattie trasmesse per seme



(Matic et al 2017, Front Bioscience)

A causa della riduzione di agrofarmaci ammessi, il bakanae sta diventando sempre più importante.

Semi biologiche (Reg. UE 1425/2003)

Concia chimica in Europa

- **Fludioxonil:** nuova formulazione, minore efficacia
- **Procloraz:** non ammesso dal 2015

Circa il **70%** delle sementi di riso certificate è trattato chimicamente in Italia.

Altri Paesi non europei:

Carbendazim, Tiram



Metodi di applicazione



Irrorazione con acqua calda

Aria calda

Immersione in acqua calda

T: > 40°C (45-60°C) per i frutti
t: 1'-60'

T: 60-70°C per i semi
t: da 5' a 30'

Effetti:

Pastorizzazione

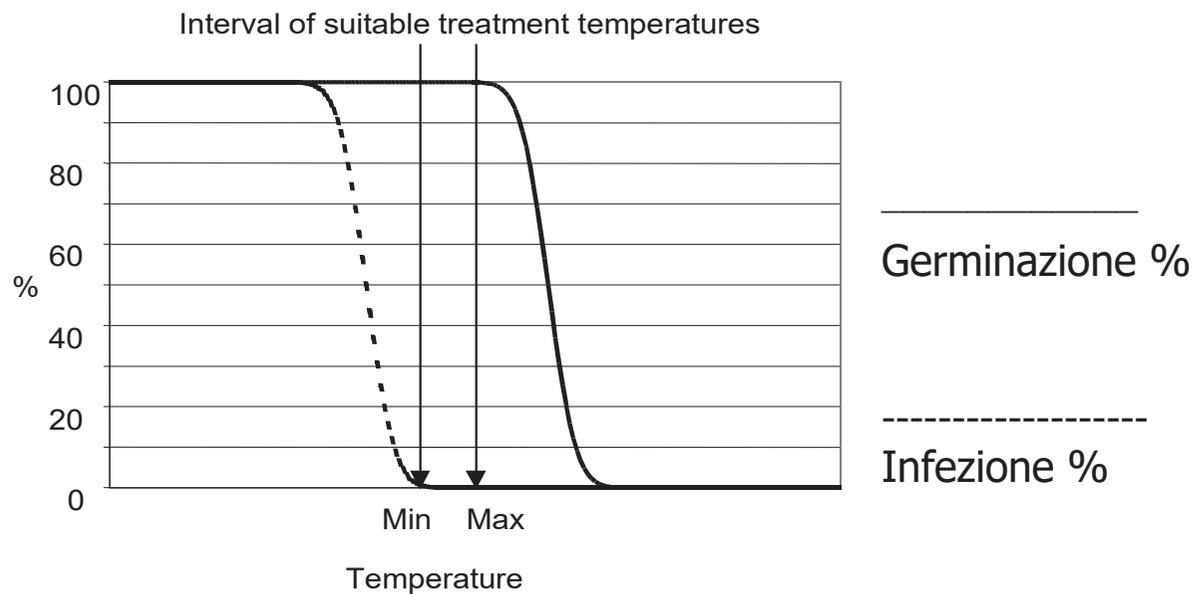
Induzione di resistenza

(aumento lignina, HSP, PRP, fitoalessine).

- Cicatrizzazione delle ferite
- Mantenimento della qualità organolettica
- Facilità di uso
- Mancanza di residui

Termoterapia

Stretta finestra tra l'inattivazione del patogeno e il danno del seme.
Controllo preciso dell'intensità e della durata del trattamento.



Acqua calda



Vapore aerato



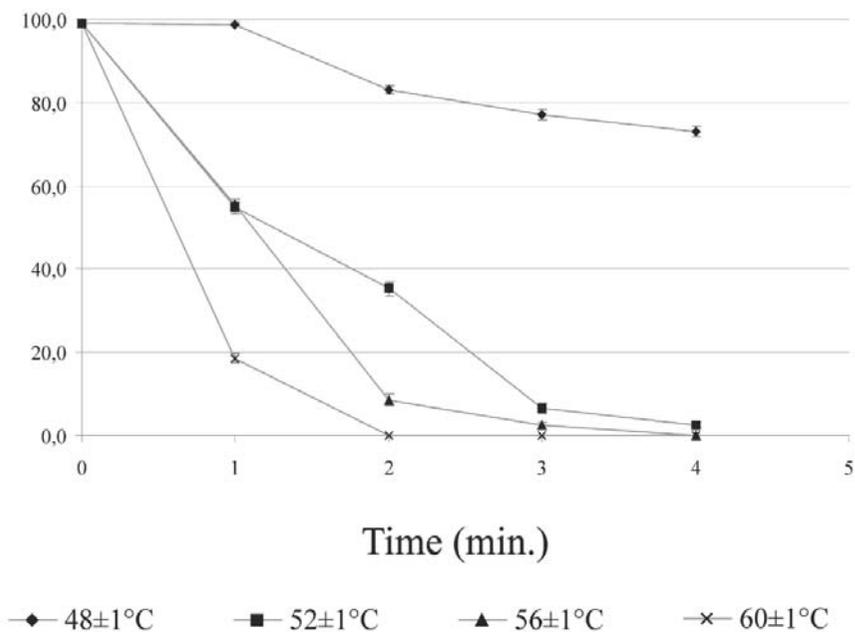
Thermoseed™

Aria calda

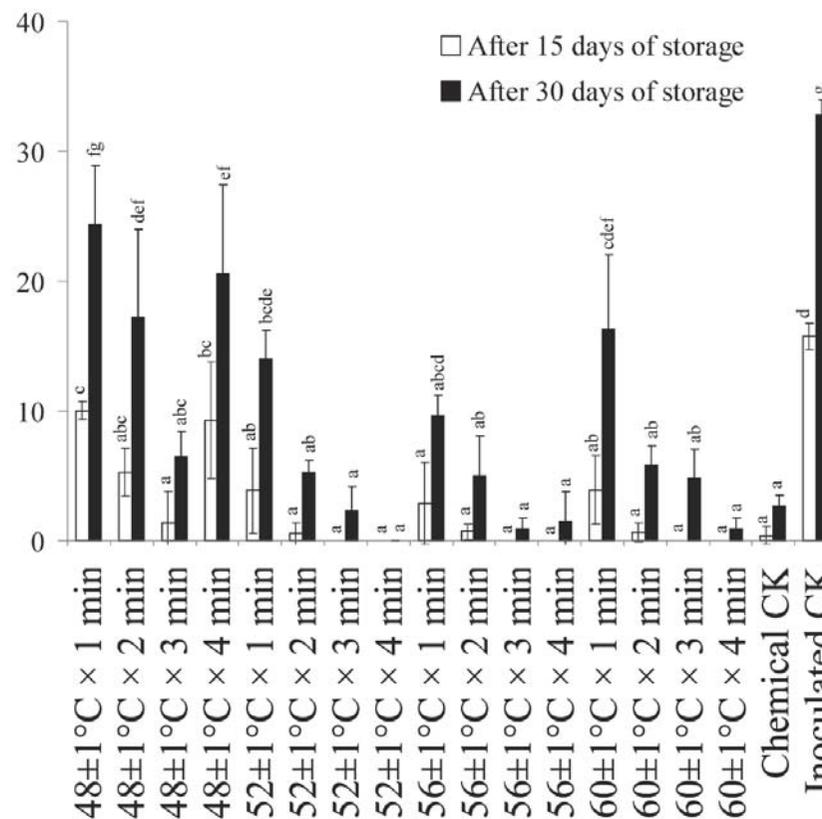


Disseccamento del seme

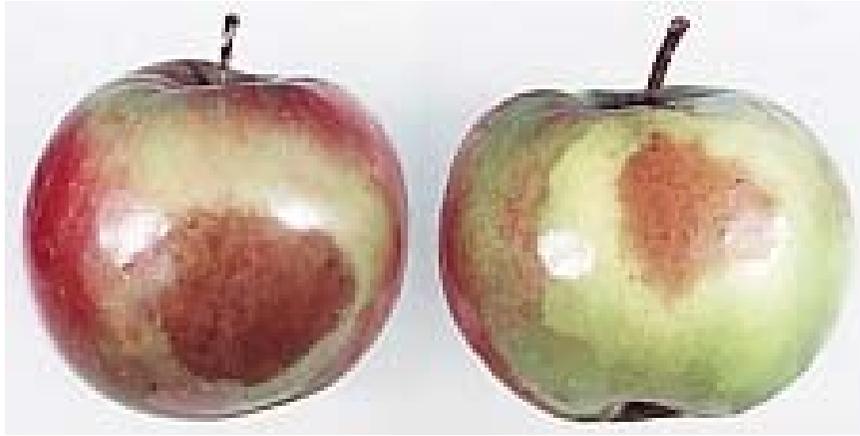
Immersione in acqua calda: frutti



Germinazione (%) dei conidi di *Penicillium expansum* in PDB dopo diversi tempi e temperature di trattamento in acqua calda.



Marciumi (%) causati da *Penicillium expansum* su mele 'Royal Gala' conservate per 30 giorni a 1,0±1°C, in seguito a immersione in acqua calda per diversi tempi e temperature.

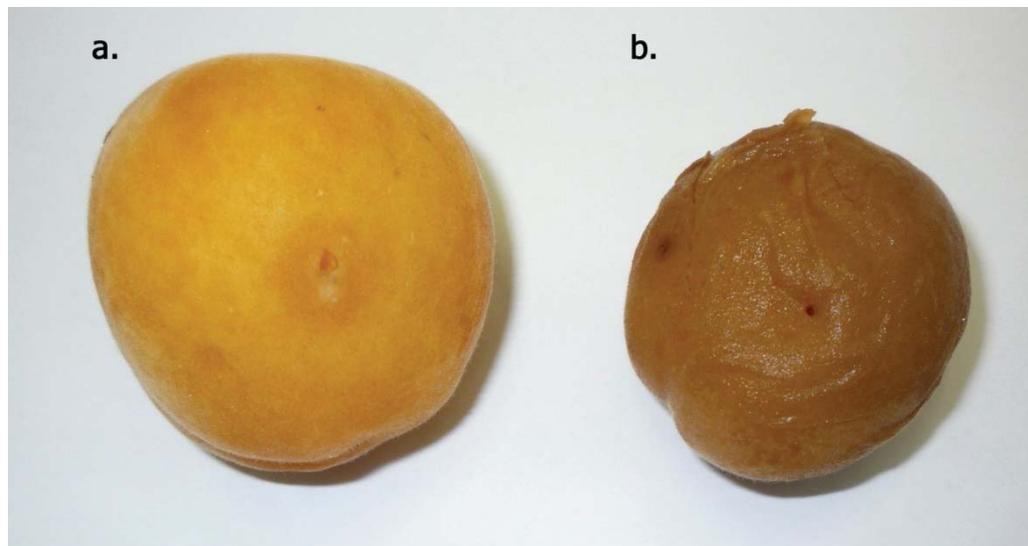


Danni da aria calda



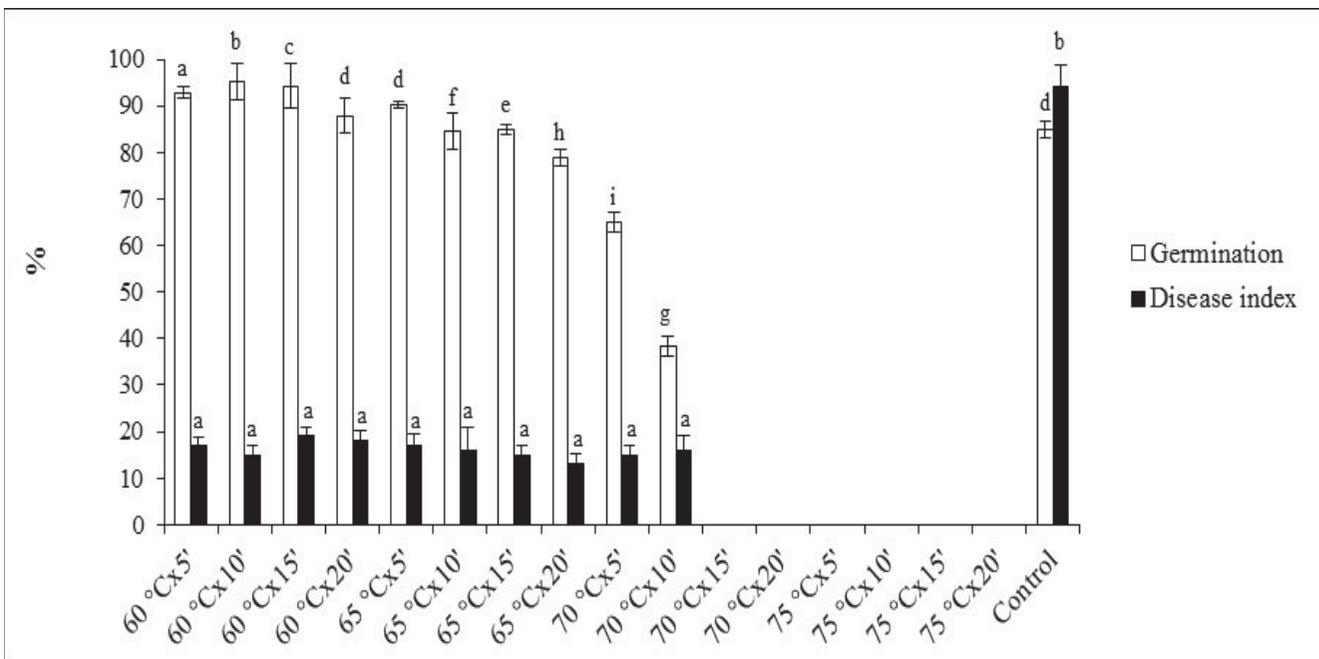
Danni da acqua calda

Albicocche cv Ninfa,



- a. Immersione in acqua a $48\pm 1^{\circ}\text{C}$ per 3 minuti.**
- b. Immersione in acqua a $56\pm 1^{\circ}\text{C}$ per 3 minuti.**

Immersione in acqua calda *in vivo*



Semi di riso cv.
Galileo naturalmete
contaminati

60°C per 5,10,15,20 min
65°C per 5,10,15,20 min
70°C per 5,10,15,20 min
75°C per 5,10,15,20 min.

Asciugatura con aria
calda a 45°C per 10
min

Germinazione:

ridotta a 70°C e 75°C

Matic et al., 2014, Biol Control

Fattori chiave: tempo e temperatura.



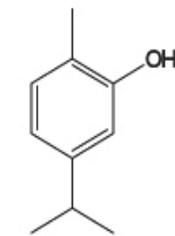


Estrazione da fiori, foglie, radici, rizomi, frutti, corteccia e semi di piante aromatiche, ricche in essenze.

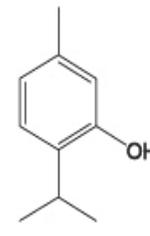
Oltre 50 famiglie botaniche:
Lamiales, Asterales, Rutales

Attività antibiotica e antifungina spesso associata con i **fenoli monoterpici**

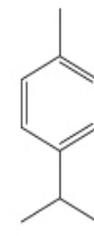
- timolo (timo)
- carvacrolo (origano, timo, santoreggia, maggiorana)
- eugenolo (chiodi di garofano, noce moscata, cannella)
- p*-anisaldeide (anice stellato)
- carvone (cumino, anice stellato)



Carvacrolo



Timolo



p-Cimene

Meccanismo di azione

Passano il doppio strato lipidico della membrane cellulari di batteri e mitocondri.

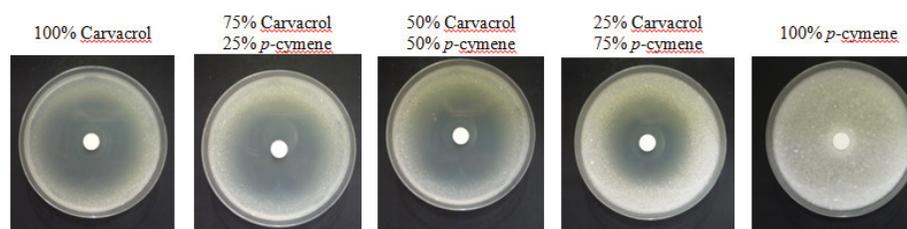
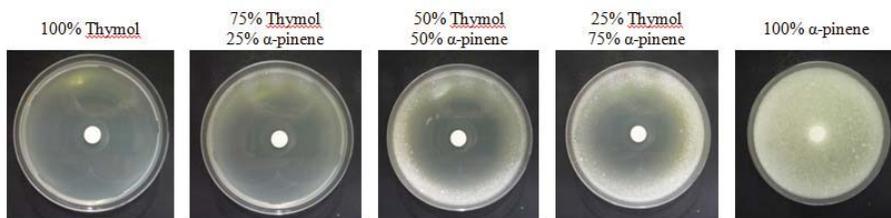
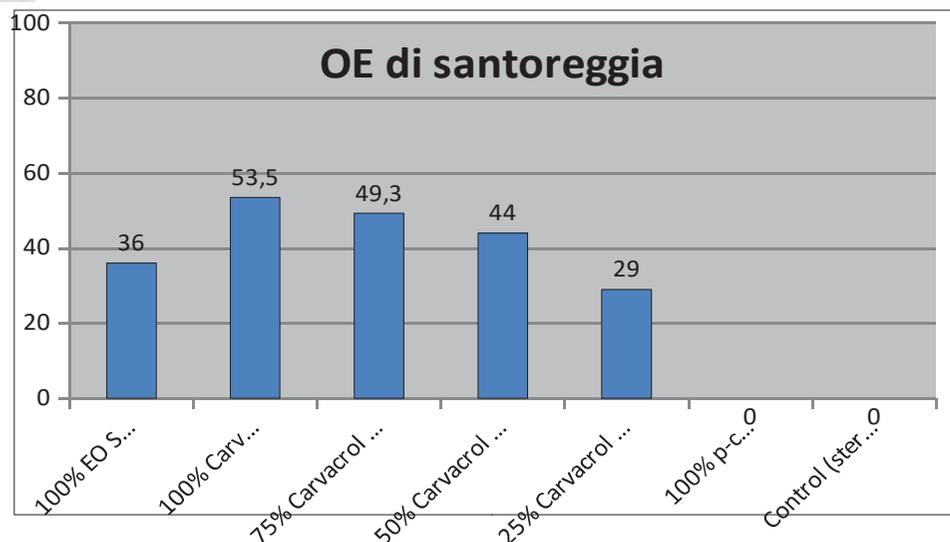
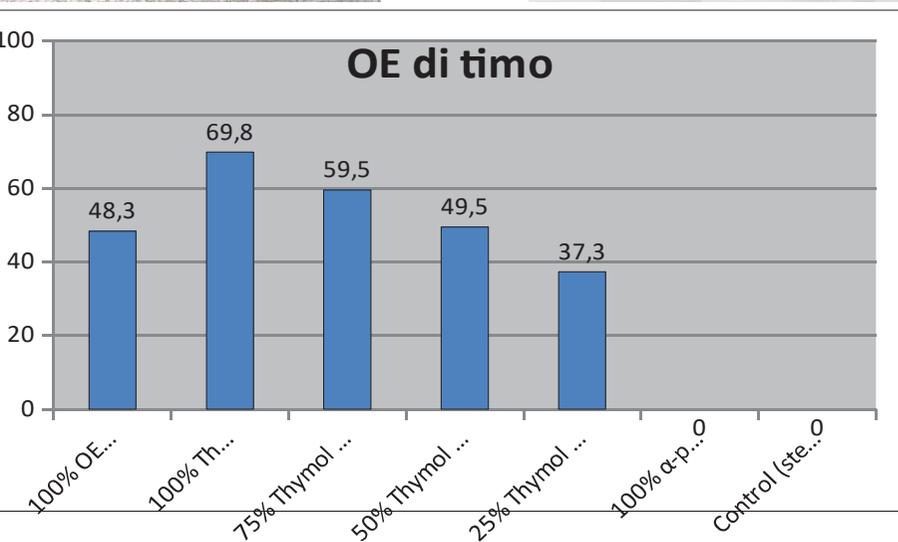
Batteri: **perdita di ioni**

Funghi: **disfunzioni nella respirazione**

Composizione ed attività dei componenti



Saggi di diffusione in agar per valutare l'attività antifungina degli OE.





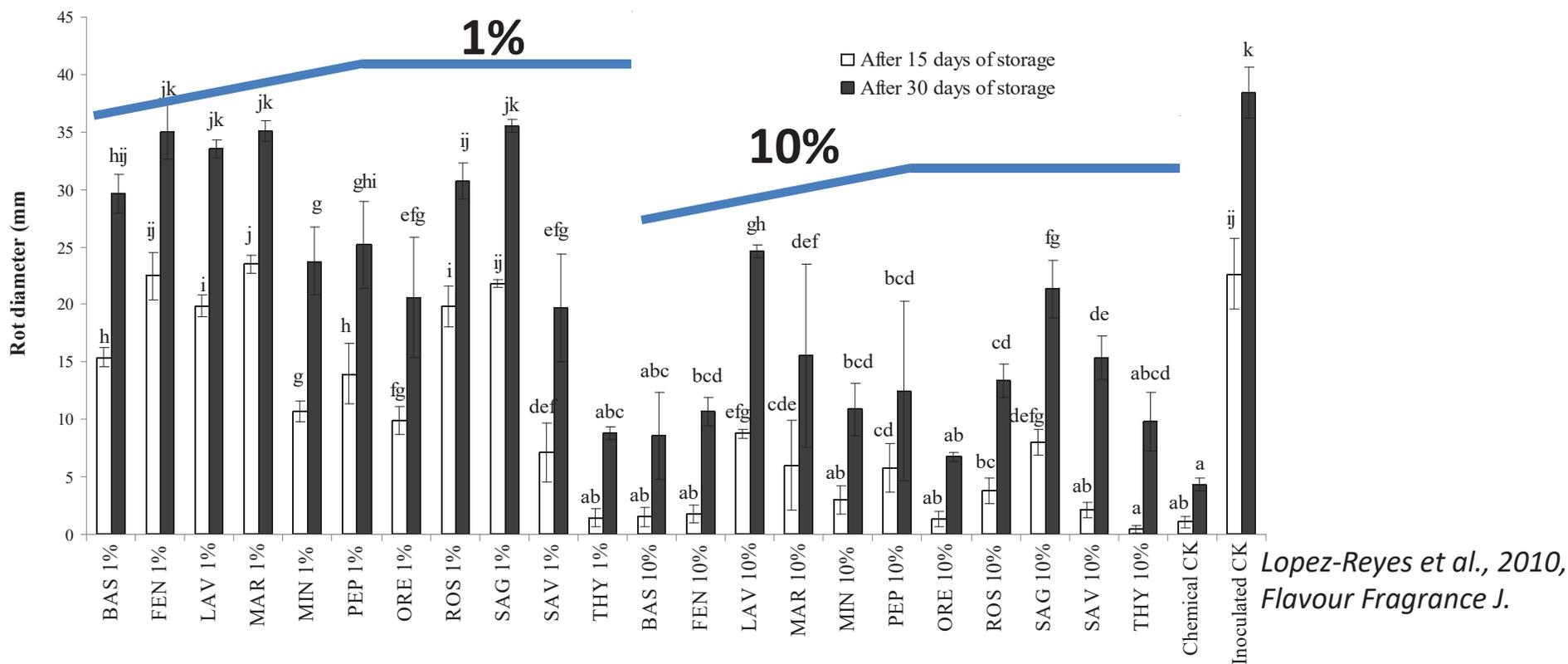
Penicillium expansum su mele cv. Royal Gala

OE da 11 piante mediterranee

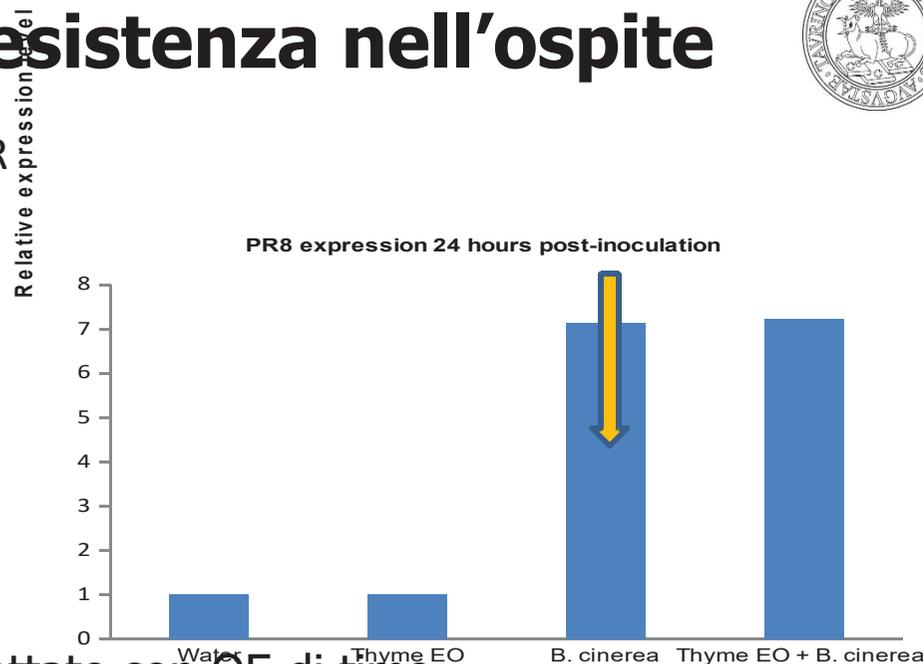
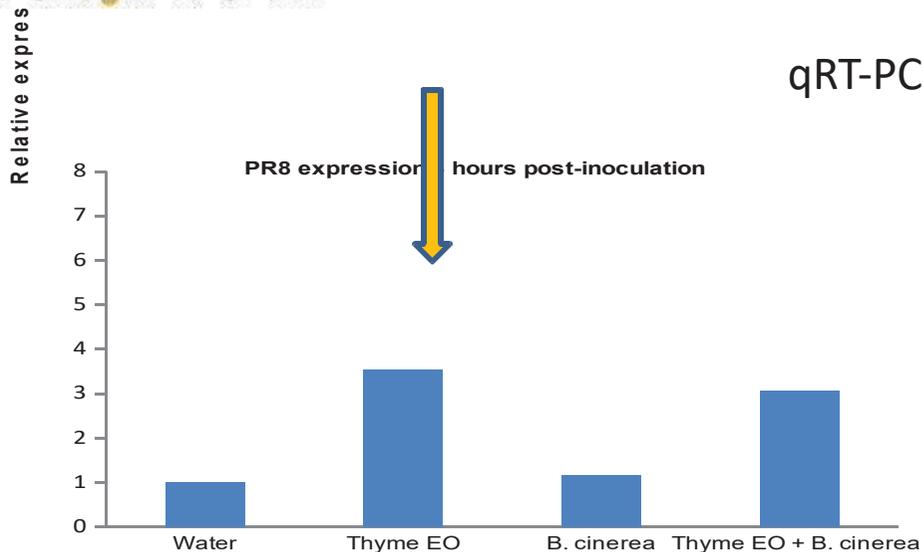
applicata mediante emulsioni per irrorazione all'1% e al 10%

Concentrazione più efficace: 10%

OE più efficaci: santoreggia e timo (sia all'1% sia al 10%)

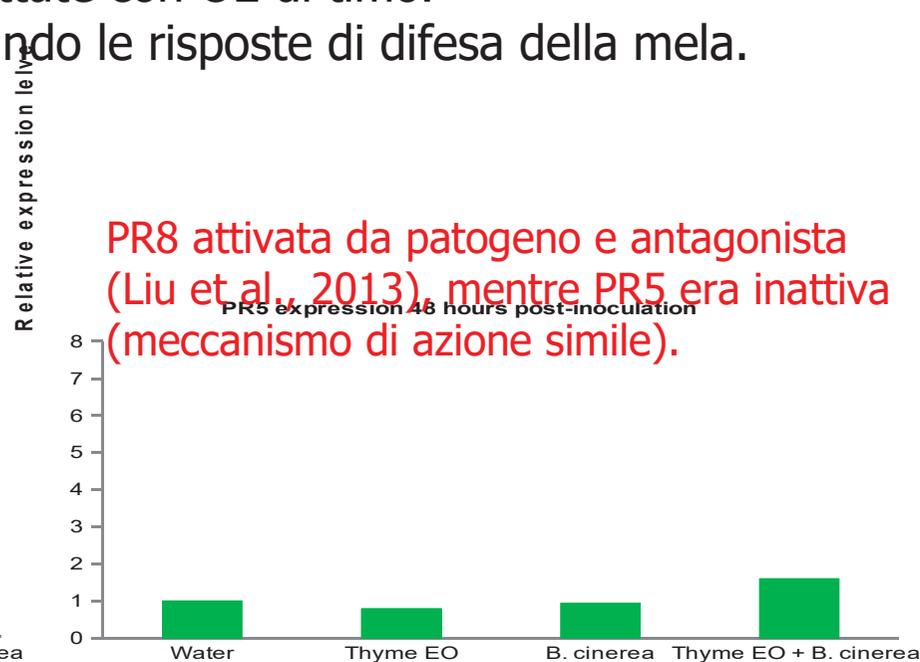
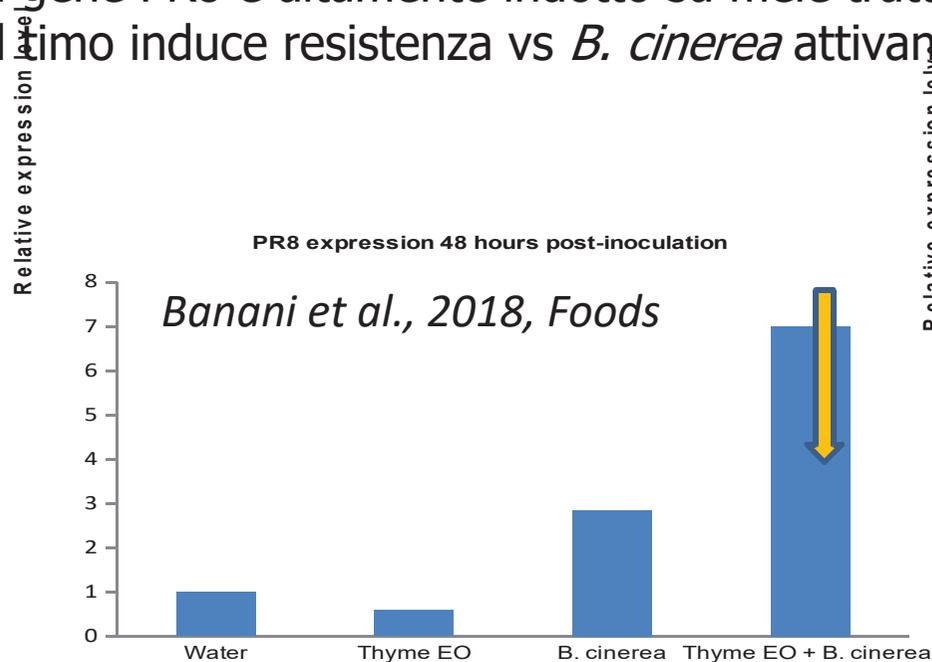


Induzione di resistenza nell'ospite



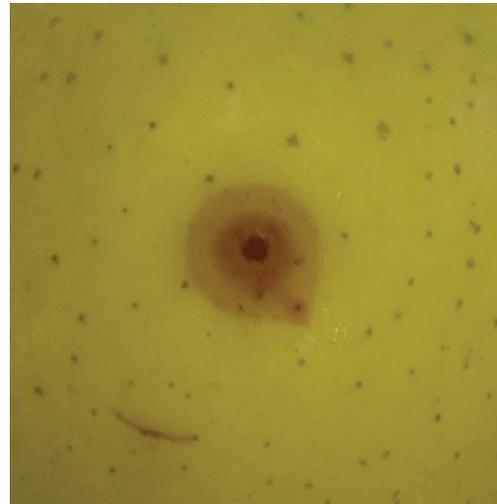
Il gene PR8 è altamente indotto su mele trattate con OE di timo.

Il timo induce resistenza vs *B. cinerea* attivando le risposte di difesa della mela.



Fitotossicità

OE di timo al 10% su mele
'Granny Smith' e 'Golden Delicious'.



OE di timo al 10% su nettarina 'Big Top'.

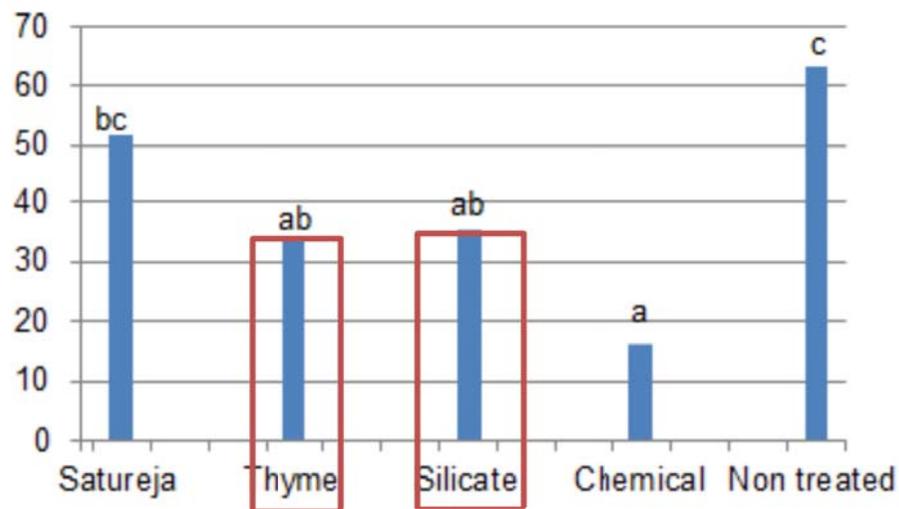
- Concentrazione inferiore
- Impiego in pre-raccolta
- Fumigazione

Lopez-Reyes et al., 2013, J Food Prot





Incidence of *Monilia* at 28 days of storage (2nd harvest)



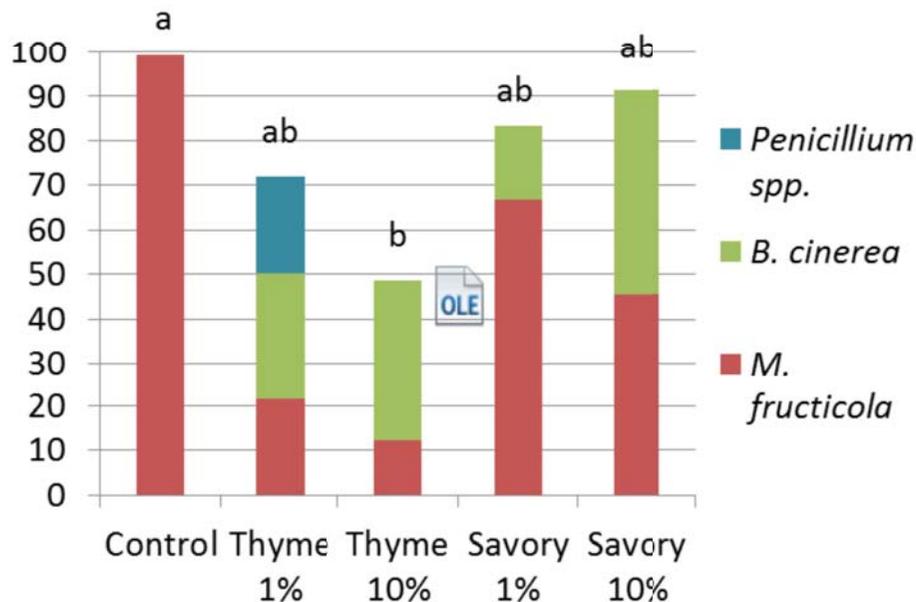
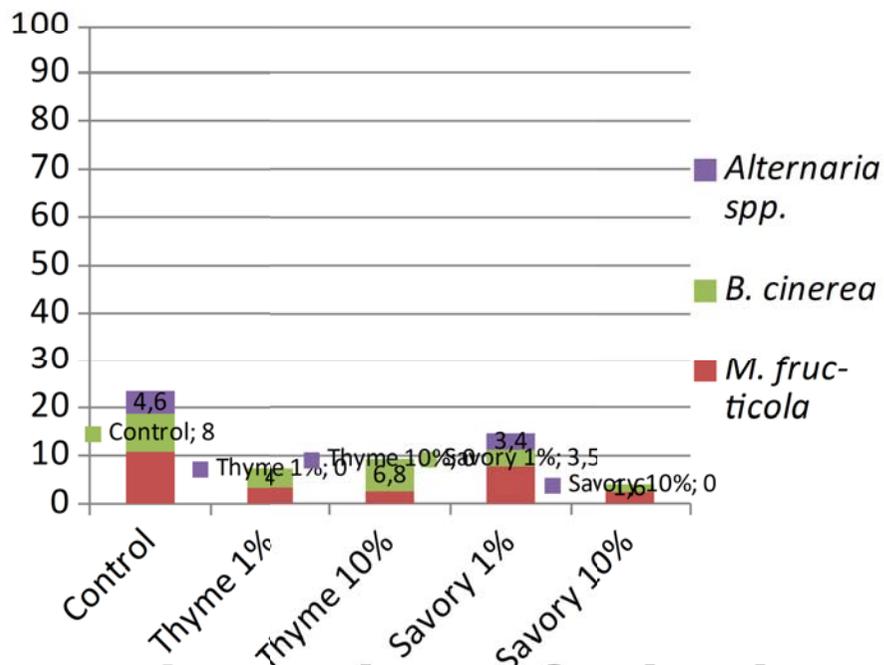
Marciumi post-raccolta su pesche



Caratteristiche organolettiche

L'OE di timo ha dimezzato il marciume bruno su pesche, senza fitotossicità e alterazioni organolettiche.

Incidenza di marciumi (%) su nettarine Sweet Red (sn) e pesche Vista Rich (dx)



Spray, immersione o fumigazione

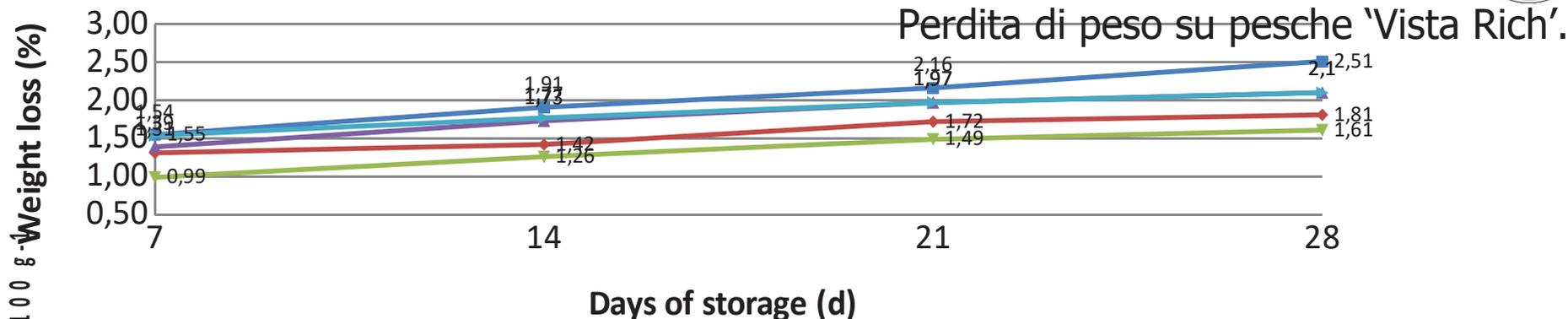


Diffusori a lento rilascio
Emulsione in fase di gel
Infezione naturale
28 giorni di conservazione

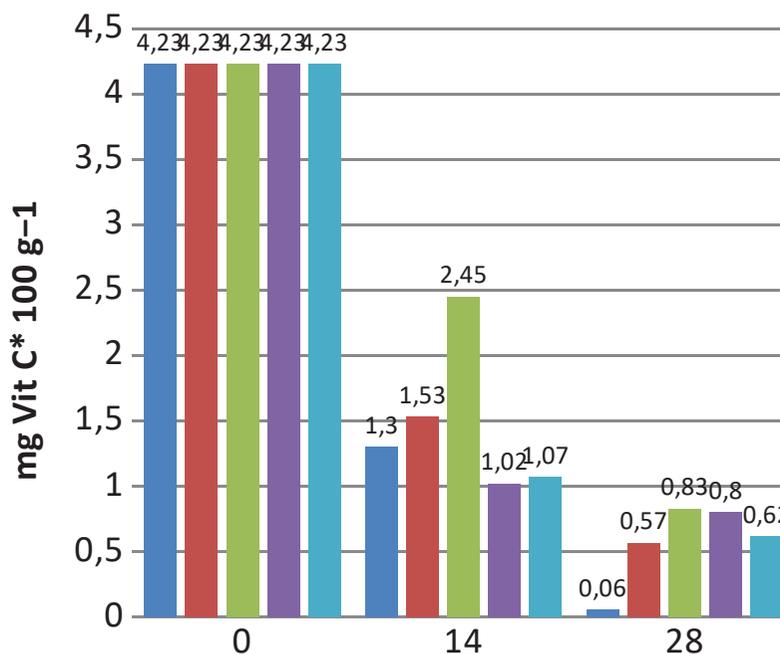
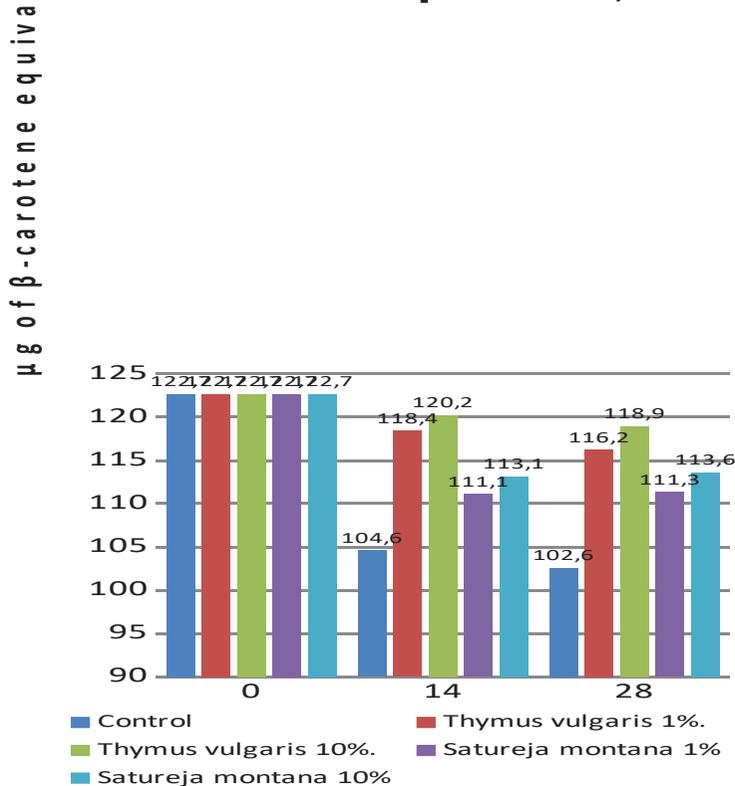
Santoro et al, 2018, Foods



Effetto sulla qualità



*Fumigazione con OE: **rivestimento** sulla superficie del frutto che modifica la permeabilità dei gas, **ridotto tasso di respirazione**, a causa della chiusura stomatica.



Maggiore contenuto di **carotenoidi** (sn) e **vitamina C** (AA+DHAA; dx) in nettarine 'Sweet Red'.

Immersione o irrorazione

- Attività antifungina e induzione di resistenza nell'ospite
- Effetto sulla **concentrazione**: efficacia, fitotossicità, *off-flavour*
- Integrazione** con termoterapia o antagonisti
- Uso in pre-raccolta**: assenza di fitotossicità o *off-flavour*

Fumigazione

- Rilascio lento, VOC nell'atmosfera di conservazione
- Effetto sulla perdita di peso
- Effetto sulla qualità dei frutti (carotenoidi e vitamina C)

Principali problemi:

- Caratteristiche organolettiche**
- Fitotossicità**
- Standardizzazione**: chemotipi, agronomia, ambiente, fase fenologica, conservazione, metodo di estrazione

Partner industriali per la formulazione



BIOXEDA OE chiodi di garofano
BIOX-M OE menta

Biofungicidi in post-raccolta

Microrganismo	Biofungicida	Attività	Paese
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Boniprotect	<i>Penicillium, Botrytis, Monilinia</i>	UE (pre-raccolta)
<i>Candida sake</i>	Candifruit	<i>Penicillium, Botrytis, Rhizopus</i>	Spagna?
<i>Pantoea agglomerans</i>	Pantovital	<i>Penicillium, Botrytis, Monilinia</i>	Spagna?
<i>Pseudomonas syringae</i>	Biosave	<i>Penicillium, Botrytis, Mucor</i>	U.S.A.
<i>Cryptococcus albidus</i>	Yield plus	<i>Botrytis, Penicillium, Mucor</i>	Sud Africa
<i>Metschnikowia fructicola</i>	Shemer	<i>Botrytis, Penicillium, Rhizopus, Aspergillus</i>	Paesi Bassi, UE
<i>Candida oleophila</i>	Nexy	<i>Botrytis, Penicillium</i>	Belgio, UE

AvoGreen (*Bacillus subtilis*) and Aspire (*Candida oleophila*), no more on the market

10 May Agrauxine and Syngenta start a partnership to launch Nexy®

Posted at 15:00h in Biocontrol, Corporate News by Margaux Lavalard



Syngenta launches Nexy®, the first biocontrol solution against post-harvest diseases of bananas.

Nexy contains the yeast *Candida oleophila* strain O (8,1%) and controls effectively against banana crown rot. Two thirds of post-harvest diseases affecting Guadeloupe and Martinique bananas' exported to Europe are due to this pathogen. For banana sector, the economic impact of this diseases can be significant.

« We offer to growers a 'natural' technical biocontrol solution , which reached a performance level on green fruits as well as conventional fungicides if prophylactic measures usually recommended are respected; moreover, the consumer will find with Nexy® a free residue solution” explains Jean-Charles Desforges, in charge of National Development of Tropical Crops , Syngenta, France.



CHEMCHINA

syngenta

BONI PROTECT

Fungicida biologico in granuli dispersibili da utilizzare in pre-raccolta contro le malattie fungine da frigo conservazione.



SCARICA SCHEDA DI SICUREZZA



SCARICA NOTA TECNICA



Koppert acquires rights to biological fungicide Shemer from Bayer

© 18 October 2011

Koppert Biological Systems has reached an agreement with Bayer CropScience AG to take over the exclusive worldwide rights on the marketing, registration and production of the new product Shemer, a biological fungicidal product based on the yeast strain *Metschnikowia fructicola*. Shemer is an antagonist that protects fruit and vegetables against diseases caused by fungal pathogens. It also supplements and complements pre-harvest and/or post-harvest applications and is ideal for use as a part of resistance management and IPM (Integrated Pest Management) programmes. Financial details were not disclosed.

KOPPERT
BIOLOGICAL SYSTEM

Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Metschnikowia fructicola* NRRL Y-27328

European Food Safety Authority (EFSA),

Maria Arena, Domenica Auteri, Stefania Barmaz, Giulia Bellisai, Alba Brancato, Daniela Brocca, Laszlo Bura, Harry Byers, Arianna Chiusolo, Daniele Court Marques, Federica Crivellente, Chloe De Lentdecker, Mark Egsmose, Zoltan Erdos, Gabriella Fait, Lucien Ferreira, Marina Goumenou, Luna Greco, Alessio Ippolito, Frederique Istace, Samira Jarrah, Dimitra Kardassi, Renata Leuschner, Christopher Lythgo, Jose Oriol Magrans, Paula Medina, Ileana Miron, Tunde Molnar, Alexandre Nougadere, Laura Padovani, Juan Manuel Parra Morte, Ragnor Pedersen, Hermine Reich, Angela Sacchi, Miguel Santos, Rositsa Serafimova, Rachel Sharp, Alois Stanek, Franz Streissl, Juergen Sturma, Csaba Szentes, Jose Tarazona, Andrea Terron, Anne Theobald, Benedicte Vagenende, Alessia Verani and Laura Villamar-Bouza



Lievito ascomicete

(an.: *Candida pulcherrima*)

1. Non cresce a 37°C.
2. Non produce antibiotico su mela.
3. Presente su frutti, germogli e fiori di melo.
4. Fermentazione iniziale per il sidro.
5. Fermentazione iniziale nel mosto d'uva.

Impiego di *Metschnikowia fructicola* come fungicida per drupacee, fragola e vite.

Ulteriori delucidazioni:

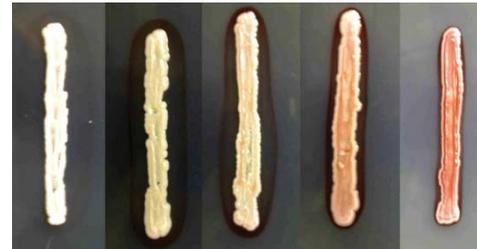
Produzione della pulcherrimina

Sopravvivenza nel suolo e nell'acqua della pulcherrimina

Tolleranza a UV della pulcherrimina



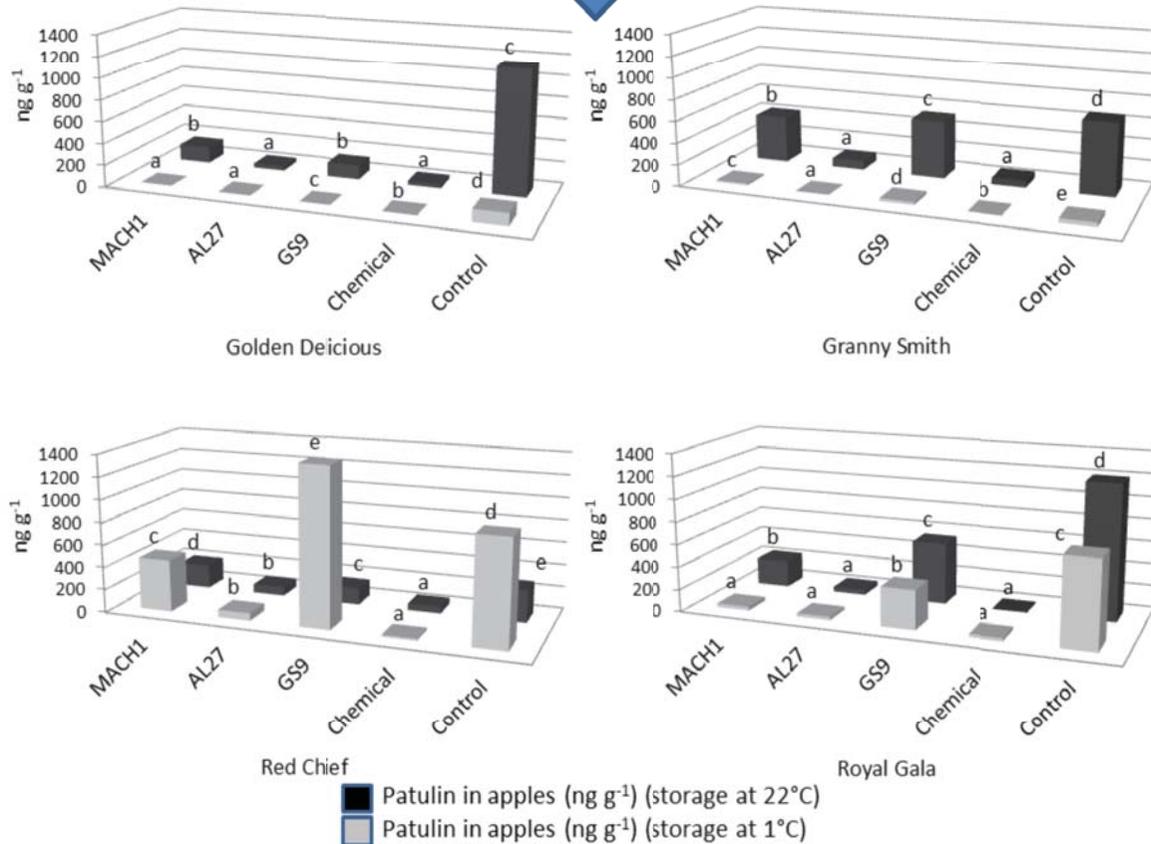
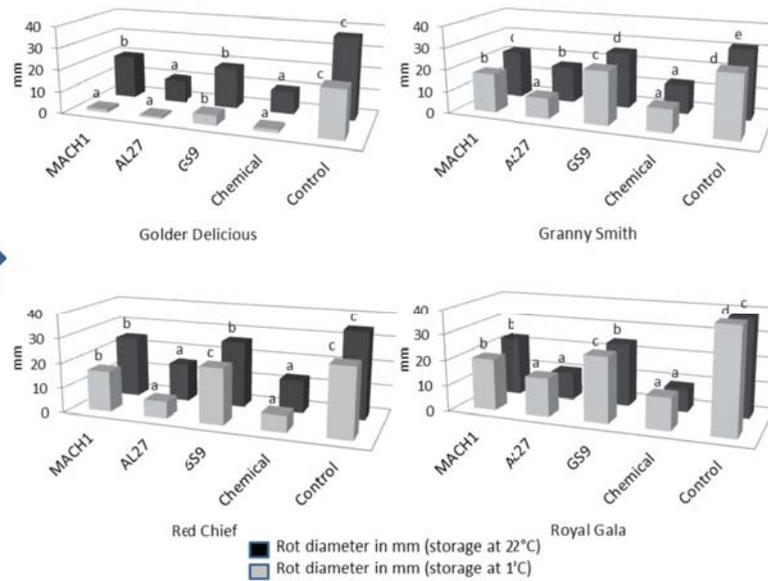
BIO126 (*Spadaro et al., 2002*)



MACH1 (*Saravanakumar et al., 2008*)

Metschnikowia fructicola AL27:

Lotta a *P. expansum* e alla patulina

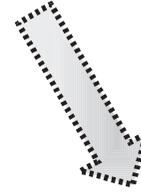
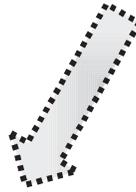


Spadaro et al., 2013, PBT

Cooltura duale



Efficacia



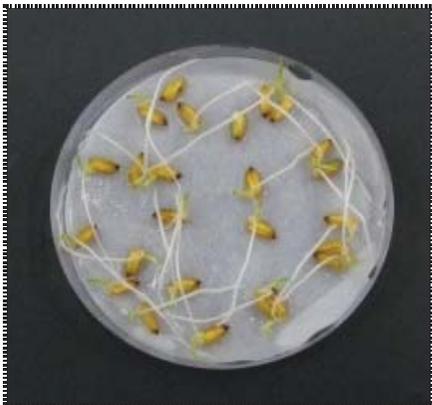
*Matic et al., 2014
Biol Control*

In vitro su semi

In vivo

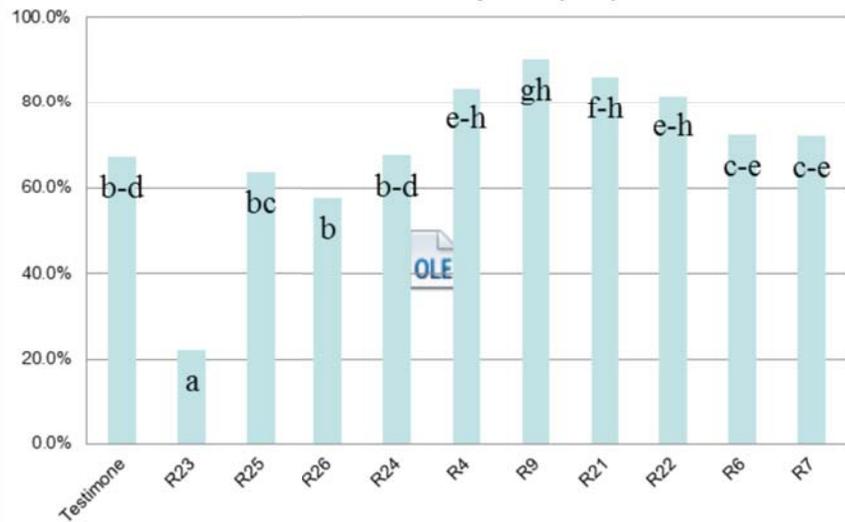
Germinazione dei semi

Infezione da *Fusarium fujikuroi* (%)



Germinazione e indice di malattia

Semi colpiti (%)



Antagonisti isolati dalla carposfera dei frutti (mela, pera, arancia, pesca) e dalla rizosfera di riso e mais.

Matic et al., 2014, Biol Control



R9
Pichia guilliermondii



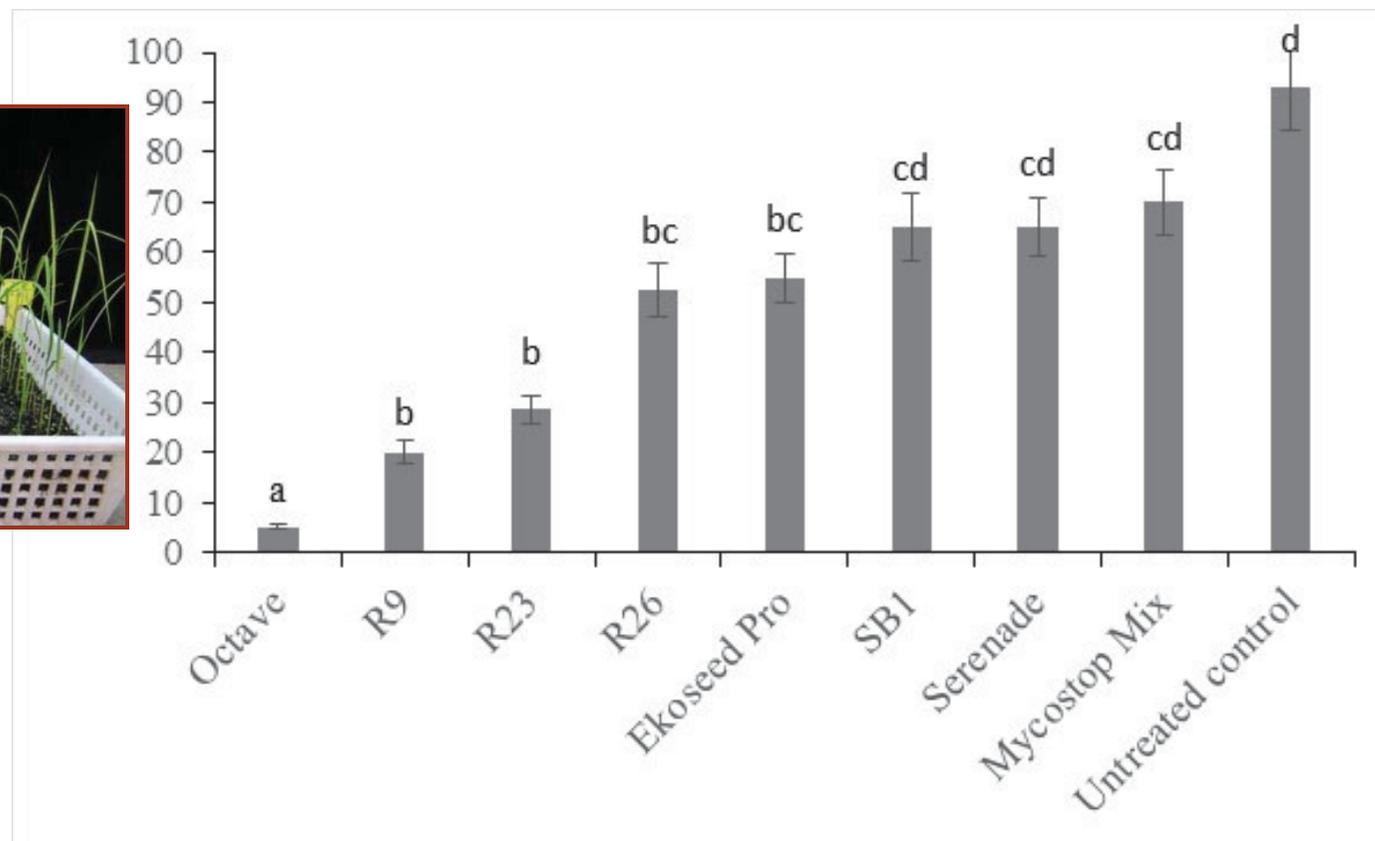
R26
Metschnikowia pulcherrima



R23
Metschnikowia pulcherrima



SB1
Sporidiobolus pararoseus



Prodotti commerciali

Streptomyces griseoviridis
(Mycostop mix)

Bacillus subtilis
(Serenade)

Glomus caledonium GM 24
Glomus coronatum GU 53
Glomus intraradices GB 67
Bacillus subtilis BA 41
Streptomyces spp. SB 15
Trichoderma harzianum TH 02
Pseudomonas prradix 10
(Ekoseed Pro)

Efficacia dei lieviti R23, R26, R9 e SB1 e di prodotti commerciali sull'incidenza di bakanae su piante di riso cresciute in serra.

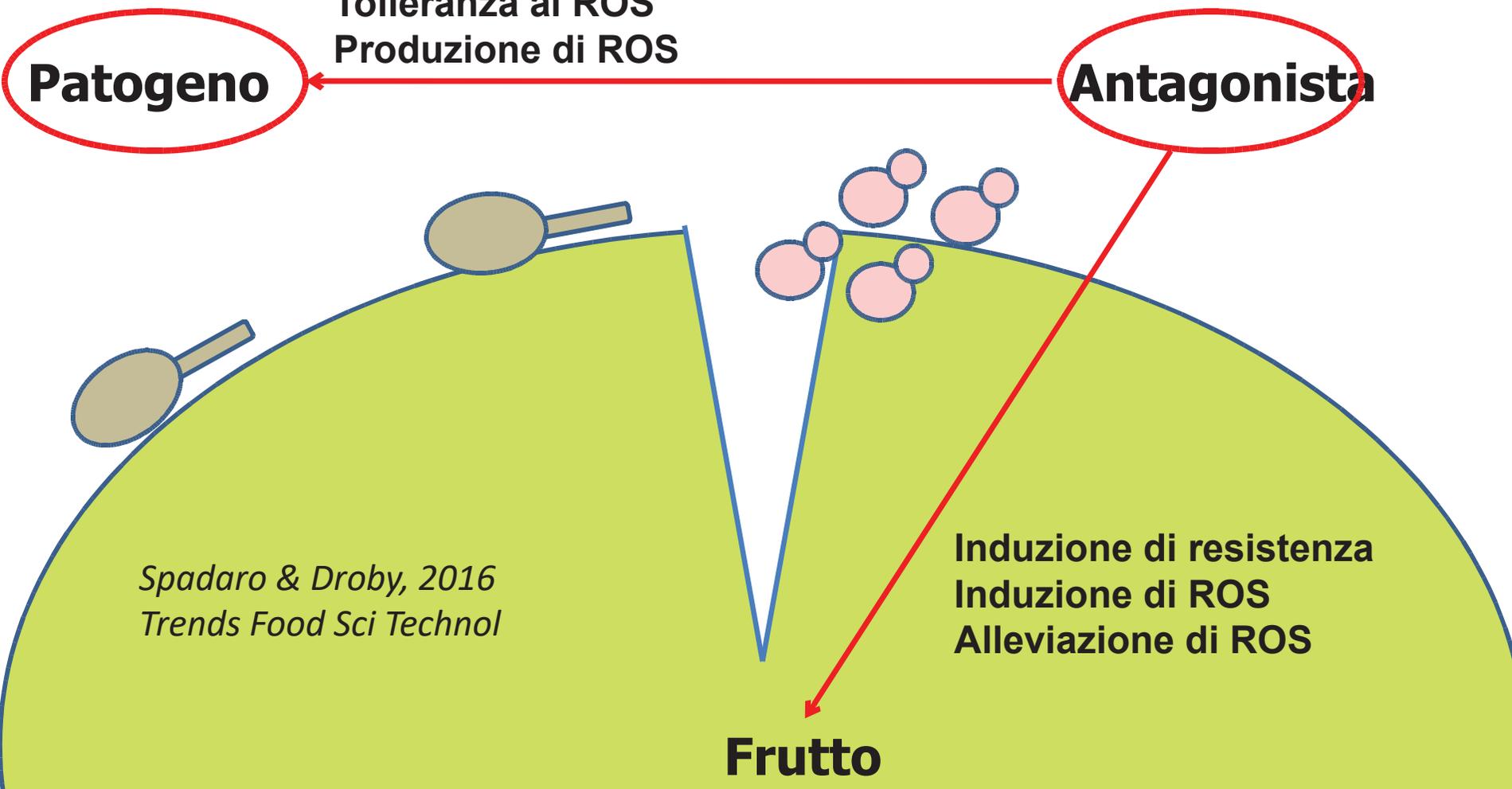
Matic et al. 2014, Biol Control

Sviluppo di antagonisti



Meccanismo degli antagonisti

- Competizione per i nutrienti (zuccheri, ferro)
- Competizione per lo spazio (colonizzazione)
- Formazione di biofilm
- Antimicrobici volatili e diffusibili
- Micoparassitismo, tra cui produzione di idrolasi
- Tolleranza ai ROS
- Produzione di ROS



Sovrapposizione tra nicchie ecologiche per la medesima risorsa.

spazio

Aureobasidium pullulans

Capsula polisaccaridica extracellulare per l'**adesione e la formazione di biofilm**

and/or

unnutrienti

Aureobasidium pullulans
Metschnikowia pulcherrima
Sporobolomyces roseus

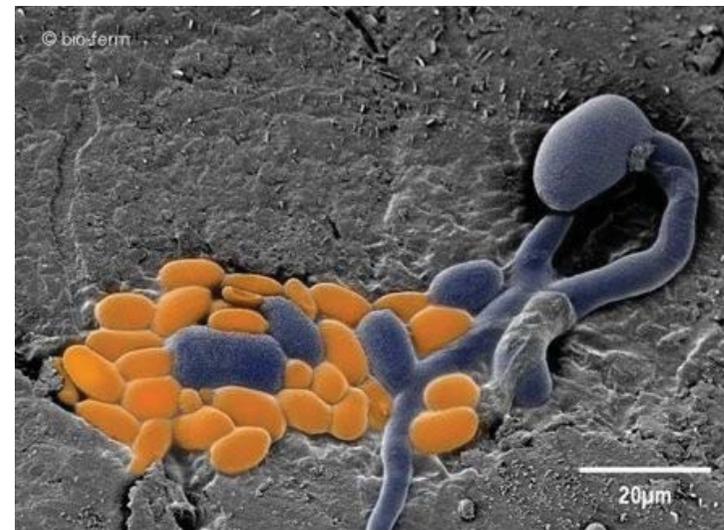
Fonti carboniose

Fonti azotate

Ossigeno

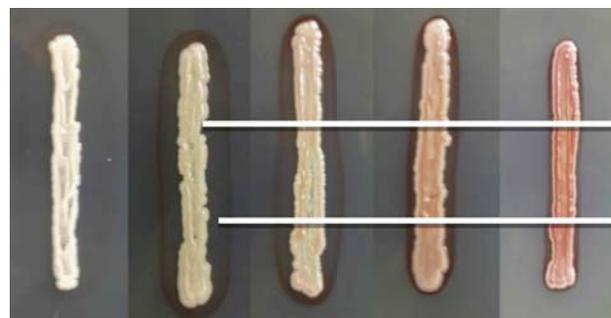
Ferro

Rapida moltiplicazione e colonizzazione



SEM di *Aureobasidium pullulans* (arancione) che colonizza una ferita. Il patogeno (blu) non può penetrare la ferita. © bio-ferm

Siderofori



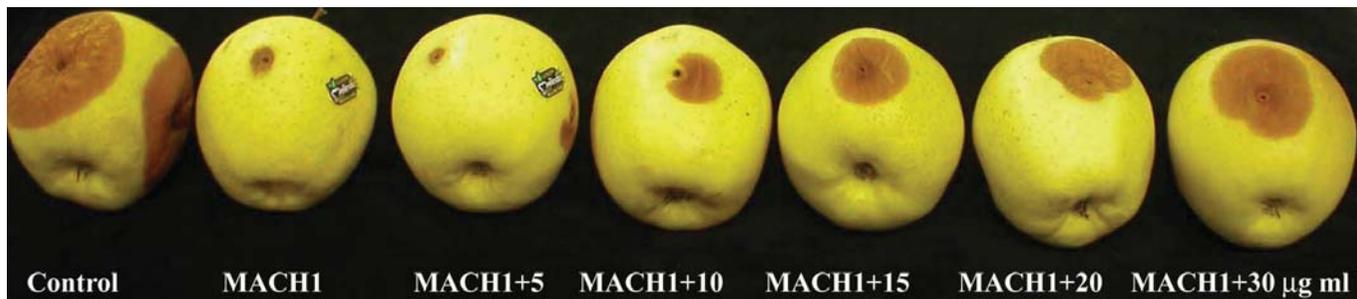
M. pulcherrima MACH1

Pulcherrimina (pigmento rosso)

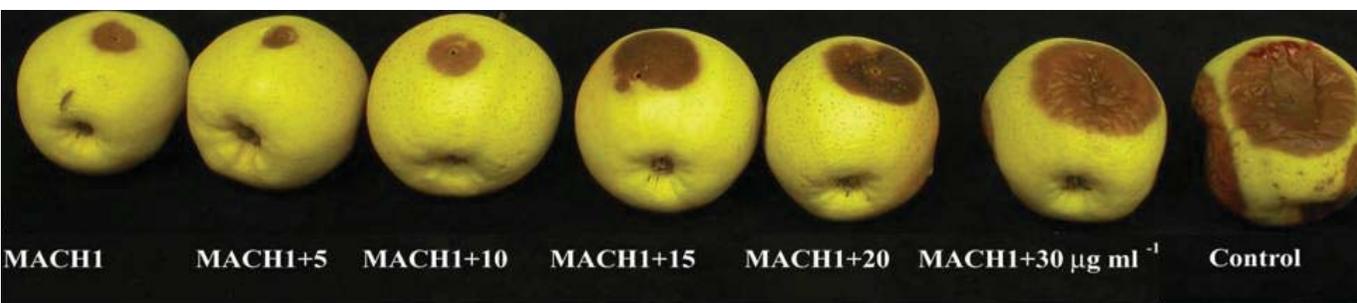
Pulcherrimina

-FeCl₃ 5 10 15 20 µg/ml

Saravanakumar et al., 2008
Postharvest Biol Technol



Botrytis cinerea



Alternaria alternata

Ferita: ambiente povero in ferro

Carenza di ferro: minore attività della catalase, **minore protezione da ROS**

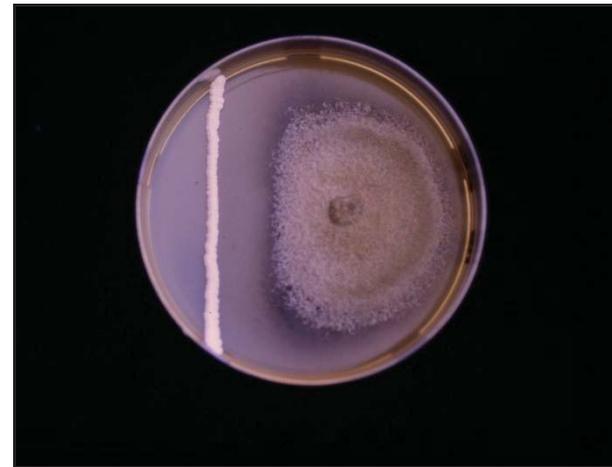
Secrezione di composti antifungini (**diffusibili o volatili**)

Esempi: *Bacillus subtilis* (iturin)

Pseudomonas cepacia (pyrrolnitrin)



Inhibition of *Penicillium* rot on orange



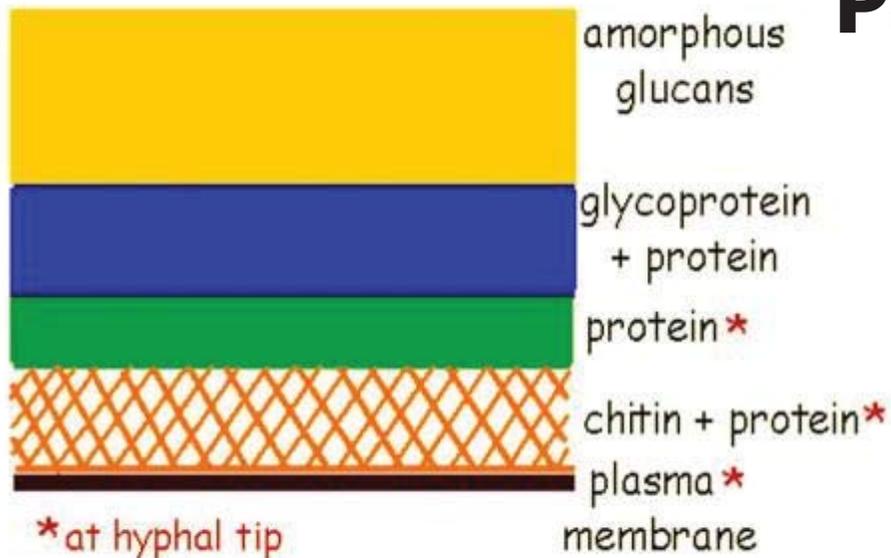
Inhibition of mycelial growth of *Alternaria* sp. *in vitro*

↑ possibile effetto curativo

↓ Selezione di patogeni umani resistenti (non ammessi su frutti)

Interazione diretta con il patogeno

Parete cellular fungina



FIBRILLE POLIMERICHE: **chitina**

COMPONENTI AMORFI DI MATRICE

- glucani**
- proteine**
- lipidi**

Glucanasi idrolizzano i glucani:

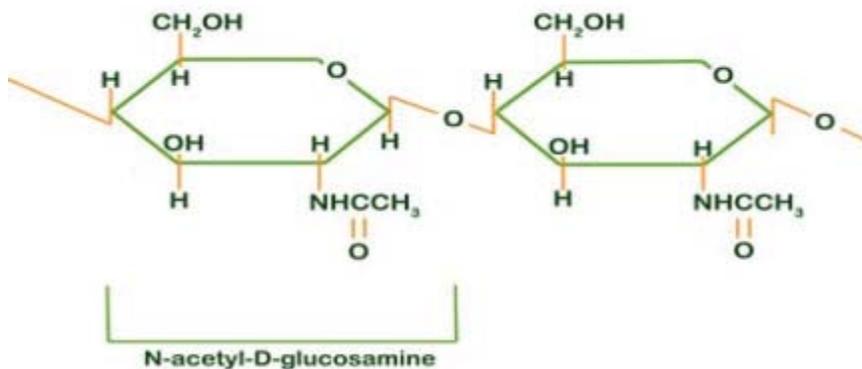
- (1) **eso- β -1,3-glucanasi**
- (2) **endo- β -1,3-glucanasi**

Chitinasi idrolizzano la chitina

- (3) **eso-chitinasi**
- (4) **endo-chitinasi**

Proteasi idrolizzano la proteina:

- (5) **Proteasi acide**
- (6) **Proteasi alcaline**



Lievito	Attività enzimatica	Geni	Patogeni	Frutto	Riferimenti bibliografici
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Serina proteasi alcalina	<i>ALP5</i>	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Monilinia fructicola</i> , <i>Alternaria alternata</i>	mela	<i>Zhang et al. 2012</i> , <i>Banani et al. 2014</i>
<i>Candida oleophila</i>	eso- β -1,3-glucanasi	<i>CoEXG1</i>	<i>Penicillium digitatum</i>	kumquat	<i>Segal et al. 2003</i> ; <i>Yehuda et al. 2003</i> ; <i>Bar-Shimon et al. 2004</i>
<i>Metschnikowia fructicola</i>	endochitinasi	<i>MfCHI</i>	<i>Monilinia laxa</i> , <i>Monilinia fructicola</i>	pesca	<i>Banani et al. 2015</i>
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	chitinasi	partial, <i>MpCHI</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	mela	<i>Saravanakumar et al. 2009</i>
<i>Pichia anomala</i>	exo- β -1,3-glucanasi	<i>PaEXG1</i> , <i>PaExg2</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	mela	<i>Jijakli and Lepoivre 1998</i> ; <i>Grevesse et al. 2003</i> ; <i>Friel et al. 2007</i>
<i>Pichia guilliermondii</i>	exo- β -1,3-glucanasi	<i>PgEXG1</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	mela	<i>Zhang et al. 2011</i>

Interazione con il tessuto ospite

- aumento dei processi di cicatrizzazione
- proteine antiossidanti (SOD, CAT, POX, APX, GPX, PPO)
- heat shock proteins (HSP)
- PAL: biosintesi dei polifenoli
- fitoalessine (scoparone nel pompelmo)
- PRP: CHIT e GLUC

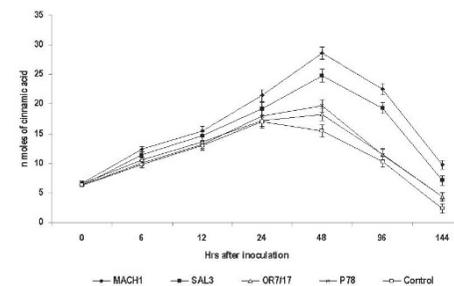
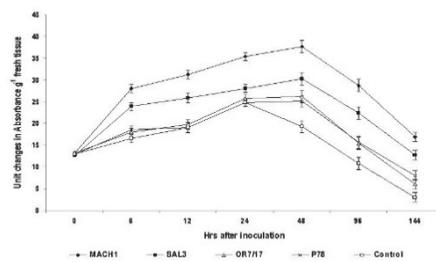
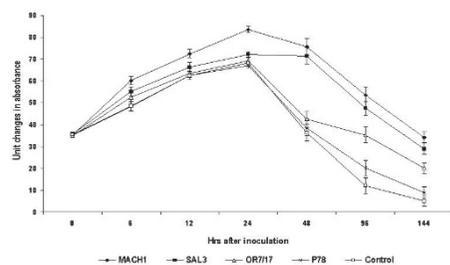
Ferite su mele cv Golden Delicious

Metschnikowia pulcherrima – Dopo 3h – *B. cinerea*

PEROSSIDASI (PO)

POLIFENOL OSSIDASI (PPO)

FENILALANINA AMMONIO LIASI (PAL)



Solo antagonista

Produzione di ROS

Metschnikowia fructicola
Candida oleophila
 mela
Macarisin et al. 2010

Interazione antagonista - frutto

Alleviazione di ROS

P. membranifaciens
 ciliegia, pesca/ *Monilinia*
 ROS più bassi, meno protein
 carbonilate
Xu & Tian 2008, Xu et al. 2008

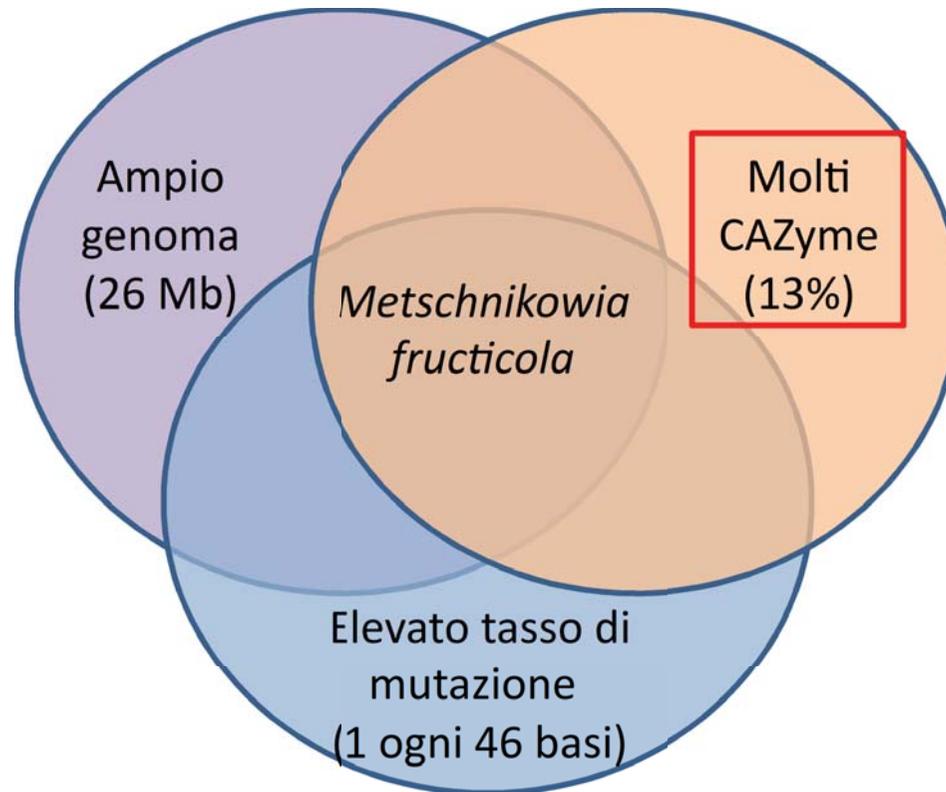
Tolleranza ai ROS

Cryptococcus laurentii
 mela
Castoria et al. 2003

Induzione di ROS

Metschnikowia fructicola
 pompelmo / *Penicillium*
 ROS maggiori
Hershkowitz et al. 2012

Metschnikowia fructicola



Piombo et al., 2018

Enzimi attivi su carboidrati:
 Numero più alto di potenziali geni CAZyme tra gli ascomiceti: 1145

Botrytis cinerea: 367

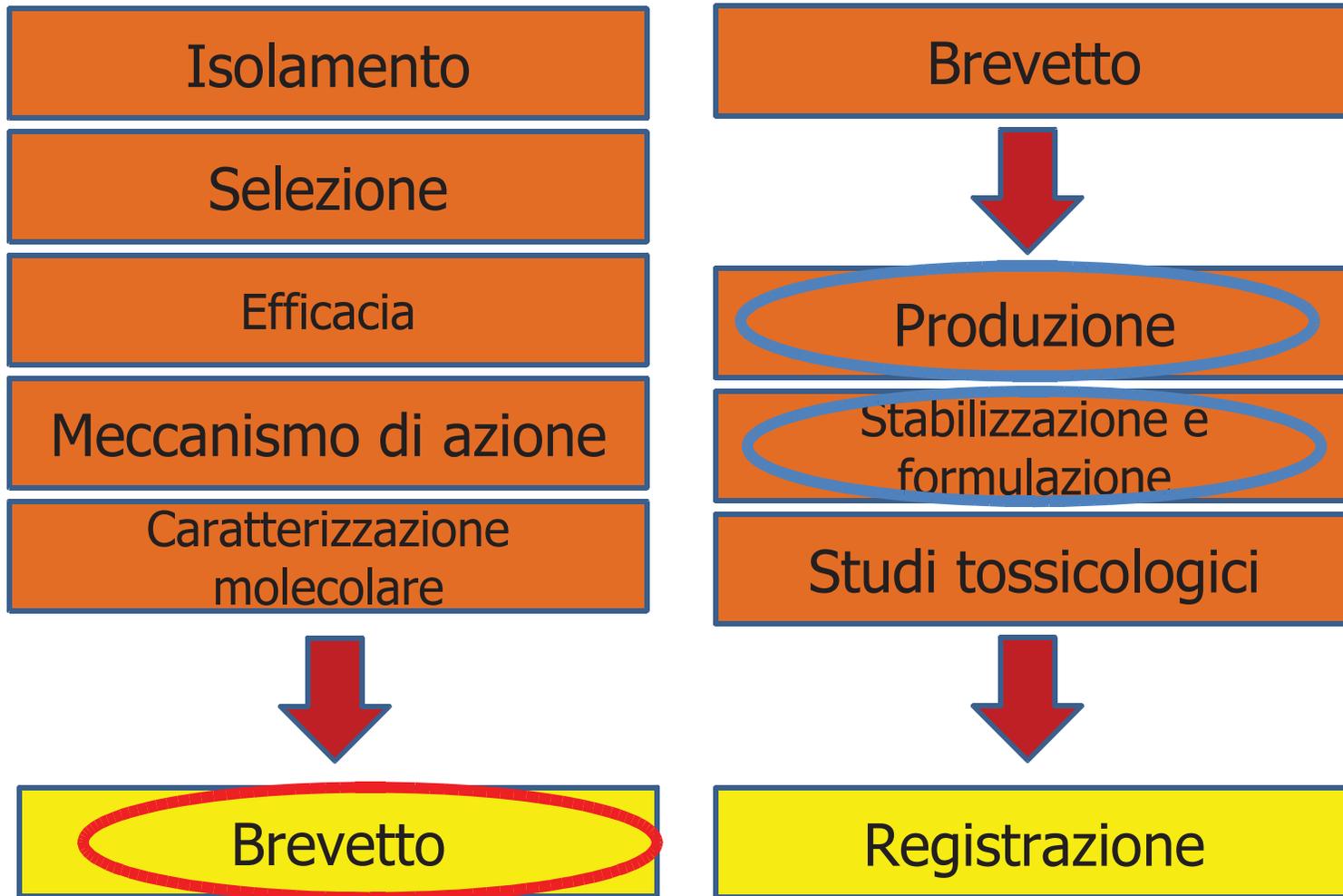
Sclerotinia sclerotiorum: 346

23 cluster di **metaboliti secondari**, due coinvolti nella biosintesi di terpeni.

- Produce il sideroforo **pulcherrimina**
- Attività chitinasica**
- Tollerante a **ROS**
- Produce elevate livelli di **ROS**
- Induce resistenza** in frutto (e ROS)



Sviluppo di antagonisti



Brevetto: titolo legale, monopolio per lo sfruttamento di un'**invenzione**

Territorio e durata ben definiti

Convenzione Europea sul Brevetto di Monaco (1973)

organismi isolati in natura

Non è possibile fornire una descrizione scritta della scoperta.

Trattato di **Budapest: riconoscimento internazionale del Deposito di Microrganismi per brevettazione**

(1977)



BIO126

SPADARO D., GULLINO M.L. (2007) Mezzo di coltura per la produzione di *Metschnikowia pulcherrima* e relativo substrato. Italian patent application, TO2007A000583, deposited on August 1, 2007, by the University of Torino.

MACH1

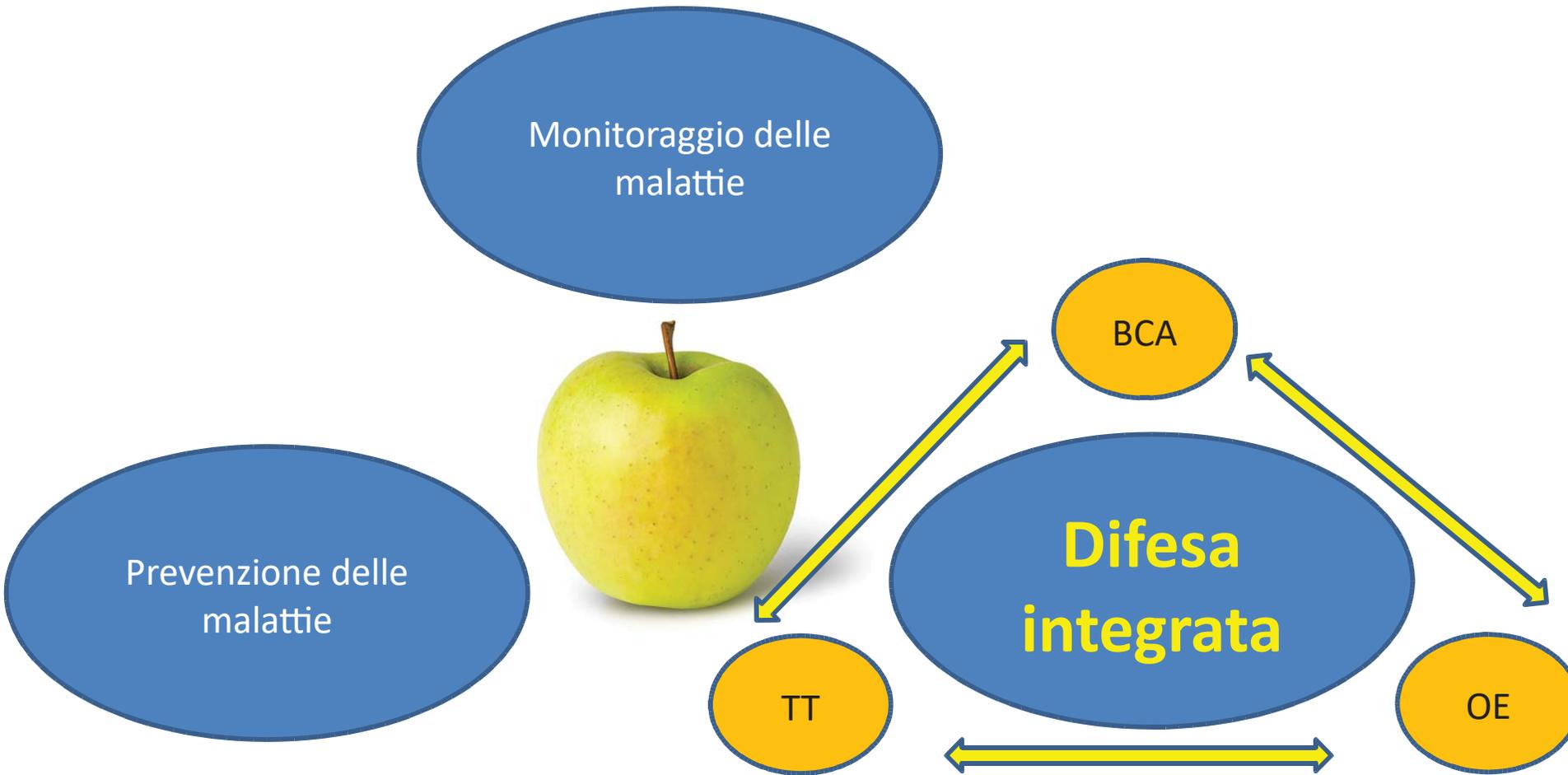
SPADARO D., GULLINO M.L. (2007) Nuovo ceppo di *Metschnikowia pulcherrima* e suoi usi. Italian patent application, TO2007A000655, deposited on September 19, 2007 by the University of Torino.

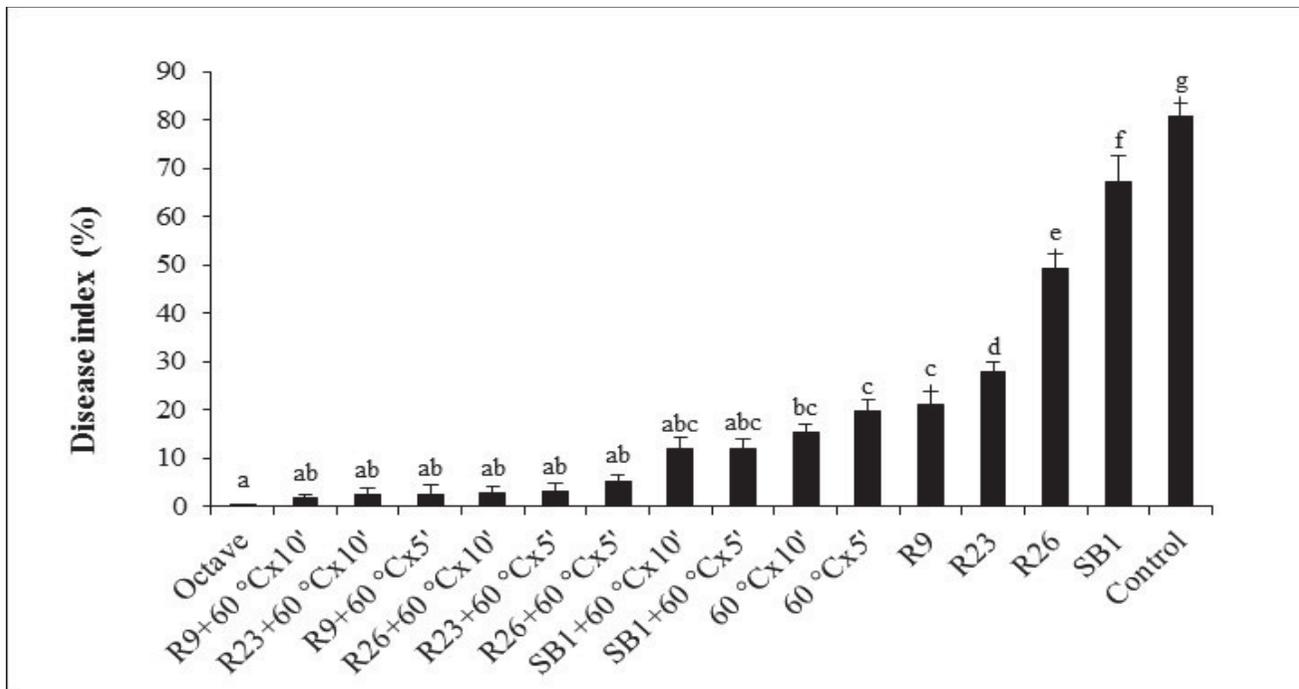
MACH1

SPADARO D., GULLINO M.L. (2009) Novel strain of *Metschnikowia pulcherrima* and uses thereof. International patent application WO2009/040862 published under the PCT on April 2, 2009. University of Torino.

AL27

SPADARO D., GULLINO M.L. (2011) Nuovo ceppo di *Metschnikowia* sp. e suoi usi. Italian patent application





Piante di riso alleviate in serra.



Combinazione: effetti additive o sinergici.

Sperimentazioni in campo

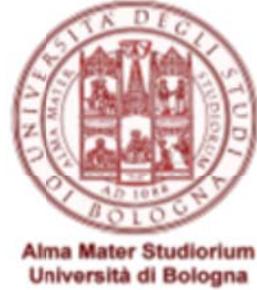
10 trattamenti x 3 lotti

Ogni lotto: 10 m²

Matic et al., 2014, Biol Control



Ringraziamenti



Maria Lodovica Gullino
Angelo Garibaldi
Slavica Matic
Karin Santoro
Saravanakumar Duraisamy
Houda Banani
Edoardo Piombo
Dianpeng Zhang
Giovanny Lopez
Ilenia Siciliano

Marta Mari
Marina Collina



Gianni Ceredi



Michael Wisniewski



Toni Gabaldon



Tomislav Jemric

Neil Boonham



Pamela Abbruscato



Giampiero Valè
Paolo Bagnaresi
Alessandro Infantino
Maria Aragona

Luis Gonzalez Candelas