



Nuovi approcci per la caratterizzazione di microrganismi da impiegare per il controllo dei patogeni delle piante

*Scoprire gli alleati invisibili dei
nostri campi*

Rita Milvia De Miccolis Angelini



Perché studiare i microrganismi in agricoltura?

I microrganismi sono onnipresenti, nel suolo, rizosfera, nella fillosfera, nell'endosfera delle piante

Contribuiscono al **ciclo di nutrienti** (azoto, fosforo, carbonio) e migliorano la struttura del suolo

Possono **promuovere la crescita** delle piante, proteggere dalle malattie e aumentare la resilienza

Caratterizzare queste comunità aiuta a progettare **pratiche agricole più sostenibili**

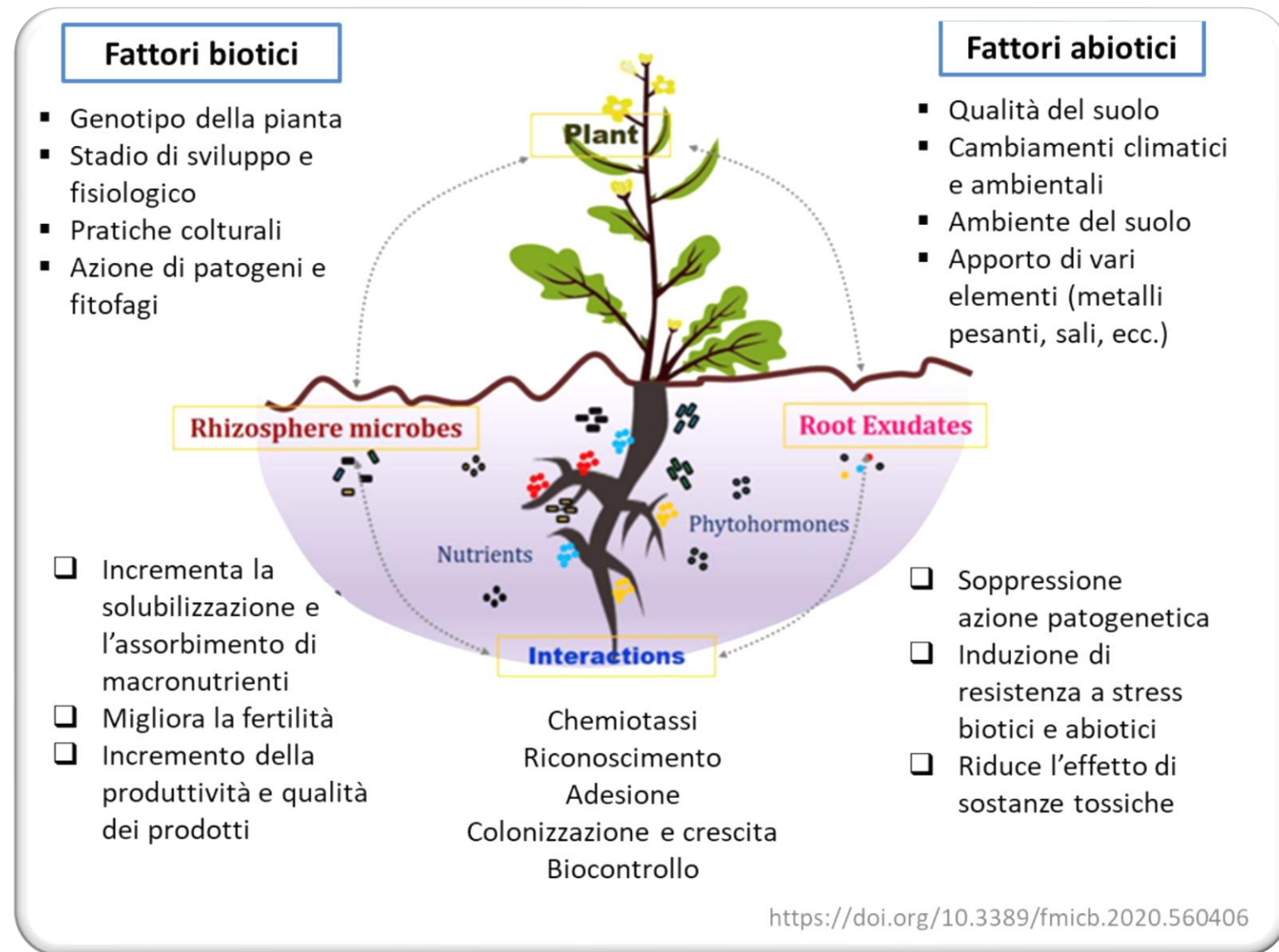


Il microbioma dell'agroecosistema

Comunità complesse: batteri, funghi, Archaea, virus, protisti

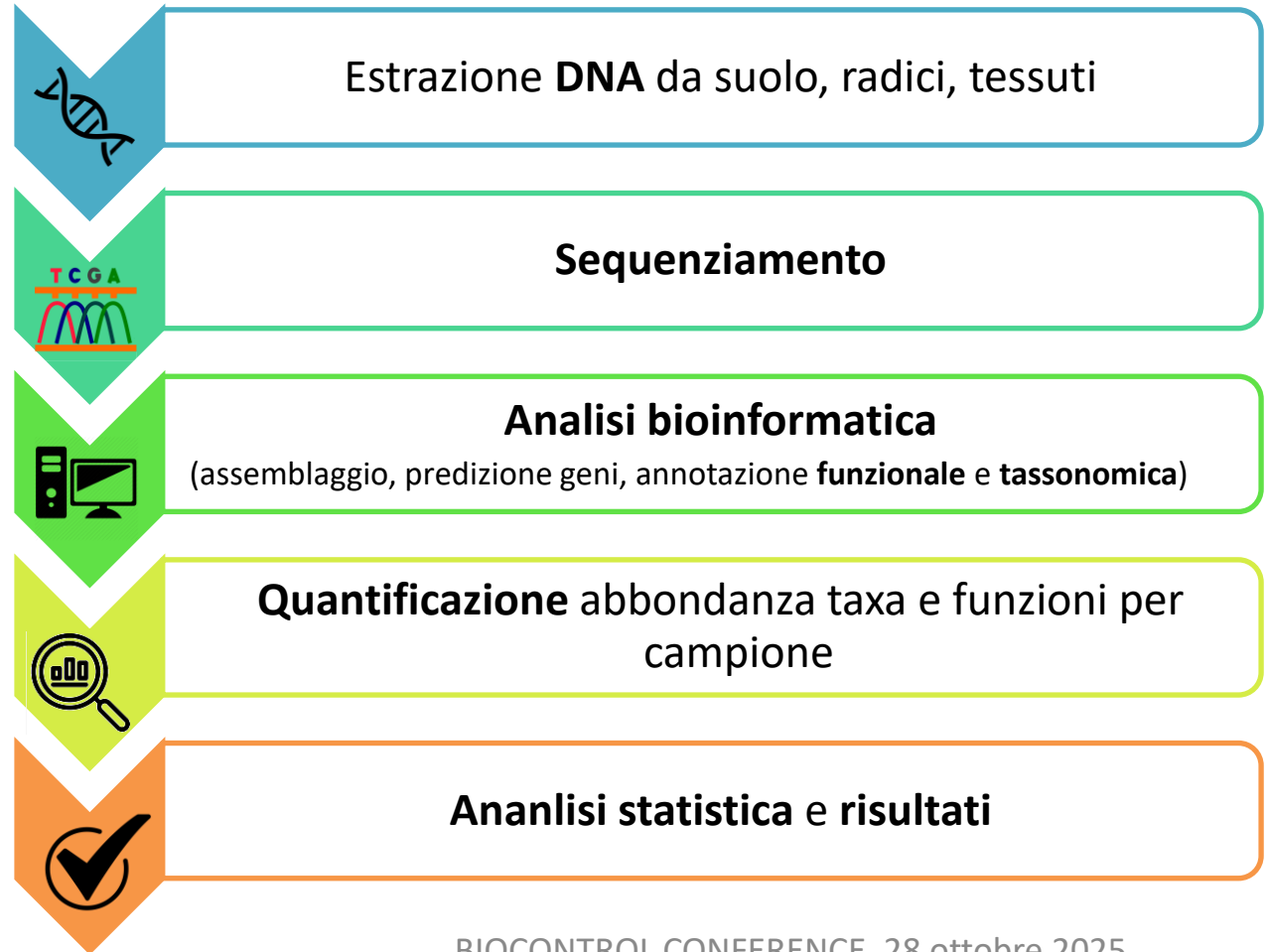
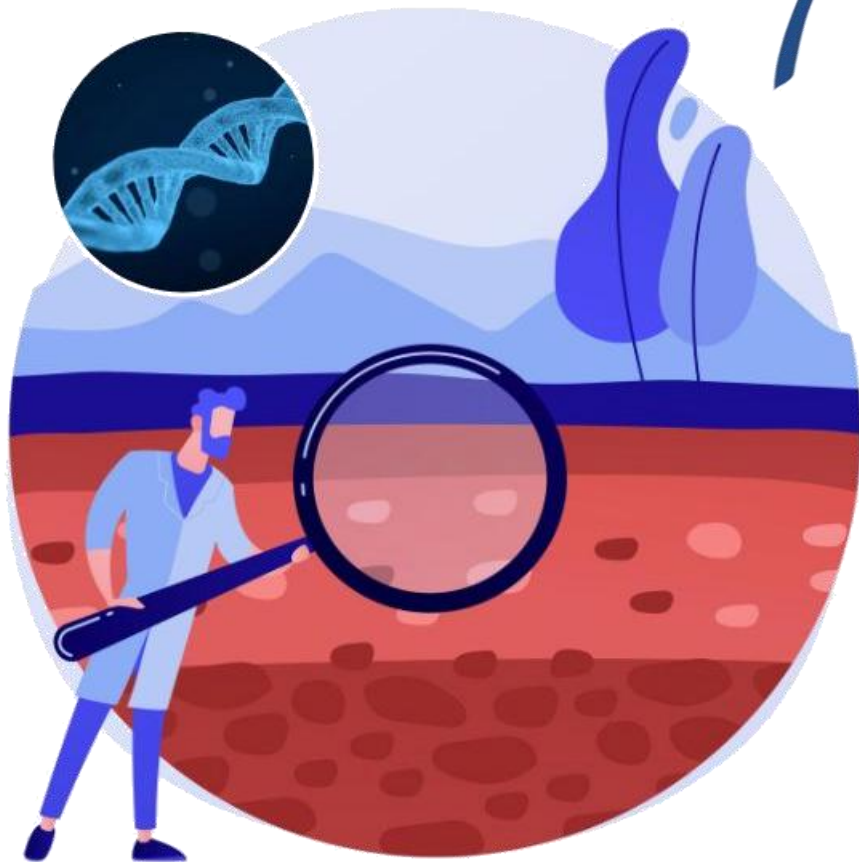
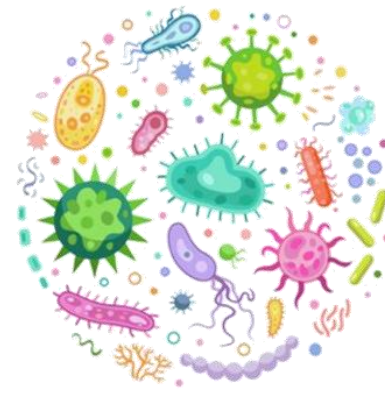
Funzioni chiave:

- Mineralizzazione e decomposizione, **fissazione dell'azoto**, mobilizzazione del fosforo
- Produzione di **sostanze bioattive** (antimicrobici, fitormoni)
- Mediazione delle **interazioni pianta-patogeni** / pianta-mutualisti



Influenza diretta sulla fertilità del suolo, salute e produttività delle piante

Tecniche metagenomiche: dal DNA all'analisi



Cosa rivela la metagenomica

- Profilo **tassonomico** (“chi c’è”) – famiglie, generi, specie
- Profilo **funzionale** (“cosa possono fare”) – geni e processi metabolici
- Collegamento tra composizione microbica e funzioni utili (**biocontrollo, nutrienti, stress**)
- Monitoraggio dell’**impatto delle pratiche agricole** sul microbioma

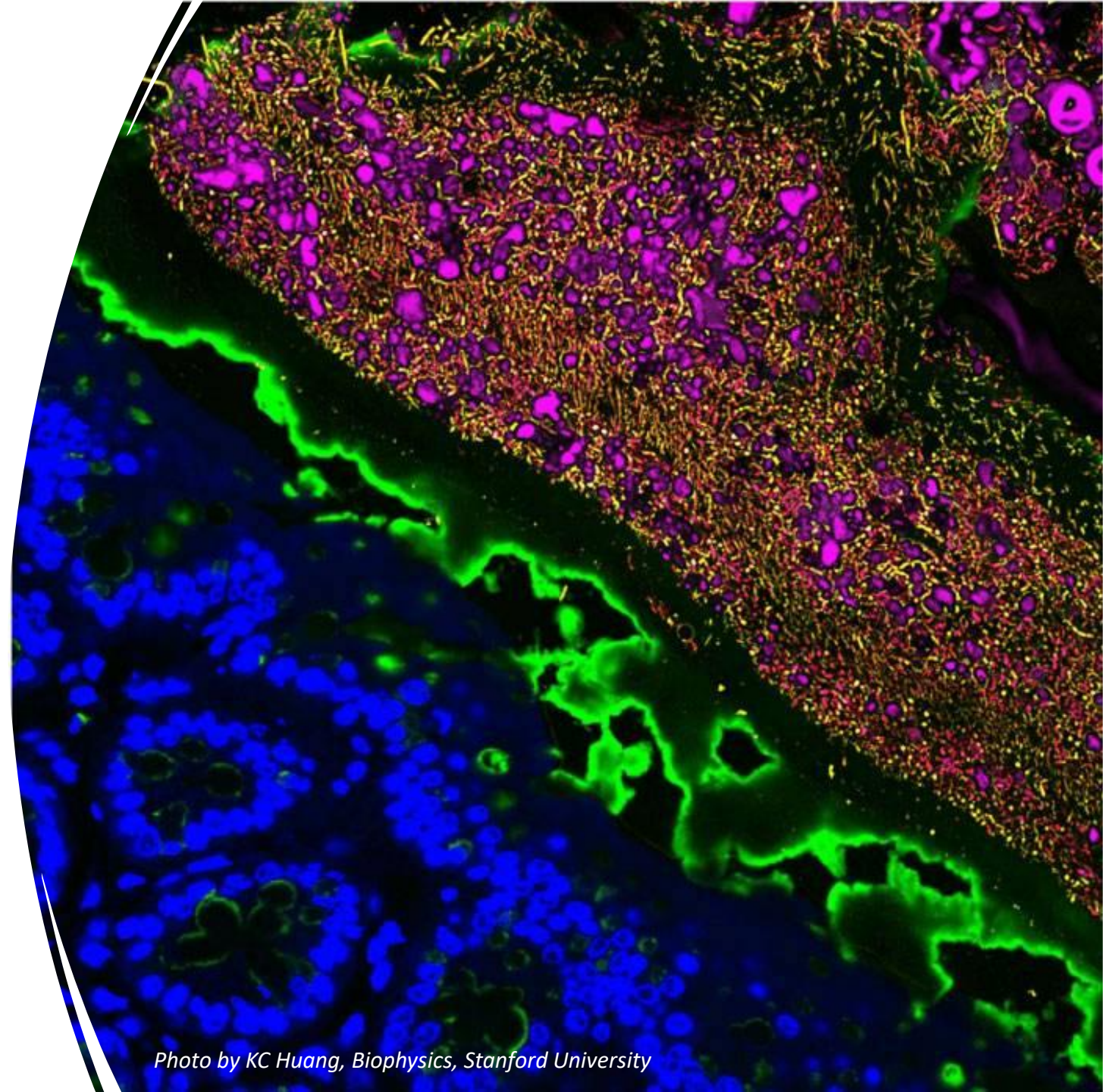


Photo by KC Huang, Biophysics, Stanford University



UniBa

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BARI
ALDO MORO



agritech

National Center for
Technology in Agriculture

Caso studio 1 – Microbioma del vermicompost

*Giuseppe Di Cuia, Domenico Di Cosmo, Rita Milvia De Miccolis Angelini, Donato Gerin, Francesco Faretra,
Stefania Pollastro*



Caso studio 1 – Microbioma del vermicompost

- Vermicompost ➔ **ammendante organico** (D. lgs. 29 aprile 2010, n. 75), prodotto mediante somministrazione di effluenti zootecnici come alimento ai lombrichi
- **ANALISI INTERGRATE**
 - Chimica
 - Microbiologica
 - Metagenomica



Isolamento e identificazione molecolare e biochimica di microorganismi da VC

Isolato	Taxa		Amount	Identificazione Genere (Identità; Coverage)	
	Classe	Famiglia			
Nutrient agar (NA)					
1	Actinomycetes	Gordoniaceae	4.3±2.0	Gordonia (99.91%; 100%)	
2		Microbacteriaceae	34.5±9.3	Microbacterium (100%; 100%)	
3		Micrococcaceae		21.7±9.10	Glutamicibacter (99.71%; 100%)
4					Glutamicibacter (99.45%; 100%)
5					Micrococcus (100%; 100%)
6					Microterricola (99.91%; 99%)
7		Nocardiaceae	1.7±1.7	Rhodococcus (99.91%; 100%)	
8		Nocardioideaceae	33.0±7.1	Nocardioides (100%; 100%)	
9	Bacilli	Bacillaceae	29.2±17.8	Bacillus (100%; 100%)	
10				Bacillus (100%; 100%)	
11				Bacillus (100%; 100%)	
12				Bacillus (100%; 100%)	
13				Bacillus (100%; 100%)	
14				Bacillus (100%; 100%)	
15				Bacillus (100%; 100%)	
16	Flavobacteria	Flavobacteriaceae	1.9±1.1	Flavobacterium (98.90%; 100%)	
17	Gammaproteobacteria	Enterobacteriaceae	2.8±1.7	Citrobacter (100%; 100%)	
18				Citrobacter (99.91%; 100%)	
19		Pseudomonadaceae	7.8±3.1	Pseudomonas (100%; 100%)	
Starch casein agar (SCA)					
20	Actinomycetes	Gordoniaceae	7.0±0.0	Gordonia (99.91%; 100%)	
21		Promicromonosporaceae	4.6±0.8	Isoptericola (100%; 100%)	
22				Isoptericola (100%; 100%)	
23		Streptomycetaceae	4.7±1.1	Streptomyces (100%; 100%)	
24	Streptomyces (100%; 100%)				
25	Gammaproteobacteria	Pseudomonadaceae	26.0±1.8	Pseudomonas (100%; 100%)	
26		Aeromonadaceae	2.9±1.3	Aeromonas (100%; 100%)	
27		Enterobacteriaceae	464±136	Citrobacter (100%; 100%)	
28				Raoultella (100%; 100%)	

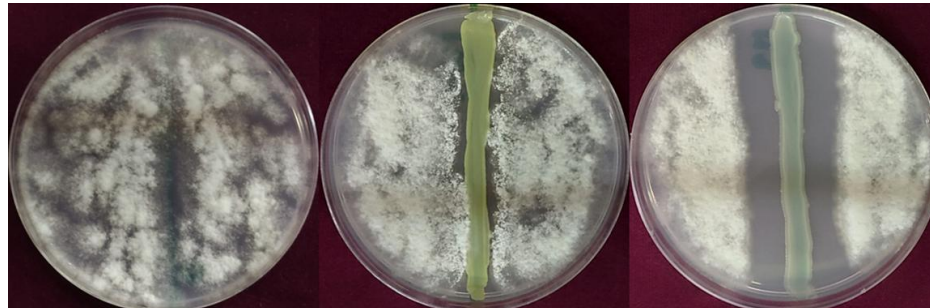
Nutrient Agar

Starch Casein Agar



Saggi *in vitro* di coltura duale

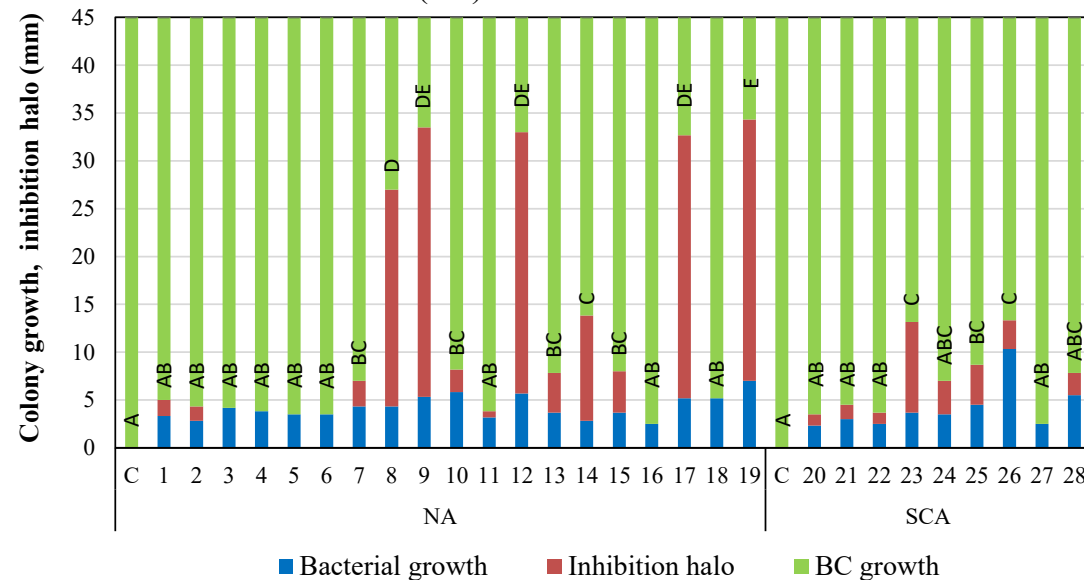
Botrytis cinerea



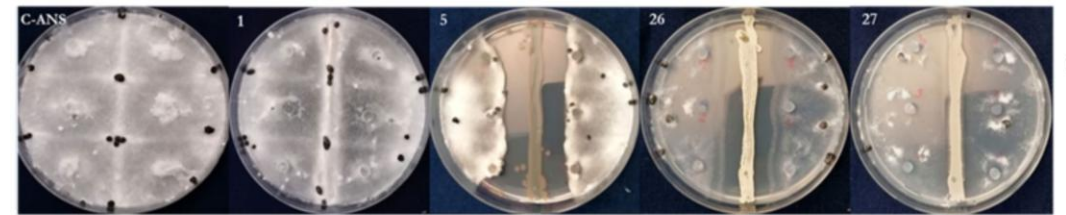
Control

No/few effective

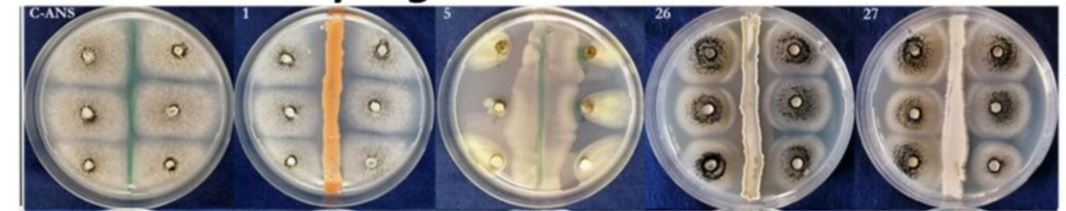
Effective



Sclerotinia sclerotiorum



Aspergillus carbonarius



Cylindrocarpon destructans



UniBa

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BARI
ALDO MORO



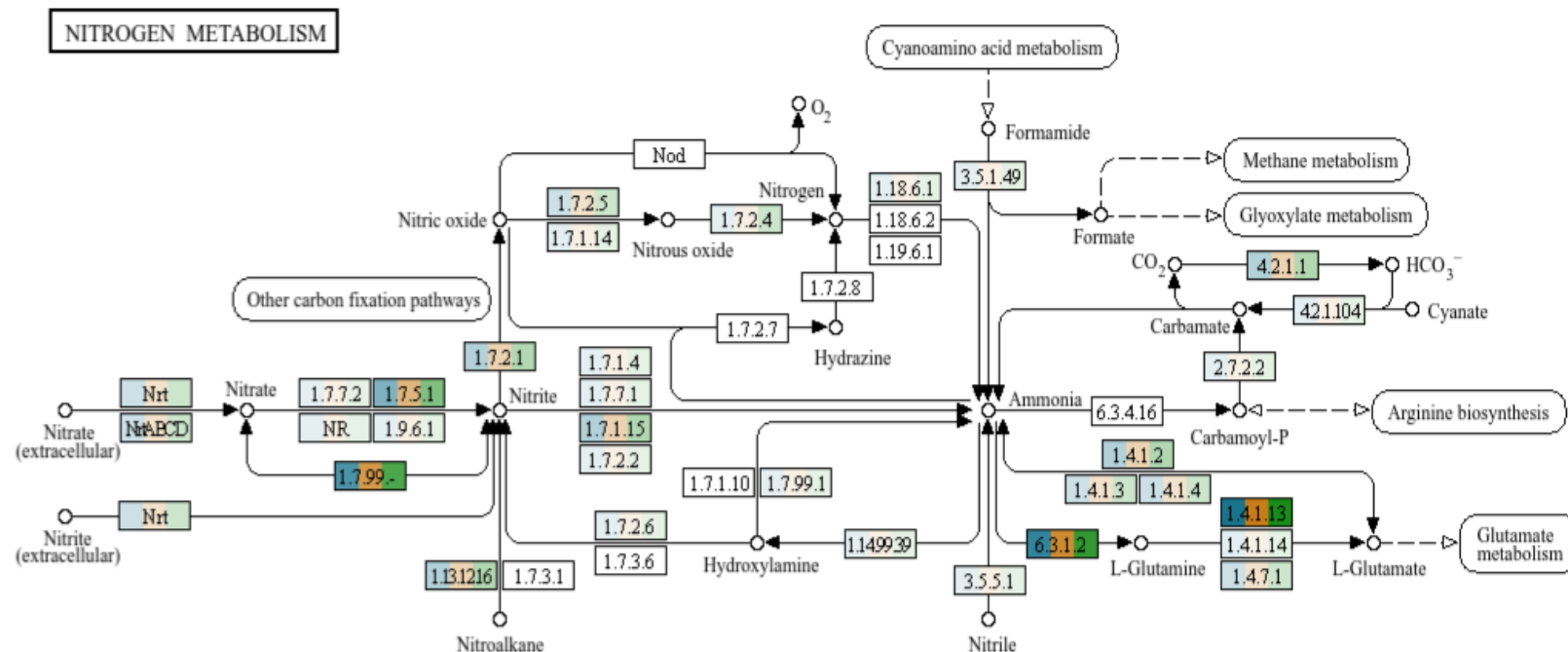
agritech
National Center for
Technology in Agriculture

Analisi chimica: il vermicompost mostra un **basso rapporto C/N**, indice di maturità e intensa attività microbica

Antibiosi: identificazione di batteri produttori di composti antimicrobici come *Streptomyces* e *Nocardioides*

Conferma metagenomica: abbondanza di geni per il **metabolismo dell'azoto** e la **degradazione dei carboidrati** e la presenza di pathway per la produzione di **streptomycina** e **nocardicina**

Caso studio 1 – Microbioma del vermicompost



Caso studio 1 – Microbioma del vermicompost

- Arricchimento di **batteri azotofissatori** e produttori di sostanze ad **attività antibiotica**
- **Benefici:**
 - Maggiore **fertilità** del suolo e disponibilità di nutrienti
 - **Antibiosi** naturale
 - Ridotta necessità di **fertilizzanti e prodotti fitosanitari** chimici di sintesi
- L'attività microbica sostiene la fertilizzazione naturale e il potenziale di biocontrollo nei confronti dei patogeni



UniBa

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BARI
ALDO MORO



agritech

National Center for
Technology in Agriculture





agritech

National Center for
Technology in Agriculture



UniBa

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BARI
ALDO MORO



Caso studio 2 – Gestione del suolo in vigneto

F. Mezzapesa, D. Gerin, M. Curci, P. Vernile, D. Di Cosmo, R.M. De Miccolis Angelini, C. Porfido, S. Pollastro, C.E. Gattullo F. Faretra, M. Spagnuolo



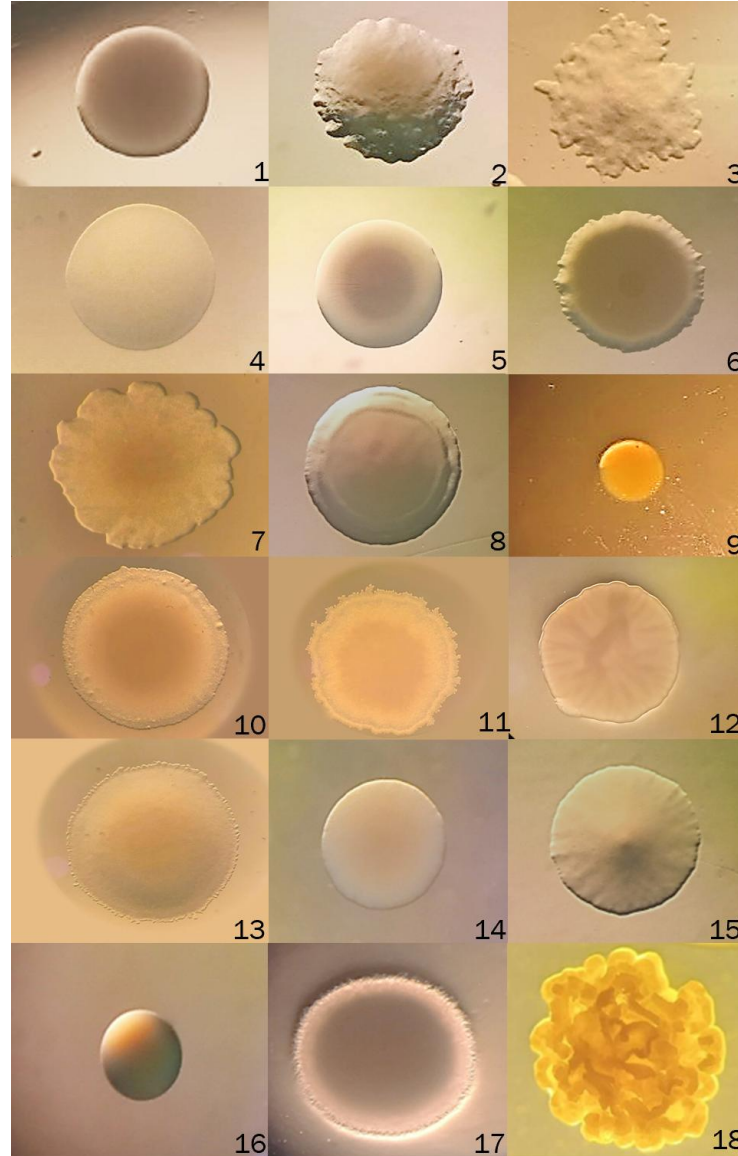
Caso studio 2 – Gestione del suolo in vigneto

- **Confronto tra due sistemi di gestione**
- **Località:** Ginosa (TA)
- **Varietà:** Allison™
- **Interfila:** 2° anno di inerbimento;
miscuglio di Brassicaceae, Poaceae e Fabaceae
- **Fila:** lavorazione periodica del terreno;
irrigazione e fertirrigazione a goccia in
prossimità della pianta
- **Modalità campionamento:** 5 punti
selezionati; Profondità campionamento 20 cm



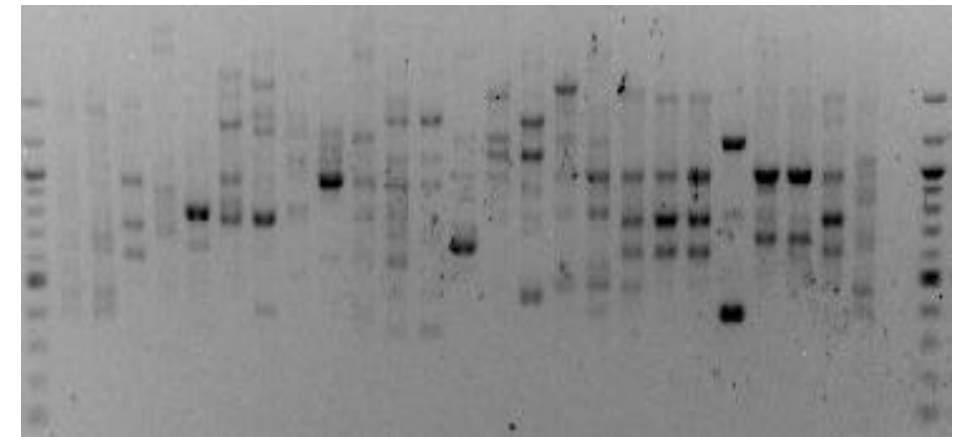
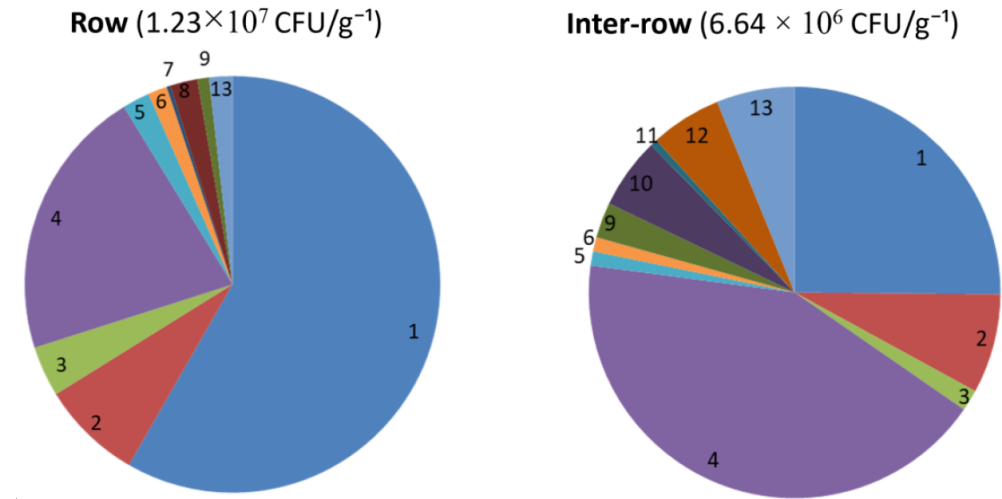
Analisi microbiologica

- **Isolamento** su substrati artificiali
- **Identificazione morfologica e conteggio delle unità formanti colonie (UFC)**
- Valutazione **carica microbica** totale (UFC g⁻¹ suolo secco) e **diversità** fila vs interfila
- **Screening molecolare** via BOX-PCR



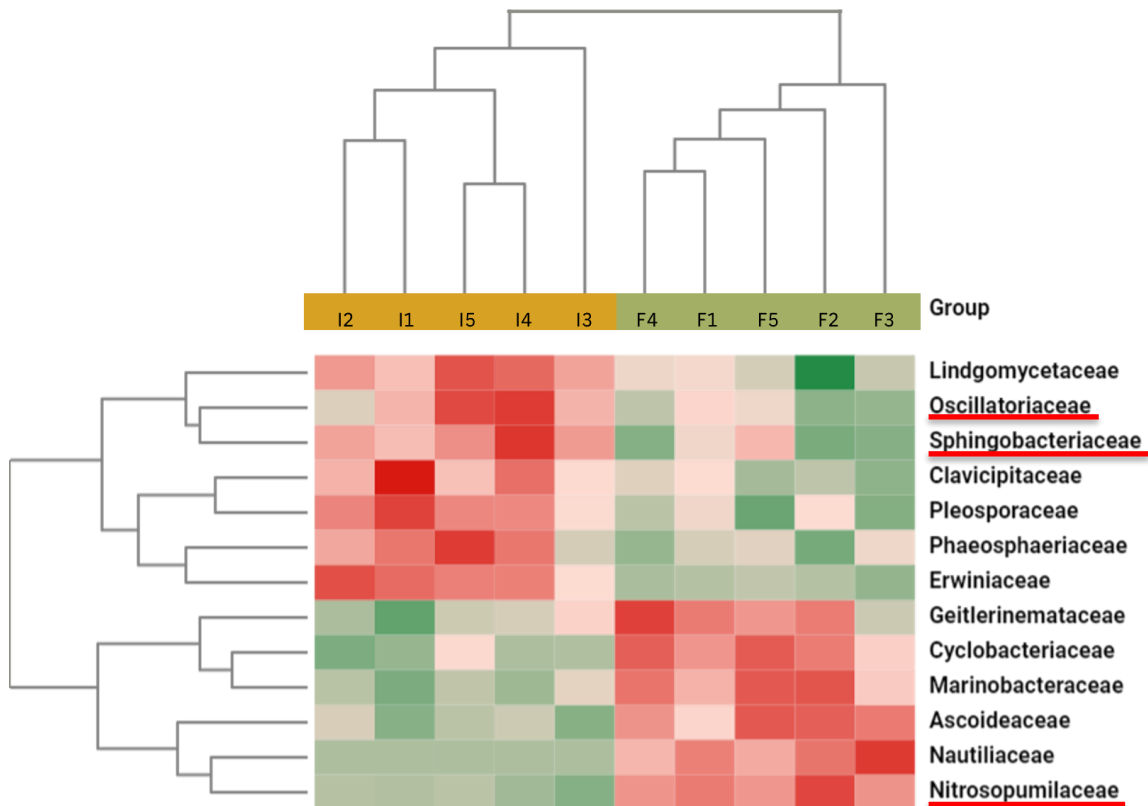
Differenze significative ($p < 0,05$) tra fila e interfila nell'abbondanza batterica

Nutrient Agar (13 morfotipi)



Caratterizzazione dei diversi morfotipi batterici isolati

Caso studio 2 – Gestione del suolo in vigneto

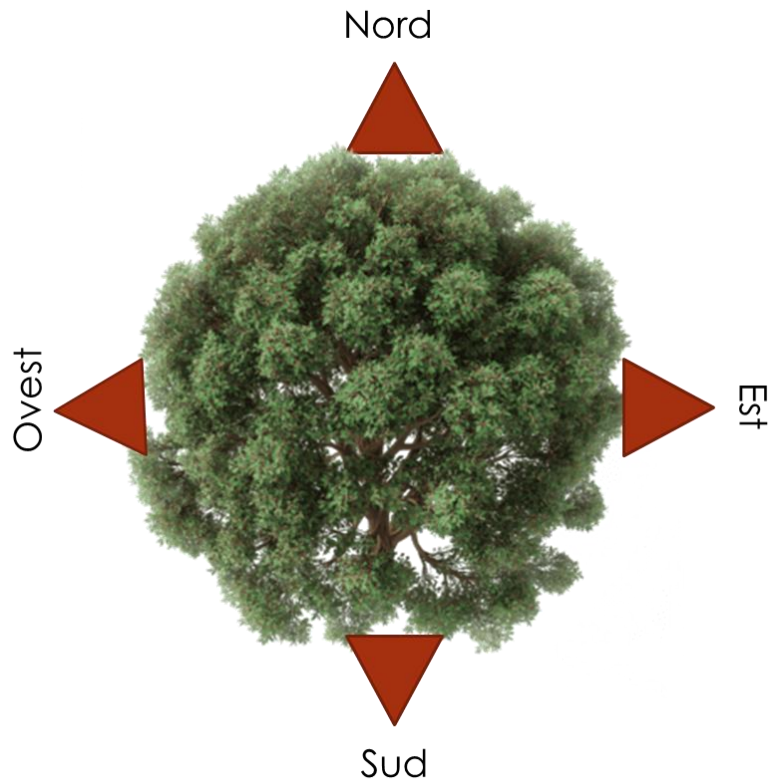


Parte inerbita (interfila) → Le analisi **metagenomiche ed enzimatiche** mostrano I suoli inerbiti presentano una maggiore abbondanza di PGPR (rizobatteri promotori della crescita delle piante) e di batteri azotofissatori, e maggiore attività di **β -glucosidasi e fosfatasi alcalina**, segni di un suolo biologicamente attivo e fertile.

Parte diserbata (filare) → Le analisi **chimiche e metagenomiche** rivelano un'abbondanza di microrganismi legati ai cicli di azoto, fosforo e zolfo, coerente con la localizzazione dei fertilizzanti.

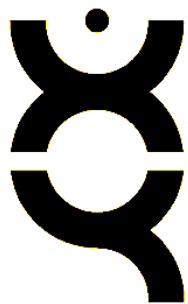
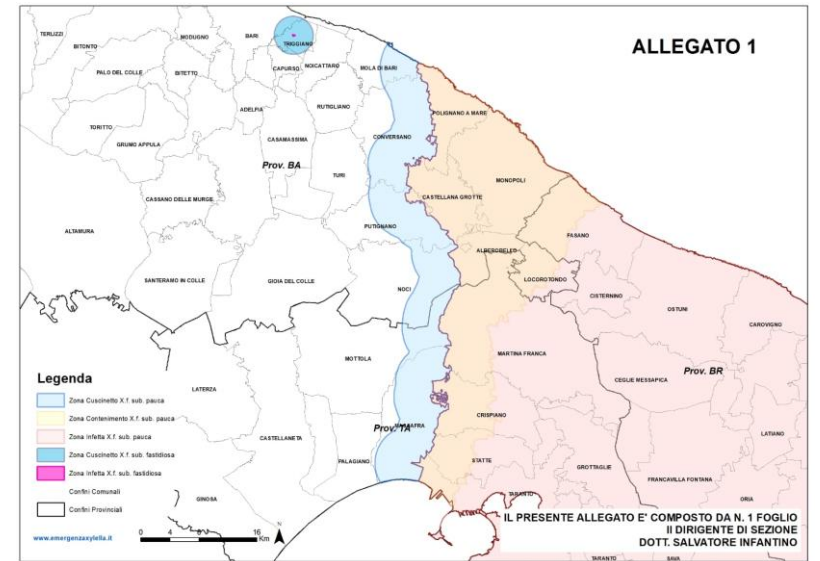
Confronto complessivo → Le due strategie influenzano in modo diverso l'**abbondanza** e la **funzionalità** dei microrganismi del suolo.

L'inerbimento favorisce un **miglior equilibrio biologico e maggiore fertilità del suolo**



UniBa

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BARI
ALDO MORO



REACH-XY

Caso studio 3 – Profilo metagenomico del microbioma del legno in piante di olivo della cultivar 'Leccino' resistente a *Xylella*

D. Di Cosmo, R. Donno, A. Giampetruzzi, M.E.E. Franco, C. Del Grosso, M. De Bellis, O. Potere, A.M. Ligorio, S.S. Amoia, M. Dugo Bati, F. Faretra, P. Saldarelli, M. Saponari, R.M. De Miccolis Angelini



Caso studio 3: Olivo cv. Leccino e resistenza a *Xylella*

OBIETTIVI

- **Caratterizzazione tassonomico-funzionale** delle comunità microbiche endofitiche in cv. Leccino
- Studio dell'influenza di diverse variabili sulle comunità microbiche
- Individuazione di potenziali **microrganismi utili** per il controllo del patogeno





Caso studio 3: Olivo cv. Leccino e resistenza a *Xylella*

CAMPIONAMENTO

2 stagioni di prelievo

3 aree con differente pressione d'inoculo

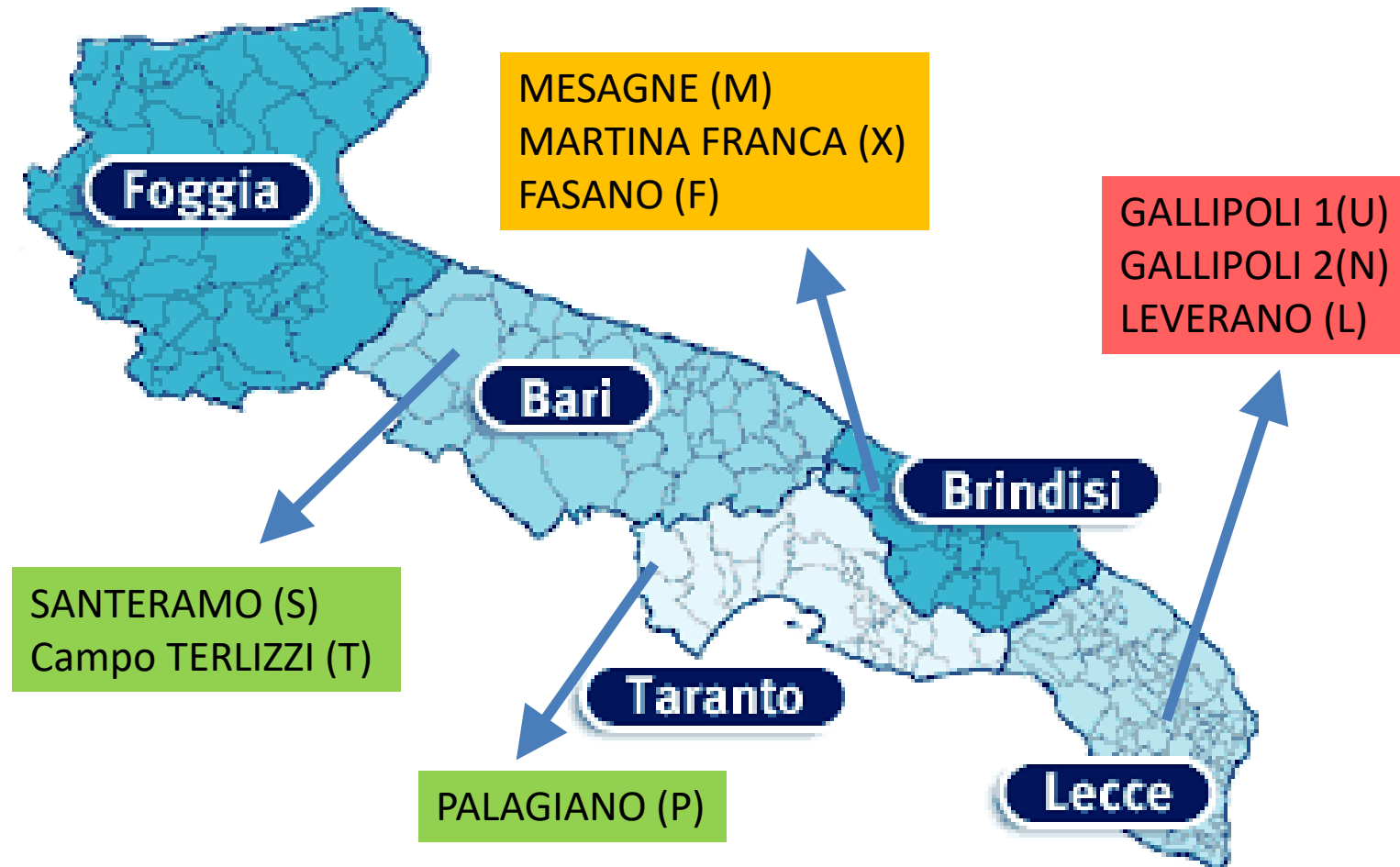
3 campi per area

30 alberi per campo

5 pool di campionamento per campo

6 alberi per pool

4 rami (5-7mm, 30cm) per albero

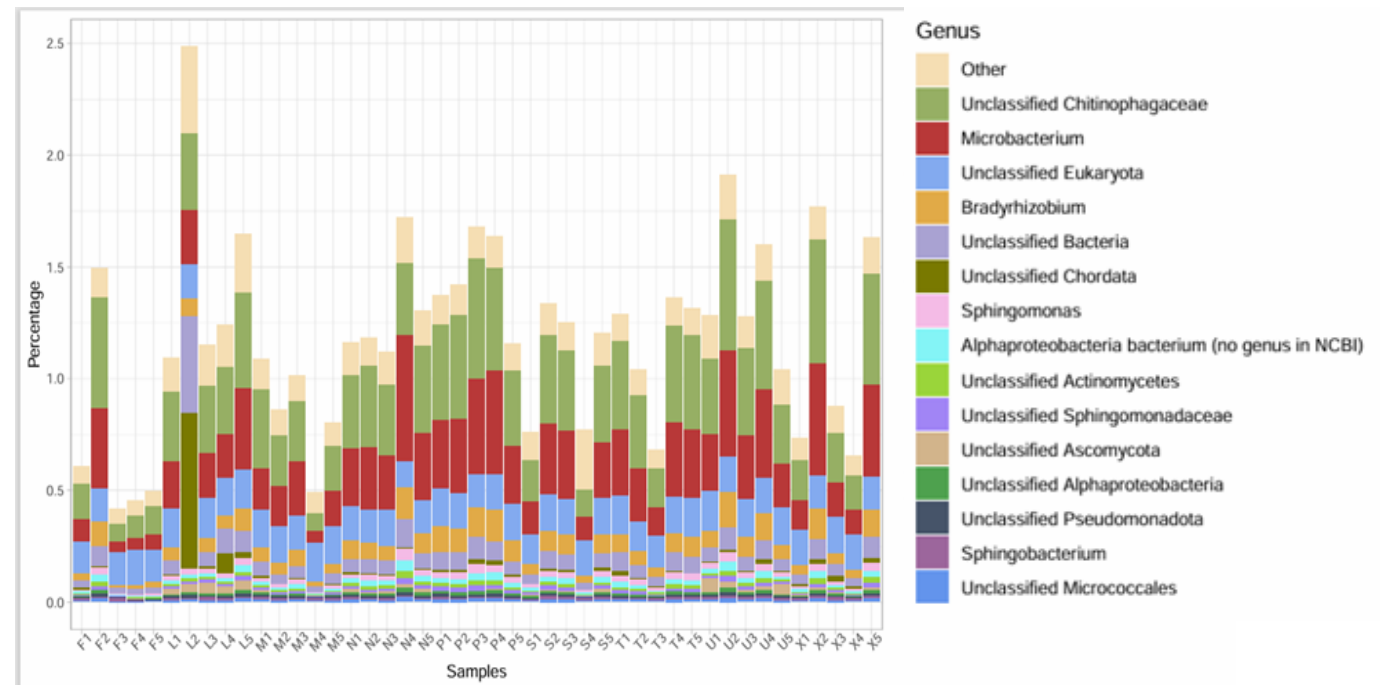
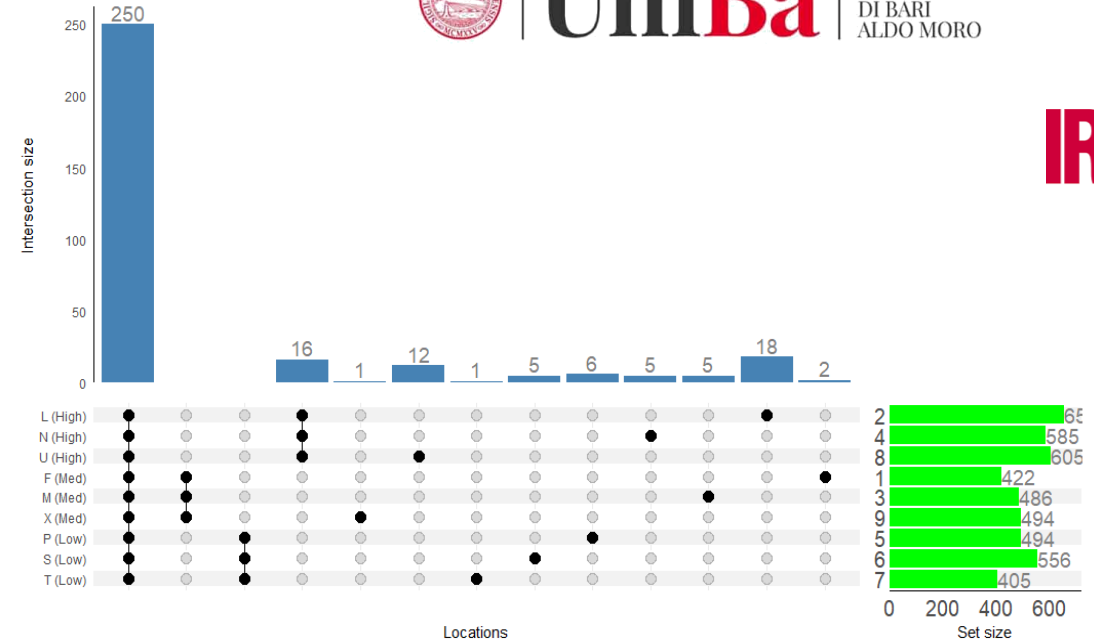


Caso studio 3: Olivo cv. Leccino e resistenza a *Xylella*

ANALISI TASSONOMICO-FUNZIONALE

- Identificato un **core microbiome di Leccino**: *Novosphingobium*, *Sphingomonas*, *Bacillus*, *Herbaspirillum*, *Sphingobacterium*, *Rhodospirillum*
- Alcuni microrganismi mostrano un **potenziale ruolo antagonista**, producendo antimicrobici, siderofori e regolatori del biofilm
- Differenze microbiche tra piante provenienti da aree a **alta pressione di inoculo**

Shared genera across Locations



UniBa

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BARI
ALDO MORO



IRTA^R Institute
of Agrifood Research
and Technology

Caso studio 3: Olivo cv. Leccino e resistenza a *Xylella*

Il *Leccino*, cultivar resistente a *Xylella fastidiosa*, presenta un microbioma endofitico straordinariamente stabile.

Osservazioni principali:

- Stabilità del microbioma tra diverse aree e stagioni
- Presenza di microrganismi potenzialmente utili per il controllo di *Xylella*

Questi microrganismi potrebbero contribuire alla resistenza della pianta al patogeno ed essere utilizzati per curare piante suscettibili





M. Dugo Bati, D. Di Cosmo, S.S. Amoia, R. Donno, A.M. Ligorio, A. Giampetruzzi, F. Faretra, R.M. De Miccolis Angelini, M.E.E. Franco, M. Saponari

Caso studio 4 – Effetti di *Xylella* sulla rizosfera



REACH-XY

Caso studio 4: Effetti di *Xylella* sulla rizosfera

Obiettivo dello studio:

- Analizzare l'impatto dell'infezione da *X. fastidiosa* sul **microbioma della rizosfera** di olivo
- Individuazione di **marcatori biologici e molecolari** dell'infezione di *Xylella*

Metodi

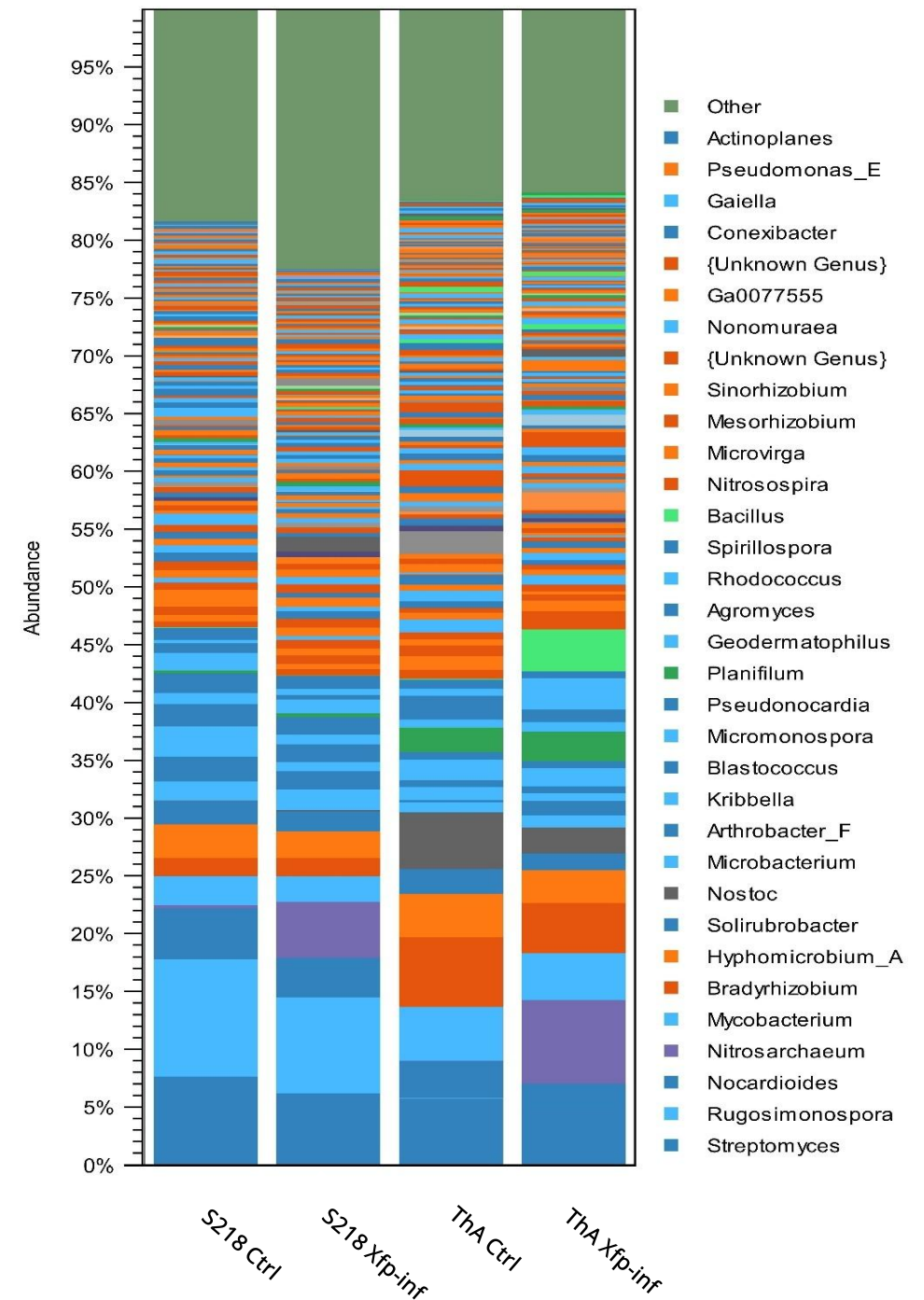
- Analisi **shotgun metagenomica** su campioni di rizosfera da due cultivar di olivo ('Serie 218' e 'Throubolia Aegean') infette e sane



Caso studio 4: Effetti di *Xylella* sulla rizosfera

L'infezione induce **modifiche significative nel microbioma del suolo.**

- Aumento di Archea ossidanti ammonio (*Nitrosarchaeum koreense*), Pseudomonadota e Actinobacteria resistenti a stress
- Arricchimento funzionale in vie legate a stress, quorum sensing, formazione di biofilm, biosintesi di metaboliti secondari.
- Incremento di enzimi per la produzione di **composti organici volatili (VOC)** → possibile influenza sul volatiloma del suolo.



Caso studio 4: Effetti di *Xylella* sulla rizosfera

Conclusioni e prospettive:

- Primo studio a descrivere le alterazioni del microbioma rizosferico in olivi infetti da *X. fastidiosa*
- Evidenziati **potenziali biomarcatori**.
- Base per studi metabolomici futuri e per strategie di gestione microbiologica sostenibili



REACH-XY

<https://xylellacnr.it/>

Applicazioni pratiche in agricoltura

- Sviluppo di **biofertilizzanti** e consorzi microbici su misura
- **Monitoraggio** dello stato microbiologico del suolo
- Pratiche **microbioma-friendly**: inerbimento, compost, rotazioni
- **Controllo biologico** tramite consorzi di microrganismi antagonisti
- **Agricoltura di precisione** basata su dati microbiologici



Nuove strategie di biocontrollo

Le comunità microbiche sono alleati invisibili della produzione agricola

I nuovi approcci per il loro studio ci permettono di conoscerle, valorizzarle e gestirle per:

- **Riduzione di fertilizzanti e pesticidi chimici di sintesi**
- Aumento **produttività** e resilienza delle colture
- Promozione di **ecosistemi agricoli equilibrati** e sostenibili





UniBa

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI BARI
ALDO MORO



Associazione Regionale Pugliese
dei Tecnici e Ricercatori
in Agricoltura

DISSPA – DIPARTIMENTO DI
SCIENZE DEL SUOLO, DELLA
PIANTA E DEGLI ALIMENTI



PSP

ISPA



agritech
National Center for
Technology in Agriculture



REACH-XY

IRTA^R Institute
of Agrifood Research
and Technology



INFN
Istituto Nazionale
di Fisica Nucleare

RECAS BARI

