Uso di MIcrorganismi nella DIfesa della vite contro la FlavEsceNza DOrata: cooperazione per migliorare la competitività e la sostenibilità delle aziende biologiche

Riferimenti
Tipo di progetto
Gruppo Operativo

Acronimo
MIDIFENDO

Tematica
Agricoltura biologica

Focus Area
2a) Incoraggiare la ristrutturazione delle aziende agricole con problemi strutturali considerevoli

Informazioni
Periodo
2019 - 2022

Durata
36 mesi

Partner (n.)
7

Regione
Veneto

Comparto
Viticoltura

Localizzazione
ITH34 - Treviso

Costo totale
€352.900,00

Fonte di finanziamento principale
Programma di sviluppo rurale

Programma di sviluppo rurale
2014IT06RDRP014: Italy - Rural Development Programme (Regional) - Veneto

Parole chiave
Controllo delle infestanti e delle malattie
Pratiche agricole

Sito web
http://www.midifendo.eu

Stato del progetto
completato

Obiettivi
L'azione di cooperazione ha l'obiettivo di mettere insieme le competenze dei diversi partner al fine di individuare un metodo di difesa preventivo, sostenibile ed efficace contro la Flavescenza dorata (FD), che si affianchi alle strategie attuali.

Risultati
Il primo anno di sperimentazione ha previsto la valutazione degli MVOCs selezionati (2,3 butandiolo, tridecano e m-cresolo) e la definizione della loro modalità di somministrazione (spray, irrigazione e nebulizzazione). L'analisi dell'espressione genica, in campioni raccolti prima e dopo il trattamento, ha permesso di verificare l'attivazione di alcuni geni della via dello jasmonato in piante irrigate con 2,3 butandiolo e in piante nebulizzate con tridecano. Il trattamento con m-cresolo ha invece mostrato effetti di fitotossicità.
Nel 2020 e 2021 è stata valutata la capacità degli MVOCs scelti nel controllo della diffusione della FD su barbatelle preventivamente trattate e sulle quali è stata indotta l'infezione tramite l'utilizzo di esemplari di S. titanus infettivi. Inoltre, nel 2020 è stato verificato l'effetto indiretto sul vettore applicando preventivamente gli MVOCs su barbatelle, sulle quali successivamente 69 sono stati messi ad alimentarsi alcuni esemplari del vettore. Nel 2021, invece, prove in piastra hanno permesso di osservare eventuali effetti diretti delle molecole sull'insetto.
I risultati finora ottenuti non hanno mostrato effetti significativi sulla mortalità né sulla fertilità del vettore, anche alcune osservazioni andrebbero approfondite. Per quanto riguarda, invece, la capacità degli MVOCs selezionati di contenere l'infezione da FD nelle barbatelle inoculate, i rilievi

che verranno effettuati nella prossima stagione vegetativa saranno cruciali. I risultati che deriveranno da questo progetto daranno nuove indicazioni nella lotta alla malattia, ma saranno necessari ulteriori sperimentazioni in pieno campo.

Attività
Le attività includeranno la sperimentazione di diversi MVOCs, l'individuazione tra essi dei migliori, in quanto ad efficacia, costo, biodegradabilità; parallelamente verranno individuati i microrganismi in grado di produrli.

Contesto
La Flavescenza dorata (FD) è una malattia da giallumi della vite molto grave, considerata di quarantena in Europa, dove continua a provocare ingenti perdite (Direttiva comunitaria 2000/29/CE; lista A2 della EPPO, European and Mediterranean Plant Protection Organization).
Questa malattia è causata da un fitoplasma, batterio che è trasmesso dalla cicalina Scaphoideus titanus Ball, di origine nord-americana (Schvester et al., 1961). Oggi in Veneto è obbligatorio il trattamento contro l'insetto vettore, ove presente (D.M. n. 32442 del 31 maggio 2000). Non esiste una cura alla malattia e le strategie di difesa sono esclusivamente di tipo preventivo: estirpo delle viti sintomatiche ed uso di insetticidi contro l'insetto vettore. L'auspicabile passaggio ad una viticoltura più sostenibile, senza, però, nuovi strumenti di difesa, rischia di compromettere la produzione viticola se si trascura questa malattia, che già nel passato ha mostrato la propria gravità.
Negli ultimi anni la ricerca si è focalizzata nei composti organici volatili microbici (MVOCs, Microbial Volatile Organic Compounds), molecole capaci di attivare delle risposte nelle piante che li ricevono (Kanchiswamy et al., 2015). E' stato riportato che l'applicazione di MVOCs in piante modello permette una protezione nei confronti di diversi patogeni, e su vite alcuni MVOCs hanno diminuito il rischio di infezione da parte di
Plasmopara viticola(Casarin, 2018). E' stato osservato, inoltre, che alcuni MVOCs sono in grado di attivare in modo specifico le risposte di difesa mediate dalla via dell'acido jasmonico (Lee et al., 2012).

Partenariato

Ruolo	Azienda	Address	Telefono	E-mail
Capofila	Azienda Agricola Lucchetti Stiz Di Stiz Gianpaolo	Via Veneto, 42/a 31020 S. Poetro di Feletto TV Italia	320 9546609	gianpaolo.stiz@gmail.com

Ruolo	Azienda	Address	Telefono	E-mail
Partner	Azienda Agricola Pederiva di Martignano Annalisa	Via Veneto, 42/A 31020 San Pietro di Feletto TV Italia	338 8558524	annalisa.martignago@libero.it
Partner	Azienda Agricola La Cantina Pizzolato srl	Via IV Novembre, 12 31020 Villorba TV Italia	0422 928166	welcome@lacantinapizzolato.com
Partner	CREA - Centro ricerca Viticoltura ed Enologia	Viale Santa Margherita 80 52100 Arezzo AR Italia	0575353021	vic@crea.gov.it
Partner	Agridinamica s.r.l.	Via XXVI Aprile 13 36055 Nove VI Italia	0424 400953	info@agridinamica.com
Partner	Università degli Studi di Verona	Via S. Francesco, 22 37129 Verona VR Italia	045 802 8588	
Partner	Consorzio Tutela del Vino Conegliano Valdobbiadene Prosecco Superiore	Piazza Libertà 7 31050 Solighetto di Pieve di Soligo TV Italia	0438 83028	amministrazione@prosecco.it

Innovazioni

Descrizione
Coordinamento con la Regione ed AVEPA, invio dei report amministrativi e finanziari (mesi 1-36), partner Soc Agricola Semplice Ai Boz, Agridinamica SRL
Obiettivo intermedio: garantire la comunicazione con gli enti finanziatori ed un corretto coordinamento amministrativo e finanziario
Risultato corretta rendicontazione, time-sheet, fatture, report finanziari e scientifici

Descrizione
Coordinamento fra i partner (mesi 1-36),
Obiettivo intermedio: garantire la comunicazione fra i partner
Risultati: sottoscrizione ATI/ATS, nominativi del Comitato di Gestione, 4 meeting e relativi verbali, sito condiviso online
Le relazioni fra i diversi partner saranno regolate nel dettaglio dal regolamento dell’ATI/ATS, di cui è già stata sottoscritta la bozza, e che verrà finalizzato entro il primo mese del PAGO. I partner saranno coordinati da Soc Agricola Semplice Ai Boz

tramite il Comitato di Gestione, costituito da una persona per partner, che sarà individuata al primo meeting di progetto.

Descrizione
Monitoraggio delle attività (mesi 3-34)
Obiettivo intermedio: garantire un corretto svolgimento delle attività
Risultati attività svolte e concluse entro le scadenze, report periodici
Soc Agridola Semplice Ai Boz, supportato da CREA, per le attività tecniche, eAgridinamica SRL, per le attività amministrative, assicurerà lo svolgimento delle attività secondo il work plan ed il cronoprogramma. Durante i meeting LP
riassumerà gli impegni di ciascun partner per l'anno successivo ed invierà mail periodiche in prossimità delle scadenze, sollecitando l'invio dei report. Ogni problematica tecnica e gestionale che insorgesse verrà comunicata dai partner a Soc Agridola Semplice Ai Boz, che, in accordo con il Comitato di Gestione, provvederà ad affrontarla e risolverla, se necessario reindirizzando le attività del PAGO verso una nuova strada, più fattibile. Tutto sarà svolto in accordo con il regolamento dell'ATI/ATS già sottoscritto.

Descrizione
Preparazione ed aggiornamento di un sito web dedicato e di un profilo Facebook (mese 3-34)
Obiettivo intermedio: avere un sito web ed un profilo Facebook dedicato al progetto
Risultato: Sito web e account Facebook online, logo
Consorzio del Prosecco proporrà un logo, che verrà adottato per ogni comunicazione interna ed esterna del progetto. Inoltre curerà la messa online di un sito web, verso il quale ogni sito web dei partner avrà un link. Il sito verrà regolarmente aggiornato con i risultati e le iniziative del PAGO:
convegni, articoli, corsi, dimostrazioni in campo, etc. Il progetto verrà inserito a livello europeo nel settore del PEI (partenariato per l'innovazione), secondo le modalità stabilite dal PSR e
dalla Regione.
Consorzio del Prosecco creerà un profilo Facebook per il progetto e lo aggiornerà periodicamente con le novità e le iniziative del PAGO, in modo da facilitare la diffusione del progetto e dei suoi risultati sui
social media.

Descrizione
Preparazione e stesura del Piano della Comunicazione (mesi 3-8)
Obiettivo intermedio: pianificare ed organizzare le attività di comunicazione e divulgazione
Risultato: Piano della comunicazione
All'interno del Consorzio del Prosecco sarà nominato un responsabile della comunicazione (Communication Manager). All'inizio del progetto Consorzio del Prosecco redigerà un Piano della Comunicazione, che sarà integrato dagli altri partner. Tale documento conterrà il piano e le modalità di comunicazione e divulgazione del progetto, nonché le modalità di monitoraggio delle stesse attività. Verrà stabilito un minimo numero di pubblicazioni da scrivere in riviste specialistiche e non-specialistiche, scientifiche, tecniche e generiche. Verrà stabilito a quanti congressi ed eventi, sia scientifici che tecnici e fieristici, sarà portato un contributo da parte dei partner sulle tematiche del progetto. Saranno individuati i gruppi target e gli stakeholders del settore vitivinicolo, destinatari principali delle attività di comunicazione e divulgazione.

Descrizione
Campagna di divulgazione (mesi 3-34)
Obiettivo intermedio: divulgazione del progetto tramite i diversi mezzi individuati nel Piano
Risultato: report con le relazioni portate a convegni e fiere, gli articoli pubblicati, le visite dimostrative in vigneto; atti del convegno tematico;
La problematica e i risultati del progetto verranno divulgati:
- durante gli incontri tecnici per gli operatori del settore vitivinicolo che Consrozio del Prosecco e CREA organizzano periodicamente, come parte della loro attività

- in convegni scientifici del settore, nazionali ed internazionali, a cura dei partner CREA, Università di Verona
- su riviste scientifiche nazionali ed internazionali, a cura dei partner CREA, Università di Verona
- tramite l'organizzazione, alla fine del progetto, di un convegno dedicato, in cui verranno riportate tutte le attività svolte ed i risultati del progetto
- tramite brevi comunicati tecnici, volantini informativi e materiale divulgativo curati da Consorzio del Prosecco e distribuiti ai soci, secondo canali comunicativi già individuati e già in uso (rivista, email, etc)
- tramite brevi articoli, più semplici, per la stampa non specializzata.

Fra i primi e principali soggetti destinatari delle azioni di divulgazione, verranno selezionate inparticolare le aziende che sono leader di opinione nel settore vitivinicolo, in modo che facciano da traino alle altre aziende del territorio.

Descrizione
Bibliografia (mesi 3-5), partner CREA
Obiettivo intermedio: individuare in bibliografia gli composti organici volatili attivanti la via dello jasmonato
Risultato: lista di composti composti organici volatili attivanti la via dello jasmonato da bibliografia
In questa prima fase verrà innanzitutto realizzata una approfondita ricognizione bibliografica sugli studi più recenti riguardanti l'attività di alcuni composti organici volatili sull'attivazione delle vie di difesa, con particolare attenzione alla via dello jasmonato, che risulta correlata alla risposta della vite alla flavescenza dorata. Verranno quindi selezionati 3-4 composti irganici volatili potenzialmente efficaci e validi per lo scopo che questo progetto si prefigge.

Descrizione
Valutazione della dose minima/massima (mesi 5-16)
Obiettivo intermedio: individuare la dose più efficace degli composti organici volatili selezionati nello stimolare la via dello jasmonato
Risultato: dose minima/massima migliore I 3-4 composti organici volatili selezionati da bibliografia saranno sperimentati con 3-4 dosi ciascuno, a seconda di quanto riportato in bibliografia. Presso le strutture di CREA, verrà allestita una prova sperimentale con barbatelle sane. Il trattamento con i composti organici volatili scelti sarà eseguito tramite applicazione fogliare di soluzione liquida. Prima del trattamento e dopo verranno raccolti da ogni barbatella campioni fogliari, che saranno conservati in congelatore o subito processati, rispettivamente per l'analisi genica e metabolomica. I campioni trattati saranno confrontati fra loro e con una tesi non trattata.
L'analisi trascrittomica verrà eseguita da CREA tramite estrazione di RNA totale e retrotrascrizione, seguita da una serie di real time PCR specifiche per evidenziare i livelli di espressione genica dei geni associati alle vie di difesa.
Verranno analizzati i seguenti parametri i quali ci aiuteranno a capire 1) Composto organico volatile più attivante; 2) dose più efficace; 3) maggiore persistenza dei metaboliti.

Descrizione
Valutazione dell'effetto contro il vettore (mesi 17-28)
Obiettivo intermedio: individuare eventuali effetti negativi dei composti organici volatili contro l'insetto vettore
Risultato: indice di mortalità dovuta ai composti organici volatili
Presso le strutture del CREA verrà allestita una prova sperimentale con barbatelle di categoria 'base'. Le barbatelle, allevate in condizioni controllate, saranno 10 per tesi. Le tesi saranno trattate con i composti organici volatili che nella precedente sperimentazione hanno dimostrato maggiore efficacia nell'attivare la via dello jasmonato. I composti organici volatili saranno applicati singolarmente o in miscela di due o più. Esemplari di Scaphoideus titanus saranno allevati presso le strutture di CREA: saranno fatti nascere da tralci di legno di due anni raccolti da vigneti altamente infestati e poi mantenuti su barbatelle fino al momento della prova. Alternativamente, gli insetti saranno raccolti presso vigneti infestati dall'insetto e privi della malattia. Ogni 24 ore verranno controllati i manicotti e raccolti e conteggiati gli eventuali insetti morti.

Descrizione
Valutazione dell'efficacia contro Flavescenza Dorata (mesi 17-28)

Obiettivo intermedio: individuare la percentuale di barbatelle che, dopo il trattamentocon si infettano con il fitoplasma, e la sua concentrazione
Risultato: indice di efficacia dei composti organici volatili contro la Flavescenza dorata
Nella prova sperimentale le tesi saranno trattate con o composti organici volatil, che nella precedente sperimentazione hanno dimostrato maggiore efficacia nell'attivare la via dello jasmonato. Esemplari di S. titanus saranno raccolti un mese prima nei vigneti delle aziende agricola partecipanti al progetto.
Prima della caduta delle foglie, verso fine settembre, verranno fatte osservazioni visive per la presenza di sintomi della flavescenza dorata e verranno raccolti campioni fogliari dalle barbatelle delle diverse tesi, che poi verranno conservati in congelatore ed analizzati da CREA tramite analisi molecolare qualitativa e quantitativa, al fine di evidenziare lo stato sanitario e la concentrazione del fitoplasma eventualmente presente.

Descrizione
Valutazione degli effetti dei composti organici volatili sulle piante (mesi 17-34)
Obiettivo intermedio: individuare gli effetti degli composti organici volatili sull'attivazione della via dell'acido jasmonico, sulla produzione di metaboliti d'interesse, sulla crescita delle piante e sulla persistenza, biodegradabilità ambientale ed eventuale loro tossicità
Risultato: indice di crescita delle piante e di produzione di metaboliti dovuti ai composti organici volatili
Dalla prova sperimentali precedenti verranno scelte barbatelle con insetti non infetti da ogni tesi trattata con composti orgnici volatili e trattata con acqua e barbatelle infette per ogni tesi trattata con composti organici volatili e trattata con acqua. Tutte queste piante saranno confrontate con barbatelle messe in allevamento nello stesso momento, sane e senza l'insetto vettore, trattate con gli comopsti organici volatili e trattate con acqua. Tutte le barbatelle saranno monitorate per due anni, e verranno misurati alcuni parametri di accrescimento e di stato sanitario. Inoltre verranno eseguite le analisi trascrittomiche e metabolomiche, al fine di verificare l'attivazione della via dello jasmonato e confrontarle con quelle delle barbatelle trattate con acqua.
Per l'analisi metabolomica verranno analizzati diversi parametri

Descrizione
bibliografia (mesi 3-5), partner
Obiettivo intermedio: individuare in bibliografia i microrganismi produttori degli composti organici volatili
Risultato: Lista dei microrganismi
Si redigerà una lista di microrganismi che dalla bibliografia risultano produttori di composti orgniaci volatili, dando priorità alla documentazione scientifica più completa in termini di verifica di produzione di questi composti chimici a specifiche condizioni di crescita del microrganismo. I ceppi di interesse saranno quelli disponibili tramite l'acquisto in collezioni pubbliche e private. Il numero di ceppi di interesse per la sperimentazione sarà di circa 10.

Descrizione
Valutazione della produzione degli composti orgniaci volatili da parte dei microrganismi selezionati (mesi 6-17), partner PP6
Obiettivo intermedio: individuare i microrganismi che riescono a produrre meglio gli composti orgniaci volatili
Risultato: ceppi di microrganismi produttori deicomposti orgniaci volatili scelti
I ceppi scelti saranno fatti crescere su un substrato ottimale per la specie di appartenenza e quindi analizzati per produzione di composti orgniaci volatili Verrà analizzata la crescita in un substrato in comune per tutti i ceppi (si presume appartengano a specie e generi differenti).

Descrizione
Valutazione della compatibilità di crescita dei microrganismi in un substrato idoneo per poterli usare per il trattamento sulla pianta (mesi 18-34), partner PP6
Obiettivo intermedio: individuare una soluzione con i microrganismi per il trattamento alle piante
RisultTO soluzione idonea

Si dovrà studiare la composizione di una soluzione che conterrà i microrganismi idonea per il trattamento delle piante. Questa soluzione dovrà garantire la sopravvivenza delle cellule ad una concentrazione elevata e, soprattutto, la capacità di aderire ai tessuti della pianta, in
particolare delle foglie, riducendo al massimo fenomeni di scivolamento per gravità e dilavamento. Si verificherà la capacità di sopravvivenza delle cellule dopo il trattamento sulla pianta.

Descrizione
16.2-WP3.1: valutazione del danno economico dovuto a flavescenza dorata (mesi 3-15),
Obiettivo intermedio: quantificare il danno economico dovuto alla perdita produttiva e alle spese di gestione di aziende a conduzione integrata e biologica
Result: dati economici delle aziende, report di contabilità raccolta dati storici delle aziende viticole partner, nonché di aziende rappresentative. Verrà fatta la stima del danno economico causato dalla flavescenza dorata negli ultimi 5 anni.
I criteri impiegati saranno quelli del valore di mercato o del valore di costo, mentre i procedimenti estimativi utilizzati saranno il razionale-analitico ed i procedimenti parametrici.

Descrizione
Valutazione dei costi di produzione del prodotto (mesi 18-34)
Obiettivo intermedio: quantificare il costo di produzione di un eventuale prodotto a base dei microrganismi selezionati
Risultato: costo di produzione del prodotto
Verranno analizzati i costi dei materiali necessari alla produzione su larga scala, il costo della manodopera, il costo della tecnologia utilizzata e il costo di eventuali brevetti utilizzati.

Link utili

Titolo/Descrizione	Url	Tipologia
Sito web del progetto	http://www.midifendo.eu	Sito web
Pagina Facebook del progetto	https://www.facebook.com/progettomidifendo/	Link ad altri siti che ospitano informazioni del progetto
ARTICOLO - Al via il progetto mi.di.fen.do.	https://www.prosecco.it/it/flavescenza-dorata/	Link ad altri siti che ospitano informazioni del progetto
Video del progetto	https://consent.youtube.com/m?continue=https%3A//www.youtube.com/watch%3Fv%3Dsm...	Materiali utili

Titolo/Descrizione	Url	Tipologia
#CREABREAK per #innovazione2020: il progetto #MIDIFENDO di #ViticolturaEnologia	https://www.youtube.com/watch?v=sm6QBnCtSt4	Materiali utili