

D.M. 84318 del 14.11.2014

Titolo del progetto	RIDUZIONE DI INPUT DI ORIGINE EXTRA-AZIENDALE PER LA DIFESA DELLE COLTIVAZIONI BIOLOGICHE MEDIANTE APPROCCIO AGROECOLOGICO
Acronimo del progetto	DIBIO
Titolo del sotto-progetto	Composti naturali e microorganismi per la difesa ed il PRIming di colture BIOlogiche MEditerranee
Acronimo del sub-progetto	DIBIO_BIOPRIME
Periodo a cui si riferiscono le attività descritteⁱ	28 febbraio 2019- 31 dicembre 2019
Centro o Unità di ricerca	CREA - GB
Direttore	Luigi Cattivelli
Indirizzo	Via San Protaso 302, 29017-Fiorenzuola d'Arda (PC)
Telefono	0523 983758/9
e-mail	gb@crea.gov.it
Responsabile U.O.	Nome e Cognome Valeria Terzi Qualifica Dirigente tecnologo tel. 0523983758 e-mail valeria.terzi@crea.gov.it
Gruppo di lavoro	Caterina Morcia, ricercatore - CREA-GB, sede di Fiorenzuola d'Arda (PC) Roberta Ghizzoni, collaboratore tecnico - CREA-GB sede di Fiorenzuola d'Arda (PC) Simona Baima, ricercatore - CREA-GB sede di Roma Barbara Felici, collaboratore tecnico - CREA-GB sede di Roma

	<p>Stefania Galletti, ricercatore - CREA-AA sede di Bologna</p> <p>Stefano Cianchetta, operatore tecnico - CREA-AA sede di Bologna</p> <p>Walter Chitarra, ricercatore - CREA-VE sede di Conegliano (TV)</p> <p>Luca Nerva, ricercatore – CREA-VE sede di Conegliano (TV)</p> <p>Aldo Tava, dirigente di ricerca - CREA-ZA sede di Lodi</p>
--	---

<p>Obiettivi di ricerca</p>

- Individuazione, produzione e caratterizzazione di un panel di composti potenzialmente utili per la difesa delle produzioni biologiche
- Studio delle potenzialità di ceppi microbici, molecole e composti come agenti di priming in cereali ed orticole
- Individuazione e valutazione del potenziale fenomeno di induzione del priming in vite

Obiettivi specifici:

WP1 (leader CREA-GB). Difesa in cereali biologici. Individuazione di un panel di 5-10 composti/estratti e valutazione delle attività antimicrobiche su patogeni. Valutazione delle potenzialità di priming in cereali di composti/estratti naturali e combinazioni AMF-batteri benefici del suolo.

WP2 (leader CREA-AA). Estratti di alghe marine e cianobatteri per il *priming* delle colture orticole: messa a punto di tecniche di applicazione al seme di prodotti innovativi costituiti da estratti di alghe e di cianobatteri, per la difesa dai patogeni in agricoltura biologica; verifica dell'attività di estratti di alghe e cianobatteri su alcune orticole di interesse per l'agricoltura biologica, quali ad esempio pomodoro e zucchini, nei confronti di patogeni terricoli e fogliari causa di considerevoli danni economici e di difficile contenimento; messa a punto di protocolli operativi di trattamento del seme per la trasferibilità nella pratica agricola.

WP3 (leader CREA-VE). Inoculo di funghi micorrizici arbuscolari e biostimolanti a partire dalle barbatelle di vite. Valutazione dello stato fisiologico e sanitario della pianta in risposta agli inoculi effettuati. Identificazione e isolamento dei patogeni coinvolti nella sindrome del mal dell'ESCA per lo sviluppo di una tecnologia ecosostenibile in grado di controllare la malattia (dsRNA).

WP4 (leader CREA-ZA). Estrazione, purificazione e caratterizzazione di composti naturali da specie vegetali, valutazione della loro composizione in principi attivi e valutazione della loro attività biocida.

Attività prevista

WP1 (leader CREA-GB). Il WP1 prevedeva, per il periodo indicato, la raccolta di molecole naturali e la preparazione di estratti di brassiche da valutare successivamente per proprietà antimicrobiche su diversi patogeni vegetali. Prevedeva inoltre di iniziare la sperimentazione relativa alla valutazione dell'impatto del microbiota del suolo sul comportamento di resistenza/suscettibilità della pianta a stress biotici.

WP2 (leader CREA-AA). Il WP2 prevedeva la preparazione di estratti acquosi da tallo essiccato delle macroalghe *Ecklonia* sp. e *Corallina* sp. e dal liofilizzato della coltura del cianobatterio *Anabaena* sp., da conservare a -80°C fino al momento dell'utilizzo a diverse concentrazioni per il trattamento del seme di orticole (quali pomodoro e zucchini) o del terreno prima della semina. In seguito si prevedeva di allestire prove in vaso in fitotrone e serra condizionata al fine di saggiare l'effetto del trattamento con gli estratti sulla risposta della pianta a patogeni tellurici o fogliari, (ad esempio *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Fusarium oxysporum*, *Podosphaera xanthi*), inoculati artificialmente.

WP3 (leader CREA-VE). Valutazione dello stato di *priming* in presenza di micorrize arbuscolari (AM) (Azioni 1 e 2 descritte nella attività svolta). Individuazione di tecnologie sostenibili per il trattamento del Mal dell'ESCA (MdE) (Azioni 3-6 descritte nella attività svolta).

WP4 (leader CREA-ZA). Nell'ambito del WP 4 nei primi 10 mesi di progetto erano previsti: il recupero di biomasse vegetali (Azione 1) per estrazione di principi attivi saponine, oli essenziali, sostanze fenoliche (Azione 2) e inizio caratterizzazione degli estratti (Azione 3).

Attività svolta

WP1 (leader CREA-GB).

Selezione di un panel di oli essenziali, loro componenti ed estratti da piante aromatiche e medicinali e prime valutazioni in microcosmo dell'attività antifungina, antimicotosigena ed antisclerotigena di alcuni preparati.

Preparazione di estratti sterili da germogli di brassiche.

In via propedeutica alle successive attività di progetto sono state condotte le seguenti attività:

- caratterizzazione del microbiota associato alla rizosfera di frumento in suoli provenienti da ambienti contrastanti ed in condizioni di coltivazione organica vs convenzionale;
- valutazione del possibile impatto di trattamenti chimici (erbicidi e pesticidi di sintesi) sul metabolismo di piante agrarie (orticole e cereali).

Valutazione dell'impatto di microorganismi benefici del suolo sulla performance agronomica di piante agrarie in ambiente controllato. Sono stati adottati due modelli sperimentali:

Varietà di frumento tenero e duro rilasciate in diverse finestre temporali inoculate con ceppi puri di *Funelliformis mossae* e di *Rhizophagus intraradices* sia in condizioni ideali di crescita che in condizioni di stress biotico ed abiotico;

Varietà di pomodoro inoculate con micorrize pure ed in consociazione con Tricoderma o batteri benefici del suolo in condizioni di crescita ideale e di stress.

WP2 (leader CREA-AA). La fase iniziale del progetto è stata dedicata alla raccolta e alla preparazione dei materiali da usare nelle prove sperimentali. Pertanto si è proceduto a preparare gli estratti acquosi delle macroalghe e del cianobatterio indicati nel progetto e a procurarsi il prodotto commerciale a base di laminarina (Vacciplant) da utilizzare come testimone di riferimento. Sono stati procurati i semi della cv Marmande di pomodoro e di zucchini bolognese Blumen e il terriccio universale CIFO. Sono stati inoltre selezionati e messi in coltura alcuni isolati dei patogeni fungini da utilizzare nelle prove: *Rhizoctonia solani* F1, *Fusarium oxysporum lycopersici* L1, *Pythium* sp. 22.

Si è proceduto ad attivare la convenzione con l'UNIBO prevista dal progetto per la realizzazione delle prove in serra condizionata presso il plesso di Agraria del DISTAL e sono state coinvolte un'assegnista di ricerca e una tirocinante del corso di laurea magistrale in Scienze e Tecnologie Agrarie, come previsto dal progetto.

Sono stati messi a punto i metodi di infezione artificiale del terriccio con i diversi patogeni, da utilizzare nelle successive prove in serra su pomodoro e zucchini.

Sono stati infine messi a punto i metodi di preparazione dell'estratto acquoso di *Anabaena* sp., *Ecklonia* sp. e *Corallina* sp. e di trattamento del seme di pomodoro con gli estratti. Sono state quindi realizzate prove preliminari in vitro per valutare l'effetto degli estratti, a due diverse concentrazioni (5 e 20 mg/ml), sullo sviluppo di piantine di pomodoro in assenza/presenza del patogeno *R. solani*.

WP3 (leader CREA-VE), In riferimento a quanto previsto nel WP3, durante il primo anno di attività sono state avviati i lavori secondo le azioni riportate:

Valutazione dello stato di priming in presenza di micorrize arbuscolari (AM)

Azione 1. Le attività sono state eseguite utilizzando 200 barbatelle di 'Glera' innestate su due portinnesti con comportamento opposto: SO4 (portinnesto che porta a ridotta vigoria e sensibile agli stress abiotici) e 1103P (vigorous e tollerante a stress abiotici). Per entrambe i portinnesti sono state pianificate le seguenti tesi:

- Controllo non inoculato (CTRL);
- Inoculo misto commerciale comprendente funghi AM (*R. intraradices* e *F. mosseae*) (Myc);
- Biostimolante (zucchero) commerciale *enhancer* della micorrizzazione (in combinazione con i funghi AM o individualmente) (Myc+Sugar; Sugar).

Azione 2. Sono state valutate le interazioni tra la pianta e i simbionti in vaso e in condizioni controllate, con l'obiettivo di valutare la risposta dei due portinnesti in presenza dei diversi trattamenti (*trade-off* crescita-difesa). Verso fine stagione, le barbatelle trattate e CTRL sono state successivamente trapiantate in condizioni di campo mimando le operazioni colturali che comunemente vengono praticate in viticoltura. Le attività hanno previsto l'utilizzo di un approccio multidisciplinare, in dettaglio: a) la misurazione di parametri agronomici e eco-fisiologici, b) estrazione di DNA ed RNA per le successive analisi di caratterizzazione del rizobioma e di espressione genica (in foglie e radici) considerando geni *target* legati al trasporto di acqua, nutrienti e di difesa nei confronti di fattori biotici, c) prelievo di campioni fogliari per analisi biochimiche per valutare lo stato ormonale e la produzione di stilbenoidi (viniferina in particolare).

Individuazione di tecnologie sostenibili per il trattamento del Mal dell'ESCA (MdE)

Azione 3. Nel corso della prima stagione progettuale, sono state svolte le analisi, l'individuazione e isolamento dei funghi residenti nel legno di piante di vite in condizioni di campo da piante con evidente manifestazione dei sintomi (foglie tigrate e/o con colpo apoplettico) di MdE. Questo ha permesso di identificare e conservare per le successive analisi i funghi coinvolti nella patogenesi. Le stesse analisi sono state effettuate anche su piante asintomatiche presenti nello stesso areale di coltivazione.

Azione 4. Analisi de trascrittoma dei funghi isolati per investigarne il viroma e individuare i geni vitali utili alla successiva produzione dei dsRNA per il contenimento della sindrome.

Azione 5. E' stato individuato sistema biologico in cui produrre long non-coding dsRNA e loro applicazione e valutazione *in vitro* ed *in vivo*.

Azione 6. Divulgazione di parte delle attività svolte mediante articoli scientifici e presentazioni ad eventi divulgativi come indicato nella apposita sezione.

WP4 (leader CREA-ZA). Dall'attività di campo svolta al CREA-ZA di Lodi si sono recuperate parti aeree di cultivars di *Medicago sativa*, *M. arborea* e *M. polymorpha* e radici di *M. sativa* che sono state poi utilizzate per l'estrazione di saponine, sostanze note per la loro attività biocida.

Su campioni di parti aeree di *M. sativa* è inoltre iniziata la preparazione di estratti acquosi di sostanze fenoliche, che verranno anche loro valutati in dettaglio e titolati nella loro composizione chimica.

Da rapporti di collaborazione con altri istituti CREA sono in corso attività di estrazione di quantità idonee (diversi mL) e caratterizzazione di oli essenziali da specie di interesse agronomico (es. *Petroselinum* spp.) da testare poi per le loro proprietà biocida *in vitro*.

Eventuali differenze tra attività prevista e svolta

Non ci sono differenze da evidenziare.

Descrizione risultati

WP1 (leader CREA-GB).

I maggiori risultati ottenuti in questo primo periodo di attività progettuale sono sotto riportati per punti:

- Identificazione, tra le molecole ed estratti naturali valutati, di un derivato del Jasmone caratterizzato da attività antimicotossigena ed antisclerotigena. Altri composti hanno evidenziato buone potenzialità per la difesa di cereali ed orticole ed i risultati ottenuti in via preliminare verranno successivamente validati nel corso delle attività progettuali.
- L'interesse per l'impiego di composti naturali è supportato anche da evidenze molecolari ottenute in piante trattate con composti di sintesi. A questo proposito, la valutazione dello stato metabolico, realizzato attraverso UHPLC-TOF, di piante agrarie trattate con molecole di sintesi per il controllo di infestanti e di patogeni ha evidenziato come sia il metabolismo primario che secondario vengano modulati dai diversi trattamenti a confronto con il controllo non trattato. In particolare la componente aminoacidica e un panel di metaboliti a base azotata mostrano significative differenze nei trattati. Un significativo impattodei trattamenti si è inoltre registrato nei confronti di parametri produttivi e qualitativi. Parte di questi risultati sono stati presentati al workshop XVI Symposium on Pesticide Chemistry "Advances in Risk Assessment and Management" (si veda la sezione Altre attività divulgative).

- In un sistema sperimentale controllato costituito da frumento trattato con molecole naturali ed in presenza/assenza di un fitopatogeno fogliare si è studiata la risposta molecolare della pianta a confronto con le tesi controllo. I risultati ottenuti hanno evidenziato l'attivazione, da parte di alcuni composti, di una risposta difensiva da parte della pianta, anche in assenza di attacco di patogeni. Questi risultati costituiscono una prima indicazione di priming da parte di alcuni composti naturali, con la prospettiva di un loro concreto impiego nella difesa delle coltivazioni in biologico. Parte dei risultati sono stati sintetizzati una relazione sottomessa come comunicazione orale al prossimo convegno internazionale PBE, Plant Biology Congress 2020, 29 giugno-2 luglio, Torino.
- E' stata fatta una caratterizzazione, con approcci di sequenziamento e nell'ambito di collaborazioni internazionali, del microbiota presente in diversi suoli (Europei e non), coltivati a frumento e condotti in sia in regime di agricoltura biologica che convenzionale. E' stato identificato un "core microbiome", associato alla rizosfera di frumento in ogni condizione culturale. Questo "core microbiome" è rappresentato da 179 taxa (2 archaea, 104 batteri, 41 funghi, 32 protisti) presenti in ogni condizione culturale e presente in modo prevalente in termini di massa. Non è stato evidenziato un ruolo significativo del genotipo nella modulazione della biodiversità del microbiota. Al contrario, è stato evidenziato un effetto significativo del regime di conduzione culturale. In particolare si è osservato un alto livello di biodiversità microbica in suoli condotti in biologico. I risultati ottenuti sono riportati nella pubblicazione Simonin et al, submitted, il cui preprint è attualmente disponibile in bioRxiv, <http://doi.org/10.1101/777383doi>.
- Sono stati ottenuti risultati incoraggianti con l'impiego di ceppi di micorrize arbuscolari, quali *Funelliformis mossae* e di *Rhizophagus intraradices*, di batteri benefici del suolo e di Tricoderma per l'innalzamento dei livelli di resistenza a stress ambientali sia in frumenti che in orticole. Parte di questi risultati sono stati oggetto di una pubblicazione su rivista internazionale con i.f. (Ronga et al., 2019) e di una comunicazioni al Workshop "Biostimolanti: dalla ricerca in laboratorio all'utilizzo in campo" (12 settembre 2019, Piacenza).

WP2 (leader CREA-AA).

I maggiori risultati ottenuti in questo primo periodo di attività progettuale sono sotto riportati per punti:

- Infezione del terriccio. Le prove preliminari di infezione artificiale in cella climatizzata hanno consentito di definire i seguenti protocolli di infezione del terriccio con i diversi patogeni, da utilizzare su zuccino e pomodoro nelle prove in serra con gli estratti di macroalghe e cianobatteri:
- *Pythium*: il substrato agarizzato (PDA) colonizzato dal patogeno in attiva crescita (48-72 h) è sminuzzato finemente e disperso in acqua distillata sterile tramite Vortex per 1 minuto (1 piastra da 9 cm diam. in 100 ml di acqua). La sospensione è distribuita superficialmente in vaschette di torba seminate due giorni prima con lo zuccino (25 ml in vaschette di 8 x 10 cm). Tale metodo ha consentito di ottenere un'incidenza della malattia del 40%, ovvero un'emergenza dello zuccino al 60%, rispetto al testimone non infettato, emerso al 100%, dieci giorni dopo la semina.
- *R. solani*: la sospensione del patogeno è preparata e utilizzata su pomodoro in analogia a quanto descritto sopra. Il metodo ha consentito di ottenere un'incidenza della malattia del 62% (emergenza delle piantine del 38%).
- *F. oxysporum*: la sospensione del patogeno è ottenuta da piastre PDA completamente colonizzate (7 gg), come descritto sopra. L'inoculazione superficiale non è risultata efficace nel trasmettere la malattia su pomodoro seminato 2 gg prima. Il protocollo è stato quindi variato: la sospensione fungina viene distribuita superficialmente sulle vaschette di torba e le vaschette sono incubate

coperte per 2 gg a 25°C, prima del trapianto di piantine di pomodoro di 20 gg di età. Con questo protocollo, le piantine hanno tutte mostrato un blocco della crescita rispetto al testimone trapiantato in torba non infettata.

- Preparazione degli estratti. E' stato definito il seguente protocollo di estrazione e trattamento del seme di pomodoro:
- Gli estratti di *Anabaena* sp., *Ecklonia* sp. e *Corallina* sp. vengono preparati sospendendo la biomassa essiccata e finemente frantumata in acqua distillata sterile (2%) e riscaldando la sospensione a 50°C. Dopo 12 h si procede a filtrazione, prima della conservazione a -80°C fino all'utilizzo. Il trattamento del seme con gli estratti viene eseguito immergendo i semi in ciascun estratto alle diverse concentrazioni per una notte. In seguito i semi vengono risciacquati ed asciugati prima dell'utilizzo.
- Prove preliminari. Le prove preliminari su semi di pomodoro, effettuate su carta sterile in vaschette di alluminio alla concentrazione di 5 e 20 mg/ml per ciascun estratto, in assenza o presenza di *R. solani* (inoculata dopo 20 gg sulle radici come sospensione di micelio frantumato prelevato da colture su PDA), hanno dato i seguenti risultati:
- Sono stati osservati effetti positivi sulla germinazione dei semi e sull'aumento di peso secco delle piantine. La germinazione dei semi è stata incrementata in media del 14,7% dai tre estratti a 5 mg/ml e del 12,3% da *Ecklonia* sp. a 20 mg/ml. Il peso secco delle piantine è stato aumentato del 32,9 e 61,4% da *Ecklonia* sp. e *Corallina* sp. (5 mg/ml), rispettivamente. Tutti e tre gli estratti, a 5 mg/ml, hanno aumentato il peso secco delle piantine in presenza del patogeno. In particolare, l'incremento maggiore è stato ottenuto con *Anabaena* sp. (185%).

WP3 (leader CREA-VE).

I maggiori risultati ottenuti in questo primo periodo di attività progettuale sono sotto riportati per punti:

- Valutazione dello stato di priming in presenza di micorrize arbuscolari (AM).
Parte delle attività della prima annata è stata svolta in vaso in condizioni di serra per motivi sperimentali, al fine di standardizzare il protocollo e osservare l'impatto dei trattamenti in condizioni controllate. Inoltre la condizione di studio in vaso ha avuto il secondo fine di dare risposte anche dal punto di vista vivaistico (possibilità di applicare i funghi AM anche a livello di vivaio prima della messa a dimora). Come indicato nella sezione 'Attività svolta' la prova ha previsto 4 tesi per ciascun portinnesto: CTRL, Myc; Myc+Sugar; Sugar. Come accennato in precedenza, la prova è stata fatta utilizzando barbatelle di 'Glera' stesso clone innestate in due differenti portinnesti: 1103P e SO4, per avere due estremi in termini attitudinali dal punto di vista della difesa biotica, produttivo e di vigoria. Per ogni trattamento sono state messe in vaso (vasetti in torba biodegradabile) 25 barbatelle per trattamento: 100 piante per combinazione di innesto per 4 trattamenti (totale 200 barbatelle). Il substrato di coltura utilizzato è suolo di vigneto non sterilizzato e le barbatelle sono state preparate come per la messa a dimora in campo (contenimento della radice e taglio a circa 10 cm) per essere il più vicino possibile alle reali condizioni operative. Le prove in vaso sono durate circa 90 giorni per poi essere trasferiti in condizioni di pieno campo.
Le barbatelle sono state monitorate e irrigate per tutto il corso della prova. Alla fine dell'esperimento in condizioni di vaso (90 giorni), le tesi sono state confrontate e per quanto riguarda lo sviluppo e la crescita delle piante è stato valutato: la percentuale di attecchimento (Rooting %), l'indice di crescita secondo la scala di Baggiolini (Growth stages, Figura 3) e

l'assorbimento dell'azoto (Net nitrate uptake, Figura 4). È in corso l'analisi del contenuto di azoto e clorofilla nelle foglie.

L'effetto dei trattamenti è molto positivo sia sull'attecchimento, rispetto al controllo anche l'SO4 raggiunge quasi il 100% di barbatelle attecchite che sullo sviluppo, in particolare le barbatelle innestate su SO4 (tipicamente poco vigoroso) raggiungono livelli uguali a quelle innestate su 1103P. L'effetto dei funghi micorrizici arbuscolari (AMF) e dei biostimolanti è molto indagato per quanto riguarda l'assorbimento del fosforo. In vite la nutrizione azotata è molto importante sia per le molecole fisiologiche della pianta che per lo sviluppo. I risultati mostrano una significativa riduzione dell'assorbimento dell'azoto indifferentemente dal portinnesto considerato. Quanto evidenziato è positivo in termini di fertilizzazione, probabilmente la simbiosi formata dalle micorrize supplisce a questo così come il trattamento con il biostimolante zuccherino. Quest'ultimo probabilmente potrebbe stimolare la simbiosi con micorrize native del suolo (quindi ben adattate a vivere in quel determinato ambiente) e/o stimola la microflora batterica promotrice di crescita (detti anche plant growth promoting rhizobacteria, PGPR). Per indagare quest'ultimo aspetto sono in corso i sequenziamenti per osservare la composizione microbica della radice (rizobioma).

Per quanto riguarda la **stimolazione di difesa** contro i patogeni fungini sono state campionate le foglie e analizzato il contenuto di stilbeni mediante HPLC-DAD, quali Piceide, Resveratrolo e Viniferina.

La forma di stoccaggio cellulare degli stilbeni, il Piceide, non viene modulato in seguito ai trattamenti rispetto al controllo. Al contrario aumenta il contenuto di resveratrolo in presenza del trattamento con solo Myc o solo Sugar. Aspetto interessante è la viniferina (molecola chiave attiva contro i patogeni fungini fogliari), rispetto al controllo dove non è rilevata, aumenta in modo significativo in tutti i trattamenti, compreso il solo biostimolante zuccherino, similmente a quanto osservato per gli indici di crescita e sviluppo della pianta.

Sono in corso analisi molecolari (geni *target*) e biochimiche (contenuto dei principali ormoni vegetali, quali acido abscisico e auxina) per approfondire questi aspetti anche in condizioni di campo.

- Individuazione di tecnologie sostenibili per il trattamento del Mal dell'ESCA (MdE)
Presso il campo sperimentale dell'istituto è stato possibile individuare piante di vite cv. Glera innestate su SO4 monitorate da diversi anni per lo stato sanitario, in particolare riguardo all'MdE. Questo ha permesso di individuare piante adiacenti nello stesso filare, della medesima età che hanno mostrato sempre MdE conclamata (9 piante) e altrettante sempre asintomatiche (9 piante). Da queste piante sono state ottenuti dei frammenti di legno che hanno permesso le successive analisi. Nello specifico si è proceduto all'isolamento manuale dei funghi coltivabili in condizioni di laboratorio, il che ha permesso di creare una banca di microorganismi con 200 isolati fungini che saranno utilizzati nelle fasi successive.
Da ognuno dei funghi isolati si è proceduto ad estrarre il DNA che in seguito a PCR con primer specifici ha permesso l'identificazione molecolare di ognuno dei funghi della collezione. Inoltre, da ogni isolato è stato anche ottenuto l'RNA, il quale è stato utilizzato con un approccio di metatrascrittomica per l'identificazioni di micovirus. I risultati di questo lavoro hanno permesso di identificare 40 virus associati ai funghi della collezione, e in particolare anche alcuni micovirus associati ai funghi notoriamente coinvolti nella patogenesi dell'esca. La possibilità di utilizzare questi virus come agenti di biocontrollo è in fase di valutazione.
Dai dati di metatrascrittoma, attraverso metodi bioinformatici, sono state ottenute le sequenze dei geni vitali che verranno utilizzate nell'approccio di RNA interferente che è in fase di sviluppo. Al

momento attuale si stanno clonando i geni nel vettore di produzione e verranno saggiati in vitro nei prossimi mesi.

WP4 (leader CREA-ZA).

- La preparazione di quantità di estratti di miscele di saponine a partire da materiale vegetale macinato e disidratato è stata effettuata con estrazione in fase solida su cromatografia in fase inversa. Con metodiche già standardizzate per l'ottimizzazione delle rese sono state ottenute miscele di saponine che, alle prime indagini analitiche sono risultate essere di purezza superiore all'80%. A partire da circa 500 g di materiale vegetale disidratato si sono ottenute circa 0.6-1.5 g di miscele di saponine prepurificate con rese variabili a seconda della specie dall'1.1 al 2.0%. Sono in corso analisi più dettagliate per la valutazione quali-quantitativa delle singole saponine/sapogenine nelle miscele, in modo da poter avere precise informazioni sulla loro composizione e quindi sul rapporto tra struttura chimica e attività biologica.
- E' attualmente in corso la valutazione qualitativa e quantitativa di oli essenziali mediante tecniche GC/FID e GC/MS.

Pubblicazioni

NERVA L, TURINA M, ZANZOTTO A, GARDIMAN M, GAIOTTI F, GAMBINO G, CHITARRA W (2019). Isolation, molecular characterization and virome analysis of culturable wood fungal endophytes in esca symptomatic and asymptomatic grapevine plants. ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, vol. 21; pp. 2866-2904; ISSN: 1462-2920, doi:10.1111/1462-2920.14651.

RONGA D, CARADONIA F, FRANZIA E, MORCIA C, RIZZA F, BADECK F-W, GHIZZONI R, TERZI V. 2019. Interaction of tomato genotypes and arbuscular mycorrhizal fungi under reduced irrigation. HORTICULTURAE, 5, 79; doi:10.3390/horticulturae5040079.

SIMONIN M, DASILVA C, TERZI V, NGONKEU ELM, DIOUF D, KANE A, BÉNA G, MOULIN L 2020. Influence of plant genotype and soil on the wheat rhizosphere microbiome: identification of a core microbiome across eight African and European soils. Submitted, bioRxiv preprint: <https://doi.org/10.1101/777383doi>.

MORENO-MIRAS B, MORCIA C, LUCINI L, TERZI V. Molecular insights into the direct and indirect effects of natural extracts on plant-pathogen interaction. Submitted as oral presentation to the PBE, Plant Biology Congress 2020, 29 June-02 July 2020, Torino.

Altre attività divulgative

Dal gruppo di lavoro del WP1 parte dei risultati ottenuti sono stati presentati ai seguenti workshop:

- Miras-Moreno B, Ganugi L., Terzi V., Lucini L, Trevisan M. 2019. Hidden effects of herbicides on metabolism and fruits quality in tomato. XVI Symposium on Pesticide Chemistry "Advances in Risk Assessment and Management", 2-5 settembre 2019, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza.
- Miras-Moreno B, Terzi V, Bonini P. 2019. Metabolomic insight into the effects of microbial biostimulants in pepper. Il Workshop nazionale sui biostimolanti. "Biostimolanti: dalla ricerca in laboratorio all'utilizzo in campo". 12 settembre 2019, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza.

Il progetto BIOPRIME è stato presentato in occasione di due eventi aperti al pubblico, quali:

- “Fascination of Plants Day”, giornata aperta di divulgazione della ricerca scientifica sulle piante organizzata presso CREA-GB il 13 maggio 2019;
- Fiera dei “Frutti antichi”, organizzata presso il Castello di Paderna (PC) in data 5-6 ottobre 2019.

Dal gruppo di lavoro del WP3, parte dei lavori è stata presentata nell’ambito dell’evento ‘South african and Italian wine research innovations: current status and future prospects’. Organizzato dall’Ambasciata di’Italia a Pretoria, 18-19/11/2019 (link al programma e alle presentazioni: <http://www.arc.agric.za/arc-infruited-nietvoorbij/Italy-SA/Pages/default.aspx>) e all’evento ‘I giorni della sostenibilità 2020: Innovazioni normative e tecniche per la sostenibilità in viticoltura’. Organizzato dal CIRVE - UniPD e patrocinato dalla Regione Veneto (locadina allegata) il 06/02/2020.

Firma del responsabile scientifico

Dott.ssa Valeria Terzi

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Valeria Terzi', is centered within a rectangular box. The signature is fluid and cursive.
