

**UTILIZZO DI
CEPPI ATOSSIGENI
DI *ASPERGILLUS FLAVUS*
E DI CONSORZI MICROBICI
MICORRIZATI PER
LA RIDUZIONE
DEL CONTENUTO
DI MICOTOSSINE
DEL MAIS**



PSR LOMBARDIA
2014-2020
L'INNOVAZIONE
NELLE AZIENDE



**Regione
Lombardia**

Programma di Sviluppo Rurale 2014 - 2020

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Iniziativa realizzata con il cofinanziamento del FEASR nell'ambito dell'Operazione 16.02.01



Si ringraziano:

per lo svolgimento dell'attività di ricerca

Stefania Mascheroni e Mirko Carrara

(CREA - Centro Cerealicoltura e Colture Industriali - sede di Bergamo)

per il coordinamento CREA

Carlotta Balconi

(CREA - Centro Cerealicoltura e Colture Industriali - sede di Bergamo)

per la consulenza del progetto

Libera Associazione Agricoltori Cremonesi



Utilizzo di ceppi atossigeni di *Aspergillus flavus* e di consorzi microbici micorrizzati per la riduzione del contenuto di micotossine del mais



PSR
2014 2020
LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTERE RADICI



Regione
Lombardia

Programma di Sviluppo Rurale 2014 - 2020

**Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale:
l'Europa investe nelle zone rurali**

Pubblicazione realizzata con il cofinanziamento del FEASR

Responsabile dell'informazione: Amedeo Alfredo Ardigò

Operazione 16.02.01

Autorità di Gestione del Programma: Regione Lombardia

INDICE:

<i>pag. 5</i>	<i>1. INTRODUZIONE</i>
<i>pag. 6</i>	<i>2. LE PROVE AGRONOMICHE</i>
<i>pag. 7</i>	<i>2.1 Descrizione ed effetti dei fattori in esame</i>
<i>pag. 8</i>	<i>2.2 Risultati</i>
<i>pag. 9</i>	<i>3. CONTROLLO DELLE MICOTOSSINE: VALUTAZIONE DEL CONTENUTO DELLE PROVE AGRONOMICHE</i>
<i>pag. 10</i>	<i>3.1 Materiali e metodi</i>
<i>pag. 10</i>	<i>3.2 Risultati</i>
<i>pag. 12</i>	<i>4. LA PROVA DI ALIMENTAZIONE SULLE BOVINE DA LATTE</i>
<i>pag. 13</i>	<i>4.1 Metodologia</i>
<i>pag. 14</i>	<i>4.2 Risultati</i>
<i>pag. 17</i>	<i>5. IMPRONTA D'ACQUA NEL MAIS PRODOTTO NEL PROGETTO LOMICO</i>
<i>pag. 18</i>	<i>5.1 Produttività dell'acqua</i>
<i>pag. 20</i>	<i>5.2 Risultati</i>
<i>pag. 21</i>	<i>6. Conclusioni</i>
<i>pag. 22</i>	<i>7. Bibliografia</i>

1. INTRODUZIONE

Amedeo Ardigò – Agricoltore e Capo fila progetto

Il mais è la principale e più diffusa coltura della pianura padana dove viene coltivato come base per l'alimentazione del bestiame, sia sotto forma di granella, pastone o insilato. L'azienda agricola tradizionale ne prevede la coltivazione insieme all'allevamento del bestiame. Ma, ormai da alcuni decenni, si è sviluppata una florida coltivazione del mais in aziende specializzate. Cioè che producono solo mais, magari in alternanza ad altri cereali o leguminose. Possiamo identificare meglio questo periodo facendolo combaciare con la crisi degli anni 2007/08, ma da circa dieci anni, questa specializzazione produttiva è entrata in crisi. Le aziende agricole con orientamento produttivo monoculturale hanno avuto grandi problemi di carattere economico: i costi di produzione sono arrivati a livello dei prezzi di mercato: il bilancio aziendale di fatto è rappresentato dalla sola integrazione del reddito prevista dalla Politica Agricola Comunitaria. Inoltre, il mais è soggetto all'attacco di patogeni fungini che possono provocare l'accumulo di micotossine, sostanze dannose per la salute umana e animale.

La sanità e la qualità del mais sono aspetti della massima importanza per gli agricoltori soprattutto perché, nel corso degli ultimi anni, la problematica legata alle micotossine in mais, in particolare le aflatossine, si presenta con notevole frequenza. L'insieme di questi fattori ha provocato una forte contrazione della produzione nazionale di mais di cui, fino a dieci anni fa, eravamo autosufficienti. Di qui la necessità di cercare un rilancio della nostra maiscoltura, rilancio che non può prescindere da un incremento degli aspetti sanitari del mais nazionale e da un miglioramento degli aspetti commerciali.

Nell'ambito del progetto, finanziato da Regione Lombardia e proposto dalla Libera di Cremona con la collaborazione scientifica del CREA, si è voluto testare l'utilizzo di prodotti innovativi nella coltivazione del mais, ceppi di funghi atossigeni e consorzi microbici micorrizzati, nell'ottica di stilare un protocollo di coltivazione adattato alle caratteristiche delle aziende maidicole lombarde e volto alla produzione di mais con superiore qualità sanitaria

Il mais micorrizzato è stato anche utilizzato nell'alimentazione di bovine da latte per verificare se effettivamente, come da bibliografia, venga ingerito in maggiori quantità dagli animali in produzione rispetto al mais non micorrizzato con un conseguente aumento produttivo.

Le prove di campo, volte a valutare l'efficacia dei fattori oggetto di studio, sono state condotte in due aziende maidicole del cremonese, coordinate dal CREA Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali sede di Bergamo, dove sono stati effettuati anche i test per la presenza delle micotossine. Quelle di alimentazione e produzione delle bovine da latte presso l'azienda del CREA Centro di ricerca Zootecnia e Acquacoltura sede di Monterotondo (RM). Presso il centro di Lodi sono state effettuate le valutazioni sull'impronta d'acqua del mais prodotto.

La proposta di ricerca su questo tema avanzata dalla Libera, come si può desumere dalle relazioni seguenti, sembra avere colpito nel segno e avere dato un valido contributo ad una ripresa della maiscoltura e agli agricoltori che lo coltivano.

2. LE PROVE AGRONOMICHE

Gianfranco Mazzinelli - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA), Centro Cerealicoltura e Colture Industriali - sede di Bergamo

Il progetto prevedeva l'utilizzo di consorzi microbici micorrizzati e di ceppi atossigeni di *Aspergillus flavus* nella coltivazione del mais, nell'ottica di ridurre la contaminazione da aflatossine. I prodotti utilizzati sono stati il Micosat della ditta CCS di Aosta per la micorrizzazione, e AF-X1 della ditta Pioneer per il biocontrollo. Il Micosat è stato distribuito alla semina con microgranulatore, l'AF-X1 allo stadio di inizio levata con spandiconcime pneumatico lungo le file e lasciato in superficie. La sperimentazione agronomica in campo è stata condotta per due anni (stagioni 2017 e 2018) in due aziende del Cremonese, a Paderno Ponchielli (azienda Mainardi) e a Soresina (azienda Ardigò). Lo schema sperimentale adottato è stato un disegno fattoriale a Split-Split-Plot a parcelloni, con 3 fattori ciascuno su 2 livelli replicato due volte. I fattori allo studio erano i seguenti:

- 1) Main-Plot: P_2O_5
- 2) Sub-Plot: AF-X1
- 3) Sub-Sub-Plot: Micosat

Il fattore fosforo (P_2O_5) è stato inserito poiché da sperimentazioni precedenti e da quanto reperibile in letteratura, si è appurato che i Funghi Micorrizici Arbuscolari (FMA), componenti principali dei consorzi microbici, espletano al meglio la loro attività in assenza di concimazione fosfatica.

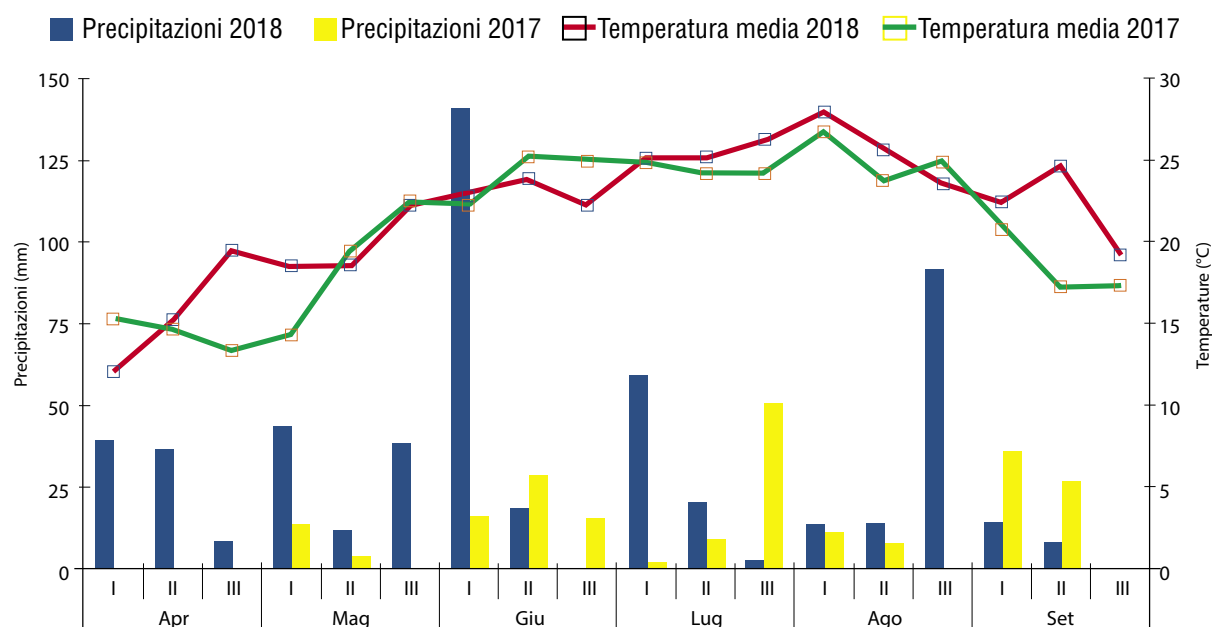
Il disegno così impostato ha permesso di valutare statisticamente sia l'effetto dei 3 Fattori singoli, che le loro interazioni. Per entrambe le annate si è utilizzato l'ibrido Pioneer P1547 di classe Fao 600.

Di seguito è riportato lo schema del disegno utilizzato in campo:

9	10	11	12	13	14	15	16	
no P_2O_5				P_2O_5				
no AF-X1		AF-X1		AF-X1		no AF-X1		
NO MICO	MICO	MICO	NO MICO	NO MICO	MICO	MICO	NO MICO	REPLICA 2
NO MICO	MICO	MICO	NO MICO	NO MICO	MICO	MICO	NO MICO	REPLICA 1
no AF-X1		AF-X1		AF-X1		no AF-X1		
no P_2O_5				P_2O_5				
9	10	11	12	13	14	15	16	

Ciascun parcellone era costituito da otto file, per una superficie di circa 250 m². Si è cercato di indurre un certo livello di stress idrico effettuando un'irrigazione in meno dopo la fioritura, allo scopo di massimizzare le differenze tra le tesi, sia in termini produttivi che di contaminazione da aflatossine. Fatta eccezione per i fattori in esame e per l'irrigazione, per il resto la conduzione agronomica è stata quella normalmente adottata dalle aziende maidicole del Cremonese, in termini di concimazione azotata, trattamenti erbicidi e insetticidi contro la piralide. Per la determinazione del contenuto di micotossine, prima della raccolta, sono state prelevate 10-12 spighe per tesi; le spighe sono poi state essiccate e sgranate, ottenendo un campione di granella rappresentativo che successivamente è stato macinato e sottoposto ad analisi tramite tecnica ELISA.

Le due stagioni in cui è stata condotta la sperimentazione sono state alquanto diversificate dal punto di vista dell'andamento meteorologico: Il 2017 è stato caldo e asciutto, sia in primavera che nei mesi estivi, con semina effettuata in epoca precoce; il 2018 ancora caldo ma con abbondanti e frequenti precipitazioni, sia in primavera che in estate, con semina ritardata all'ultima decade di maggio. Di seguito il grafico relativo all'andamento delle temperature e delle precipitazioni, da aprile a settembre, per le due annate. I dati sono della stazione meteo ARPA di Casalbuttano, vicina ad entrambe le località di sperimentazione.



2.1 Descrizione ed effetti dei fattori in esame

1. Fosforo

Il fosforo interviene attivamente sul metabolismo della pianta fin dai primi stadi di sviluppo, favorendo lo sviluppo e il rapido affrancamento delle giovani plantule (effetto starter) particolarmente importante nelle semine anticipate, consentendo di raggiungere lo stadio delle 3-4 foglie in un numero di giorni ridotto. Nella sperimentazione non si sono comunque riscontrati effetti significativi sulla produzione per questo fattore in entrambi i campi nel 2017. Nel 2018 c'è stato un lieve incremento di produzione in Ardigò.

L'apparente calo produttivo nelle tesi con fosforo è casuale e in parte dovuto a fattori di disturbo, quali infestazione di sorghetta non adeguatamente controllata dal trattamento erbicida (Mainardi) e disformità di sviluppo e fallanze per attacchi di nottua (Ardigò).

2. AF-X1

AF-X1 è un agente di biocontrollo costituito da un particolare ceppo atossigeno di *Aspergillus flavus*, selezionato negli ambienti padani e molto competitivo nei confronti dei normali ceppi del fungo produttori di aflatossina che vengono pertanto sopraffatti o almeno fortemente limitati nella loro azione patogena. Gli incrementi produttivi riscontrati nelle tesi trattate possono essere ritenuti casuali e comunque non significativi, poiché AF-X1 non ha effetti diretti sulla capacità produttiva.

3. Micorrize

L'utilizzo di consorzi microbici micorrizzati (micorrize) porta all'instaurarsi di un rapporto simbiotico tra i microrganismi e l'apparato radicale della pianta, con benefici effetti per entrambi. In particolare, la pianta tende a sviluppare un apparato radicale più voluminoso e fisiologicamente più attivo, migliorando così l'efficienza nell'assorbimento di nutrienti ed acqua e tollerando meglio situazioni di stress idrico e attacchi di insetti e patogeni radicali. Nella sperimentazione di campo non si sono tuttavia registrati in genere effetti significativi della micorrizzazione sulla capacità produttiva. Solo in Ardigò 2018 si è registrato un lieve incremento produttivo nelle tesi micorrizzate.

Interazione Fosforo x Micorrize

L'ipotesi preliminare circa la maggiore efficacia della micorrizzazione in assenza di fosforo, ha trovato riscontro solo in Ardigò 2017 e in Mainardi 2018. Le differenze non sono comunque statisticamente significative.

2.2 Risultati

Il biocontrollo con ceppi fungini atossigeni e l'uso di consorzi microbici micorrizzati, elemento base della cosiddetta agricoltura simbiotica, costituiscono due elementi importanti nell'attuale contesto agricolo, caratterizzato dall'esigenza di ottenere prodotti di qualità, con elevati standard di sicurezza alimentare e nel rispetto della sostenibilità ambientale ed economica.

La sperimentazione relativa al progetto LOMICO è stata condotta su due aziende rappresentative dell'area maidicola cremonese, che negli anni precedenti hanno sempre adottato un'agrotecnica all'avanguardia in termini di impiego dei fattori della produzione, compresa la concimazione fosfatica. Questo ha probabilmente impedito di riscontrare effetti produttivi significativi per il fosforo, essendo questo elemento ben rappresentato nella sua forma assimilabile nei terreni oggetto delle prove.

I consorzi microbici micorrizzati hanno senza dubbio tutta una serie di effetti positivi sulla morfologia e fisiologia dell'apparato radicale della pianta, determinando un migliore assorbimento di acqua e nutrienti dal terreno con benefici effetti sulla tolleranza a stress biotici e abiotici. Poiché tuttavia in tale contesto entrano in gioco tutta una serie di fattori concomitanti, quali fenomeni di sinergismo e/o antagonismo tra le diverse classi di microrganismi costituenti il biota del terreno, l'andamento stagionale, le caratteristiche chimico-fisiche dei terreni, la sperimentazione non è stata in grado di mettere in risalto differenze produttive di rilievo.



3. CONTROLLO DELLE MICOTOSSINE: VALUTAZIONE DEL CONTENUTO NELLE PROVE AGRONOMICHE DEL PROGETTO LOMICO

Sabrina Locatelli - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA), Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Bergamo. sabrina.locatelli@crea.gov.it

Il mais è una coltura chiave per il sistema agroalimentare italiano; è elemento portante per l'alimentazione del patrimonio zootecnico, essenziale per quasi tutte le produzioni DOP, simboli del made in Italy alimentare nel mondo. Nonostante ciò, si sta assistendo, da una decina di anni, ad un forte calo produttivo, sia in termini di rese che di superfici coltivate. Tra le cause che hanno provocato questa contrattura, oltre alle quotazioni poco remunerative, gioca un ruolo determinante la contaminazione da micotossine, determinata dall'attacco di patogeni fungini. Le micotossine maggiormente diffuse nell'areale di coltivazione del mais italiano sono:

- **afatossina B1 (AFB1)** è una micotossina prodotta da patogeni appartenenti al genere *Aspergillus*, lo sviluppo dei quali è favorito da temperature comprese tra i 34 e i 38°C e dalla siccità. Le fasi fisiologiche nelle quali la coltura del mais risulta più sensibile all'attacco fungino sono quelle della fioritura e del successivo riempimento delle cariossidi, in particolare, quando le setole sono in via di senescenza (color giallo-bruno) e quando, in un secondo momento, l'umidità della granella scende sotto il valore del 28%.
- **fumonisine (FBs)** sono le micotossine più diffuse; sono prodotte dal fungo *Fusarium verticillioides* che, come *Aspergillus flavus* è ubiquitario, ma a differenza di questo non tollera siccità e temperature particolarmente elevate e predilige un clima più mite (temperatura ottimale fra i 22 e i 27°C) e umido, soprattutto in post fioritura.
- **deossivalenolo (DON)** e **zearalenone (ZEA)** sono micotossine prodotte da *Fusarium graminearum* (forma di riproduzione sessuata *Gibberella zeae*); questo patogeno predilige un clima piovoso e temperature basse, temperatura ideale per la sua crescita si colloca fra i 24 e i 26 °C.

La preoccupazione riguardo alla contaminazione delle micotossine è dovuta al fatto che queste sono tossiche oltre che per gli animali, anche per l'uomo. I rischi potenziali per la salute umana derivati dal consumo di alimenti contaminati dalla presenza di micotossine, hanno indotto le istituzioni nazionali ed internazionali a stabilire i valori limite del loro contenuto in granella di mais e prodotti da essa derivati (tabella 1).

Micotossine	Alimenti	Materie prime per mangimi U 12%	Mangimi complementari e completi		
			generico	bovini da latte	suini
Aflatossina B ₁	2	20	10	5	20
Fumonisine	4000	60000*		50000*	5000*
DON	1750	8000*	5000*		900*
ZEA	350	2000*		500*	250*

Tab. 1 – Limiti massimi delle principali micotossine nel mais (µg/kg). Per aflatossina B1: Regolamento UE n. 165/2010 e Regolamento UE n.574/2011; per fumonisine, DON e ZEA: Regolamento UE n. 1126/2007 e *Raccomandazione(CE) N. 576-2006.

Il progetto Lomico si è posto l'obiettivo di indagare la possibilità di disporre di tecniche in grado di risolvere, o quantomeno attenuare, tale problema. Questo rappresenterebbe un notevole aiuto sia per i produttori di mais sia per gli allevatori; i primi infatti potrebbero veder non svalutato, a causa della contaminazione, il loro prodotto; mentre i secondi potrebbero approvvigionarsi di mangimi più facilmente e a prezzi più contenuti, incontrando minori difficoltà nell'offrire un prodotto con le massime garanzie di salubrità e igiene al consumatore finale. Dal punto di vista ambientale, inoltre, oltre a migliorare l'efficienza generale del sistema produttivo cereale-latte, il progetto propone una soluzione per ridurre gli effetti negativi della carenza d'acqua di irrigazione, riducendo la pressione sul consumo di questa risorsa (Mazzinelli et al, 2018).

In tale ottica, i campioni di granella di mais provenienti dalle prove agronomiche condotte nei due anni di sperimentazione del progetto (vedi capitolo 2), sono stati analizzati per il loro contenuto nelle principali micotossine.

3.1 Materiale e Metodi

Prima della raccolta, sono state prelevate 10-12 spighe per tesi; le spighe sono state essiccate e sgranate, ottenendo un campione di granella rappresentativo.

I campioni di granella sono stati macinati con mulino Retsch - ZM 200 con vaglio da 0,5 mm. I livelli di concentrazione di micotossine (AFB1, FBs, DON e ZEA) sono stati determinati con metodo immunoenzimatico ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). I test kit Ridascreen® R-Biopharm sono stati eseguiti utilizzando il preparatore automatico Chemwell (Awareness Technology, inc.).

3.2 Risultati

Lo sviluppo di patogeni fungini e il contenuto in micotossine nella granella di mais sono fortemente condizionati dalle condizioni climatiche della stagione maidicola.

La campagna maidicola del 2017 è stata una campagna difficile, caratterizzata oltre che da un'estate calda e siccitosa, anche da gelate primaverili tardive (Mazzinelli et al., 2018). La prolungata siccità, unita alle temperature elevate, ha messo in forte difficoltà la coltura del mais: le piante, soprattutto nelle aree non irrigue, hanno mostrato evidenti sintomi di stress. Le analisi effettuate dalla Rete Qualità Mais del Crea per l'anno 2017 (Locatelli et al, 2018) hanno evidenziato che:



l'11% dei campioni di mais ha mostrato un contenuto in AFB1 superiore ai 20 µg/kg, il 37% dei campioni un contenuto in FBs superiore ai 4000 µg/Kg, nessuno dei campioni ha valori di DON e ZEA superiori, rispettivamente, a 8000 µg/Kg e 2000 µg/Kg.

La stagione 2018, pur rivelandosi la più calda degli ultimi venti anni, ha consentito comunque risultati produttivi più che buoni, grazie alle frequenti precipitazioni che hanno mitigato lo stress alle colture. Le raccolte sono iniziate molto presto, favorite da tempo caldo e asciutto: la granella delle prime semine si è iniziata a trebbiare a metà agosto (Mazzinelli et al., 2019). Le analisi relative all'andamento generale dell'anno 2018, relativamente al contenuto in micotossine, hanno evidenziato che solo il 3% dei campioni di mais ha mostrato un contenuto in AFB1 superiore ai 20 µg/kg (Locatelli et al., 2019), Il 41% dei campioni di mais provenienti dai centri di essiccazione e stoccaggio della campagna maidicola 2018 ha mostrato un contenuto in FBs superiore ai 4000 µg/Kg, mentre tutti i campioni di granella hanno valori di DON e ZEA inferiori, rispettivamente, a 8000 µg/Kg e 2000 µg/Kg.

Le indagini condotte sui campioni delle prove agronomiche del progetto Lomico, non hanno evidenziato differenze statisticamente significative per il contenuto in micotossine per i diversi trattamenti agronomici applicati.

In particolare, riguardo le aflatossine, tutti i campioni analizzati, nei due anni di sperimentazione e nelle due aziende, hanno avuto valori inferiori a 1 µg/kg, quindi per nulla contaminati da tale tossina.



Arbuscoli, ife e vacuoli presenti nelle radici di mais sottoposto a trattamento con MICOSAT® (Tripaldi et al., 2017)



4. LA PROVA DI ALIMENTAZIONE SULLE BOVINE DA LATTE

Carmela Tripaldi - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA), Centro di ricerca zootecnia e acquacoltura, Monterotondo (RM). carmela.tripaldi@crea.gov.it

Gli effetti dell'utilizzazione del mais micorrizzato nell'alimentazione animale sono poco noti. I primi risultati sono stati ottenuti nell'ambito del progetto "Sviluppo di modelli zootecnici ai fini della sostenibilità" (SOSZOOT), finanziato dal MiPAAF, con l'attività di ricerca "Consorti Microbici Micorrizzati per i sistemi foraggeri: applicazioni nell'alimentazione di ruminanti e di monogastrici". Durante le prove eseguite presso l'azienda sperimentale del CREA PCM, il mais micorrizzato è stato somministrato a bovine da latte a metà lattazione e sono stati ottenuti i seguenti risultati. Il gruppo di animali alimentati con mais micorrizzato ha ingerito una quantità significativamente ($P < 0.05$) più elevata di sostanza secca (+6%); l'accrescimento medio giornaliero è risultato significativamente ($P < 0.05$) maggiore (+212 g/d) per gli animali del gruppo "micorrizzato"; il latte prodotto con mais micorrizzato aveva un contenuto significativamente ($P < 0.05$) più elevato di proteina (+0,13%). Il numero di microrganismi presenti nel liquido ruminale delle bovine è risultato significativamente più elevato quando è stato somministrato mais micorrizzato e questo risultato ha riguardato in particolare i batteri totali (6.91 vs 6.19 log₁₀ pg g⁻¹ DM, $P < 0.01$) e i protozoi (7.4 x 10⁶ vs 6.4 x 10⁶/ml, $P < 0.05$). Inoltre, dai risultati della prova di degradabilità ruminale, è emerso che la solubilità del mais micorrizzato era più elevata rispetto a quella del non micorrizzato e, in totale, il primo aveva una maggiore degradabilità effettiva rispetto al secondo (Meo Zilio et al. 2014b; Chiariotti et al., 2015; Chiariotti et al., 2016). Tenuto conto che la precedente prova è stata effettuata su bovine a metà lattazione, è stato ipotizzato un miglioramento produttivo maggiormente apprezzabile nella prima fase della lattazione, dove è noto che il fattore limitante è la capacità di ingestione, che comporta un deficit energetico e il rischio di dismetabolie. Pertanto, l'obiettivo del presente progetto è di migliorare la produzione quanti-qualitativa di latte bovino mediante la somministrazione di razioni a base di mais micorrizzato nella prima fase della lattazione.



4.1 Metodologia

La ricerca include a) una prova di alimentazione su bovine da latte con razioni a base di mais micorrizzato e b) lo studio della degradabilità enzimatica in vitro della granella di mais micorrizzata utilizzata nella prova di alimentazione.

a) Prova di alimentazione bovine da latte

La prova è stata ubicata presso l'azienda sperimentale CREA PCM. Gli animali destinati alla prova sono stati individuati a gennaio 2017 e i parti sono stati programmati per gli inizi del 2018, in modo da avere gli animali disponibili per la prova contemporaneamente all'inizio della lattazione. Sono stati formati due gruppi, ciascuno di otto vacche di razza Frisona, omogenei per produzione, ordine di parto, stadio di lattazione e peso. Queste le caratteristiche delle bovine all'inizio della prova. Gruppo "granella di mais micorrizzato" (M): ordine di lattazione medio 2,50 - stadio lattazione medio 41.5 gg – peso medio 583 kg. Gruppo razione a base di "granella di mais non micorrizzato" (NM): ordine di lattazione medio 2,38 - stadio lattazione medio 51,25 gg - peso medio 561 kg. Le razioni somministrate ai due gruppi erano isoenergetiche (0.94 UFL/kg s.s.) e isoproteiche (16 %). L'unica differenza tra le due razioni era rappresenta dal mais utilizzato, micorrizzato nel gruppo M e non micorrizzato nel gruppo NM. Entrambi i mais sono stati prodotti nel 2017 presso l'azienda del capofila del progetto, sig. Amedeo Ardigò. La prova è durata quattro mesi, ha avuto inizio il 3 aprile 2018 ed è terminata il 31 luglio 2018.

Durante la prova di alimentazione sono stati effettuati i seguenti controlli e analisi.

- **mais:** analisi caratteristiche chimiche di base, contenuto zeina e micotossine, attività antiossidante
- **alimenti e razioni:** prelievi e analisi con periodicità mensile
- **residui unifeed:** peso 2 volte/settimana e analisi contenuto s.s. 1 volta/settimana
- **animali:** peso e BCS con periodicità quindicinale
- **latte:** produzione, prelievi e analisi con periodicità quindicinale

Le caratteristiche chimiche del mais sono state effettuate secondo i metodi AOAC (1995) e Goering and Van Soest (1970). Il contenuto di amido è stato analizzato mediante spettrofotometro NIR a scansione (FOSS NIR Systems 6500) nell'intervallo spettrale 400-2500 nm. Per il contenuto di zeina è stato utilizzato il metodo di Larson e Hoffman (2008). L'attività antiossidante è stata determinata secondo il metodo DPPH di Yang and Zhai (2010). Per il contenuto di micotossine è stato utilizzato il metodo ELISA (Berardo et al., 2011). Il BCS sugli animali è stato eseguito tramite il metodo EAH (1996).

Le caratteristiche chimiche del latte, proteina, grasso e lattosio, sono state analizzate tramite spettrofotometria IR (Milkoscan FT 600), l'urea tramite pH-metria differenziale (norma ISO14637/IDF), il pH con pHmetro Mettler. Le cellule somatiche tramite il Somacount 150 della Bentley Instruments e l'apparecchio De Laval per la conta delle cellule. L'attitudine alla coagulazione (r =tempo di coagulazione, k_{20} =tempo di rassodamento del coagulo e A_{2r} =consistenza del coagulo al doppio del tempo di coagulazione) mediante il metodo di Zannoni e Annibaldi (1981).

b) Degradabilità enzimatica in vitro del mais

Il metodo utilizzato (Ribeiro Vilas Boas, 2009, modificato) ha lo scopo di fornire un dato utile per la previsione della digeribilità della sostanza organica in vivo di alimenti destinati ai ruminanti. I campioni di mais sono stati incubati a 39 °C con una soluzione di enzimi ed analizzati ad intervalli di tempo prestabiliti.

Preparazione del campione. Il campione di granella di mais, dopo essere stato asciugato in stufa a 60°C per 24h è stato macinato su una griglia di 1mm e conservato in contenitori a chiusura ermetica.

Preparazione della soluzione enzimatica. Una soluzione tampone di bicarbonato di sodio è stata preparata pesando 8 g di NaHCO₃ in un litro di acqua distillata, il pH è stato corretto a 6.5 con acido fosforico. Al tampone sono stati aggiunti 100 mg di Cloramfenicolo, 50 mg di Amoxicillina, 600 mg di metabisolfito di sodio con funzione conservante e antiossidante. Alla soluzione di bicarbonato sono stati poi addizionati gli enzimi pancreatina 50 mg/l e amiloglicosidasi 13,46 ml/l.

Procedimento. 0,5 grammi di campione sono stati posti in crogioli di vetro filtrante (pyrex-porosità n.2), precedentemente condizionati e pesati. Sono stati poi aggiunti 40 ml della soluzione enzimatica precedentemente preparata e 50 µl di α-Amilasi e lasciati in incubatore a 39°C in leggera agitazione. Ad intervalli di 2, 4, 8, 12, 16, 24 ore, i campioni sono stati estratti dall'incubatore e filtrati. 1 ml di soluzione filtrata è stata diluita in 3 ml di TCA 5%, in modo da bloccare la reazione enzimatica. I campioni sono stati conservati a -80°C.

Per la stima della sostanza secca non degradata i crogioli contenenti il residuo del campione sono stati posti in stufa a 60°C per una notte, raffreddati e pesati.

Alimenti	kg
fieno medica	6
fieno polifita	0,5
paglia	0,5
silo triticale	11
silo sorgo	14
orzo	4
mais	5
triticale	5
soia	4
grasso protetto	0,35
totale t.q.	50,35
totale s.s.	30,10

Tabella 1. Razione somministrata ai due gruppi di vacche della prova di alimentazione

4.2 Risultati

a) Prova di alimentazione bovine da latte

Nella tabella 1 è riportata la razione somministrata ai due gruppi di vacche da latte. Come si può osservare, nella razione non è stato incluso insilato di mais, perciò l'unica fonte di mais era rappresentata dalla granella somministrata dopo schiacciatura.

Nella tabella 2 sono riportati i risultati delle analisi chimiche del mais, dove si possono notare alcune differenze tra i due tipi di mais, in particolare il contenuto di proteina, della fibra e della frazione fibrosa NDF, che non trovano riscontro nei risultati ottenuti nella precedente prova, dove differenze significative erano state riscontrate tra i valori della frazione fibrosa ADF, dell'estratto etereo e delle ceneri.

Oltre alle analisi chimiche di base, è stato anche determinato il contenuto di zeina dei due tipi di mais. Tale contenuto è risultato più elevato nel mais micorrizzato (3,70 vs 3,42 g/100 g t.q.). Il contenuto di zeina trovato da Berta et al. (2013) nel mais sottoposto a micorrizzazione è risultato significativamente più elevato ($P \leq 0,05$) di quello del mais di controllo (4,8 vs 3,7 g/100 g t.q.).

	Sostanza secca a 60° C (% s.s.)	Proteina grezza (% s.s.)	Ceneri (% s.s.)	Fibra grezza (% s.s.)	ADF (% s.s.)	ADL (% s.s.)	NDF (% s.s.)	Estratto etereo (% s.s.)	Amido (% s.s.)	Zeina (g/100 g t.q.)	DPPH (mg TE/kg t.q.)
Mais Micorri-zato	89,69	8,91	1,26	2,69	3,97	1,61	15,81	3,66	69,64	3,70	294
Mais non Micorri-zato	90,36	9,24	1,26	3,08	4,45	1,57	14,56	3,98	71,11	3,42	293

Tabella 2. Caratteristiche chimiche della granella di mais micorrizzata e non micorrizzata

	Aflatossina B1	Fumonisine	DON	ZEA	Limiti micotossine	Materie prime per mangimi U 12% (µg/kg)
Mais micorrizzato	0,03	450	2,90	0,00	Aflatossina B1	20
Mais non micorrizzato	0,02	510	38,84	0,00	Fumonisine	60000
					DON	8000
					ZEA	2000

Tabella 3a-3b. Contenuto di micotossine del mais micorrizzato e non micorrizzato e limiti delle micotossine nelle materie prime per mangimi

Nella granella di mais sono presenti diversi tipi di proteine, tra cui la zeina, classificata come prolamina. Durante la maturazione, i granuli di amido sono incapsulati dalla zeina formando una sorta di rete. La zeina è insolubile nell'ambiente ruminale ed è correlata negativamente con la degradabilità ruminale (Philippeau et al., 2000).

Il mais è una buona fonte di carotenoidi e fenoli, composti che hanno attività antiossidante. Per questo motivo è stato preso in considerazione di valutare gli effetti della micorrizzazione sull'attività antiossidante. I nostri dati indicano che non c'è nessuna differenza tra i valori trovati, 294 vs 293 mg TE/kg t.q., rispettivamente per il mais micorrizzato e di controllo.

Nella tabella 3a sono riportati i contenuti delle micotossine del mais micorrizzato e non micorrizzato, che, come si può evincere dalla tabella 3b, sono tutti al di sotto dei limiti prescritti per le materie prime destinate alla produzione di mangimi (Berardo et al., 2011).

Durante la prova di alimentazione la quantità di residui di alimenti in mangiatoia è risultata minore nel gruppo micorrizzato (7 vs 11% sul t.q). I valori dei residui di entrambi i gruppi sono compatibili con quelli richiesti da un'alimentazione ad libitum. Di conseguenza l'ingestione di sostanza secca è stata maggiore (25,8 vs 24,3 kg capo/d; +1,5 kg) nel gruppo micorrizzato, con una variazione percentuale del 6%. Il risultato ottenuto è sovrapponibile a quello ottenuto nella precedente prova di alimentazione basata sul mais micorrizzato (Meo Zilio et al., 2014b).

Nella figura 1 sono rappresentati i pesi degli animali registrati nel corso della prova. Si può osservare che il peso medio degli animali del gruppo M rimane costantemente più alto di quello del gruppo NM ed è soggetto a minori oscillazioni. In entrambi i gruppi l'incremento di peso è più marcato dopo 100 giorni di lattazione. Il BCS degli animali del gruppo M è costantemente al di sopra di quello del gruppo NM con una media di 2,78 punti nel corso della prova a fronte di 2,64 punti ottenuti in media dagli animali alimentati con il mais di controllo.

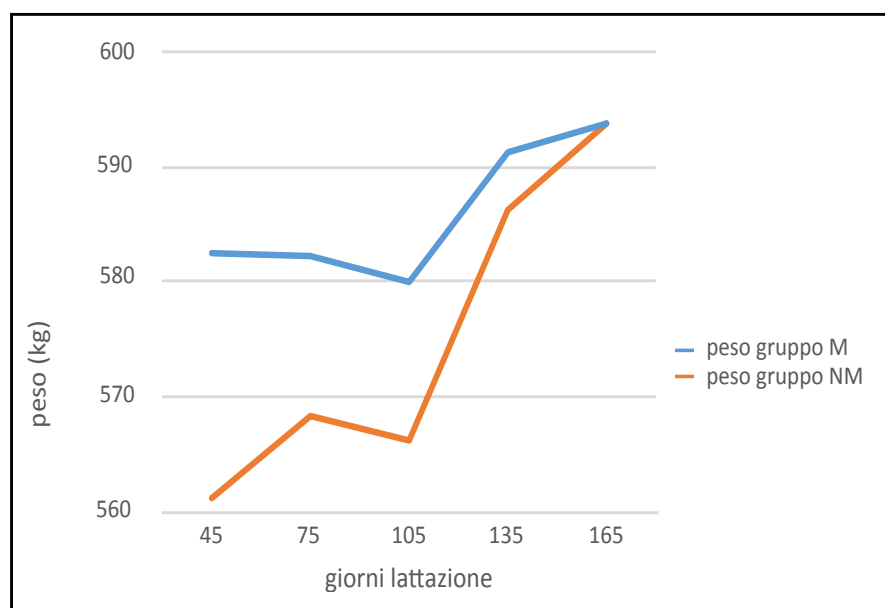


Figura 1. Peso medio (kg) degli animali del gruppo micorrizzato e non micorrizzato

Nella tabella 4 sono riportati i risultati della produzione quanti-qualitativa di latte. La produzione media giornaliera di latte è più elevata nel gruppo M (+1,6 kg), ma non significativamente. Il contenuto di lattosio è significativamente più elevato nel latte degli animali del gruppo M. Il lattosio deriva quasi interamente dal glucosio del plasma e potrebbe essere usato come indicatore di bilancio energetico. In questo caso si potrebbe ipotizzare che sia correlato alla maggiore ingestione di sostanza secca (Buckley et al., 2003).

L'attitudine alla coagulazione ha mostrato migliori risultati nel gruppo M per tutti i parametri analizzati, le differenze sono significative per il tempo di coagulazione, che è minore nel latte degli animali alimentati

con il mais micorrizzato. Secondo numerosi Autori, la riduzione del tempo di coagulazione e l'aumento della consistenza del coagulo sono positivamente correlati all'aumento della resa e alla qualità del formaggio (Bittante et al., 2012). Si ipotizza che la maggiore disponibilità di energia degli animali del gruppo M, in seguito alla maggiore ingestione di sostanza secca, abbia influito positivamente sull'attitudine alla coagulazione, come osservato precedentemente sulla vacca da latte (Vertes et al., 1989; Macheboeuf et al., 1993).

	Mais micorrizzato	Mais non micorrizzato
Produzioni (kg/d)	30.67	29.11
Grasso (%)	3.63	3.68
Proteine (%)	3.08	3.11
Lattosio (%)	4.90	4.85
Urea (mg/dl)	38.07	35.91
pH	6.73	6.75
r (min)	23.56	26.80
K20 (min)	6.78	7.37
A30 (mm)	18.51	15.46
A2r (mm)	25.83	24.88
a, b: P<0,05		

Tabella 4. Produzione, caratteristiche chimiche e attitudine alla coagulazione del latte dei due gruppi di vacche

b) Degradabilità enzimatica in vitro del mais

Dalla prima elaborazione dei risultati della prova di degradabilità enzimatica in vitro emerge che il mais micorrizzato ha una degradabilità ruminale effettiva inferiore a quella del mais non micorrizzato. Tale risultato concorderebbe con il maggior contenuto di zeina trovato nella granella micorrizzata ed è in accordo con quanto trovato da Philippeau et al. (2000). Ulteriori elaborazioni verranno eseguite per confermare quanto sopra riportato.



5. IMPRONTA D'ACQUA DEL MAIS PRODOTTO NEL PROGETTO LOMICO

Giacomo Pirlo - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA), Centro di ricerca zootecnia e acquacoltura, Lodi. giacomo.pirlo@crea.gov.it

La produzione di alimenti è l'attività umana che consuma il maggior quantitativo d'acqua. L'84% delle terre coltivate utilizza acqua da precipitazioni, il restante 16% utilizza acqua d'irrigazione, ottenuta da laghi d'acqua dolce, fiumi o falde e il 70% dell'acqua prelevata è destinata all'irrigazione, con una grande variabilità tra paese e paese (HLPE, 2015).

I consumi d'acqua per la produzione di alimenti è più che duplicata tra il 1961 e il 2000 (Wada et al., 2010).

All'aumento dei consumi si accompagna il fenomeno dei cambiamenti climatici, che comprende tra i vari aspetti quello riguardante le precipitazioni, sia in termini di quantità totali sia di andamento stagionale; inoltre alcune aree risultano più soggette a questo fenomeno.

Secondo il report dell'IPCC "Climate change 2013 – The physical science basis" l'area del Mediterraneo è una delle più interessate ai cambiamenti climatici. Per ciò che riguarda le risorse idriche, in particolare, negli ultimi anni è aumentata la frequenza delle precipitazioni estreme e dei periodi di siccità.

Le previsioni riguardanti l'area del Mediterraneo sono:

1. un aumento delle temperature
2. inverni più tiepidi
3. estati più calde
4. un aumento della frequenza, lunghezza e intensità delle ondate di calore
5. una riduzione delle precipitazioni estive.

L'agricoltura lombarda, specie quella che riguarda la produzione dei alimenti per gli animali, è basata sull'irrigazione e il problema dell'approvvigionamento idrico è estremamente importante. Il sistema d'irrigazione più diffuso è quello a scorrimento; sistema poco efficiente rispetto a quelli a pioggia o a goccia, adatto però ad un ambiente con abbondanza d'acqua, che presenta il vantaggio di rallentare il deflusso dell'acqua al mare e di ricaricare le falde.

Alcune colture, come ad esempio il mais, non potrebbero essere coltivate se non con il ricorso all'irrigazione. Le piogge sono distribuite prevalentemente in primavera e in autunno. Quelle invernali servono soprattutto a costituire una riserva di neve, che poi viene utilizzata nel periodo estivo.

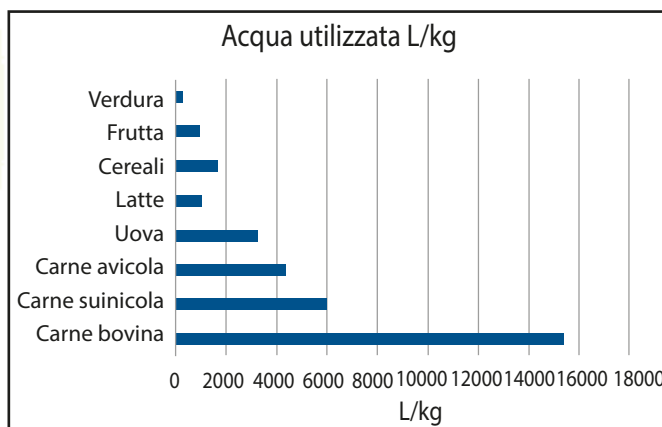
Da alcuni anni si sta osservando un mutamento di questi andamenti: una maggiore variabilità di anno in anno, una minore piovosità caratterizzata peraltro da lunghi periodi siccitosi e piogge molto abbondanti che si verificano in periodi molto ristretti. Questo è poi accompagnato dall'aumento delle temperature.

Il risultato di questi fenomeni è che le piogge primaverili ed estive sono meno efficaci e che si è ridotta la riserva di neve alpina, che alimenta il sistema d'irrigazione.

Assieme al problema della riduzione delle precipitazioni, l'agricoltura lombarda deve affrontare anche quello della competizione con le altre attività umane (industria, turismo, produzione idroelettrica e usi civili) e del rispetto di una sufficiente portata dei carpi idrici per il mantenimento dell'ecosistema.

La produzione di alimenti di origine animale comporta il consumo di grandi quantità d'acqua (Figura), che appare molto evidente se si confrontano i dati con quelli riguardanti gli alimenti vegetali (Hoekstra, 2014).

La produzione di latte e carne richiede acqua anche per l'abbeverata e la pulizia, ma questo fabbisogno è quasi insignificante rispetto a quello derivante dalla produzione dei foraggi e concentrati (Mekonnen Hoekstra, 2010).



Per adattarsi ai mutamenti climatici e all'aumento dei consumi idrici per le varie attività umane, l'agricoltura deve trovare strategie per utilizzare nel modo più efficiente le risorse idriche disponibili. Il settore zootecnico è quello maggiormente interessato nella individuazione di queste strategie, perché necessita della disponibilità dirette e indirette di acqua soprattutto per la produzione di foraggi e mangimi. L'individuazione di strategie idonee richiede strumenti in grado di stimare i consumi idrici e di metterli in relazione alle risorse disponibili, ai fabbisogni degli altri settori e dell'ecosistema. Il sistema deve essere inoltre in grado di stimare quali sono gli effetti sull'ambiente, in particolare per ciò che riguarda la salute umana e il consumo delle risorse non rinnovabili.



5.1 Produttività dell'acqua

Sono stati utilizzati i dati produttivi delle due aziende partecipanti al progetto LOMICO ricavati nelle prove effettuate nelle stagioni 2017 e 2018 (foto). La produttività dell'acqua è il rapporto tra acqua utilizzata e prodotto ottenuto.

Nel nostro caso

$$PA \left(\frac{m^3}{T} \right) = \frac{\text{acqua d'irrigazione}}{\text{granella di mais prodotta}}$$

L'acqua di irrigazione è stata stimata sottraendo dai fabbisogni idrici le precipitazioni utili, utilizzando il programma CROPWAT della FAO.

I valori di Kc utilizzati per il mais sono stati 1,2 e 0,35.

Valori di evapotraspirazione nelle campagne 2017 e 2018 (mm)

Anno	2017	2018
QET totale	782.4	807
QET green	241	321
QET blu	554.7	492

I valori di produttività dell'acqua (m³/T di granella) nelle due aziende e nelle due campagne sono stati calcolati sulla produzione media, indipendentemente dal trattamento

Azienda	Anno 2017				Anno 2018			
	Produzione (T/ha)	Totale	Verde	Blu	Produzione (T/ha)	Totale	Verde	Blu
Mainardi	14,7	532	164	368	12,3	654	307	399
Ardigò	13,9	562	173	389	14,7	548	258	334

5.1.1 Water footprint della granella di mais e del latte

Per mettere in relazione il consumo d'acqua con le risorse disponibili e i fabbisogni umani e dell'ecosistema, è stata adottata la metodologia indicata da Pfister et al. (2009), che fornisce una stima degli impatti derivanti dall'utilizzazione dell'acqua. Viene considerata solo l'acqua blu, ossia l'acqua che viene prelevata da fiumi, laghi, sottosuolo, da raccolte di acqua piovana. L'acqua verde è invece l'acqua da precipitazioni che inumidisce il terreno. L'attenzione si concentra solo sull'acqua blu perché è quella frazione che è oggetto di competizione tra le varie attività umane e in essa è contenuto il flusso minimo vitale, che garantisce il mantenimento dell'ecosistema dei corsi d'acqua. Il programma LEAP della FAO sta per pubblicare le linee guida sulla stima del water footprint degli alimenti di origine animale. In esse vi sono diverse metodologie di stima dell'impatto ambientale dell'utilizzazione dell'acqua in ambito LCA. È stato deciso di presentare in questa sede i risultati ottenuti con il metodo di Pfister et al. (2009) perché concettualmente più immediato e perché è già stato sperimentato nella filiera del latte (de Boer et al., 2013).

Le categorie d'impatto sono:

un impatto generico di consumo, che considera la quantità d'acqua prelevata in rapporto alla quantità disponibile. L'impatto viene calcolato utilizzando un Water Stress Index (WSI) che rappresenta il consumo-disponibilità di ogni paese, normalizzato dividendolo per il WSI globale (0,602). Per l'Italia il WSI è **0,273**;

salute umana: effetto dell'irrigazione sulla mancanza di acqua per l'igiene e il consumo umano. Per l'Italia il valore è **0 (DALY/(year x capita))**

qualità dell'ecosistema: esprime il danneggiamento per l'ecosistema in conseguenza della riduzione disponibilità d'acqua (simile al minimo deflusso vitale). Per l'Italia il valore è **0,134 (m²anno/m³)**

esaurimento delle risorse naturali: riguarda l'eccessivo uso delle risorse idriche sotterraneo o quello dei corsi d'acqua oltre determinati limiti. Per l'Italia il valore è **0,2 MJ/m³**.

Per esemplificare il calcolo dell'impatto ambientale della produzione di latte sono stati presi i dati due allevamenti della provincia di Cremona, che presentano alcune differenze per dimensione e piano colturale. Il metodo di calcolo è di tipo semplificato e non tiene conto di alcuni input, quali l'energia elettrica e la plastica, ritenuti poco influenti e per i mangimi acquistati si è assunto che fossero tutti prodotti nelle vicinanze. Inoltre ai sottoprodotti non è stato attribuito nessun valore di consumo d'acqua perché il valore viene attribuito al prodotto

principale. Infine, non è stata applicata nessuna allocazione tra latte e carne e, di conseguenza tutto l'impatto è stato attribuito al latte.

Le principali caratteristiche e i risultati di WFP delle due aziende sono in tabella.

	Azienda 1	Azienda 2
Produzione (T FPCM)/anno	1.760	870
Vacche adulte in lattazione (n)	103	55
Mais granella coltivato (Ha)	34,7	0
Mais insilato coltivato (ha)	31,7	20,09
Erbaio (ha)	3,55	16,72
Sorgo (ha)	4,4	0
Frumento (ha)	29,16	0
Orzo (ha)	0	7,02
Acqua blue consumata (m³/anno)	391.000	161.295
Acqua blue consumata (L/kg FPCM)	222	185
WFP GI (LH₂Oeq/kg FPCM)	60,6	50,6
WFP HH (10⁻⁹ n. disabilità/anno/kg FPCM)	0	0
WFP EQ (10⁻³ m²/anno/kg FPCM)	30	24,8
EFP RD (kj/kg FPCM)	44,4	30,1

L'impatto ambientale derivante dall'uso dell'acqua blue, necessaria per l'irrigazione, l'abbeveraggio, la pulizia e il rinfrescamento, è abbastanza simile tra le due aziende. Le differenze possono essere determinate dal fatto che nella seconda azienda c'è:

- a) un maggior uso in proporzione della seconda coltura,
- b) un maggior ricorso a mangimi interi acquistati sul mercato, che hanno normalmente un maggiore contenuto di sottoprodotti.

5.2 Risultati

Il sistema di calcolo risulta abbastanza affidabile e sensibile alle tipologie aziendali riscontrabili nel nostro ambiente. Perché possa essere utilizzato come indicatore delle prestazioni ambientali di un allevamento o di un territorio, è necessario:

- a) adottare un sistema di stima più sensibile alle caratteristiche del terreno e del sistema d'irrigazione (ad esempio AquaCrop della FAO)
- b) approfondire il tema dei fattori di emissione di alcuni input (energia elettrica ad esempio).

Inoltre bisognerà accoppiarlo con un altro sistema di stima, sempre con approccio LCA e secondo le linee guida LEAP, per rendere i risultati più robusti.

6. CONCLUSIONI

I risultati di due anni di sperimentazione sembrano decisamente positivi, sia in termini di buona qualità sanitaria della produzione che della resa ma, anche sulla produzione di latte dal momento che il mais trattato ha fatto registrare una maggiore ingestione di sostanza secca, anche se per alcuni fattori sono necessarie ancora alcune verifiche.

In particolare per le prove di campo, la sperimentazione relativa al progetto è stata condotta su due aziende rappresentative dell'area maidicola cremonese, che negli anni precedenti hanno sempre adottato un'agrotecnica all'avanguardia in termini di impiego dei fattori della produzione, compresa la concimazione fosfatica. Questo ha probabilmente impedito di riscontrare effetti produttivi significativi per il fosforo, essendo questo elemento ben rappresentato nella sua forma assimilabile nei terreni oggetto delle prove. La sperimentazione dell'utilizzo dei consorzi microbici micorrizzati, non è stata in grado di mettere in risalto differenze produttive di rilievo, essendo condizionati da numerosi fattori, quali fenomeni di sinergismo e/o antagonismo tra le diverse classi di microrganismi costituenti il biota del terreno, l'andamento stagionale, le caratteristiche chimico-fisiche dei terreni. Ma senza dubbio si sono riscontrati effetti positivi sulla morfologia e fisiologia dell'apparato radicale della pianta, determinando un migliore assorbimento di acqua e nutrienti dal terreno con benefici effetti sulla tolleranza a stress biotici e abiotici.

Nel corso delle campagne maidicole del 2017 e 2018, molti sono stati i campanelli d'allarme riguardanti il rischio di accumulo di micotossine (aflatossina B1 in particolare) che sono stati colti positivamente dagli operatori del settore. Le aziende agricole nelle quali sono state condotte le sperimentazioni del progetto Lomico utilizzano agrotecniche all'avanguardia che contribuiscono efficacemente al contenimento della quantità di micotossine. Sebbene non si sia potuto evidenziare l'effetto dei trattamenti agronomici, troviamo conferma che la prevenzione è la via principale per ridurre queste problematiche.

Positivi i risultati della somministrazione di mais micorrizzato alle bovine da latte durante la prima fase della lattazione. In primo luogo la sostanza secca mediamente ingerita dagli animali è stata superiore a quella rilevata nel gruppo di controllo (+6%). La maggiore produzione media giornaliera registrata nel periodo della prova è stata di 1,6 litri di latte. Inoltre il latte prodotto ha una migliore attitudine alla coagulazione.

Infine è stata stimata l'impronta dell'acqua del mais e del latte, utilizzando un sistema relativamente semplice, che può dare delle indicazioni su come affrontare il pressante problema del cambiamento del clima.

Un sistema di valutazione del rischio e di allerta micotossine, l'applicazione di corrette agrotecniche, la messa in atto delle strategie e azioni per il controllo, suggerite dalle linee guida messe a punto dal MiPAAF e dalle Regioni (Reyneri et al, 2015), sono quindi strumenti fondamentali per il rilancio della qualità del mais nazionale.



7. BIBLIOGRAFIA

CAPITOLO 3

Regolamento (CE) N. 574/2011 della Commissione del 16 giugno 2011.

Regolamento (CE) N. 1126/2007 della Commissione del 28 settembre 2007.

Raccomandazione (CE) N. 576/2006 della Commissione del 17 agosto 2006.

Mazzinelli et al. 2018. Prove agronomiche di ibridi di mais Fao 500, 600 e 700. *L'Informatore Agrario*, n. 3/2018, pag. 33-43.

Mazzinelli et al. 2019. Prove agronomiche di ibridi di mais Fao 500, 600 e 700. *L'Informatore Agrario*, n. 3/2019, pag. 33-43.

Mazzinelli et al. 2018. Biocontrollo e micorizze: sanità, sostenibilità e qualità per il mais italiano. *Il progetto Lomico. Mangimi & Alimenti*, n. 6/2018, pag. 24 – 26.

Locatelli et al. 2018. Micotossine su mais: i numeri della campagna 2017. *L'Informatore Agrario*, n. 7/2018, pag. 44-45.

Locatelli et al. 2019. Nel mais 2018 le fumonisine sono ancora le più diffuse. *L'Informatore Agrario*, n. 6/2019, pag. 50-51.

Reyneri et al. (a cura di), 2015. *Linee guida per il controllo delle micotossine nella granella di mais e frumento. Ministero delle politiche agricole, alimentari e forestali - Dip.to delle politiche competitive, della qualità agroalimentare, ippiche e della pesca - Piano cerealicolo nazionale, 2010.* <https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/9703>

CAPITOLO 4

Bacchetti T, Masciangelo S, Micheletti A, Ferretti G (2013) Carotenoids, Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Five Local Italian Corn (*Zea Mays* L.) Kernels. *J Nutr Food Sci*, 3, 6-9.

Berardo N., Lanzanova C., Locatelli S., Laganà P., Verderio A., Motto M. (2011). Levels of total fumonisins in maize samples from Italy during 2006-2008. *Food Additives and Contaminants: Part B*, Vol. 4, No. 2., 116-124.

Berta, G., A. Copetta, E. Gamalero, E. Bona, P. Cesaro, A. Scarafoni and G. D'Agostino. 2014. Maize development and grain quality are differentially affected by mycorrhizal fungi and a growth-promoting pseudomonad in the field. *Mycorrhiza* 24:61-170.

Bittante G., Penasa M., Cecchinato A. (2012). Invited review: Genetics and modeling of milk coagulation properties. *J. Dairy Sci.* 95, 6843–6870

Buckley F., O'Sullivan K., Mee J. F., Evans R. D., Dillon P. (2003). Relationships among Milk Yield, Body Condition, Cow Weight, and Reproduction in Spring-Calved Holstein-Friesians. *J. Dairy Sci.* 86, 2308–2319.

Chiariotti A., Meo Zilio D., Contò G., Di Giovanni S., Tripaldi C. (2015). Effects of mycorrhized maize grain on milk and on rumen environment of Italian Holstein dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*, 2015; volume 14: supplement 1, 144.

Chiariotti A., Meo Zilio D., Contò G., Di Giovanni S., Tripaldi C. (2016). Mycorrhized maize grain: effect on rumen environment and degradability. *Proceedings of 67th Annual Meeting of the E.A.A.P., Belfast, United Kingdom, 29th August – 2nd September.*

Cunniff P; Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of AOAC International 16th ed.* Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC: AOAC International; 1995.

Goering HK, Van Soest PJ. (1970). Forage fibre analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agriculture Hand Book* 379. Washington, DC: ARS USDA.

- Elanco Animal Health (1996) *Body condition scoring in dairy cattle*. Elanco Animal Health Bull. AI 8478. Elanco Animal Health, Greenfield, IN.
- Macheboeuf D., Coulon J.B., D'Hour P. (1993). *Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cows' milk coagulation properties*. *J. Dairy Res.*, 60, 43-54.
- Meo Zilio D., Chiarabaglio P., Costa C., Di Giovanni S., Lorenzoni P., Palocci G., Raglione M., Tripaldi C., Aleandri R. (2014). *NIR and electronic nose analysis of mycorrhized corn grain*. *Proceedings of International Congress Environmental, Sustainability and Food Security*, Potenza, 17-19 giugno, 80.
- Meo Zilio D., Chiariotti A., Contò G., Di Giovanni S., Palocci G., Tripaldi C., Aleandri R. (2014). *Milk yield and rumen characteristics in dairy cows fed mycorrhized corn grain*. *Proceedings of International Congress Environmental, Sustainability and Food Security*, Potenza, 17-19 giugno, 86.
- Ribeiro Vilas Boas M.S. (2009). *Physical and chemical features affecting starch digestion in ruminants*. PhD Thesis. Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza.
- Tripaldi C. Novero M., Di Giovanni S., Chiarabaglio P.M., Lorenzoni P., Meo Zilio D., Palocci G., Balconi C., Aleandri R. (2017). *Impact of mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on maize grain yield and chemical composition*. *Pak. J. Agri. Sci.*, 54, 857-865.
- Vertes C., Hoden A., Gallard Y. (1989). *Effect du niveau d'alimentation sur la composition chimique et la qualité fromagère du lait de vaches Holstein et Normandes*. *Prod. Anim.*, 2, 89-69.
- Yang, Z. and W. Zhai. (2010). *Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (Zea mays L.)*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11: 169–176.
- Zannoni M, Annibaldi S (1981). *Standardization of the renneting ability of milk by Formagraph*. *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, 32, 79-94.

CAPITOLO 5

- HLPE, 2015. *Water for food security and nutrition*. FAO, Roma.
- Wada Y., Van Beek L., Bierkens M.F., 2011. *Modelling global water stress on the recent past: on the relative importance of trends in water demand and climate variability*. *Hydrol. Earth Sci. Syst.*, 15: 3785-3805.
- Pfister S., Koehler A., Hellweg S., 2009. *Assessing the environmental impacts of freshwater consumption in LCA*. *Environ. Sci. Technol.* 43: 4098-4104.
- Hoekstra A.Y., 2014. *The hidden water resource use behind meat and milk*. *Anim. Front.*, 22: 3-8.
- Mekonnen M.M., Hoekstra A.Y., 2010. *The green, the blue and the grey water footprint of farm animal and animal products*. Institute for Water Education, Research Report Series No. 48.
- De Boer I. J.M., Hoving I.E., Vellinga T.V., Van de Ven G.W.J., Leffelaar P.A., Geber P.J., 2013. *Assessing impacts associated with freshwater consumption along the life cycle of animal products: the case of Dutch milk production in Noord-Brabant*. *Int. J. Life Cycle Assess.*, 18: 193-203.
- Mekonnen M.M., Hoekstra A.Y., 2011. *The green, the blue and gray water footprint of crops and derived crop products*. *Hydrol. Earth Sci. Syst.*, 15: 1577-1600.

