**Ricerche su batteri fitopatogeni a localizzazione vascolare**

**Progetto di ricerca**

Numerosi sono i batteri fitopatogeni associati a diverse malattie che colpiscono varie colture agrarie in tutto il mondo che hanno localizzazione vascolare. In particolare tra questi batteri si annovarano i fitoplasmi (‘*Candidatus P*hytoplasma’ spp.) che sono microrganismi pleomorfi poiché privi di parete cellulare e per questo sono classificati come appartenenti alla classe dei *Mollicutes*. Hanno un genoma molto piccolo e il loro habitat è rappresentato dal floema delle piante ospiti e dall’emolinfa degli insetti vettori. Altri batteri aventi la medesima localizzazione e simile epidemiologia sono i *‘Candidatus* Liberibacter’, appartenenti alla classe degli *α-Proteobacteria*, che sono batteri Gram negativi con pareti cellulari sottili associati a malattie economicamente importanti come “huanglongbing” degli agrumi (HLB) e “zebra chip” (ZC) della patata (*Solanum tuberosum*). I batteri più rilevanti in questo gruppo sono i ‘*Ca*. L. asiaticus’ ‘*Ca*. L. americanum’ e ‘*Ca*. L. africanus’ nell’ambito dei patogeni degli agrumi e ‘*Ca*. L. solanacearum’ nell’ambito dei patogeni di solanacee e ombrellifere. Il progetto di ricerca verte sullo studio dei batteri sopra citati. In particolare si analizzeranno campioni infetti da fitoplasmi tramite analisi di PCR/RFLP sui geni *16S*, *tuf*, *amp, rp* e *sec* e tramite coltivazione in substrato artificiale al fine di ottenere colture pure e studiare alcuni dei meccanismi biochimici di questi microrganismi come la resistenza ad antibiotici e l’uptake di zuccheri. Tali colture saranno anche impiegate per la produzione e la verifica della possibilità di impiego per la diagnostica. Si analizzeranno inoltre campioni di agrumi ed altre specie da individuare mostranti sintomi correlabili alla presenza di ‘*Ca*. Liberibacter’ al fine di migliorare le tecniche diagnostiche per questi batteri e verificarne la presenza in ambienti diversi in associazione o meno con la presenza di fitoplasmi.

**Piano di attività**

La ricerca prevista si basa su:

* test molecolari che prevedono estrazione di acidi nucleici dai campioni infetti e la loro amplificazione tramite PCR diretta e/o “nested” PCR, qPCR, ddPCR, RFLP, sequenziamento ed altre tecniche da mettere a punto specifiche per ognuno dei patogeni oggetto della ricerca.
* Messa a punto di metodiche veloci e precise per verificare l’aplotipo dei ‘*Ca*. Liberibacter’ individuati.
* Isolamento in substrato artificiale dei campioni risultati positivi alle analisi molecolari per fitoplasmi al fine di dimostrare la vitalità dei patogeni e per la produzione di antisieri specifici per alcuni ceppi associati a malattie di rilevanza economica.