



UNIONE EUROPEA  
Fondo Europeo Agricolo  
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

## TIPO DI OPERAZIONE

### 16.1.01 - Gruppi operativi del partenariato europeo per la produttività e la sostenibilità dell'agricoltura

DELIBERAZIONE DELLA GIUNTA REGIONALE N. 1098 DEL 01/07/2019

FOCUS AREA 2A 4B

RELAZIONE TECNICA INTERMEDIA FINALE

DOMANDA DI SOSTEGNO **5149128**

DOMANDA DI PAGAMENTO **5578007**

Titolo Piano	Acronimo: <b>SERVICE - SistEmi infoRmativi rIschio miCotossinE</b> Sistema informativo GIS-based per la previsione del rischio di contaminazione da micotossine nei cereali
Ragione sociale del proponente (soggetto mandatario)	R.Nova - società cooperativa Via dell'Arrigoni 120 – 47023 Cesena (FC)
Partner del Gruppo Operativo	Grandi Colture Italiane s.c.a. (GCI) Università Cattolica del Sacro Cuore (UCSC) Agronica Group s.r.l. Dinamica Soc. cons. a r.l. Az.agr. Zaghi Maurizio (Codigoro-FE) Società Agricola Delta s.s. (Tresignana-FE)

Durata originariamente prevista del progetto (in mesi)	30
Data inizio attività	01/01/2020
Data termine attività (incluse eventuali proroghe già concesse)	31/03/2023

Relazione relativa al periodo di attività dal	01/01/2020	Al 31/03/2023
Data rilascio relazione	16/05/2023	

Autori della relazione	<b>Claudio Selmi</b> , Paola Battilani, Marco Camardo Leggieri, Gianfranco Giannerini, Federica Balestra, Diego Scudellari		
telefono		email	<a href="mailto:cselmi@rinova.eu">cselmi@rinova.eu</a>
PEC	<a href="mailto:amministrazione@pec.rinova.eu">amministrazione@pec.rinova.eu</a>		

## 1 Descrizione dello stato di avanzamento del Piano

In sintesi, le attività svolte nel corso del Progetto (01/01/2020 – 31/03/2023) sono state le seguenti:

- l'azione 1 di cooperazione è stata realizzata come previsto seguendo i percorsi e utilizzando i diversi strumenti indicati nel Piano.
- L'azione 3.1 (Sviluppo e validazione del modello Maize-tox) ha previsto lo sviluppo di funzioni ad hoc da inserire nel modello Maize-tox per consentire una migliore previsione del rischio di contaminazione da fumonisine e aflatossine su mais alla raccolta tenendo conto dell'interazione tra funghi.
- L'azione 3.2 (Monitoraggio e analisi micotossine per la salute del consumatore) ha previsto, nel corso dei due anni 2020 e 2021, la raccolta di un centinaio di campioni di mais, rappresentativi delle aree di coltivazione regionali, sui quali sono state effettuate le analisi di aflatossine e fumonisine.
- L'azione 3.3 (Implementazione sul sistema GIAS della piattaforma informativa e automatizzazione previsioni) ha previsto lo sviluppo e la validazione di una piattaforma informativa sul sistema GIAS di Agronica che consentisse l'automazione delle previsioni di rischio di contaminazione da micotossine su frumento e mais. La piattaforma è in grado di gestire, oltre la modellistica, i dati meteo, i dati agronomici, il sistema Irriframe e le immagini satellitari con l'intento di costituire un vero e proprio DSS (Sistema di Supporto alle Decisioni) in grado di fornire previsioni sul rischio di contaminazione alla raccolta di uno specifico campo di mais.
- L'azione 3.4 (Applicazione di tecniche di machine learning per il miglioramento delle prestazioni del modello previsionale congiunto) ha consentito l'implementazione sulla piattaforma GIAS di una nuova funzionalità di analisi dei dati agronomici, raccolti nel corso di quindici anni di monitoraggio, in modalità machine learning, con lo scopo di migliorare l'attendibilità delle previsioni di rischio rispetto al solo impiego dei dati meteo e ottenere così, assieme a tutte le altre funzionalità implementate, un DSS completo.

- Nell’ambito dell’azione 4 (Divulgazione) è stata approntata la pagina Web di progetto sul portale Ri.Nova, sono stati redatti due articoli, uno di presentazione del Piano e uno a carattere scientifico, si sono organizzati due incontri tecnici (intermedio per il GOI e conclusivo) e sono stati prodotti due audiovisivi sui risultati finali e sull’impiego della piattaforma previsionale.
- L’azione 5 (Formazione) ha previsto la realizzazione di due corsi di formazione (n. 5150226 e n. 5513364), dal titolo “Tecniche di prevenzione e controllo delle micotossine dei cereali in campo e post-raccolta e sistemi informativi per la previsione del rischio alla raccolta”, con la partecipazione complessiva di 30 tra agricoltori e tecnici del settore cerealicolo.

### 1.1 Stato di avanzamento delle azioni previste nel Piano

Azione	Unità aziendale responsabile  (altre Unità aziendali)	Tipologia attività	Mese inizio attività previsto	Mese inizio attività reale	Mese termine attività previsto	Mese termine attività reale
1 - Cooperazione	Ri.Nova  (tutti gli altri partner)	Esercizio della cooperazione	1	1	30	39
3.1 - Sviluppo e validazione del modello Maize-tox	UCSC-PC	Azioni dirette Alla realizzazione del piano	1	3	30	33
3.2 - Monitoraggio e analisi micotossine per la salute del consumatore	UCSC-PC  (Ri.Nova e Grandi Colture Italiane)	Azioni dirette Alla realizzazione del piano	7	7	22	22
3.3 - Implementazione sul sistema GIAS della piattaforma informativa e automatizzazione previsioni	Agronica  (UCSC-PC, Ri.Nova e GCI)	Azioni dirette Alla realizzazione del piano	1	1	30	39

3.4 - Applicazione di tecniche di machine learning per il miglioramento delle prestazioni del modello previsionale congiunto	UCSC-PC (Agronica, GCI))	Azioni dirette Alla realizzazione del piano	1	3	30	39
4 - Divulgazione	Ri.Nova	Divulgazione	7	7	30	39
5 - Formazione	Dinamica	Corso	7	24	30	38

## 2. Descrizione per singola azione

### 2.1.1 Attività e risultati

#### AZIONE 1 – ESERCIZIO DELLA COOPERAZIONE

**Unità aziendale responsabile (Uar): Ri.Nova**

##### Descrizione attività

Ri.Nova, nel suo ruolo di capo-mandatario ha svolto funzione di coordinatore dell'attività di funzionamento e gestione del Gruppo Operativo (GO) in accordo con gli altri Partner.

Ri.Nova, tramite proprio personale e avvalendosi di collaboratori

ha seguito regolarmente e gestito con le necessarie e opportune documentazioni, tutte le fasi di sviluppo, dall'attivazione anche formale, all'attuale rendicontazione conclusiva, del GO e del relativo Piano per assicurarne il corretto funzionamento e svolgimento.

In particolare sono di seguito descritte in sintesi le diverse attività svolte da Ri.Nova.

A seguito dell'approvazione del Piano (Determina Reg. Emilia Romagna n° 4356 del 13/03/2020) è stata gestita la fase di costituzione dell'ATS con tutti i partner del Gruppo Operativo (GO) fino alla sua completa formalizzazione. Nell'ATS sono anche descritti i ruoli di ciascun partner nell'ambito del GO.

In fase preliminare di avvio, i partner sono stati informati dell'approvazione della domanda e della conseguente attivazione del piano per mezzo di e-mail.

In data 3 aprile 2020 si è tenuto un incontro con tutto il GO dove sono state illustrate le varie fasi del Piano e si è proceduto alla pianificazione delle diverse attività per il 2020. L'incontro ha rappresentato anche il momento di costituzione del Comitato di Piano (CP) per la gestione e il funzionamento del GO. Il CP è quindi composto:

- dal Responsabile Organizzativo del Piano (RP), anche detto Responsabile del Piano (collaboratore di Ri.Nova);
- dal Responsabile Scientifico (RS), (Di.Pro.Ve.S. Università Cattolica Sacro Cuore di Piacenza);
- da Grandi Colture Italiane;
- da , Agronica Group;
- da un rappresentante di Dinamica.

Nel corso del Progetto si sono poi tenuti diversi incontri di coordinamento sia delle attività di innovazione che della formazione; in particolare:

- 9 marzo 2021 il GO si è riunito per la verifica dello stato di avanzamento delle attività, per la pianificazione dei lavori da svolgere nel corso del 2021 e per la predisposizione della rendicontazione intermedia.
- 28 luglio 2021 riunione con Dinamica per l'organizzazione dei corsi di formazione.

- 22 marzo 2022 il GO si è riunito per la verifica dello stato di avanzamento delle attività e per la pianificazione dei lavori da svolgere nel corso del 2022
- 22 giugno 2022 riunione con Dinamica per l'organizzazione della seconda edizione del corso di formazione.
- 8 luglio 2022, si è discusso della necessità di richiedere una proroga e sono state esaminate le ultime attività da completare.
- 18 gennaio 2023, si sono esaminati i risultati attesi, per verificare che non ci fossero scostamenti con quanto realizzato, organizzazione dell'incontro tecnico conclusivo e predisposizione rendicontazione finale.

Il RP si è quindi occupato di coordinare nel complesso tutte le attività, animando il GO, seguendone il percorso e verificandone la coerenza e buon sviluppo (attraverso contatti telefonici ed e-mail). Il RP ha inoltre favorito lo scambio di informazioni e il necessario supporto sia informativo che logistico per il buon sviluppo delle sinergie e attività previste dal piano.

Durante il costante monitoraggio dei lavori ed i risultati via via raggiunti, in caso di scostamenti, sono state valutate le necessarie azioni correttive.

Al termine del Piano, il RP e il RS, insieme a tutti i partner coinvolti, hanno completato l'analisi dei risultati finali ottenuti e predisposto la relazione tecnica oltre alle altre documentazioni necessarie per la rendicontazione amministrativo-economica. Ri.Nova si è occupato della gestione e predisposizione della documentazione e format e ha opportunamente informato e supportato i partner nella fase di rendicontazione tecnica ed economica.

#### Autocontrollo e Qualità

Attraverso le Procedure e le Istruzioni operative approntate nell'ambito del proprio Sistema Gestione Qualità, Ri.Nova ha lavorato al fine di garantire efficienza ed efficacia al progetto, come segue:

- Requisiti, specificati nei protocolli tecnici, rispettati nei tempi e nelle modalità definite;
- Rispettati gli standard di riferimento individuati per il progetto;
- Rispettate modalità e tempi di verifica in corso d'opera definiti per il progetto.

La definizione delle procedure, attraverso le quali il Responsabile di Progetto ha effettuato il coordinamento e applicato le politiche di controllo di qualità, sono la logica conseguenza della struttura organizzativa di Ri.Nova. In particolare sono state espletate le attività di seguito riassunte.

#### Attività di coordinamento

Le procedure attraverso le quali si è concretizzato il coordinamento dell'intero progetto si sono sviluppate attraverso riunioni e colloqui periodici con il Responsabile Scientifico e con quelli delle Unità Operative coinvolte.

#### Attività di controllo

La verifica dell'attuazione progettuale è avvenuta periodicamente; più in particolare è stata esercitata sia sul funzionamento operativo che sulla qualità dei risultati raggiunti ed è stata condotta nell'ambito degli incontri collegiali di coordinamento prima descritti:

- Verifiche dell'applicazione dei protocolli operativi in relazione a quanto riportato nella scheda Progetto.

#### Riscontro di non conformità e/o gestione di modifiche e varianti

Non si sono verificate situazioni difformi a quanto previsto dalla scheda progetto.

Tutte le attività svolte come previsto nella procedura specifica di processo sono registrate e archiviate nel fascicolo di progetto e certificate attraverso visite ispettive svolte dal Responsabile Gestione Qualità di Ri.Nova.

Il Sistema Qualità Ri.Nova, ovvero l'insieme di procedure, di misurazione e registrazione, di analisi e miglioramento e di gestione delle risorse, è monitorato mediante visite ispettive interne e verificato ogni 12 mesi da Ente Certificatore accreditato (DNV-GL).

#### **Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate**

Gli obiettivi del piano sono stati raggiunti e non sono state rilevate criticità nella fase di cooperazione del GO.

#### **Attività ancora da realizzare**

-

#### **2.2.1 Personale Ri.Nova**

<b>Cognome e nome</b>	<b>Mansione/ qualifica</b>	<b>Attività svolta nell'azione</b>	<b>Ore</b>	<b>Costo</b>
	Personale dipendente: costi standard fascia media	Gestione	120	5.160,00
	Personale dipendente: costi standard fascia bassa	Segreteria	15	405,00
	Personale dipendente: costi standard fascia bassa	Amministrazione	27	810,00

Allegato parte integrante - 1

	Personale dipendente: costi standard fascia media	Amministrazione	52	2.236,00
			<b>Totale:</b>	<b>8.611,00</b>



## 2.1.2 Attività e risultati

### AZIONE 3.1 - SVILUPPO E VALIDAZIONE DEL MODELLO MAIZE-TOX

Unità aziendale responsabile (Uar): Di.Pro.VE.S – UCSC Piacenza

#### Descrizione attività

Nel corso di precedenti progetti sono stati acquisiti dati sull'interazione tra funghi micotossigeni, nonché sulle contaminazioni del mais con le diverse micotossine in aziende geo-localizzate. In particolare, sono disponibili dati riguardo all'impatto della co-presenza di funghi micotossigeni sulla crescita delle diverse specie fungine e sulla sintesi di tossine in diverse condizioni ecologiche, con particolare riferimento alla temperatura e all'attività dell'acqua.

Dati quantitativi circa l'interazione fungina di *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides* sono disponibili in due studi elaborati presso Di.Pro.VE.S – UCSC; è stata studiata e quantificata l'interazione tra i due funghi e la conseguente produzione di micotossine sia in campo (Giorni et al., 2019) che *in vitro* (Camaro Leggieri et al., 2019).

I risultati di questi lavori dimostrano chiaramente che sia la crescita che la produzione di aflatossine e fumonisine è notevolmente influenzata dall'interazione tra questi due funghi, ma le interazioni sono alquanto complesse. In particolare, i dati ottenuti in prove *in vitro*, necessarie per stabilire relazioni quantitative nell'intervallo di condizioni desiderato, forniscono risposte in apparente contrasto con quanto osservato in campo (Camardo et al., 2019; Giorni et al., 2019).

Nel primo anno di progetto è stato chiarito quali funzioni disponibili potessero essere utilizzate per l'implementazione nel modello congiunto TOX-maize.

#### Raccolta dati quantitativi

Al fine di elaborare l'interazione tra *Aspergillus flavus* (*Af*) e *Fusarium verticillioides* (*Fv*) sono stati utilizzati dati quantitativi già presenti in letteratura nei lavori scientifici Giorni et al (2019) e Camardo Leggieri et al (2019). Brevemente, l'interazione è stata studiata sia *in planta* che *in vitro*.

Lo studio *in planta*, condotto in due anni consecutivi, ha previsto la preparazione dell'inoculo, utilizzando un ceppo di *A. flavus* (produttore di aflatossine), un ceppo di *F. verticillioides* (produttore di fumonisine) e un ceppo di *F. graminearum* (produttore di deossinivalenolo); l'inoculazione delle spighe di mais è stata eseguita sia utilizzando inoculo singolo che co-inoculo dei funghi citati precedentemente. La granella di mais raccolta nelle prove di inoculo è stata trasferita in piastre Petri contenenti PDA per osservare la crescita delle colonie fungine dopo un'incubazione a 25°C per 5-7 giorni. L'analisi delle micotossine è stata seguita dopo aver essiccato la granella a 65°C per 2 giorni, averla macinata con un mulino a martelli e averla rimescolata adeguatamente per poi ricavare un campione rappresentativo. I dati meteorologici sono stati raccolti utilizzando una stazione meteorologica vicina ai campi di mais e raccogliendo dati orari di temperatura (°C) e pioggia (mm), durante l'intera stagione colturale.

Lo studio *in vitro* ha previsto l'analisi della crescita fungina (mm) e della contaminazione (µg/kg) da aflatossina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) e fumonisin B<sub>1</sub> + B<sub>2</sub> (FBs), rispettivamente da parte di *Af* e *Fv* nei diversi

trattamenti considerati (funghi inoculati singolarmente o in combinazione), a diversa temperatura (10-40°C, con step di 5°C), a diverso tempo di incubazione (3, 7, 10, 14 e 21 giorni) e diverso substrato (farina di mais o PDA). I dati raccolti sono stati poi elaborati per ottenere funzioni matematiche.

Al fine di studiare l'interazione tra funghi, si sono utilizzati i soli dati grezzi (tal quali, non elaborati) derivanti da attività *in vitro*.

### **Analisi dei dati**

Al fine di modellizzare la crescita fungina e la produzione di micotossine, i dati relativi ad *Af* e *Fv* inoculati singolarmente sono stati rapportati al valore massimo osservato per ottenere un tasso di crescita/produzione di tossine su scala 0-1, con 0 = nessuna crescita/produzione di micotossine, e 1 = massima crescita/produzione di tossine. I dati raccolti dal co-inoculo sono stati valutati in base al valore massimo osservato negli inoculi singoli per quantificare l'impatto sulla crescita/produzione di tossine dovuto all'interazione fungina.

È stato adattato ai dati raccolti un modello di regressione non lineare per descrivere la crescita fungina e la produzione di micotossine in funzione della temperatura e dell'attività dell'acqua; il lavoro è stato svolto utilizzando i dati grezzi ricavati dall'inoculo singolo dei funghi e dal co-inoculo. È stato calcolato un delta:  $(S - Co / Co) * 100$ , dove S sta per "singolo" e Co indica "co-inoculo".

Se il delta risulta positivo significa che il fungo cresce di più/produce più tossina quando è da solo, mentre se il delta ha segno negativo il fungo cresce di più/produce più tossina quando è in co-presenza.

Questi dati ottenuti sono stati standardizzati dividendo il valore osservato ad una determinata temperatura (o ad una determinata attività dell'acqua) per il valore ottenuto alle condizioni in cui il fungo è cresciuto di più/ha prodotto più tossina.

Dagli istogrammi ottenuti è stata interpolata una funzione polinomiale ed è stata stimata la bontà di adattamento dei dati utilizzati. Queste funzioni sono state trasferite nel modello previsionale.

### **Validazione**

Per validare il modello previsionale congiunto, TOX-maize, sono stati utilizzati i dati ottenuti da diversi monitoraggi condotti in Emilia Romagna dal 2005 al 2018, già oggetto di pubblicazione (Camardo Leggieri *et al.*, 2021).

Brevemente, i dati meteorologici sono stati ottenuti dal servizio meteorologico della rete della Regione Emilia-Romagna. Per ciascuna stazione meteorologica sono stati considerati i dati orari di temperatura dell'aria (T, °C), di umidità relativa (RH, %) e pioggia (R, mm). Le varie stazioni meteorologiche sono state associate al campo di mais oggetto di campionamento, secondo il principio della minima distanza (< 20 km).

Il campionamento dei campi di mais è stato effettuato durante la raccolta, gestita tra metà agosto e settembre, direttamente allo scarico della mietitrebbia, seguendo il Regolamento (UE) 401/2006 della Commissione Europea (European Commission, 2006a).

L'analisi delle micotossine è stata eseguita per tutti i campioni seguendo il metodo proposto da Bertuzzi *et al.* (2012) per le AFs [limite di rilevazione (LOD): 0,05 µg/kg e limite di quantificazione

(LOQ): 0,15 µg/kg]; per le FBs è stato adottato il protocollo Pietri e Bertuzzi (2012) (LOD: 10 µg/kg e LOQ: 30 µg/kg).

### **Risultati per l'elaborazione dell'interazione fungina in funzione della temperatura**

#### **A. *flavus* e *F. verticillioides*: crescita**

Sono stati elaborati i dati di crescita di *A. flavus* e di *F. verticillioides* in funzione della temperatura di incubazione. Le specie fungine sono state trattate in inoculo singolo ed in co-inoculo su terreno CMM e PDA. La **tabella 1** e la **tabella 2** mostrano le differenze di crescita fungina con inoculo singolo e con co-inoculo alle diverse temperature.

La temperatura più bassa a cui è stato possibile osservare la crescita di *A. flavus* è stata 15°C su terreno PDA e CMM, sia con inoculo singolo che con co-inoculo, mentre la temperatura più alta a cui è stato possibile osservare la crescita di *A. flavus* è stata 40°C su terreno PDA con entrambe le tipologie di inoculo (**tabella 1**).

**Tabella 1.** Dati di crescita di *A. flavus* (diametro medio delle colonie) inoculato *in vitro* in due diversi terreni di coltura (CMM e PDA), con inoculo singolo ed in co-inoculo con *F. verticillioides*, incubato a diverse temperature (T = 5-45°C) per 21 giorni. È stata calcolata la media dei valori di crescita sui due terreni e il delta di crescita tra inoculo singolo e co-inoculo, successivamente standardizzato in funzione del valore massimo di crescita osservato  $(S - Co / Co) * 100$ .

T	Inoculo singolo			Co-inoculo			Delta su inoculo	Delta STD su max
	AF_CMM	AF_PDA	Media	AF_CMM	AF_PDA	Media		
5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
15	38.7	18.0	28.4	32.8	13.0	22.9	23.7	-0.3
20	60.8	59.1	60.0	56.4	37.6	47.0	27.6	-0.3
25	67.6	76.0	71.8	35.7	41.5	38.6	86.0	-1.0
30	83.4	67.8	75.6	86.0	62.1	74.0	2.1	0.0
35	34.3	75.0	54.7	78.8	51.1	65.0	-15.8	0.2
40	0.0	20.6	10.3	0.0	18.3	9.1	13.0	-0.2
45	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		

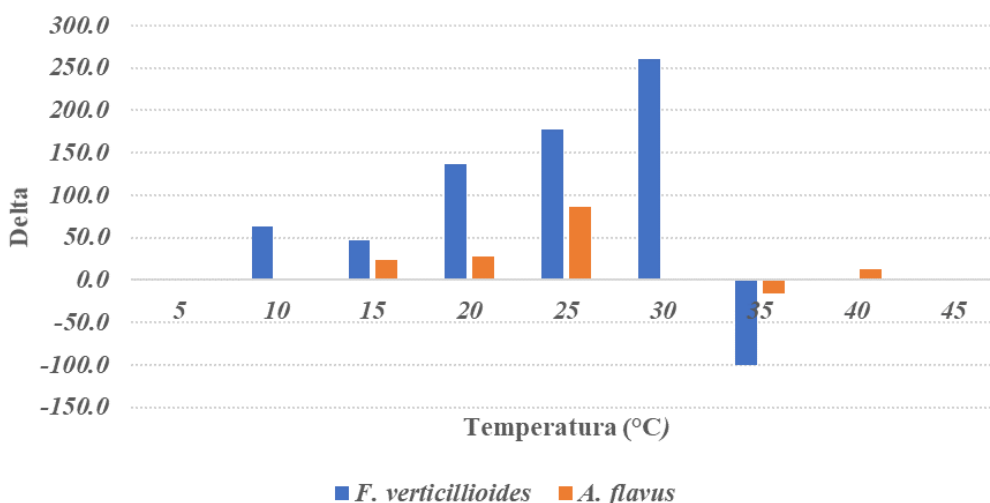
La temperatura più bassa a cui è stato possibile osservare la crescita di *F. verticillioides* è stata 10°C su terreno PDA sia in inoculo singolo che in co-inoculo, mentre la temperatura più alta a cui è stato possibile osservare la crescita di *F. verticillioides* è stata 30°C sia su terreno PDA che CMM in inoculo singolo e 35°C su terreno PDA in co-inoculo (**tabella 2**).

**Tabella 2.** Dati di crescita di *F. verticillioides* (diametro medio delle colonie) inoculato *in vitro* in due diversi terreni di coltura (CMM e PDA), con inoculo singolo ed in co-inoculo con *A. flavus*, incubato a diverse temperature (T = 5-45°C) per 21 giorni. È stata calcolata la media dei valori di crescita sui due terreni e il delta di crescita tra inoculo singolo e co-inoculo, successivamente standardizzato in funzione del valore massimo di crescita osservato.

T	Inoculo singolo			Co-inoculo			Delta su inoculo	Delta STD su max
	FV_CMM	FV_PDA	Media	FV_CMM	FV_PDA	Media		
5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
10	0.0	52.7	26.3	0.0	0.1	0.0	63.1	-0.2
15	32.8	67.7	50.2	21.1	47.2	34.1	47.2	-0.2
20	49.3	82.5	65.9	20.1	35.5	27.8	137.0	-0.5
25	37.7	78.8	58.3	18.1	24.0	21.0	177.1	-0.7
30	16.9	43.2	30.1	2.8	13.8	8.3	260.7	-1.0
35	0.0	0.0	0.0	0.0	15.5	7.8	-100.0	0.4
40	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
45	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		

Dalla media ricavata dai valori di crescita su terreno CMM e PDA in inoculo singolo ed in co-inoculo ad ogni step di temperatura, è stato calcolato un valore delta, la differenza di crescita nelle due condizioni considerate.

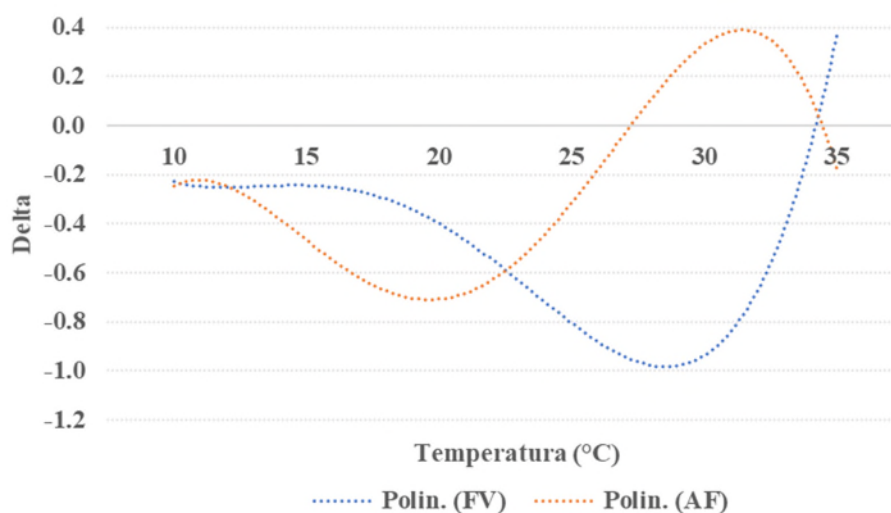
Il calcolo del valore delta è stato riportato anche in grafico (**figura 1**), dal quale si comprende come la crescita fungina vari in funzione della temperatura: quando il valore di delta è positivo significa che il fungo cresce di più quando è in inoculo singolo; viceversa, quando il valore è negativo il fungo cresce di più quando è in co-inoculo.



**Figura 1** - Valori di delta di *F. verticillioides* e *A. flavus* a differenti temperature: il valore positivo indica che il fungo cresce di più quando è in inoculo singolo; viceversa, quando il valore è negativo il fungo cresce di più quando è in co-inoculo con l'altra specie.

I valori delle differenze sono stati standardizzati dividendo ciascun dato osservato per il valore di crescita massimo. Questi valori sono stati utilizzati poi per l'interpolazione di una funzione polinomiale con una bontà di adattamento dei dati stimata ( $R^2 > 0.70$ ).

Nella **figura 2** si osserva la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla crescita di *A. flavus* (in inoculo singolo ed in co-inoculo) ed il corrispondente valore di  $R^2 = 0.74$  e la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla crescita di *F. verticillioides* (in inoculo singolo ed in co-inoculo) ed il corrispondente valore di  $R^2 = 1$ .



**Figura 2** - Funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla crescita di *A. flavus* (AF) e la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla crescita di *F. verticillioides* (FV), in base alla temperatura (°C).

Nello specifico, le equazioni relative al tasso di crescita dei funghi considerando l'interazione in funzione della temperatura sono le seguenti:

$$AF(T) = -0.043x^4 + 0.5391x^3 - 2.1696x^2 + 3.1599x - 1.733 \quad (\text{Eq. 1})$$

$$FV(T) = 0.0266x^4 - 0.2843x^3 + 0.9714x^2 - 1.3381x + 0.3953 \quad (\text{Eq. 2})$$

### ***A. flavus* e *F. verticillioides*: tossine**

È stata considerata la produzione di tossine da parte di *A. flavus* e *F. verticillioides* in funzione della temperatura di incubazione. Le specie fungine sono state trattate in inoculo singolo ed in co-inoculo e le rispettive tossine sono state quantificate in ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e in ng. La **tabella 3** e la **tabella 4** mostrano le differenze di produzione di micotossine da parte dei due funghi in inoculo singolo ed in co-inoculo alle diverse temperature.

La temperatura più bassa a cui è stato possibile osservare la produzione di aflatossine da parte di *A. flavus* è stata 10°C sia in inoculo singolo che in co-inoculo, mentre la temperatura più alta a cui è stato possibile osservare la produzione di aflatossine è stata 35°C sia in inoculo singolo, sia per quanto riguarda il co-inoculo (**tabella 3**).

**Tabella 3.** Dati di produzione di aflatossine da parte di *A. flavus* (in ppb e in ng) inoculato *in vitro*, con inoculo singolo ed in co-inoculo con *F. verticillioides*, incubato a diverse temperature (T = 5-45°C) per 21 giorni. È stato calcolato il delta di produzione di aflatossine tra inoculo singolo e co-inoculo, successivamente standardizzato in funzione del valore massimo di produzione di tossine osservato.

T	Inoculo singolo		Co-inoculo		Delta su inoculo		Delta STD su max
	AFB <sub>1</sub> _ppb	AFB <sub>1</sub> ng	AFB <sub>1</sub> _ppb	AFB <sub>1</sub> ng	AFB <sub>1</sub> _ppb	AFB <sub>1</sub> ng	AFB <sub>1</sub> _ppb
5	0.0	0.0	0.0	0.0			
10	5.5	73.9	7.5	80.0	-26.7	-7.7	
15	18558.3	108749.0	37792.5	232846.3	-50.9	-53.3	0.2
20	58787.0	585069.4	66158.8	620292.3	-11.1	-5.7	0.1
25	86119.5	729791.3	35362.0	230121.9	143.5	217.1	-0.7
30	30718.5	153120.4	9619.0	26337.1	219.4	481.4	-1.0
35	734.0	4188.3	2207.0	8578.3	-66.7	-51.2	0.3
40	0.0	0.0	0.0	0.0			
45	0.0	0.0	0.0	0.0			

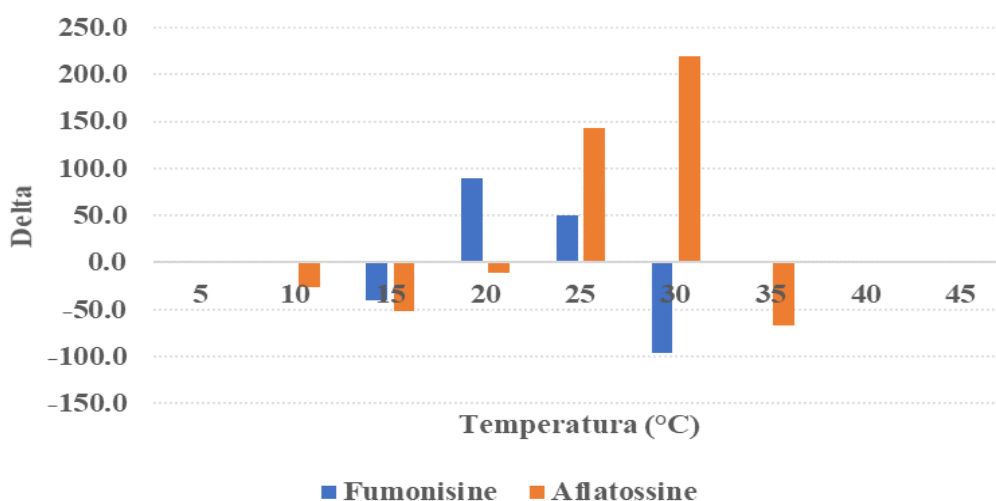
La temperatura più bassa a cui è stato possibile osservare la produzione di fumonisine da parte di *F. verticillioides* è stata 15°C sia in inoculo singolo che in co-inoculo, mentre la temperatura più alta a cui è stato possibile osservare la produzione di fumonisine è stata 35° in inoculo singolo e 30°C in co-inoculo (**tabella 4**).

**Tabella 4.** Dati di produzione di fumonisine da parte di *F. verticillioides* (in ppb e in ng) inoculato *in vitro*, con inoculo singolo ed in co-inoculo con *A. flavus*, incubato a diverse temperature (T = 5-45°C) per 21 giorni. È stato calcolato il delta di produzione di fumonisine tra inoculo singolo e co-inoculo, successivamente standardizzato in funzione del valore massimo di produzione di tossine osservato.

T	Inoculo singolo		Co-inoculo		Delta su inoculo		Delta STD su max
	FBs_ppb	FBs ng	FBs_ppb	FBs ng	FBs_ppb	Fbs ng	Fbs_ppb
5	0.0	0.0	0.0	0.0			
10	0.0	0.0	0.0	0.0			
15	23075.0	303747.4	38784.5	319947.9	-40.5	-5.1	-0.4

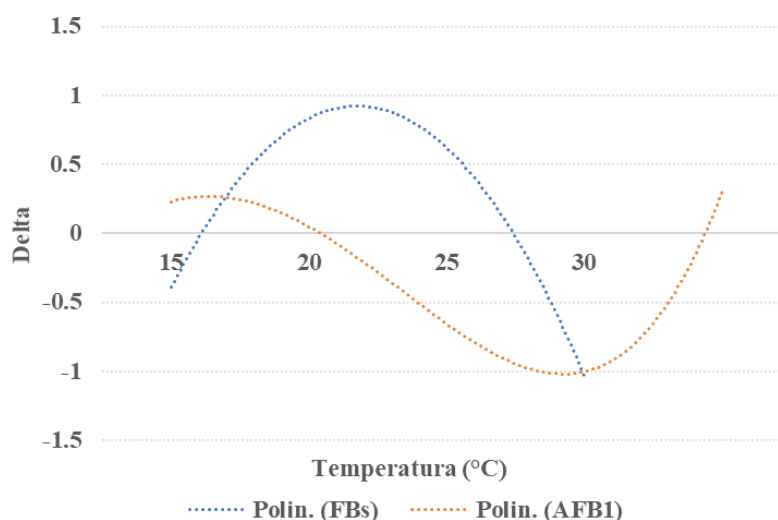
20	338944.0	5147499.6	178469.0	1258495.9	89.9	309.0	0.9
25	239436.0	3859500.8	159005.5	808998.4	50.6	377.1	0.5
30	1023.0	7593.7	29611.0	227182.8	-96.5	-96.7	-1.0
35	314.5	3877.5	0.0	0.0			
40	0.0	0.0	0.0	0.0			
45	0.0	0.0	0.0	0.0			

Dal rapporto dei valori di produzione di tossine con inoculo singolo e co-inoculo ad ogni step di temperatura, è stato calcolato un valore delta espresso sia in ppb che in ng. Il calcolo del valore delta è stato riportato anche in grafico (**figura 3**), dal quale si comprende come la produzione di micotossine vari in funzione della temperatura: quando il valore di delta è positivo significa che il fungo produce più tossine quando è in inoculo singolo; viceversa, quando il valore è negativo il fungo produce più tossine quando è in co-inoculo, analogamente a quanto illustrato per la crescita.



**Figura 3** – Valori di delta della produzione di fumonisine e aflatossine a differenti temperature: quando il valore è positivo significa che il fungo produce più tossine quando è in inoculo singolo; viceversa, quando il valore è negativo il fungo produce più tossine quando è in co-inoculo.

Dai valori di delta sono stati ottenuti i valori di delta standardizzato dividendo un valore osservato ad una determinata temperatura per il valore in cui il fungo ha prodotto la quantità maggiore di micotossine. Questi valori sono stati utilizzati poi per l'interpolazione di una funzione polinomiale con una bontà di adattamento dei dati stimata ( $R^2$ ) > 0.70.



**Figura 4** – Funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla produzione di aflatossine da parte di *A. flavus* (AFB<sub>1</sub>) e la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla produzione di fumonisine da parte di *F. verticillioides* (FBs), in base alla temperatura (°C).

Nella **figura 4** si osserva la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla produzione di aflatossine da parte di *A. flavus* (in inoculo singolo ed in co-inoculo) ed il corrispondente valore di  $R^2 = 0.74$  e la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla produzione di fumonisine da parte di *F. verticillioides* (in inoculo singolo ed in co-inoculo) ed il corrispondente valore di  $R^2 = 1$ .

Nello specifico, le equazioni relative al tasso di produzione di tossine da parte dei funghi considerando l'interazione in funzione della temperatura sono le seguenti:

$$AFB_1(T) = 0.017 x^4 - 0.0223 x^3 - 0.552 x^2 + 1.3767 x - 0.5873 \text{ (Eq. 3)}$$

$$FBs(T) = -0.7187 x^2 + 3.3787 x - 3.0474 \text{ (Eq. 4)}$$

### **Elaborazione dell'interazione fungina in funzione dell'attività dell'acqua**

#### **A. flavus e F. verticillioides: crescita**

Sono stati elaborati i dati di crescita di *A. flavus* e di *F. verticillioides* in funzione dell'attività dell'acqua. Le specie fungine sono state trattate in inoculo singolo ed in co-inoculo. La **tabella 5** e la **tabella 6** mostrano le differenze di crescita fungina con inoculo singolo e con co-inoculo ai diversi valori di attività dell'acqua.

Al valore di attività dell'acqua di 0.90 è stata osservata la crescita minore per quanto riguarda *A. flavus* in inoculo singolo e la crescita maggiore per quanto riguarda il co-inoculo con *F. verticillioides*, mentre ai valori >0.90 è stata osservata la crescita maggiore di *A. flavus* in inoculo singolo e al valore di 0.99 è stata rilevata la crescita minore per quanto riguarda il co-inoculo (**tabella 5**).



**Tabella 5.** Dati di crescita di *A. flavus* (diametro medio delle colonie) inoculato *in vitro* con inoculo singolo ed in co-inoculo con *F. verticillioides*, incubato a diversi valori di attività dell'acqua ( $a_w = 0.90-0.99$ ) per 21 giorni. È stato calcolato il delta di crescita tra inoculo singolo e co-inoculo, successivamente standardizzato in funzione del valore massimo di crescita osservato.

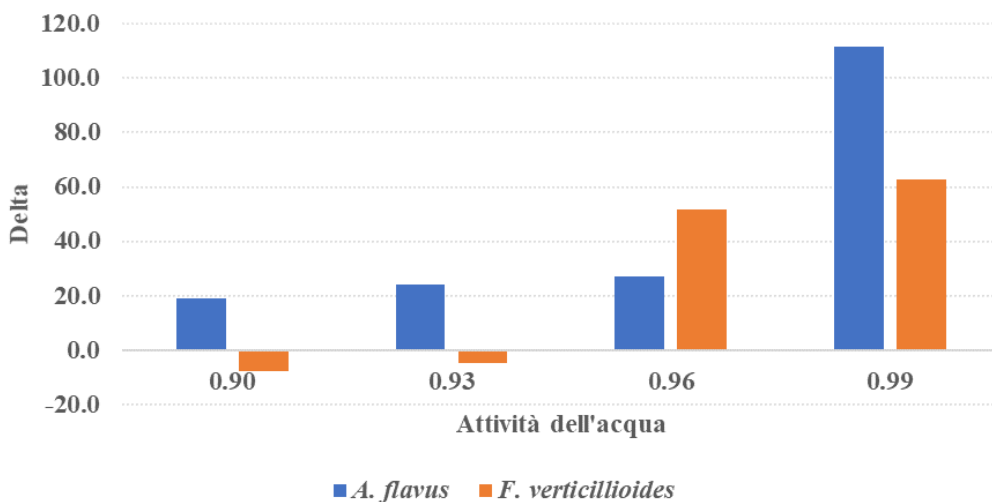
	Inoculo singolo	Co-inoculo	Delta su inoculo	Delta STD su max
$a_w$	AF_dm	AF_dm	AF_grw	
0.90	82.3	69.2	19.0	-0.2
0.93	85.0	68.5	24.1	-0.2
0.96	85.0	66.8	27.2	-0.2
0.99	85.0	40.2	111.6	-1.0

Al valore di attività dell'acqua di 0.90 è stato possibile osservare la crescita minore di *F. verticillioides* in inoculo singolo ed in co-inoculo con *A. flavus*, mentre al valore di 0.99 è stata individuata la crescita maggiore di *F. verticillioides* sia in inoculo singolo che in co-inoculo (**tabella 6**).

**Tabella 6.** Dati di crescita di *F. verticillioides* (diametro medio delle colonie) inoculato *in vitro* con inoculo singolo ed in co-inoculo con *A. flavus*, incubato a diversi valori di attività dell'acqua ( $a_w = 0.90-0.99$ ) per 21 giorni. È stato calcolato il delta di crescita tra inoculo singolo e co-inoculo, successivamente standardizzato in funzione del valore massimo di crescita osservato.

	Inoculo singolo	Co-inoculo	Delta su inoculo	Delta STD su max
$a_w$	FV_dm	FV_dm	FV_grw	
0.90	20.5	22.2	-7.5	0.1
0.93	28.5	29.8	-4.5	0.1
0.96	73.3	48.3	51.7	-0.8
0.99	85.0	52.2	62.9	-1.0

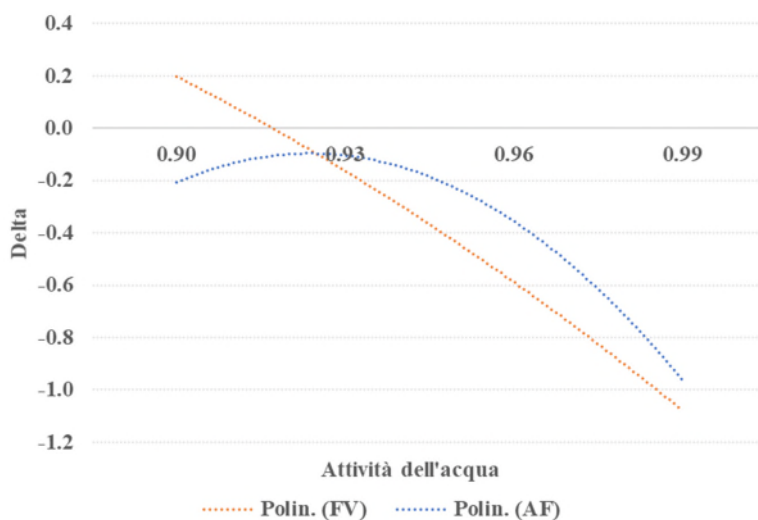
Dai valori di crescita in inoculo singolo ed in co-inoculo, ad ogni step di attività dell'acqua, è stato calcolato un valore delta, la differenza di crescita nelle due condizioni considerate. Il calcolo del valore delta è stato riportato anche in grafico (**figura 5**), dal quale si comprende come la crescita fungina vari in funzione dell'attività dell'acqua: quando il valore di delta è positivo significa che il fungo cresce di più quando è in inoculo singolo; viceversa, quando il valore è negativo il fungo cresce di più quando è in co-inoculo.



**Figura 5** – Valori di delta di *A. flavus* e *F. verticillioides* a differenti misure di attività dell’acqua: il valore positivo indica che il fungo cresce di più quando è in inoculo singolo; viceversa, quando il valore è negativo il fungo cresce di più quando è in co-inoculo con l’altra specie.

I valori delle differenze sono stati standardizzati dividendo ciascun dato osservato per il valore di crescita massimo. Questi valori sono stati utilizzati poi per l’interpolazione di una funzione polinomiale con una bontà di adattamento dei dati stimata ( $R^2$ ) > 0.70.

Nella **figura 6** si osserva la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla crescita di *A. flavus* (in inoculo singolo ed in co-inoculo) ed il corrispondente valore di  $R^2 = 0.94$  e la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla crescita di *F. verticillioides* (in inoculo singolo ed in co-inoculo) ed il corrispondente valore di  $R^2 = 0.88$ .



**Figura 6** - Funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla crescita di *A. flavus* (AF) e la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta

standardizzato ottenuti dalla crescita di *F. verticillioides* (FV), in base ai diversi valori di attività dell'acqua.

Nello specifico, le equazioni relative al tasso di crescita dei funghi considerando l'interazione in funzione dell'attività dell'acqua sono le seguenti:

$$AF(a_w) = -0.1778 x^2 + 0.6374 x - 0.6675 \text{ (Eq. 5)}$$

$$FV(a_w) = -0.0324 x^2 - 0.2629 x + 0.4928 \text{ (Eq. 6)}$$

#### **A. flavus e F. verticillioides: tossine**

È stata considerata la produzione di tossine da parte di *A. flavus* e *F. verticillioides* in funzione dell'attività dell'acqua. Le specie fungine sono state trattate in inoculo singolo ed in co-inoculo e le rispettive tossine sono state quantificate in ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e in ng, ovvero come concentrazione e come quantità totale di tossina prodotta dalla colonia. La **tabella 7** e la **tabella 8** mostrano le differenze di produzione di micotossine da parte dei due funghi in inoculo singolo ed in co-inoculo ai diversi valori di attività dell'acqua. Al valore di attività dell'acqua di 0.96 è stato possibile osservare la produzione minore di aflatossine da parte di *A. flavus* in inoculo singolo e la maggior produzione di tossine in co-inoculo con *F. verticillioides*, mentre al valore di 0.93 è stata rilevata la produzione maggiore di aflatossine in inoculo singolo e al valore di 0.90 è stata osservata la produzione minore di aflatossine in co-inoculo (**tabella 7**).

**Tabella 7.** Dati di produzione di aflatossine da parte di *A. flavus* (in ppb e in ng) inoculato *in vitro*, con inoculo singolo ed in co-inoculo con *F. verticillioides*, incubato a diversi valori di attività dell'acqua ( $a_w = 0.90-0.99$ ) per 21 giorni. È stato calcolato il delta di produzione di aflatossine tra inoculo singolo e co-inoculo, successivamente standardizzato in funzione del valore massimo di produzione di tossine osservato.

$a_w$	Inoculo singolo		Co-inoculo		Delta su inoculo		Delta STD su max
	AFB <sub>1</sub> _ppb	AFB <sub>1</sub> ng	AFB <sub>1</sub> _ppb	AFB <sub>1</sub> ng	AFB <sub>1</sub> _ppb	AFB <sub>1</sub> ng	AFB <sub>1</sub> _ppb
0.90	6785.8	120745.0	7377.0	113274.5	-8.0	6.6	0.1
0.93	20428.0	303889.0	8336.5	127750.0	145.0	137.9	-1.0
0.96	3615.0	52870.0	19559.0	300716.5	-81.5	-82.4	0.6
0.99	3692.7	203613.5	14025.0	185422.5	-73.7	9.8	0.5

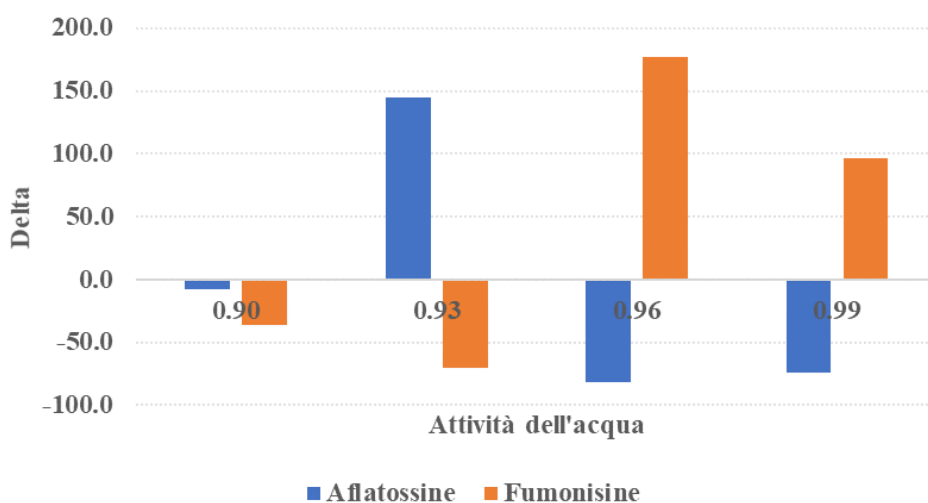
Al valore di attività dell'acqua di 0.90 è stata osservata la produzione minore di fumonisine da parte di *F. verticillioides* sia in inoculo singolo che in co-inoculo con *A. flavus*, mentre al valore di 0.99 è stata rilevata la produzione maggiore di fumonisine sia in inoculo singolo che in co-inoculo (**tabella 8**).

**Tabella 8.** Dati di produzione di fumonisine da parte di *F. verticillioides* (in ppb e in ng) inoculato *in vitro*, con inoculo singolo ed in co-inoculo con *A. flavus*, incubato a diversi valori di attività

dell'acqua ( $a_w = 0.90-0.99$ ) per 21 giorni. È stato calcolato il delta di produzione di fumonisine tra inoculo singolo e co-inoculo, successivamente standardizzato in funzione del valore massimo di produzione di tossine osservato.

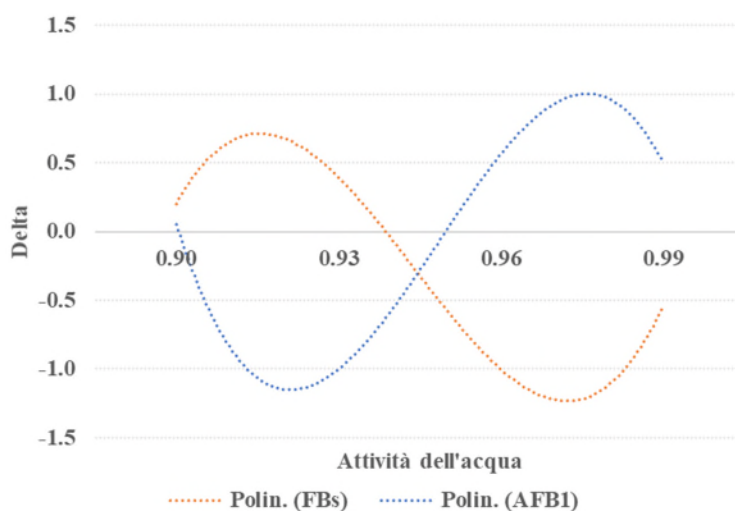
$a_w$	Inoculo singolo		Co-inoculo		Delta su inoculo		Delta STD su max
	FBs_ppb	FBs ng	FBs_ppb	FBs ng	FBs_ppb	FBs ng	FBs_ppb
0.90	8.0	114.5	12.5	190.5	-36.0	-39.9	0.2
0.93	16.9	223.5	56.1	862.5	-69.9	-74.1	0.4
0.96	877.5	14306.0	317.2	4444.0	176.6	221.9	-1.0
0.99	9808.0	119142.0	4996.5	49986.0	96.3	138.4	-0.5

Dai valori di produzione di tossine con inoculo singolo e co-inoculo ad ogni step di attività dell'acqua, è stato calcolato un valore delta espresso sia in ppb che in ng. Il calcolo del valore delta è stato riportato anche in un grafico (**figura 7**), dal quale si comprende come la produzione di micotossine vari in funzione dell'attività dell'acqua: quando il valore di delta è positivo significa che il fungo produce più tossine quando è in inoculo singolo; viceversa, quando il valore è negativo il fungo produce più tossine quando è in co-inoculo, analogamente a quanto illustrato per la crescita.



**Figura 7** - Valori di delta della produzione di aflatossine e fumonisine a differenti misure di attività dell'acqua: quando il valore è positivo significa che il fungo produce più tossine quando è in inoculo singolo; viceversa, quando il valore è negativo il fungo produce più tossine quando è in co-inoculo.

Dai valori di delta sono stati ottenuti i valori di delta standardizzato dividendo un valore osservato ad una determinata attività dell'acqua per il valore in cui il fungo ha prodotto la quantità maggiore di micotossine. Questi valori sono stati utilizzati poi per l'interpolazione di una funzione polinomiale con una bontà di adattamento dei dati stimata ( $R^2 > 0.70$ ).



**Figura 8** - Funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla produzione di aflatossine da parte di *A. flavus* (AFB<sub>1</sub>) e la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla produzione di fumonisine da parte di *F. verticillioides* (FBs), in base ai diversi valori di attività dell'acqua.

Nella **figura 8** si osserva la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla produzione di aflatossine da parte di *A. flavus* (in inoculo singolo ed in co-inoculo) ed il corrispondente valore di  $R^2 = 1$  e la funzione polinomiale interpolata utilizzando i dati di delta standardizzato ottenuti dalla produzione di fumonisine da parte di *F. verticillioides* (in inoculo singolo ed in co-inoculo) ed il corrispondente valore di  $R^2 = 1$ .

Nello specifico, le equazioni relative al tasso di produzione di tossine da parte dei funghi considerando l'interazione in funzione dell'attività dell'acqua sono le seguenti:

$$AFB_1(a_w) = -0.7056 x^3 + 5.542 x^2 - 12.742 x + 7.9612 \text{ (Eq. 7)}$$

$$FBs(a_w) = -0.5731 x^3 - 4.2329 x^2 + 8.8788 x - 5.0152 \text{ (Eq. 8)}$$

#### ***Dalla elaborazione delle funzioni al modello congiunto TOX-maize***

Per tener conto dell'interazione tra i funghi oggetto di studio, sono stati considerati i modelli AFLA-maize (Battilani *et al.*, 2013) e FER-maize (Battilani *et al.*, 2003) che lavorano su singolo pato-sistema, ed è stato modificato per entrambi parte dell'algoritmo per considerare l'interazione tra *A. flavus* e *F. verticillioides*.

Le modifiche sono state effettuate in particolare nel blocco del modello che tiene conto della crescita del fungo e nel blocco inerente alla produzione di tossine (AFB<sub>1</sub> in AFLA-maize e FBs in FER-maize) in funzione della temperatura e dell'attività dell'acqua.

Le funzioni inserite sono le Eq. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8.

### **Validazione**

I dati meteorologici raccolti sono stati utilizzati come input del modello previsionale TOX-maize, al fine di ottenere i nuovi indici di rischio.

I nuovi indici del modello TOX-maize sono stati poi confrontati con i dati di monitoraggio relativi al quantitativo di micotossine misurate nel mais (AFB<sub>1</sub> e FBs).

Confrontando l'indice del modello con un valore osservato (cioè un valore che esprime il superamento della soglia di contaminazione, 5 ppb per AFB<sub>1</sub> e 4000 ppb per FBs), sono state ottenute delle tabelle di contingenza (o matrici di confusione). Le tabelle di contingenza consentono di definire la capacità previsionale del modello.

La **tabella 9** si riferisce alla previsione della contaminazione da AFB<sub>1</sub>, mentre la **tabella 10** si riferisce alla previsione della contaminazione da FBs, entrambe eseguite con modello TOX-maize. Queste tabelle a doppia-entrata confrontano le concentrazioni di micotossine osservate con le concentrazioni previste dal modello.

Nel dataset esistono campioni con un livello di contaminazione inferiore o superiore al valore soglia (5 e 4000 ppb) e il modello può prevederli in due modi: non contaminati (< 5; < 4000 ppb), oppure contaminati (> 5; > 4000 ppb). Se i dati osservati inferiori o superiori al valore soglia sono anche previsti dal modello come inferiori o superiori a tale valore, le osservazioni sono in accordo con le previsioni e la predizione risulta corretta.

Per le previsioni al di sotto del valore soglia, il modello ha previsto correttamente campioni non contaminati per il 68% nel caso di AFB<sub>1</sub> e per il 60% nel caso di FBs. In modo analogo, per le previsioni al di sopra del valore soglia, il modello è stato in grado di prevedere correttamente campioni contaminati per lo 0% nel caso di AFB<sub>1</sub> e per il 12% nel caso di FBs.

Per quanto riguarda l'errore del modello, sono presenti un errore di tipo 1 e un errore di tipo 2 (che si riferiscono ad una sovrastima e una sottostima). Per sovrastima si intende che il modello stimi un campione come contaminato, ma che nella realtà non lo sia. Le sovrastime sono state lo 0% nel caso di AFB<sub>1</sub> e il 2% nel caso di FBs. Per sottostima si intende, invece, che il modello stimi un campione come non contaminato, ma che nella realtà lo sia. Il modello sottostima nel 32% dei casi per AFB<sub>1</sub> e nel 26% dei casi per FBs. La sottostima è un errore grave, che bisogna sempre cercare di non commettere.

L'efficienza, cioè la capacità predittiva del modello in termini di osservazioni corrette, si considera buona quando intorno al 70%.

L'efficienza del modello, che si riferisce a tutte le previsioni corrette, nel caso della previsione di AFB<sub>1</sub> è uguale a 68% (68 + 0%), mentre nel caso della previsione di FBs è uguale a 72% (60 + 12%). Questo significa che il modello nel 68% e nel 72% dei casi ha effettuato previsioni corrette.

**Tabella 9.** Previsione della contaminazione da AFB<sub>1</sub> tramite modello TOX-maize espressa in percentuale in una tabella di contingenza.

Previsione per la concentrazione di AFB <sub>1</sub> relative al valore soglia (ppb)		
Concentrazione di AFB <sub>1</sub> osservata (ppb)	< 5	> 5
< 5	68%	0%
> 5	32%	0%

**Tabella 10.** Previsione della contaminazione da FBs tramite modello TOX-maize espressa in percentuale in una tabella di contingenza.

Previsione per la concentrazione di FBs relative al valore soglia (ppb)		
Concentrazione di FBs osservata (ppb)	< 4000	> 4000
< 4000	60%	2%
> 4000	26%	12%

Quello che si vuole ottenere è la riduzione degli errori del modello e l'aumento dell'efficienza predittiva. L'elaborazione dei dati raccolti nelle prove svolte sia *in vitro* che in campo hanno permesso di ottenere funzioni da integrare nel modello previsionale. I risultati ottenuti non sono però pienamente soddisfacenti in quanto pur essendo la percentuale di stime corrette intorno al 70%, considerata come buon risultato, in realtà vi è una quota di sottostima che necessita di esser migliorata.

Lo sviluppo di un modello congiunto, ovvero di un modello in grado di tenere conto dell'interazione tra funghi, si è dimostrato molto difficile da realizzare. In particolare, i dati ottenuti dalle prove *in vitro* mostrano spesso andamenti differenti rispetto alle prove di campo. Considerato che gli algoritmi sono sempre sviluppati sulla base di prove *in vitro*, mentre la validazione è sempre eseguita con dati di campo, è comprensibile come questo risultato non sia pienamente soddisfacente.

*Bibliografia citata:*

- Camardo Leggieri M., Giorni P., Pietri A., Battilani P. *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides* interaction: modeling the impact on mycotoxin production. *Frontiers in Microbiology*, 2019 10:2653. doi: 10.3389/fmicb.2019.02653
- Giorni P., Bertuzzi T., Battilani P. Impact of Fungi co-occurrence on mycotoxin contamination in maize during the growing Season. *Frontiers in Microbiology*, 2019. 10:1265. doi: 10.3389/fmicb.2019.01265

**Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate**

Gli obiettivi del piano sono stati raggiunti e non sono state rilevate criticità.

**Attività ancora da realizzare**

-



## **AZIONE 3.2 - MONITORAGGIO E ANALISI MICOTOSSINE PER LA SALUTE DEL CONSUMATORE**

**Unità aziendale responsabile (Uar): Di.Pro.VE.S – UCSC Piacenza**

Partecipano all'attività: Ri.Nova, Grandi Colture Italiane

### **Descrizione attività**

Il mais è ospite idoneo per l'infezione da parte di diversi funghi micotossigeni, tra i quali ha assunto grande rilevanza negli ultimi anni *A. flavus*, produttore di aflatossine. In particolare, l'aflatossina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) è classificata dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) come accertata cancerogena per l'uomo. Sulla spiga del mais si possono sviluppare anche diverse specie del genere *Fusarium*, principalmente *F. verticillioides*, *F. proliferatum* e *F. graminearum*, produttori di fumonisine i primi, tricoteceni e zearalenone l'ultimo. I funghi micotossigeni hanno esigenze ecologiche differenti, pertanto, la specie dominante e la conseguente contaminazione da micotossine nella granella, possono cambiare sensibilmente in relazione all'annata agraria e alla zona di coltivazione.

Nel corso del biennio 2020 e 2021, Ri.Nova ha organizzato e gestito un'attività di monitoraggio sul territorio regionale con il supporto operativo di Grandi Colture Italiane, che ha fornito circa una metà dei campioni e di altre strutture di conferimento e stoccaggio ed Enti che si sono resi disponibili (Consorzio Agrario Terrepadane, Consorzi Agrari d'Italia, Consorzio Agrario di Ravenna, Terremerse, Consorzio Fitosanitario di Modena e Reggio Emilia, Consorzio Fitosanitario di Piacenza). I campioni raccolti provengono pertanto dall'intero territorio regionale ed hanno una più alta numerosità nelle Province a maggiore vocazione maidicola (nell'ordine FE, PC, BO, MO, RE, RA, PR). Ogni campione di granella, prelevato generalmente al momento dello scarico nel centro di conferimento, pertanto prima di essere sottoposto alle operazioni di pulitura e selezione, era corredato di una scheda agronomica che riportava, oltre alla localizzazione del campo, le principali tecniche colturali adottate (ibrido, classe FAO, tipo terreno, precessione, semina su sodo, data semina, data emissione sete, data di raccolta, umidità granella alla raccolta, danni da piralide o avversità meteorologiche, volume irriguo distribuito). I campioni sono poi stati conferiti ad UCSC per le analisi del contenuto di aflatossine e fumonisine nella granella con metodi analitici classici (HPLC).

In totale sono stati raccolti 101 campioni, 53 nel 2020 e 48 nel 2021. Il 4% dei campioni è risultato positivo per AFB<sub>1</sub> e il 14% per FB nel 2020, entrambi al di sopra del limite legale, mentre nel 2021 tali percentuali sono state rispettivamente dell'8% e del 20% (**Tabella 11**).

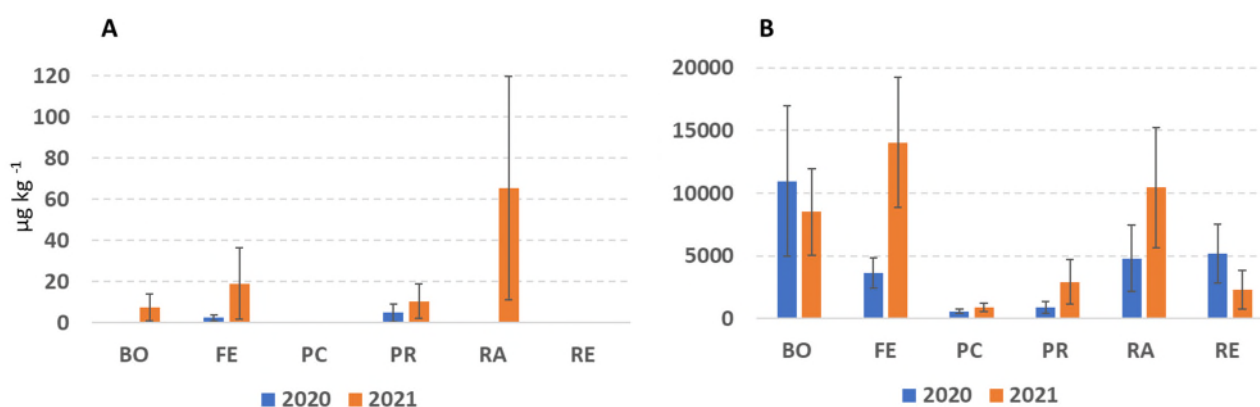
La contaminazione da micotossine nel 2021 è stata più elevata rispetto a quella rilevata nel 2020 sia per AFB<sub>1</sub> che per FB, infatti, la contaminazione media di AFB<sub>1</sub> è stata di 28,68 µg/kg nel 2021 e di 1.3 µg/kg nel 2020, mentre, per quanto riguarda le FB, le contaminazioni medie sono state rispettivamente di 9666.2 µg/kg e 4220.2 µg/kg nel 2021 e nel 2020.

Nel periodo considerato (2020-2021), la provincia con la più alta contaminazione da AFB<sub>1</sub> è stata Ravenna, con una media di 322.7 µg kg<sup>-1</sup> (compresa tra LOD e 850 µg/kg). Tuttavia, sono state riscontrate differenze tra i due anni: infatti, nel 2020 Ravenna aveva il valore medio più basso (<

LOD), mentre l'anno successivo ha avuto una contaminazione media di 65.4 µg/kg (**Figura 9**). La seconda provincia più contaminata nel periodo 2020-2021 è stata Ferrara, con una media di 10.1 µg/kg (2.3 e 18.9 µg/kg rispettivamente nel 2020 e nel 2021) e con la percentuale più alta di campioni positivi (5%), seguita da Parma e Bologna. Reggio Emilia e Piacenza hanno avuto il valore medio più basso (<LOD) in entrambi gli anni considerati. I campioni provenienti dalla provincia di Piacenza hanno presentato anche la quantità media più bassa di FBs, pari a 732.3 µg/kg (LOD-1778.2 µg/kg), nessun campione oltre il limite di legge) nel periodo 2020-2021, mentre Parma è stata la seconda area meno contaminata, con 1662.5 µg/kg (LOD-7226 µg/kg, solo un campione positivo); valori più elevati sono stati rilevati in Reggio Emilia e Ravenna (rispettivamente 4236.3 e 4620.8 µg/kg). Inoltre, la contaminazione media più elevata è stata osservata nella provincia di Bologna (9626.9 µg/kg), mentre la seconda provincia più contaminata è stata Ferrara, con 8530.2 µg/kg (LOD-89148 µg/kg, il valore di contaminazione più elevato rilevato), con la percentuale più alta di campioni positivi (14%); tuttavia, la contaminazione di Ferrara nel 2021 è stata superiore rispetto all'anno precedente (rispettivamente 14024.6 e 3614.1 µg/kg).

**Tabella 11.** Principali statistiche descrittive del contenuto di aflatossine e fumonisine (µg/kg) dei campioni ricevuti nei due anni oggetto di studio.

	Anno	Media±StDev	Positivi (%)	Minimo	Massimo
<b>AFB<sub>1</sub></b>	2020	1.3±4.93	4	<LOD	24.0
	2021	28.7±129.34	8	<LOD	850.0
<b>FBs</b>	2020	4220.2±8145.57	14	<LOD	42139.1
	2021	9666.2±17459.81	20	<LOD	89148.0



**Figura 9.** Valori medi di contaminazione (µg/kg) da (A) AFB<sub>1</sub> e (B) FBs (inteso come somma di FB<sub>1</sub> + FB<sub>2</sub>) nelle diverse province di campionamento (Bologna BO, Ferrara FE, Piacenza PC, Parma PR, Ravenna e Reggio Emilia RE) nei due anni di campionamento.

**Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate**

Non si sono riscontrate criticità, il piano di lavoro si è sviluppato come previsto e sono stati raggiunti gli obiettivi previsti.

**Attività ancora da realizzare**

-

## **AZIONE 3.3 - IMPLEMENTAZIONE SUL SISTEMA GIAS DELLA PIATTAFORMA INFORMATIVA E AUTOMATIZZAZIONE PREVISIONI**

### **Unità aziendale responsabile (Uar): Agronica Group**

Partecipano all'attività: Di.Pro.VE.S – UCSC Piacenza, Ri.Nova, Grandi Colture Italiane, aziende agricole

### **Descrizione attività**

#### Prodotti attesi dell'azione

1. Procedure di automazione delle previsioni di contaminazione per i modelli Maize-tox e FHB-wheat (paragrafo 4 e 7)
2. Archiviazione in piattaforma database completo dati tecniche colturali applicate su mais (paragrafo 2)
3. Immagini satellitari acquisite e riferite a due aziende agricole test del territorio (paragrafo 5.)
4. Indici vegetativi e di stress idrico e notifiche IRRINET per le aziende coinvolte (paragrafo 6.)
5. Risultati test di collaudo operatività piattaforma informatizzata (paragrafo 2)
6. Bollettini di previsione di rischio di contaminazione da micotossine su frumento e mais sulla base dati meteo per due annualità (paragrafo 3)
7. Mappe di rischio di contaminazione da micotossine per mais per i partecipanti al GOI (paragrafo 8)

#### Implementazione della piattaforma e profilazione degli accessi (prodotto atteso 5 e 2)

La piattaforma è stata implementata per consentirne l'impiego a due tipologie di utente, a cui corrispondono diversi tipi di output e di modalità gestionali al proprio interno:

- Utente ricercatore UCSC:
  - Tale utente ha accesso a tutte le tipologie di output previsti: grafici/tabelle e mappe, ma anche alle parametrizzazioni e tarature delle variabili proprie dell'algoritmo del modello al fine poterli tarare in corso d'opera ed effettuare simulazioni continue su casi di studio. L'utente ha quindi la possibilità anche in itinere di incidere sui risultati stessi del modello senza dover necessariamente modificare il codice sorgente o le formule stesse del modello a basso livello.
- Utente tecnico/agricoltore come potenziale utente degli output dei modelli validati:
  - Tale tipo di utente potrà accedere ad un output dei modelli di alto-livello e comunque solo previa validazione di primo livello da parte dei ricercatori del pool universitario. Gli output disponibili sono visualizzati come WIDGET che rappresentano graficamente degli indicatori a 3 classi: rischio Basso/Medio/alto (vedi **Figura 1111**). Anche questo tipo di utente può approfondire l'analisi e la consultazione dell'output visualizzando i dati tabellari e grafici (vedi **Figura 13**).

La piattaforma consente di eseguire in automatico le previsioni di rischio di contaminazione, utilizzando i dati meteorologici come input e tenendo conto di possibili scenari in merito alle tecniche colturali applicate sul campo, integrando quindi le tecniche di *Machine Learning* sviluppate nell’Azione 3.4. Nel secondo caso consente quindi di eseguire stime di rischio micotossine personalizzate per operatori che inseriscano nel sistema i propri dati aziendali.

Nel corso del biennio 2021 e 2022 si sono svolti i test di collaudo della piattaforma e dell’automatizzazione delle previsioni di rischio basate su dati meteo (2021 e 2022) e su dati agronomici (2022) attraverso l’operatività delle imprese agricole coinvolte.

In particolare, la OP Grandi Colture Italiane ha effettuato nel corso delle due stagioni maidicole citate, una serie di accessi alla piattaforma per eseguire, in autonomia, le simulazioni riguardanti i territori di proprio interesse (Ferrara, Ravenna e Bologna, bacino di utenza dell’Organizzazione dei Produttori in Regione).

Quando poi nel 2022 si è reso disponibile anche il servizio di DSS (meteo+agronomia), la stessa OP ha testato tale sistema simulando diverse combinazioni di tecnica colturale per verificarne il livello di rischio.

A scopo di test, la piattaforma è stata inoltre popolata con i dati relativi alle due aziende agricole partner del progetto importando i rispettivi fascicoli aziendali: Azienda Agricola Zaghi Maurizio e Società Agricola Delta s.s. Sono inoltre state raccolte le informazioni sulle tecniche colturali impiegate su mais di aziende agricole clienti GIAS che hanno dato la disponibilità a condividere questo tipo di informazioni.

Le simulazioni con il DSS sono state svolte, infine, su tutti e 101 i casi relativi all’attività di campionamento realizzata nell’azione 3.2, al fine di testarne il grado di efficacia (vedi risultati azione 3.4).

#### Implementazione dati meteorologici (prodotto atteso 6.)

Per poter riuscire ad automatizzare le elaborazioni dei modelli previsionali *maize-tox* su frequenze alte e territorialità estesa, sono state realizzate delle procedure di importazione dei dati quotidiani dei quadranti meteo di ARPAE. Una volta importati in maniera automatizzata, i dati meteo vengono normalizzati e validati e quindi resi disponibili per l’alimentazione dei modelli *maize-tox* e del DSS irrigazione. Lo scenario metodologico e di archiviazione implementato è riportato in **Figura 10**.

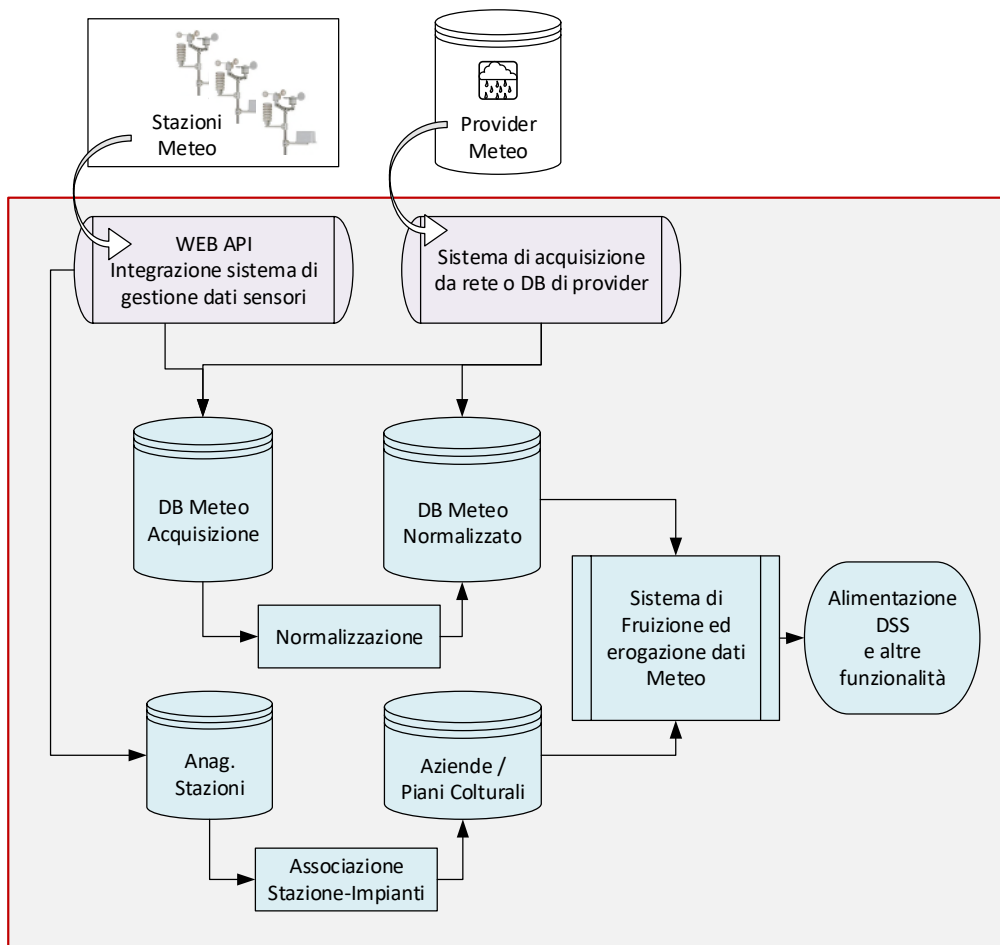


Figura 10. Architettura del sistema

#### Sviluppo e validazione dei modelli Maize-tox: AFLA e FER (prodotto atteso 1.)

Dopo lo sviluppo dei rispettivi algoritmi, nella piattaforma sono stati integrati i due modelli predittivi per valutare il rischio di micotossine:

- Micotossine AFLA Aflatossine Aspergillus flavus
- Micotossine FER Fumonisine Fusariosi Fusarium verticillioides

Sono state inoltre predisposte delle procedure di automazione dei *run* dei modelli che consentono di impostare delle combinazioni modello - quadrante meteo - data di emergenza. Questa automazione consente di ottenere una elevata numerosità di risultati in tempi brevi e quindi un più approfondito sviluppo degli algoritmi e una più ampia validazione dei risultati oltre che a rendere disponibili a tutti gli utenti della piattaforma i risultati in termini di livello di rischio infezione.

L'informazione viene fornita in modo sintetico tramite dei *widget* accessibili dalla *home page* come riportato in **Figura 1111** nella quale è possibile visualizzare in modo sinottico tutti i modelli difesa e le loro combinazioni.



Figura 11. Risultato sintetico dell'indice di rischio per combinazione impostata

È inoltre possibile visualizzare tutti i dati di dettaglio, tabellari e grafici, per ciascuna combinazione (modello-quadrante-data di emergenza) come riportato in **Figura 12 e 13** per il modello previsionale per le contaminazioni da Aflatossine - AFLA (*Aspergillus flavus*).

Figura 12. Interfaccia per la configurazione dei parametri di calcolo

Nell'interfaccia è possibile selezionare la stazione meteo, il periodo di elaborazione, la specie vegetale, la data di emergenza e il modello avversità.

Cliccando su “ELABORA MODELLO PREVISIONALE” si ottiene quanto sotto riportato:

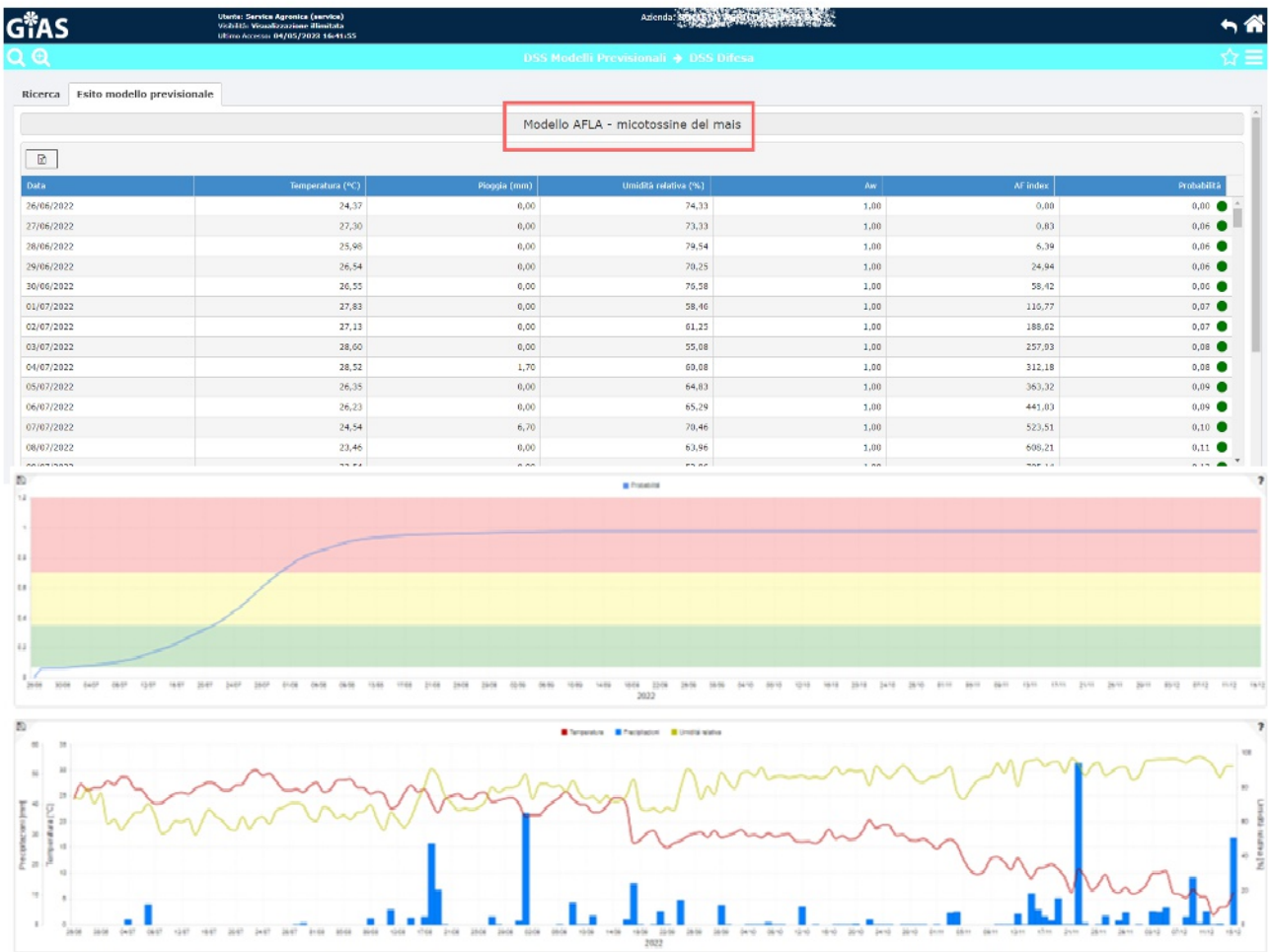


Figura 13. Output di dettaglio del modello AFLA-afatossine

Di seguito è riportata l’elaborazione del modello previsionale per valutare le contaminazioni di micotossine del mais, le fumonisine, Modello FER (Figura 14 e 15):

Figura 14. Interfaccia per la configurazione dei parametri di calcolo



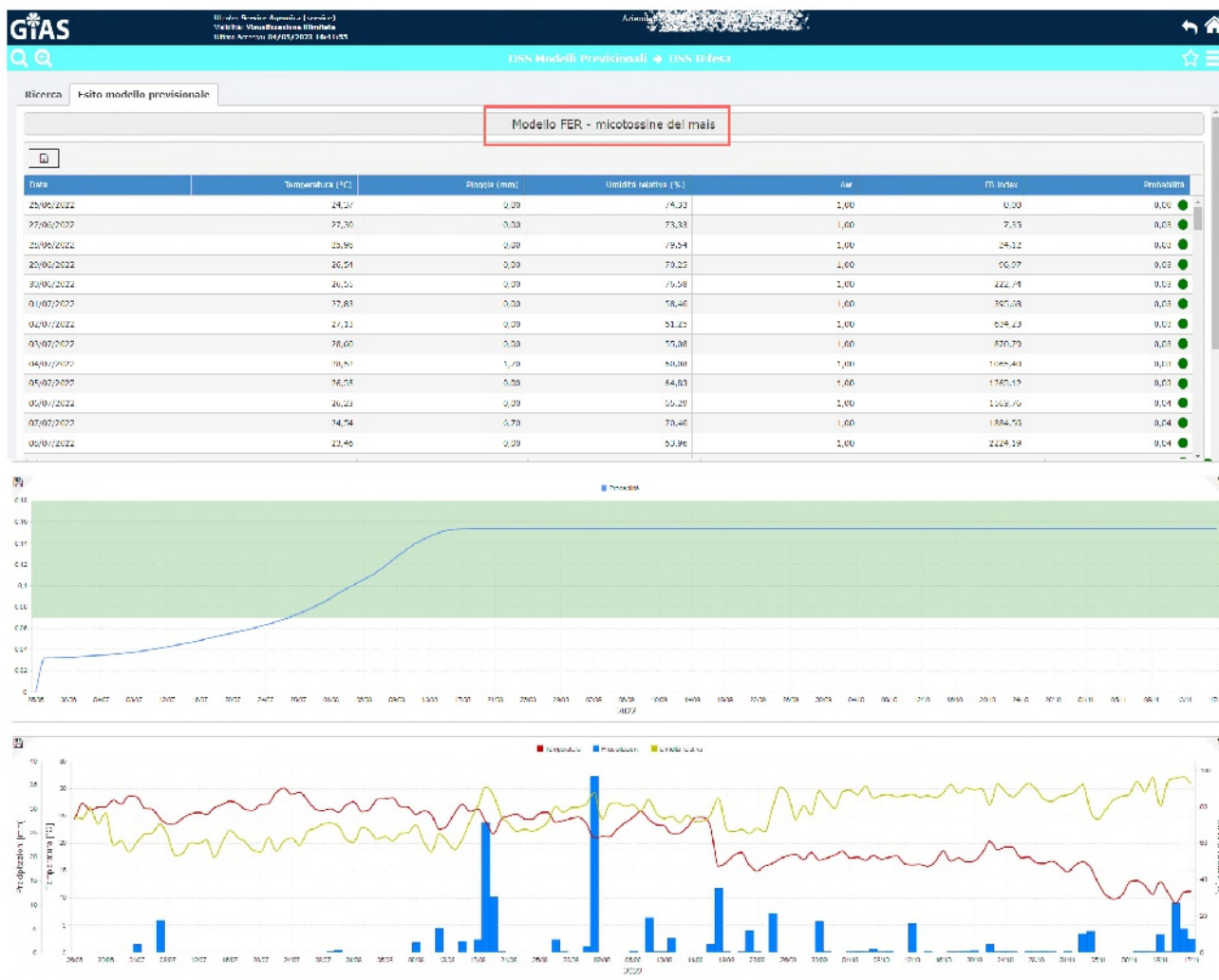


Figura 15. Output di dettaglio del modello FER-Fumonisine

### Integrazione dati satellitari (prodotto atteso 3.)

La piattaforma elabora in automatico gli indici vegetativi derivanti da immagini satellitari ad alta risoluzione prelevate dal *repository* dell'ESA e generate dal satellite europeo *Sentinel-2*. La piattaforma integra una infrastruttura hardware e software, opportunamente progettata e realizzata, per poter scaricare in modalità automatizzata le immagini satellitari "grezze" acquisite dai satelliti Sentinel-2, direttamente prelevate dal portale dell'ESA "Copernicus Land Monitoring Service". Queste immagini grezze vengono pre-elaborate, filtrate e archiviate storicizzandole per l'intero periodo necessario al monitoraggio degli appezzamenti oggetto degli studi. Sulla base delle immagini satellitari vengono elaborate mappe GIS di alcuni indici vegetazionali, in particolare NDVI (Figura 16).

In tal modo si potrà monitorare a diversi livelli di dettaglio (dall'appezzamento al territorio) le effettive condizioni di sviluppo delle colture, verificando eventuali condizioni di stress e contribuendo alla riduzione del rischio di contaminazione alla raccolta.

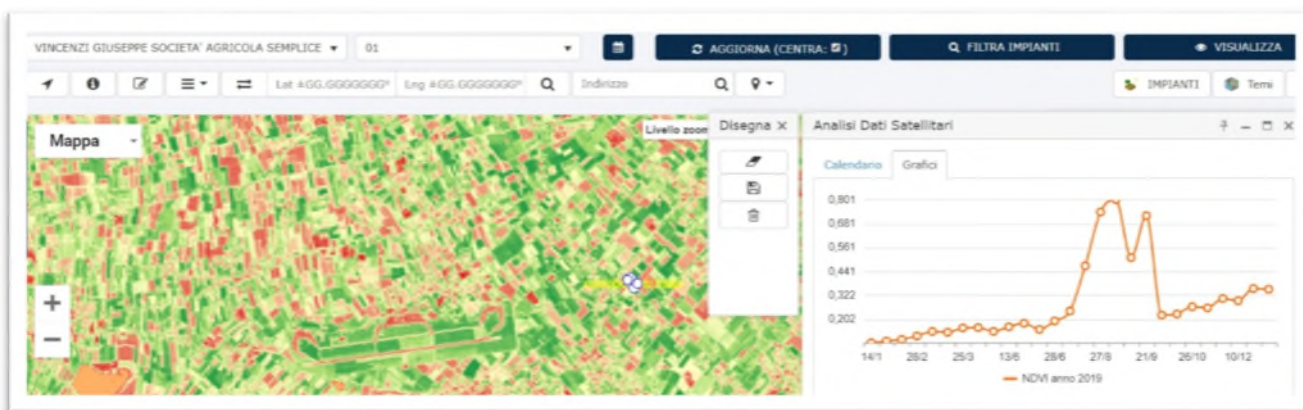


Figura 16. Mappe NDVI integrate nella piattaforma

#### Integrazione del DSS Irrigazione (prodotto atteso 4)

All'interno della piattaforma di "Service" sono stati sviluppati degli algoritmi in grado di interfacciarsi con le API (*Application Programming Interface*) esposte dal modello Irriframe sviluppato da ANBI (associazione dei Consorzi di Bonifica) e CER (Canale Emiliano Romagnolo), servizio di riferimento per l'assistenza irrigua in Regione Emilia-Romagna. L'interfacciamento con Irriframe è stato implementato mediante un driver di integrazione che chiama il modello passando i parametri specifici dell'appezzamento, gli eventuali dati da sensori aziendali (meteo e suolo) ed acquisendo le informazioni irrigue del modello su quando e quanto irrigare. Le informazioni ricevute da Irriframe sono visualizzate in un apposito sistema di interfacce utente (pagine). La prima pagina permette di visualizzare un *widget* con le informazioni sintetiche fondamentali: l'indicazione delle prossime irrigazioni da effettuare e il volume irriguo da applicare (**Figura 17**). Come si vede in figura è possibile utilizzare per il calcolo del bilancio idrico sia i dati da stazione meteo di proprietà (dati di prossimità) oppure quelli areali forniti da ARPAE (quadranti meteo). La seconda pagina, attivabile cliccando sul *widget*, mostra le informazioni dettagliate sul bilancio idrico ed eventualmente l'andamento dei dati sull'umidità del suolo da sensore (**Figura 18**).



Figura 17. DSS irrigazione interfaccia sintetica



Figura 18. Informazioni irrigue dettagliate

Allegato parte integrante - 1

Integrazione del modello Fusariosi Frumento (prodotto atteso 1)

Nella piattaforma di progetto è stato integrato anche l’algoritmo del modello *FHB-wheat* dell’UCSC.

All’utente abilitato viene richiesto di inserire i parametri per l’elaborazione del modello fusariosi del frumento e poi l’informazione viene fornita sia in forma tabellare che grafica come riportato nelle **figure 19, 20 e 21**.

The screenshot shows the GIAS web interface for configuring calculation parameters. The interface includes the following fields and options:

- Geocalizzazione:** DD, Lat: 40.0000000°, Long: 10.0000000°
- Categoria stazioni:** Quadranti Regione E.R.
- Stazione meteo:** ABBAZIA DI POIPOSA, Aggiornamento: 04/05/2023, Distanza non disponibile
- Periodo elaborazione:** 2022, 1 gennaio - 8 novembre
- Specie vegetale:** Grano duro
- Modello avvertità:** Modello fusariosi del frumento, Fusarium culmorum
- Data epigatura:** 1 maggio
- Button:** ELABORA MODELLO PREVISIONALE

Figura 19. Interfaccia per la configurazione dei parametri di calcolo

The screenshot shows the output of the FHB-wheat model in a tabular format. The table displays data for various dates from 01/01/2022 to 13/01/2022. The table is titled "Modello fusariosi del frumento".

Data	Temperatura (°C)	Umidità relativa (%)	Pioggia (mm)	Raggratura Regione	TOX Fg	TOX Fg	TOX Fg
01/01/2022	2.0	100.0	0.0	24	0.00	0.00	0.000
02/01/2022	1.5	99.8	0.0	24	0.00	0.00	0.000
03/01/2022	3.7	99.6	0.0	24	0.00	0.00	0.000
04/01/2022	5.8	99.3	0.0	24	0.00	0.00	0.000
05/01/2022	9.0	94.3	14.0	20	0.00	0.00	0.000
06/01/2022	6.3	83.7	7.5	11	0.00	0.00	0.000
07/01/2022	3.9	78.3	0.0	8	0.00	0.00	0.000
08/01/2022	0.7	83.4	0.0	14	0.00	0.00	0.000
09/01/2022	0.7	95.1	2.1	24	0.00	0.00	0.000
10/01/2022	3.2	91.0	0.0	19	0.00	0.00	0.000
11/01/2022	4.2	74.5	0.0	8	0.00	0.00	0.000
12/01/2022	4.8	62.1	0.0	0	0.00	0.00	0.000
13/01/2022	1.5	80.3	0.0	10	0.00	0.00	0.000

Figura 20. Output del modello FHB-wheat in formato tabellare

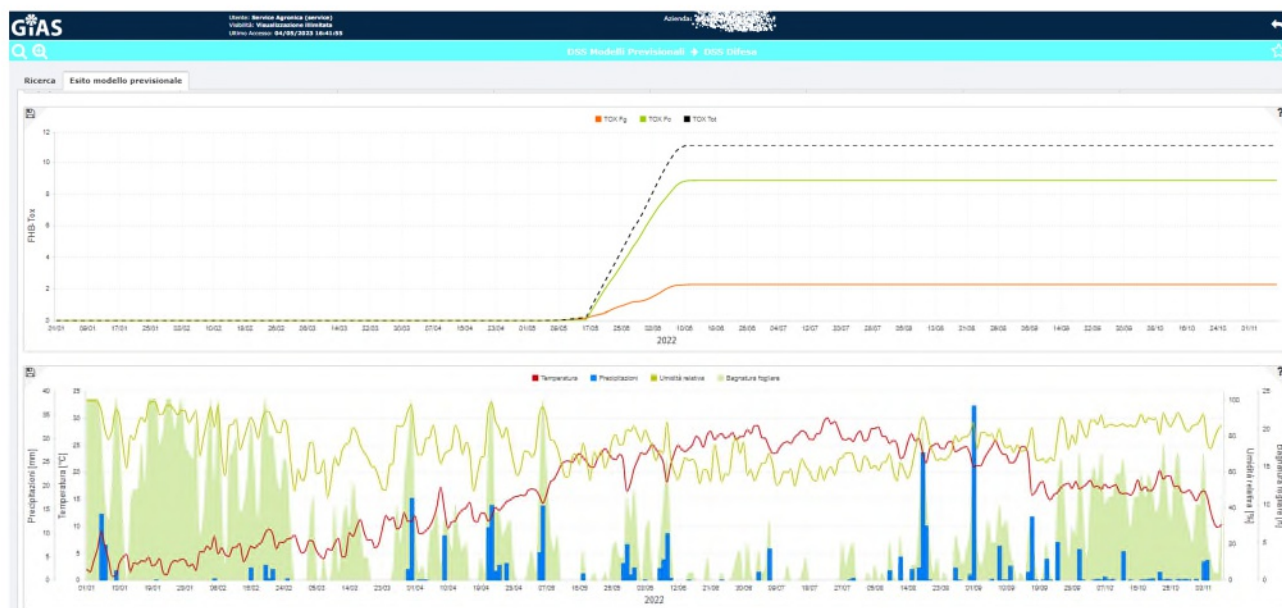


Figura 21. Output del modello FHB-wheat in formato grafico

Mappe di rischio di contaminazione da micotossine per mais (prodotto atteso 7)

Nella piattaforma di progetto è stato integrato un modulo GIS Cartografico con cui, attraverso la gestione tecnica-culturale e le banche dati di supporto (piogge e dati meteo, analisi terreno, cartografie e foto satellitari, prodotti fito/disciplinari, piano di concimazione) possono essere create mappe tematiche per la rappresentazione cartografica del rischio di contaminazione da micotossine utilizzando i modelli Maize-tox. Queste mappe possono essere elaborate e consultate direttamente dalla interfaccia di progetto.

In una prima fase le mappe sono state accessibili solo ai partecipanti al GOI adeguatamente supportati dalla struttura di consulenza informatica per validare la qualità e l’attendibilità delle informazioni fornite. Dalla conclusione del progetto, il prodotto sarà disponibile per tutti gli operatori della filiera produttiva (dalla produzione primaria, all’assistenza tecnica, allo stoccaggio). Dall’elaborazione si ottiene una mappa territoriale di rischio micotossine mais.

Sono state create 5 classi di rischio, ogni classe è caratterizzata da un colore differente (**Figura 22**) e nello specifico:

- Classe 1: da 0.00 a 0.20 – Verde
- Classe 2: da 0.21 a 0.40 – Verde chiaro
- Classe 3: da 0.41 a 0.60 - Giallo
- Classe 4: da 0.61 a 0.80 – Arancione
- Classe 5: da 0.81 a 1.00 – Rosso

Il tempo di elaborazione delle mappe territoriali, che richiedono l’impiego di una enorme mole di dati meteorologici relativi ai quadranti meteo regionali, è stato contenuto in alcuni minuti a seconda del periodo e della scala territoriale.

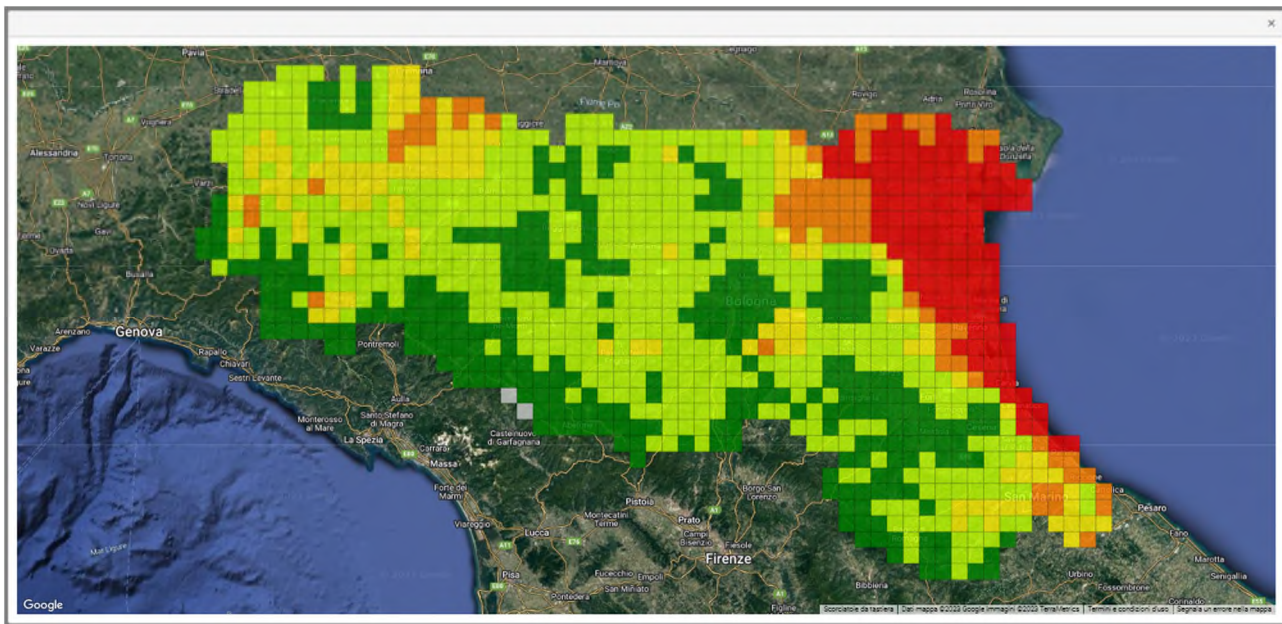


Figura 22. Esempio di mappa territoriale di rischio micotossine mais (periodo di elaborazione: anno 2022)

Geolocalizzazione  Lat =  Lng =

Categoria stazioni

Stazione meteo **ABBAZIA DI POMPOSA**  
 Aggiornamento 07/05/2023 Distanza non disponibile

Periodo elaborazione  1 gennaio 31 luglio

Specie vegetale

Modello avversità **Modello AFLA - micotossine del mais**  
 Aspergillus flavus

Data emergenza

Previsione presenza micotossine

Classe FAO

Coltura precedente

Semina/Raccolta

Danno da piralide

Umidità cariosside

**ELABORA MODELLO PREVISIONALE**

Figura 23. Interfaccia per l'inserimento dei parametri per l'elaborazione delle mappe di rischio (periodo di elaborazione: anno 2021)

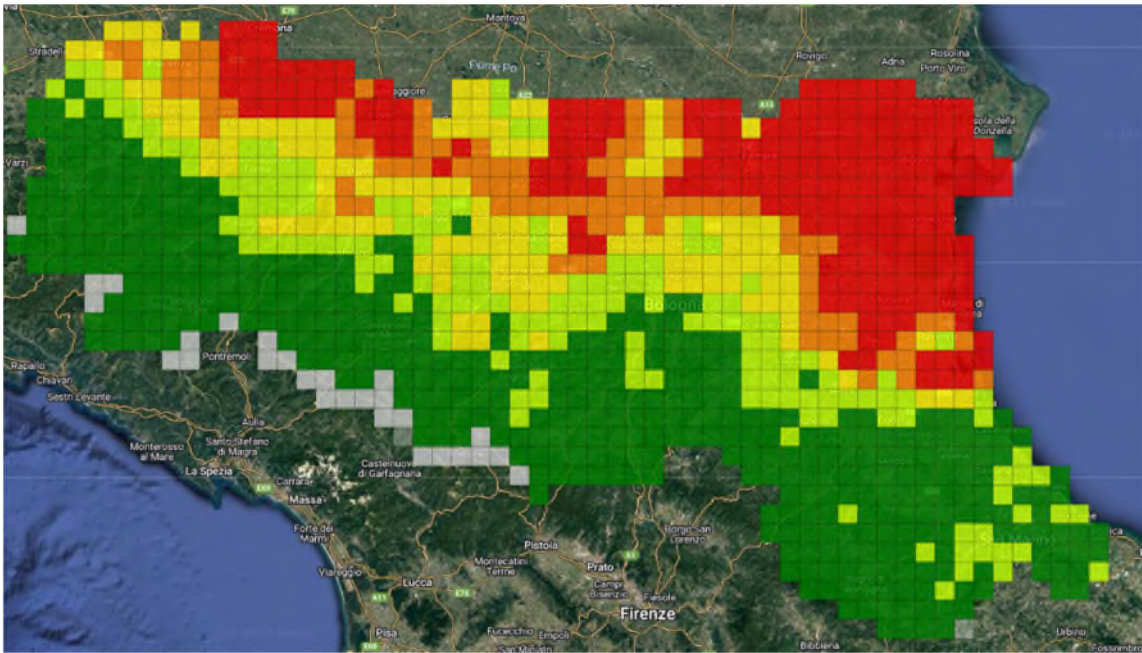


Figura 24. Esempio di mappa territoriale di rischio micotossine mais (periodo di elaborazione: anno 2021)

**Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate**

Non si sono riscontrate criticità e il piano di lavoro si è sviluppato come previsto senza significativi scostamenti.

**Attività ancora da realizzare**

-

## **AZIONE 3.4 - APPLICAZIONE DI TECNICHE DI MACHINE LEARNING PER IL MIGLIORAMENTO DELLE PRESTAZIONI DEL MODELLO PREVISIONALE CONGIUNTO**

**Unità aziendale responsabile (Uar): Di.Pro.VE.S – UCSC Piacenza**

Partecipa all'attività: Agronica Group

### **Descrizione attività**

Le condizioni meteorologiche rappresentano la principale variabile con impatto diretto sullo sviluppo di funghi micotossigeni per la conseguente contaminazione del mais, ma il sistema di coltivazione utilizzato può limitare considerevolmente l'impatto meteorologico.

Diversi studi sono disponibili in letteratura relativamente all'influenza delle pratiche agronomiche sulla produzione di micotossine in mais, ma i risultati riportati, talvolta tra loro contrastanti, risultano poco utili nella modellazione predittiva. La principale ragione a cui si attribuisce la difficoltà di ottenere relazioni quantitative tra tecniche colturali e contaminazione da micotossine utili a scopo previsionale è legata alla forte interazione esistente tra i vari fattori considerati. Pertanto, le tecniche di elaborazione statistica tradizionali risultano scarsamente utili.

In questa azione è stato considerato un approccio innovativo, con l'impiego di tecniche di machine learning (ML), per ottimizzare la modellizzazione statistica dell'interazione tra impatto meteorologico e tecniche colturali sulla presenza di micotossine in mais, da utilizzare poi a scopo previsionale.

Per la costruzione di questo modello basato sul ML è stato utilizzato un ampio data set relativo a monitoraggi AFB1 e FB negli anni 2005–2018 nel nord Italia, che includeva: i) previsioni di modelli meccanicistici basati sulle condizioni meteorologiche utilizzando AFLA-maize e FER-maize per prevedere rispettivamente aflatossina B1 e fumonisine; ii) pratiche colturali adottate in tutte le aziende oggetto del monitoraggio.

Sono stati sviluppati due modelli *deep neural network* (DNN) uno per ciascun pato-sistema, per prevedere, al momento della raccolta, quali campi di mais fossero contaminati da micotossine oltre il limite imposto dal legislatore. Entrambi i modelli hanno raggiunto un'accuratezza > 75% dimostrando il valore aggiunto dell'approccio ML rispetto agli approcci statistici classici (cioè modelli di regressione lineare semplice o multipla). La robustezza dei modelli sviluppati è stata confermata da vari parametri statistici applicati e dalla cross validation eseguita con un set di dati escluso nello sviluppo del modello. Inoltre, Le prestazioni predittive dei modelli in oggetto sono significativamente migliorate con il supporto del ML.

I risultati fin qui brevemente descritti, sono riportati con maggiore dettaglio nel lavoro pubblicato recentemente dall'unità UCSC (Camardo Leggieri et al., 2021).

Il modello di ML sviluppato in questa azione è stato quindi implementato su piattaforma GIAS ed è stato utilizzato durante la stagione maidicola 2022. Inoltre, al fine di validarne l'efficienza su dataset indipendenti da quelli usati per il suo sviluppo, il modello sviluppato in questo Piano è stato utilizzato per validare i dati raccolti nelle annate 2020 e 2021.



Confrontando i dati del monitoraggio micotossine raccolti nell'azione 3.2 con gli output del modello sviluppato nell'azione 3.3 è stato possibile valutarne l'efficacia.

La matrice di confusione presentata nella **Tabella 12** evidenzia le performance dell'approccio di ML nella previsione della contaminazione da AFB<sub>1</sub> e FBs, considerando i due anni.

Nel caso di AFB<sub>1</sub>, l'81.4% dei campioni è stato correttamente identificato come non contaminato (veri negativi), ma nessuno è stato correttamente individuato come contaminato oltre il limite legale (veri positivi). Ci sono stati invece 12.4% di falsi negativi (cioè campioni contaminati non individuati dal modello) e il 6.2% di falsi positivi (cioè campioni non contaminati, ma individuati come tali; "falsi allarmi"). Per quanto riguarda la previsione della contaminazione da FBs, il 61.5% dei campioni è stato correttamente classificato, di cui il 60.4% come veri negativi e l'1.1% come veri positivi. Ci sono stati, invece, il 3.3% di falsi negativi e il 35.2% di falsi positivi.

In conclusione, l'accuratezza complessiva delle previsioni per AFB<sub>1</sub> e FBs è risultata rispettivamente del 81.4% e del 61.5%. Questi risultati indicano una buona correlazione tra i dati previsti e quelli osservati; tuttavia, si evidenziano alcuni margini di miglioramento nella previsione della contaminazione da FBs.

**Tabella 12.** Matrice di confusione calcolata sui risultati del set di dati "2020-2021" per i valori previsti dall'algoritmo di ML e i dati osservati di aflatossina B1 (AFB<sub>1</sub>) e fumonisine (intese come somma di FB1 + FB2, FBs). I risultati previsti rispetto a quelli osservati sono riportati in percentuale. I valori in grassetto rappresentano le previsioni corrette.

		Previsto	
		Negativo	Positivo
AFB <sub>1</sub>	Negativo	<b>81.4</b>	6.2
	Positivo	12.4	<b>0.0</b>
FBs	Negativo	<b>60.4</b>	35.2
	Positivo	3.3	<b>1.1</b>

#### **Bibliografia citata:**

Camardo Leggeri M., Mazzoni M., Battilani P. Machine learning for predicting mycotoxin occurrence in maize. *Frontiers in Microbiology*, 2021 12:661132

Lo staff informatico di Agronica si è interfacciato con il DI.PRO.VE.S per implementare ed integrare i modelli di ML in GIAS al fine di rendere fruibili all'utente finale, utilizzatore dei DSS per la riduzione delle micotossine, i risultati delle elaborazioni in modalità ML che prendono in considerazione le informazioni sulle pratiche agronomiche con prevedibile impatto sulle condizioni che portano alla contaminazione ed il grado di contaminazione stessa.

L'attività di Agronica si è sviluppata nelle seguenti fasi:

### Implementazione e integrazione dell'algoritmo di ML

Il codice algoritmico in linguaggio PHP fornito da UCSC è stato portato nell'ambiente operativo e tradotto nel linguaggio nativo della piattaforma GIAS (.NET). È stata estesa la base dati dell'applicativo con il set parametrico necessario al funzionamento del modello di ML e al popolamento dell'interfaccia utente. La catena di processamento è stata organizzata in due step elaborativi consecutivi in cui, nel primo step, vengono ottenuti gli indici di rischio dei modelli Maize e, nel secondo step, questi indici vengono utilizzati dalla rete neurale come input, insieme agli altri input sulle caratteristiche colturali, per ottenere il risultato sintetico finale. Le componenti sono state quindi integrate nei due DSS sviluppati nell'ambito del progetto Maize-AFLA e Maize-FER. Si sono rese necessarie delle ottimizzazioni degli step elaborativi per contenere il lancio dei modelli e l'ottenimento dei risultati in tempi accettabili dall'utente (attorno al secondo).

### Sviluppo dell'interfaccia utente

L'interfaccia che permette di pilotare i parametri di calcolo di entrambi i DSS Maize è stata dotata di un selettore che abilita la scelta se utilizzare il modello ML o meno. L'interfaccia è stata quindi estesa per selezionare gli input sulle pratiche colturali utilizzati dal modello stesso, come evidenziato in rosso nella **Figura 25**.

The screenshot shows the 'DSS Difesa' interface with the following parameters:

- Geolocalizzazione: DD, Lat: 00.0000000°, Lng: 00.0000000°
- Categoria stazioni: Stazioni Pubbliche
- Stazione meteo: Clicca per geolocalizzare
- Periodo elaborazione: 2022, 1 gennaio - 30 luglio
- Specie vegetale: Mais
- Modello avversità: Modello AFLA - micotossine del mais, Aspergillus flavus
- Data emergenza: 15 aprile
- Elabora su tutte le stazioni meteo
- Previsione presenza micotossine:
- Classe FAO: 600-700
- Coltura precedente: small grain
- Semina/Raccolta: 1 aprile - 31 agosto
- Danno da piralide: Severe damage
- Umidità cariosside: 20 %

ELABORA MODELLO PREVISIONALE

Figura 25. Modello di machine learning e parametri di run

I parametri che l'utente può scegliere per alimentare il modello di ML sono i seguenti:

- Classe FAO
- Coltura precedente
- Data di semina e raccolta
- Grado di danno da Piralide

- Umidità della cariosside alla raccolta

### Integrazione dell'informazione fornita dai DSS Maize

Nel caso l'utente scelga l'utilizzo dei modelli di ML, l'informazione fornita viene integrata dall'indice di rischio calcolato dai modelli stessi come evidenziato in rosso in **Figura 26**.

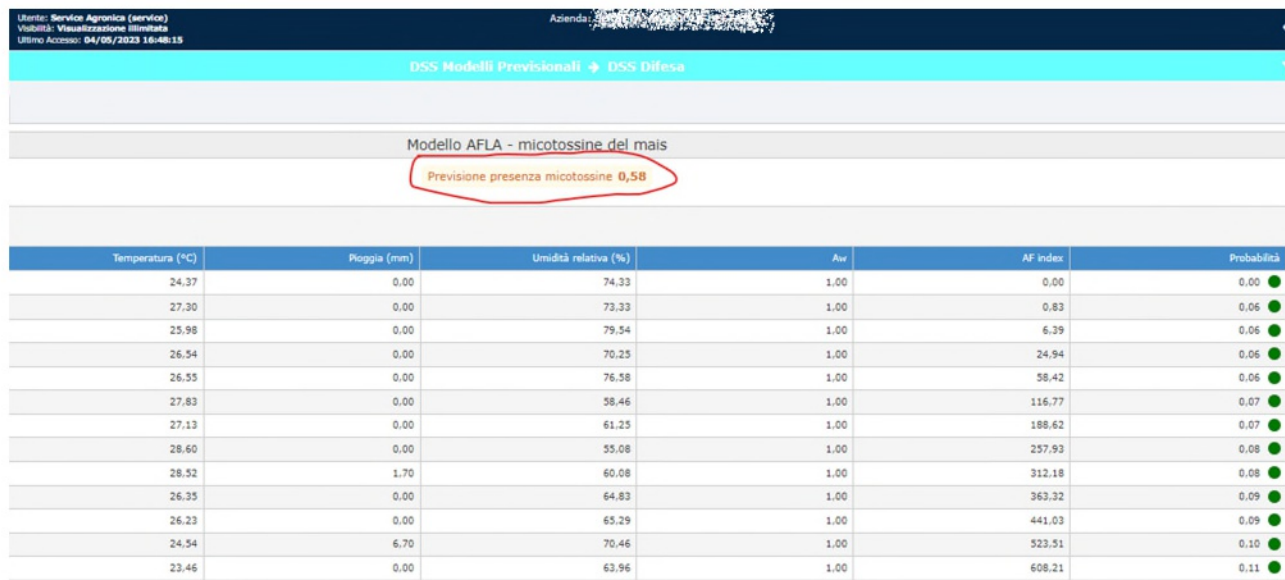


Figura 26. Indice di previsione presenza micotossine elaborato dal ML

Il risultato finale di questa attività complessa è che le potenzialità predittive dell'approccio *machine learning* sono adesso immediatamente utilizzabili dagli utenti della piattaforma, sia aziende che OP, in modo semplice, funzionale e perfettamente trasparente. Possono essere elaborati degli scenari di rischio micotossine modificando i parametri di input e ottenendo immediatamente i relativi risultati, caratteristica che permette a tutti gli operatori della filiera di avere indicazioni operative sia per la singola azienda produttrice che per i soggetti gestori della filiera, con diverse scale territoriali fino a quella dell'intera Regione.

### **Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate**

Non si sono riscontrate criticità e gli obiettivi previsti sono stati raggiunti. Relativamente al piano di lavoro, si segnala che la piattaforma basata sulle elaborazioni ML è stata disponibile e quindi collaudata soltanto nel corso del 2022, però su tutti e 101 i casi dell'attività di monitoraggio e non solo su un campione limitato.

### **Attività ancora da realizzare**

-

## 2.2.2 Personale

Nome e cognome	Unità operativa	Mansione/qualifica	Attività svolta nell'azione	Ore	Costo
	UCSC	Personale dipendente: costi standard fascia alta	Responsabile scientifico	144	10.512,00
	UCSC	Personale dipendente: costi standard fascia bassa	Messa a punto e validazione modelli	303	9.393,00
	UCSC	Cococo/assegno	Messa a punto e validazione modelli	2170	28.275,11
	UCSC	Cococo/assegno	Messa a punto e validazione modelli	860	13.773,73
<b>Totale UCSC</b>					<b>61.953,84</b>
	Agronica	Personale - Dipendente: costi standard fascia bassa	Sviluppo software e testing piattaforma Az. 3.3	441	11.907,00
	Agronica	Personale - Dipendente: costi standard fascia bassa	Sviluppo software Az. 3.4	580	15.660,00
	Agronica	Personale - Dipendente: costi standard fascia bassa	Interfaccia utente e testing piattaforma	293	7.911,00
<b>Totale Agronica</b>					<b>35.478,00</b>
	Ri.Nova	Personale dipendente: costi standard fascia media	Monitoraggio e previsioni rischio	167	7.181,00
<b>Totale Ri.Nova</b>					<b>7.181,00</b>
	Grandi Colture Italiane	Personale dipendente: costi standard fascia media	Monitoraggio e collaudo piattaforma	180	7.740,00

	Grandi Colture Italiane	Personale dipendente: costi standard fascia bassa	Monitoraggio	200	5.400,00
<b>Totale Grandi Colture Italiane</b>					<b>13.140,00</b>
<b>Totale:</b>					<b>117.752,84</b>

### 2.3.2 Trasferte

<b>Cognome e nome</b>	<b>Descrizione</b>	<b>Costo</b>
	23/3/23: incontro tecnico conclusivo	34,65
<b>Totale:</b>		<b>34,65</b>

### **2.1.3 Attività e risultati**

#### **AZIONE 4 – DIVULGAZIONE**

**Unità aziendale responsabile (Uar): Ri.Nova**

##### **Descrizione attività**

È stata realizzata una specifica pagina web sul sito di Ri.Nova

<https://rinova.eu/it/progetti/service-previsione-delle-micotossine-nei-cerali> che riporta i dati amministrativi, gli obiettivi e i partner del progetto e il materiale che è stato prodotto.

Sono stati pubblicati i seguenti articoli:

- Paola Battilani e Marco Camardo Leggieri. SistEmi infoRmativi rIschio miCotossinE (SERVICE). Piacenza Agricola n. 3 marzo 2021.  
<https://ita.calameo.com/read/0046591593e1e0e73e5e8>
- Marco Camardo Leggieri, Marco Mazzoni e Paola Battilani. Machine Learning for Predicting Mycotoxin Occurrence in Maize. Frontiers in Microbiology, aprile 2021 vol.12, art. 661132.  
<https://rinova.eu/media/tfjp5qe4/frontiersmicrobiologyaprile2021.pdf>

Sono stati svolti i seguenti incontri tecnici:

- 22 marzo 2022. Presentazione dei risultati parziali sullo sviluppo di una piattaforma informatica per la previsione del rischio micotossine su cereali. Webinar.
- 24 marzo 2023. Il Gruppo Operativo SERVICE Sistema Informativo per la Previsione del Rischio Micotossine nei Cereali: i risultati conclusivi. Bologna c/o Regione Emilia-Romagna.

Sono stati prodotti i seguenti audiovisivi:

- Interviste ai relatori dell'Incontro tecnico conclusivo:  
<https://www.youtube.com/watch?v=BsSUxiBCY2I>
- Tutorial per l'utilizzo della piattaforma:  
<https://www.youtube.com/watch?v=BKS54Kt6Kdk>

##### **Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate**

Gli obiettivi del piano sono stati raggiunti e non sono state rilevate criticità. Il grado di raggiungimento degli obiettivi si può considerare raggiunto.

##### **Attività ancora da realizzare**

-

### 2.2.3 Personale

Cognome e nome	Mansione/ qualifica	Attività svolta	Ore	Costo
	Personale dipendente: costi standard fascia bassa	Divulgazione	60	1.620,00
	Personale dipendente: costi standard fascia bassa	Divulgazione	16	432,00
	Personale dipendente: costi standard fascia bassa	Segreteria	16	432,00
	Personale dipendente: costi standard fascia media	Divulgazione	56	2.408,00
	Personale dipendente: costi standard fascia bassa	Divulgazione	6	162,00
	Personale dipendente: costi standard fascia media	Divulgazione	31	1.333,00
			<b>Totale:</b>	<b>6.387,00</b>

### 2.8.3 Spese per attività di divulgazione e disseminazione

Fornitore	Descrizione	Costo
Pubblisole	Realizzazione di un audiovisivo	550,00
Linxs	Realizzazione pagina WEB	800,00
<b>Totale</b>		<b>1.350,00</b>

## 2.9 SPESE PER ATTIVITÀ DI FORMAZIONE E CONSULENZA

ENTE FORMATORE: DINAMICA

Sono stati svolti due corsi di formazione:

Proposta formativa 5150226 “Tecniche di prevenzione e controllo delle micotossine dei cereali in campo e post-raccolta e sistemi informativi per la previsione del rischio alla raccolta”

- Domanda di avvio 5372999 con 16 partecipanti per un importo di **€ 11.488,64 €**.

Proposta formativa 5513364 “Tecniche di prevenzione e controllo delle micotossine dei cereali in campo e post-raccolta e sistemi informativi per la previsione del rischio alla raccolta”

- Domanda di avvio 5523458 con 14 partecipanti per un importo di **7.279,44 €**.

Gli obiettivi prefissati dalla formazione sono stati raggiunti.

## 3 Criticità incontrate durante la realizzazione dell'attività

Criticità tecnico-scientifiche	Non si rilevano criticità significative nello svolgimento del Piano. Si segnalano alcuni ritardi rispetto al cronoprogramma nello sviluppo della piattaforma informativa che comunque non hanno precluso il raggiungimento degli obiettivi.
Criticità gestionali (ad es. difficoltà con i fornitori, nel reperimento delle risorse umane, ecc.)	Si rilevano alcune criticità nella gestione del piano e in particolare della formazione a causa delle difficoltà nel reperimento dell'utenza.
Criticità finanziarie	Non si rilevano criticità finanziarie.

## 4 Altre informazioni

Nessuna altra informazione viene integrata.

## 5 Considerazioni finali

Le attività previste nel Piano sono state condotte regolarmente e non si segnalano particolari scostamenti da quanto previsto.



## 6 - RELAZIONE TECNICA

Nell'ambito dell'Azione 3.1 - **Sviluppo e validazione del modello Maize-tox** è stata approfondita l'interazione tra i principali funghi micotossigeni del mais (*Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides*) in termini di crescita e produzione di tossine al fine di sviluppare un modello congiunto per fumonisine e aflatossine che consideri la co-presenza delle due specie.

Premesso che l'efficienza, cioè la capacità predittiva dei modelli previsionali in termini di osservazioni corrette, si considera buona quando raggiunge almeno il 70%, la validazione del modello Maize-tox ha mostrato un'efficienza, riferita a tutte le previsioni corrette, che nel caso della previsione di AFB<sub>1</sub> è uguale al 68%, mentre nel caso della previsione di FBs è uguale a 72%. Pur essendo la percentuale di stime corrette intorno al 70%, considerata come buon risultato, in realtà vi è una quota di sottostima che necessita di esser migliorata.

Nell'ambito dell'azione 3.2 - **Monitoraggio e analisi micotossine per la salute del consumatore** sono stati raccolti 101 campioni, 53 nel 2020 e 48 nel 2021. Il 4% dei campioni è risultato positivo per AFB<sub>1</sub> e il 14% per FB nel 2020, entrambi al di sopra del limite legale, mentre nel 2021 tali percentuali sono state rispettivamente dell'8% e del 20%.

La contaminazione da micotossine nel 2021 è stata più elevata rispetto a quella rilevata nel 2020 sia per AFB<sub>1</sub> che per FB, infatti, la contaminazione media di AFB<sub>1</sub> è stata di 28,68 µg/kg nel 2021 e di 1.3 µg/kg nel 2020, mentre, per quanto riguarda le FB, le contaminazioni medie sono state rispettivamente di 9666.2 µg/kg e 4220.2 µg/kg nel 2021 e nel 2020. Il monitoraggio, oltre a fornire un andamento della contaminazione a livello regionale, è stato funzionale alla validazione del modello previsionale (meteo+dati agronomici).

L'azione 3.3 - **Implementazione sul sistema GIAS della piattaforma informativa e automatizzazione previsioni** ha permesso di sviluppare una piattaforma che consente di eseguire in automatico le previsioni di rischio di contaminazione da micotossine alla raccolta per mais e frumento, utilizzando i dati meteorologici come input, della località prescelta. Nell'interfaccia è possibile selezionare la stazione meteo, il periodo di elaborazione, la specie vegetale, la data di emergenza e il modello avversità. Gli output (indici di rischio) vengono forniti dal sistema sia in forma grafica (semaforo e curva di probabilità) che tabellare. Il sistema è in grado di fornire anche un'elaborazione tramite una mappa territoriale di rischio estesa all'intera Regione Emilia-Romagna.

Infine, per il mais, è stata implementata la possibilità di considerare diversi scenari in merito alle tecniche colturali applicate sul campo, integrando quindi le tecniche di *Machine Learning* sviluppate nell'Azione 3.4. In questo caso, quindi, sfruttando anche l'integrazione con i dati satellitari (indici vegetativi) e Irriframe, la piattaforma consente di eseguire stime di rischio micotossine personalizzate per operatori che inseriscano nel sistema i propri dati aziendali, andando quindi a costituire un vero e proprio DSS (Sistema di Supporto alle Decisioni) per la previsione del rischio contaminazione alla raccolta.

L'azione 3.4 - **Applicazione di tecniche di machine learning per il miglioramento delle prestazioni del modello previsionale congiunto** parte dal presupposto che le condizioni meteorologiche rappresentano la principale variabile con impatto diretto sullo sviluppo di funghi micotossigeni per

la conseguente contaminazione del mais, ma il sistema di coltivazione utilizzato può limitare considerevolmente l'impatto meteorologico. In questa azione, per l'elaborazione dei dati colturali, è stato considerato un approccio innovativo, con l'impiego di tecniche di machine learning (ML), per ottimizzare la modellizzazione statistica dell'interazione tra impatto meteorologico e tecniche colturali sulla presenza di micotossine in mais, da utilizzare poi a scopo previsionale.

Per la costruzione di questo modello basato sul ML è stato utilizzato un ampio data set relativo a monitoraggi AFB1 e FB negli anni 2005–2018 nel nord Italia, che includeva: i) previsioni di modelli meccanicistici basati sulle condizioni meteorologiche utilizzando AFLA-maize e FER-maize per prevedere rispettivamente aflatoxina B1 e fumonisine; ii) pratiche colturali adottate in tutte le aziende oggetto del monitoraggio.

Tale approccio ha consentito di portare l'accuratezza complessiva delle previsioni per AFB<sub>1</sub> e FBs all' 81.4% e al 61.5% rispettivamente. Questi risultati indicano una buona correlazione tra i dati previsti e quelli osservati; tuttavia, si evidenziano alcuni margini di miglioramento nella previsione della contaminazione da FBs.

Data 18/05/2023

IL LEGALE RAPPRESENTANTE

*(firmato digitalmente)*