

**PROGETTI DI “RICERCA CORRENTE 20xx”**  
**RELAZIONE FINALE**

**N. identificativo progetto: IZS LT 07/21 RC**

**Progetto presentato da:**

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE**

**LAZIO E TOSCANA “M. ALEANDRI”**

**Area tematica: Sicurezza Alimentare**

**Titolo del progetto: IZS LT 07/21 RC**

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute

**Responsabile Scientifico: Laura Gasperetti**

## SINTESI

***Titolo Tecniche molecolari di nuova generazione per l'identificazione di funghi: gestione del rischio nei casi di intossicazione e negli episodi di contraffazione alimentare.***

Parole chiave: NGS; analisi molecolare; funghi; autenticazione; frodi alimentari; protezione del consumatore

Il presente progetto si prefigge di implementare il dataset genetico con le sequenze delle rimanenti specie presenti sul territorio regionale e con quelle di specie epigee ed ipogee (tartufi), presenti sul mercato nazionale, di origine nazionale e/o provenienti da altri Stati Membri e Paesi Terzi; mettere a punto una metodica di metabarcoding basata su sequenziamento NGS, per l'analisi di matrici complesse o prodotti multi-specie. Ad oggi queste tecniche sono poco applicate per l'autenticazione degli alimenti. Nello studio sono stati autenticati, mediante metabarcoding (MB), prodotti multispecie a base di funghi (MP), essiccati e liofilizzati venduti in Italia. Per l'amplificazione della regione ITS-1 è stata progettata una coppia di primer degenerati. Sono state rilevate sequenze di macrofunghi, microfunghi e batteri rispettivamente nel 100%, 90,9% e 77,3% delle MP. Sono stati rinvenuti anche macrofunghi non commestibili e tossici, sebbene in quantità modeste nella sequenza. La corrispondenza tra le specie dichiarate sull'etichetta MP e le specie rilevate da MB è stata del 59,1%. Non si possono escludere casi di sostituzione volontaria delle specie. I metodi per autenticare questi prodotti, ancora poco studiati, dovrebbero essere ulteriormente impiegati, e il protocollo MB dovrebbe essere standardizzato per essere utilizzato sia nel contesto del controllo ufficiale che dell'autocontrollo delle aziende. Approcci alternativi dovrebbero essere presi in considerazione per la maggior parte delle MP in scatola e congelate, in virtù della frammentazione del DNA osservata.

***Next Generation Sequencing Technologies for the identification of fungi: risk management in cases of intoxication and incidents of food fraud***

## SUMMARY

Key words NGS; molecular analysis; fungi; authentication; food fraud; consumer protection

This project aims to implement the genetic dataset with the sequences of the remaining species present in the regional territory and with those of epigean and hypogean species (truffles), present on the national market, of national origin and/or coming from other Member States and countries Third parties; develop a metabarcoding method based on NGS sequencing, for the analysis of complex matrices or multi-species products. In this work dried and lyophilized multi-species mushroom-based products (MPs) sold in Italy were authenticated by metabarcoding (MB). One degenerated primer pair was projected for the ITS-1 region amplification. The final data were interpreted using positive controls and extraction blanks. Sequences of macrofungi, microfungi and bacteria were detected in 100%, 90.9% and 77.3% of the MPs, respectively. Not edible and toxic macrofungi were also found, although in low sequence amount. The match between species declared on MPs label and species detected by MB was 59.1%.

Cases of voluntary species substitution cannot be excluded. Methods to authenticate these products, still poorly investigated, should be further employed, and MB protocol should be standardized to be used in the context of both official control and companies' self-control. Alternative approaches should be considered for most canned and frozen MPs, in virtue of the observed DNA fragmentation.