

AGROALNEXT

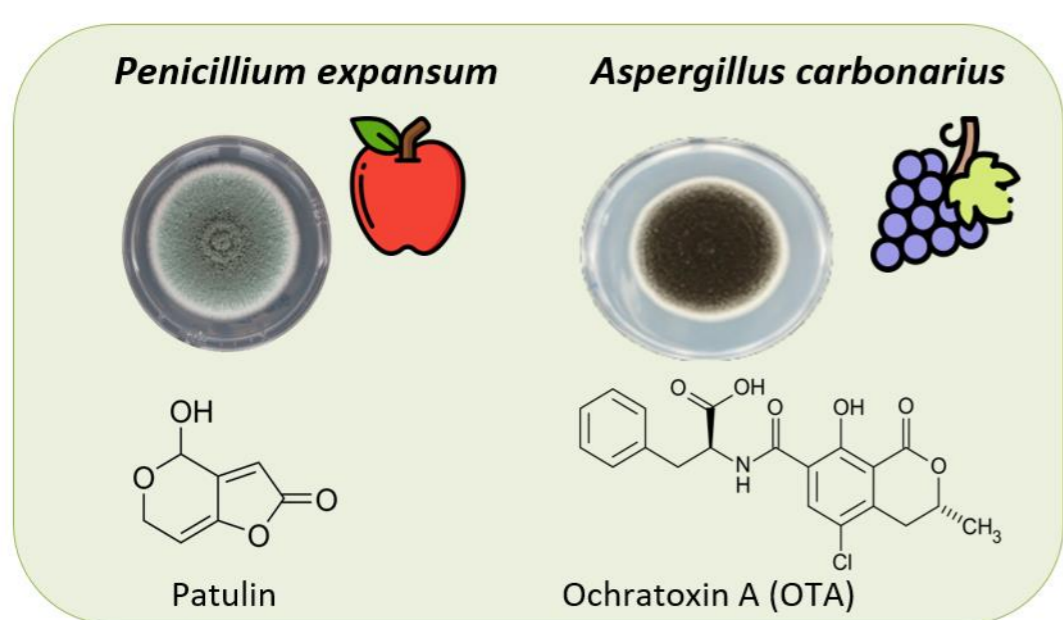


SISTEMAS BIOLÓGICOS DE CONTROL EFECTIVOS CONTRA HONGOS MICOTOXIGÉNICOS Y ESTRATEGIAS INMUNOQUÍMICAS PARA EL ANÁLISIS DE LAS MICOTOXINAS PATULINA Y OCRATOXINA A (CONPOTA)

AGROALNEXT/2022/028

OBJETIVOS

- ✓ Obtener **cepas de hongos filamentosos no micotoxigénicas** que puedan reemplazar el empleo de fungicidas químicos o, al menos, reducir su uso al ser empleados dentro de una estrategia de control integrada.
- ✓ Desarrollar **métodos ELISA competitivos y tiras inmunorreactivas** para la determinación rápida de las micotoxinas **patulina** y **ocratoxina A (OTA)**, tanto en medios de cultivo como en muestras de alimentos.
- ✓ Formación de investigadores y divulgación de resultados.

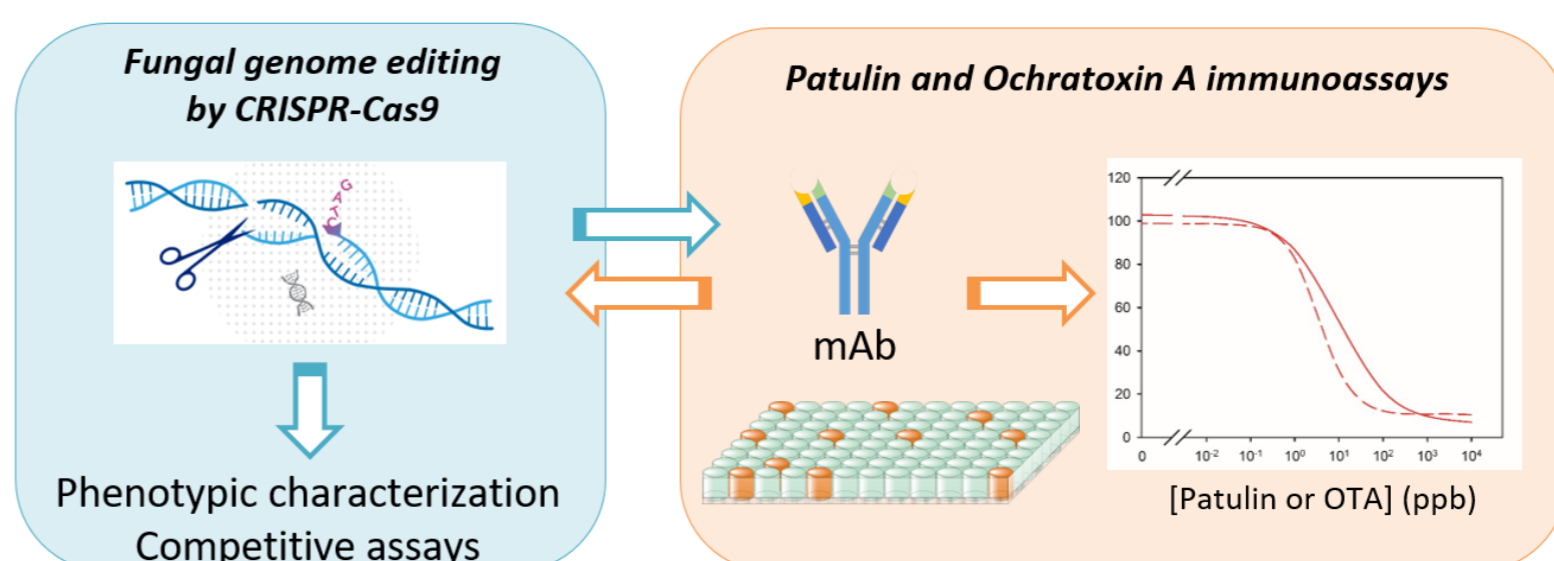


RESULTADOS

HONGOS FILAMENTOSOS NO MICOTOXIGÉNICOS

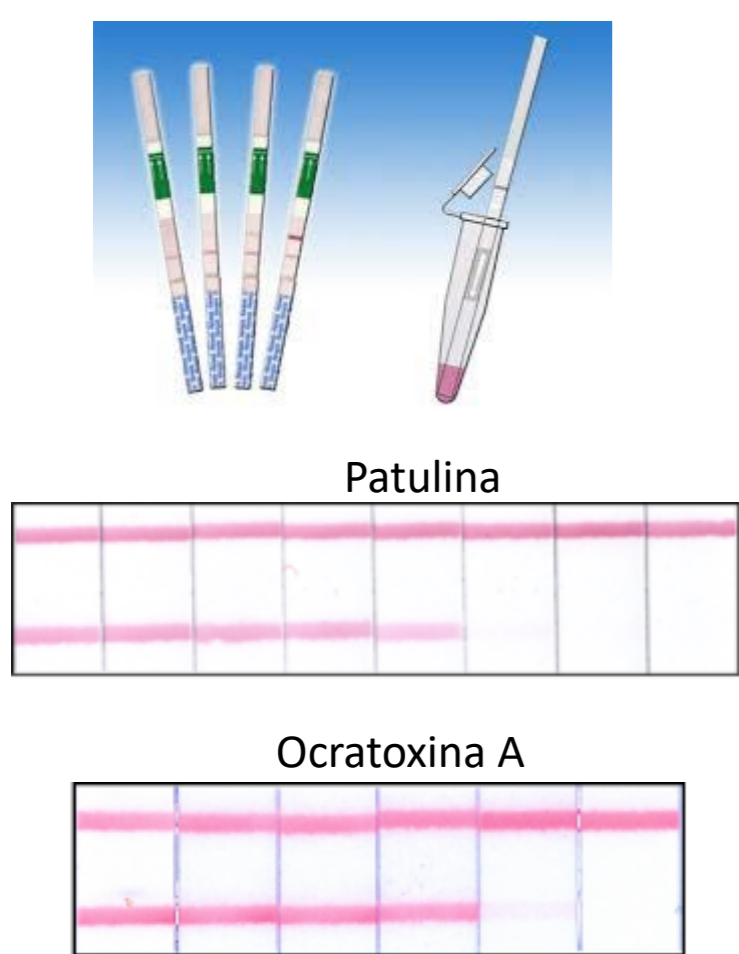
1.1. Se ha realizado una caracterización funcional del gen *pks* de *Aspergillus carbonarius*, siendo éste un gen principal en la ruta de biosíntesis de OTA, y se ha determinado la producción de esta micotoxina en uva infectada por la cepa parental y el mutante de delección en un ensayo de competencia.

1.2. Hemos llevado a cabo el análisis funcional del gen *veA* de *Penicillium expansum* en referencia a la respuesta a diferentes estreses de mutantes de delección en dicho gen.



MÉTODOS ELISA COMPETITIVOS Y TIRAS INMUNORREACTIVAS

2.1. Se han caracterizado cuatro inmunoensayos tipo ELISA competitivo con valores de IC_{50} para patulina entre 0.06 y 0.11 ng/mL, y se ha validado uno de ellos para la determinación de esta micotoxina en zumo de manzana mediante el análisis de muestras certificadas, observándose una muy buena correlación.



2.2. Hemos desarrollado un inmunoensayo de flujo lateral usando tiras inmunorreactivas para el análisis rápido de patulina con un límite de detección de 0.04 ng/mL. Este ensayo se ha validado para la determinación rápida de patulina en zumo de manzana, con una probabilidad de falsos sospechosos por debajo del 0.5%, incluso a los niveles más bajos de concentración permitidos en la UE.

2.3. Para el análisis de OTA, se han optimizado cuatro inmunoensayos tipo ELISA competitivo con valores de IC_{50} entre 0.028 y 0.040 ng/mL, y hemos validado uno de ellos para la determinación de esta micotoxina en uva a los niveles legales en la UE con valores excelentes de precisión y exactitud.

2.4. Finalmente, se ha caracterizado y optimizado un inmunoensayo de flujo lateral usando tiras inmunorreactivas para el análisis rápido de OTA con un límite de detección de 0.11 ng/mL. Este inmunoensayo permite el cribado de muestras de uva contaminadas con 2 ng/mL, según establece la legislación EU para mosto de uva, con una probabilidad de falsos sospechosos muy baja ($\leq 1\%$).

FORMACIÓN Y DIVULGACIÓN

3.1. Se ha dirigido un trabajo fin de grado y una tesis doctoral.

3.2. Charlas-Taller en colegios públicos de la Comunitat Valenciana.

3.3. Conferencias y posters en congresos nacionales e internacionales.

3.4. Llobregat et al. DOI:10.3390/toxins16010052; Duncan et al. DOI:10.1021/acs.analchem.4c01631.

