**Progetto di Ricerca:**

**Concia biologica delle sementi: una tecnica sostenibile alternativa ai prodotti fitosanitari di sintesi**

Il progetto di concia biologica delle sementi, focalizzato su frumento duro, si incentra sulla riduzione dell’impiego dei prodotti fitosanitari di sintesi, a favore dell’utilizzo di prodotti alternativi al rame ed altre sostanze attive comunemente utilizzate in agricoltura a scopo fungicida, battericida ed insetticida come richiesto dall’Unione Europea. A tale scopo, l’obbiettivo di questo progetto è supportare la difesa delle piante, partendo dal seme, attraverso un approccio totalmente sostenibile per l’ambiente. Il frumento duro, fonte principale di cibo a livello mondiale, è suscettibile all’ attacco di patogeni fungini responsabili di diverse gravi malattie. Nello specifico, Fusarium Crown Rot (FCR) e Fusarium Foot Rot (FFR) sono le malattie più diffuse, in cui i principali patogeni appartengono ai generi *Fusarium* e *Microdochium*, i quali che possono agire singolarmente o in combinazione, interessando radici, colletto e porzioni internodali del culmo. Entrambe le malattie sono legate alla presenza di elevate concentrazioni di inoculo nel suolo. Inoltre, le specie di *Fusarium* coinvolte in FCR/FRR (in particolare *F. culmorum* e *F. graminearum*), sono anche patogene a livello della spiga, determinando la malattia denominata Fusarium Head Blight (FHB). Queste specie, oltre a creare un danno di tipo quantitativo dovuto ad una diminuzione di produzione in granella, inducono un danno di tipo qualitativo, causando semi striminziti e contaminazione da micotossine quali tricoteceni, in particolare Deossinivalenolo, Nivalenolo e loro derivati, prodotte dagli stessi patogeni, dannose per la salute umana ed animale. Ad oggi la difesa principale le strategie contro queste malattie si basa su pratiche agronomiche e l’utilizzo di concianti chimici per le sementi a base fungicida. Metodi di difesa più sostenibili, focalizzati sulla riduzione dell’utilizzo di prodotti agrochimici sintetici per preservare l’ambiente ed il benessere degli operatori e consumatori, risultano quindi necessari.

Il progetto si prefigge quindi l’obbiettivo di individuare batteri endofiti capaci di contrastare FCR/FFR su frumento duro, sia con un effetto antagonista diretto sia attraverso deimetaboliti microbici adatti al film coating. Verrà poi messa a punto una strategia di lotta biologica con l’utilizzo degli stessi batteri selezionati per trattamenti alla spiga contro FHB. Per effettuare ciò sarà necessaria una iniziale caratterizzazione di batteri endofitici isolati da diverse cultivar di frumento duro suscettibili alla malattia. L'isolamento degli stessi sarà effettuato dalla superficie delle radici di frumento duro apparentemente sane. I batteri isolati saranno poi identificati tassonomicamente mediante il sequenziamento parziale di geni informativi, quali rRNA16S e RPOB. Successivamente, si proseguirà con l’allestimento di prove *in vitro* e *in vivo* al fine di valutazione dell’efficacia di tali microorganismi contro i principali patogeni d’interesse. Nelle stesse prove verranno testati batteri appartenenti ai generi *Lactobacillus, Pseudomonas, Bacillus, Stenotrophomonas* e *Paenibacillus* già testati e presenti nella collezione del DISTAL. L’obbiettivo finale sarà quello di individuare una strategia di difesa “rispettosa dell'ambiente” mediante l’impiego di una concia biologica che includa al suo interno una formulazione a base di microrganismi o sostanze da essi prodotte, riducendo così l’utilizzo di prodotti fitosanitari di sintesi, l’impatto delle malattie del piede in frumento e la limitazione delle micotossine presenti sulla spiga.

**Piano di formazione:**

L’approccio proposto mira ad utilizzare microorganismi endofiti già presenti nel microbioma della pianta e con un effetto oltre che antagonista verso i patogeni del frumento anche biostimolante per la pianta stessa. Tale meccanismo è inoltre volto alla riduzione della produzione delle micotossine su un prodotto alimentare di alto consumo nella nostra nazione, il frumento duro.

Articolazione del progetto

La ricerca sarà svolta presso le strutture tecniche-scientifiche del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL) ed in particolare presso i laboratori di Micologia fitopatologica dell’area di Patologia Vegetale e Fitoiatria, le serre del DISTAL e l’AUB sita in Cadriano.

Il progetto è suddiviso in Working packages

**WP1 -Caratterizzazione del microbiota presente all’interno di radici/culmi di piante di frumento duri suscettibili alla malattia**

Task 1.1 – Isolamento su substrati specifici di batteri endofiti presenti all’interno di culmi e radici delle varietà di frumento duro precedentemente selezionate.

Task 1.2 – Identificazione a livello molecolare multi genica dei ceppi isolati tramite parziale sequenziamento di geni informativi.

Task 1.3 - Analisi filogenetica degli isolati tramite software infromativi

**WP2 – Test *in vitro* ed *in vivo* con batteri endofiti contro i principali patogeni del mal del piede del frumento e fusariosi della spiga**

I ceppi microbici isolati ed identificati che risulteranno essere più performanti nelle prove *in vitro* saranno successivamente testati *in vivo* al fine di valutare la loro attività di contrasto della malattia. In dettaglio, una volta identificati i ceppi microbici più efficaci, questi verranno moltiplicati presso i laboratori del DISTAL e si procederà alle diverse prove di inibizione della crescita su piastra e test in cella/serra con successivo rilievo fitopatometrico. In dettaglio i Task previsti saranno i seguenti:

Task 2.1 – Screening *in vitro* dell’attività antagonista dei batteri isolati o già presenti nella collezione del laboratorio di Microbiologia Ambientale contro specie patogene del fumento appartenenti al genere *Fusarium* spp*.* e *Microdochium* spp.

Task 2.2 – Test *in vivo* in ambiente di crescita controllato dell’efficacia dei singoli batteri endofiti come concianti delle sementi dopo inoculazione artificiale dei patogeni fungini a livello del suolo.

Task 2.3 –Individuazione di una strategia di controllo basata su un consorzio batterico nel contrastare il mal del piede del frumento

**WP3 – Test *in vivo* con batteri endofiti contro i principali patogeni della fusariosi della spiga (*F. graminearum* e *F. culmorum*)**

Una volta stabilita nel Task 2.1 l’efficacia dell’attività antagonistica dei ceppi batterici contro i principali agenti causali di FHB, tra cui *F. graminearum* e *F. culmorum*, sarà necessario verificare la loro capacità antagonistica anche *in vivo* su piante di frumento duro.

Task 3.1 – Messa a punto di test *in vivo* in ambiente di crescita controllato dell’efficacia dei singoli batteri endofiti testati nel Task 2.1 dopo inoculazione artificiale dei patogeni fungini (*F. culmorum* e *F. graminearum*) a livello della spiga piante in antesi.

Task 3.2 –Prova di campo parcellare per testare l’efficacia dei singoli ceppi batterici risultati efficaci nel Task 3.1 e di consorzi di essi presso l’AUB