

Sara Francesconi

Exploring novel green, high-tech and molecular mechanisms for the control and early detection of Fusarium head blight in durum wheat

21/07/2021

Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE), Università degli Studi della Tuscia, Via San Camillo de Lellis, snc, 01100, Viterbo

Descrizione del tema trattato e del lavoro svolto

La Fusariosi della spiga è una delle malattie fungine più dannose per il frumento, causando una diminuzione della resa in granella e accumulo di micotossine, fra cui il Deossivalenolo (DON), estremamente dannoso per gli organismi superiori, in quanto causa danni cronici gastrointestinali negli animali e nell'uomo.

La prima parte del lavoro ha riguardato lo studio dell'interazione ospite-patogeno in tre varietà di frumento italiane, due di frumento duro (Marco Aurelio e Claudio) e una di frumento tenero (Palesio), al fine di individuare le diverse componenti di resistenza nelle tre varietà di frumento. Gli screening hanno riportato che la varietà Marco Aurelio non ha mostrato l'abilità di contrastare l'infezione primaria, ma ha dimostrato l'abilità di contenere la diffusione sintomatologica, così come l'accumulo della biomassa fungina e la perdita in resa. Quindi, la varietà Marco Aurelio risulta essere tollerante.

La seconda parte del lavoro ha riguardato lo studio del ruolo della conduttanza stomatica in frumento in risposta alla Fusariosi e se tale meccanismo fisiologico possa essere implicato nei meccanismi di resistenza alla fitopatia. Abbiamo studiato il meccanismo di conduttanza stomatica in due genotipi di frumento tenero: Sumai3, un genotipo di frumento sperimentale resistente alla Fusariosi, e Rebelde, un genotipo di frumento italiano suscettibile alla Fusariosi. Abbiamo osservato una pronta chiusura stomatica in Sumai3, la quale ha causato un aumento della temperatura della spiga. Questo lavoro ci ha permesso di determinare che il meccanismo di conduttanza stomatica è effettivamente correlato alla resistenza alla fusariosi della spiga. Inoltre, la regolazione di apertura e chiusura stomatica ha portato a delle alterazioni fenotipiche (cambiamento della temperatura e dell'efficienza fotosintetica) visibili già dopo 24-48 ore l'infezione, le quali possono essere utilizzate per mettere a punto delle tecnologie di diagnostica della fitopatia in campo, tramite l'utilizzo di sensori (portatili o da remoto). Ciò è stato oggetto di studio della terza parte della ricerca.

A tal proposito, abbiamo deciso di sfruttare la perturbazione della conduttanza stomatica per mettere a punto un sistema di diagnostica innovativo da effettuare direttamente in campo e basato su sensori termici e RGB montati su un drone, in grado di captare centinaia di migliaia di foto dell'appezzamento potenzialmente infetto in circa 10 minuti. I dati ottenuti da drone hanno messo in luce che il sensore termico e l'indice RGB VEG sono parametri ottimali per la distinzione tra sezioni di appezzamento infette da quelle sane. Quindi, tale tecnica di agricoltura di precisione ha permesso di individuare la fitopatia in modo non distruttivo, veloce e sensibile e in uno stadio di infezione latente (pre-antesi). In questo modo, l'agricoltore può essere prontamente allertato sulla presenza della fitopatia e effettuare le dovute strategie di contenimento quando la fitopatia non è ancora in fase di diffusione, ottimizzando l'efficacia di eventuali fungicidi.

Le attuali politiche europee adottate dal Green Deal prefissano l'ambizioso obiettivo di ridurre del 50% i pesticidi sintetici in uso entro il 2030, al fine di preservare e ristorare l'ecosistema, il benessere ambientale e garantire cibo pulito e a basso impatto, sia ambientale che economico, per tutti. A tal proposito, nella quarta parte del lavoro di ricerca, sono state investigate le diverse modalità di azione

del chitosano per il controllo della Fusariosi tramite saggi *in vitro* e *in vivo*, in cui il chitosano ha mostrato proprietà antimicrobiche e di elicitore delle difese innate della pianta, soprattutto quando applicato su una varietà resistente alla Fusariosi, dove le piante di controllo solo inoculate presentavano una gravità della malattia di circa il 20%, mentre le piante trattate con il chitosano hanno presentato una gravità della malattia del 6%, abbattendo drasticamente l'impatto dell'infezione.

Interesse scientifico dei risultati e innovatività della ricerca

I tre anni di sperimentazione hanno permesso la pubblicazione di quattro articoli scientifici su riviste internazionali *peer-reviewed*. La ricerca ha portato alla scoperta che la conduttanza stomatica è implicata nella resistenza alla Fusariosi, alla scoperta che il chitosano modula diversi geni dell'ospite e del patogeno e che concorre al controllo della fitopatia così come ad apportare benefici alla pianta. L'innovazione risiede principalmente nell'aver trasferito tali nuove conoscenze in applicazioni per un'agricoltura digitale e sostenibile, con l'obiettivo di controllare la fitopatia in maniera efficiente preservando la salvaguardia dell'ecosistema e della salubrità del cibo. La ricerca, infatti, ha permesso di concludere che per raggiungere la sostenibilità in agricoltura è necessario approcciare a più metodi di controllo e non ricadere nell'errore del passato, in cui abbiamo basato le strategie di controllo quasi esclusivamente sull'utilizzo di pesticidi, andando a danneggiare ed inquinare l'ambiente, il nostro cibo e favorendo la selezione di ceppi di patogeni resistenti a queste molecole, rendendole del tutto inutilizzabili. L'impiego di strategie multiple con il fine di ottimizzare e ridurre l'uso della chimica di sintesi permetterà di controllare in maniera efficiente e tempestiva le fitopatie. In particolare, un sistema di detection accurato e veloce permette di individuare in pochi minuti appezzamenti infetti da quelli non infetti e di individuare la presenza della malattia durante il suo stadio latente. In questo modo, l'agricoltura di precisione permetterà l'applicazione mirata e oculata di pesticidi, nonché la riduzione dell'impiego di tali molecole, grazie ad un miglior controllo della fitopatia individuata al suo stadio iniziale. L'impiego di varietà resistenti e di molecole di origine naturale è risultato essere, poi, la strategia di contenimento più promettente rispetto al solo utilizzo di pesticidi. Una varietà resistente, infatti, possiede già un pathway genetico in grado di contrastare il patogeno; inoltre, tali caratteristiche genetiche possono essere ulteriormente potenziate da una molecola che, non solo agisce come antimicrobica, ma stimola i geni che concorrono all'induzione delle difese innate; tale meccanismo, infatti, non è mai stato preso in considerazione durante lo sviluppo di pesticidi convenzionali di sintesi, i quali sono molecole esplicitanti un effetto tossico nei confronti dei patogeni, mostrando però una tossicità ad ampio spettro verso i microrganismi non-target. D'altro canto, l'impiego di un elicitore delle difese della pianta, agendo indirettamente sulla stimolazione delle difese della pianta, non presenta effetti tossici per la microflora e fauna endogena.

Ricadute applicative e possibili sviluppi del lavoro

Le ricadute applicative risiedono principalmente nella seconda metà del lavoro, dove lo sviluppo di un sistema di detection precoce e veloce può essere di estremo aiuto per effettuare degli interventi di gestione della fitopatia mirati ed efficaci. E' importante ricordare che gli attuali sistemi di detection si basano principalmente su sistemi di laboratorio laboriosi, richiedono diversi giorni di lavoro e sono spesso costosi. L'agricoltura di precisione e le tecniche di remote sensing permettono analisi non distruttive e un sistema di acquisizione di dati direttamente in campo. Il collo di bottiglia di tali metodiche, però, risiede ad oggi nell'elaborazione dei dati, la quale richiede le abilità di un operatore esperto. Quindi risulta di primaria importanza la formazione di una nuova generazione di agronomi digitalizzati in grado di dare un supporto pratico agli agricoltori affinché possano approcciarsi con serenità a queste nuove metodiche di gestione delle colture. Per quanto riguarda la possibilità di sostituire del tutto i pesticidi di sintesi con molecole di origine naturale, l'impiego del chitosano è risultato estremamente promettente. Tale molecola è risultata molto efficiente anche a basse

concentrazione, quindi il suo impiego in agricoltura è del tutto fattibile, poiché già ammesso in agricoltura biologica. La fattibilità dell'uso del chitosano risiede anche nella sua economicità: si tratta di un polimero estremamente abbondante nei gusci dei crostacei, i quali sono una fonte di scarto e quindi un costo di smaltimento dell'industria del cibo. Questi scarti possono essere facilmente recuperati e valorizzati per estrarre questo polimero, che ha numerose applicazioni, non solo in agricoltura. Sviluppi futuri di questa tecnologia, che sono già in corso come proseguo delle attività di ricerca, riguardano l'impiego delle nanotecnologie, al fine di ottimizzare l'azione del chitosano come principio attivo. Le nanotecnologie si basano sull'impiego di carriers di origine naturale, i quali hanno lo scopo di ottimizzare la penetrazione del principio attivo, permettendo di diminuirne la concentrazione di impiego nel formulato finale. Tali ricerche sono già in atto e hanno dimostrato risultati interessanti, permettendo di abbassare la concentrazione del chitosano di 10 volte e mantenendo le stesse capacità di controllo della Fusariosi. Un ulteriore sviluppo del lavoro è la possibilità di utilizzare il chitosano stesso come carrier in forma nanometrica per il *delivery* di geni di interesse. Le nanoparticelle di chitosano sono già impiegate in medicina umana per il trasporto di geni nell'ambito della terapia genica, mentre non esistono applicazioni in pianta. Il *delivery* di geni permette un'espressione transiente di questi, di conseguenza è possibile donare alle piante una nuova funzione ma che abbia un'espressione limitata nel tempo. L'applicazione di questo *delivery system* è del tutto equivalente a quella di un pesticida convenzionale (il *delivery system* viene dissolto in acqua, applicato preventivamente all'infezione e, come un pesticida convenzionale, ha un tempo di azione limitato nel tempo). Rispetto ad un pesticida convenzionale, però, il *delivery system* dona all'ospite vegetale una resistenza genetica, più forte rispetto all'effetto del pesticida, ed una volta che si degrada immette nell'ambiente molecole del tutto biocompatibili.