

PLANT MULTITROPHIC INTERACTIONS FOR BIOINSPIRED STRATEGIES OF PEST CONTROL (PROSPECT)

Proponente tutor: *Matteo Lorito (Tutor), Sheridan Woo (Co-Tutor)*

Obiettivi del progetto di ricerca nel triennio e collaborazioni interdisciplinari

Il progetto studia le basi funzionali e metaboliche delle interazioni multitrofiche tra piante, microbi, patogeni e antagonisti microbici, al fine di sviluppare strategie "bio-inspired" per la protezione delle colture e il miglioramento della produzione agricola. In particolare, la ricerca identificherà specie/ceppi microbici e molecole bioattive che influenzano i meccanismi di difesa delle piante attivati contro patogeni e attacchi di parassiti e per determinare i segnali molecolari e composti vegetali che possono influenzare la composizione delle comunità benefiche di microbi (BM) e la loro attività biologica. Inizialmente, saranno selezionati BM e sviluppati metodi per l'infezione di piante di pomodoro con agenti patogeni / parassiti, al fine di standardizzare materiali e protocolli biologici. La selezione avverrà tra le seguenti specie microbiche: *Trichoderma* spp., *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplia* e *Bacillus thuringiensis*. Il progetto è suddiviso in tre macrofasi: 1) Studio del Microbiota Benefico del suolo (selezione e identificazione di BM, valutazione della risposta della pianta nelle interazioni mediante studi "omici", test *in vitro* ed *in vivo* di BM, caratterizzazione degli metaboliti da BM e valutazione delle loro attività); 2) Studio della Risposta delle Piante alle interazioni (effetti sul fenotipo, effetti sulla produzione, crosstalk pianta-pianta, modifiche del metabolismo primario e secondario ed identificazione delle molecole segnale). 3) Valutazione di parassiti e loro antagonisti naturali (indagini sulle interazioni della pianta con patogeni/parassiti e antagonisti naturali ed effetto sul microbiota associato). Le prove studi saranno anche condotte con metaboliti bioattivi prodotti dagli antagonisti contro agenti patogeni/parassiti del pomodoro per determinare le risposte indotte nei biosaggi *in vitro* e *in vivo*, al fine di sviluppare prodotti biologici per la difesa delle colture a base di consorzi microbici e/o loro principi attivi puri. Il progetto coinvolge i ricercatori di diverse discipline con esperienza nei campi di fisiologia vegetale, patologia vegetale, entomologia e biochimica del Consiglio Nazionale delle Ricerche e delle Università di Napoli, Milano, Palermo e della Tuscia

Elementi di innovazione e/o originalità del progetto rispetto allo stato dell'arte

Il progetto intende proporre dei metodi alternativi alle pratiche chimiche utilizzate per la difesa delle colture nell'agricoltura convenzionale. La lotta biologica utilizza organismi viventi (antagonisti o nemici naturali degli agenti nocivi) o sostanze di origine naturale per limitare o contenere i danni alle piante in produzione. Le nuove strategie di ricerca proposte valuteranno i meccanismi utilizzati dalla pianta per proteggersi grazie alla stimolazione della resistenza, alla secrezione di composti in grado di contrastare gli agenti nocivi o sollecitare l'aiuto ed attrarre gli antagonisti e favorire la persistenza di un consorzio microbico benefico. In particolare, saranno identificate le sostanze prodotte dalla pianta stressata in seguito all'attacco di un patogeno fogliare fungino (*Botrytis cinerea*), per stimolare il "reclutamento" di microbi benefici del suolo. Questi metaboliti rilasciati dalla radice sono dei segnali percepiti dagli antagonisti che si concentreranno verso la pianta provocando un reciproco vantaggio (pianta/antagonista). Inoltre, si valuteranno i composti organici volatili (VOC) che possono modificare positivamente la composizione e l'attività della comunità microbica del suolo. In particolare, saranno utilizzati saggi di chemiotropismo *in vitro* ed *in vivo*, analisi genetiche e funzionali per identificare cambiamenti molecolari positivi che potrebbero migliorare l'attività di biocontrollo su agenti

patogeni. Le sostanze vegetali saranno testate per determinare gli effetti sui patogeni / sui parassiti delle piante, nonché sugli agenti di controllo biologico. Nuovi consorzi a base di BM e loro metaboliti saranno assemblati in base agli effetti benefici sulle piante nello sviluppo delle biotecnologie nuove. Le potenziali composizioni di BM saranno analizzate in combinazione alcuni metaboliti bioattivi selezionati di origine microbica e vegetale, quindi i consorzi saranno prodotti mediante fermentazione liquida, in piccoli bioreattori (da 5 a 10 L). Successivamente le formulazioni saranno applicate in serra su pomodoro per determinare gli effetti sulla crescita, lo sviluppo e la produttività delle piante e la capacità di controllo dei patogeni naturalmente presenti

Disponibilità fondi (finanziamenti a sostegno delle attività di ricerca previste)

PRIN-DD n.1063 del 31-05-2019 - ALLEGATO A - LS9 progetto n. 2017JLN833. PLANT MULTITROPHIC INTERACTIONS FOR BIOINSPIRED STRATEGIES OF PESTCONTROL (PROSPECT).

Collaborazioni con istituzioni straniere

Departamento de Genética, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain.

Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Forest Mycology and Plant Pathology, Uppsala, Sweden.

Koppert Biological Systems, Rotterdam, the Netherlands.

PLANT MULTITROPHIC INTERACTIONS FOR BIOINSPIRED STRATEGIES OF PEST CONTROL (PROSPECT)

Proponents: Matteo Lorito (Tutor), Sheridan Woo (Co-Tutor)

Objectives:

The project aim is to study the functional and metabolic basis of multitrophic interactions among plants, microbes, pathogen-pests and microbial antagonists, in order to develop “bioinspired” strategies for crop protection and improved agricultural production. Specifically, research will identify microbial species/strains and bioactive molecules that influence plant defence mechanisms activated against pathogen and pest attack, and to determine the network of signals and plant compounds that can influence the composition of beneficial microbe (BM) communities and their biological activity. Investigations will test and select BMs, develop methods for the infection of tomato plants with pathogens/pests, in order to standardize biological materials and protocols. In particular, screening will include fungi belonging to *Trichoderma* spp., *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and the bacteria *Bacillus thuringiensis*, well-known microbial antagonists used in biocontrol. The research is divided into three components: 1) The Soil Beneficial Microbiota – selection and identification of BM, ‘omic analysis of the plant response, in vitro and in vivo testing of BM, then testing of BMs with bioactive compounds. 2) The Plant – studies of the plant responses and effects on phenotype and production, plant-plant crosstalk, effects on primary and secondary metabolism, identification of signalling molecules for crop protection. 3) The Pests and their Natural Antagonists – investigations in the interactions of the plant, pathogen/pests and the natural antagonists; effects of BMs on the pest fitness, physiology and associated microbiota. In depth studies with the BMs and bioactive molecules released after interactions with tomato-pathogen/pests will be conducted

to determine the induced molecular and functional responses in in vitro and in vivo bioassays, in order to develop efficient “bioinspired” strategies for crop protection. The project includes leading scientists, with research experience in plant physiology, plant pathology, entomology and biochemistry from the National Research Council, and Universities of Naples, Milan, Palermo, Tuscia, that form a multidisciplinary scientific collaborative group.

Innovation:

The project implements alternative methods to chemical practises used in conventional agriculture for crop protection. Classical biocontrol utilizes living antagonists or natural enemies of the causal agents of plant disease and pest attack to limit crop damage. This innovative research proposes strategies to evaluate the biological/physiological “tactics” used by the plant to defend and protect itself, i.e. stimulate defence mechanisms, secretion of compounds to contrast the noxious agents, or solicit help and attract the beneficials for protection. The identification of substances produced by the attacked plant can be induced by infestation with a fungal foliar pathogen (i.e. *Botrytis*), to indirectly stimulate plant defence, by assisting in the recruitment of soil beneficial microbes useful for protecting the plant. Investigations will study plant substances (root exudates) released in the soil during interactions with pathogens or beneficial microbes (e.g. volatile organic compounds) that can positively modify the composition and activity of the soil microbiota community. In particular, effects of plant bioactive molecules on the *Trichoderma* biocontrol agent and its activities will be assessed by using in vitro and in vivo chemotropic assays, genetic and functional analysis to identify positive molecular changes that may enhance their biocontrol activity to selected plant pathogens. The plant substances will be tested to determine the effects on plant pathogen/pests, as well as on biological control agents. Novel BM consortia will be assembled based on microorganisms with plant beneficial effects to develop biotechnologies that are compatible with the antagonists. The potential BM compositions will be tested with selected bioactive compounds, microbial metabolites and plant-derived molecules, then the consortia will be produced by liquid fermentation, in small (5 to 10 L) bioreactors. Subsequently the formulations will be applied to tomato plants to determine effects on plant growth, development and productivity, pathogen-pest fitness, damage incidence etc. to select promising biological products with good efficacy and potential applications in sustainable agricultural production

Resources

PRIN-DD n.1063 del 31-05-2019 - ALLEGATO A - LS9 progetto n. 2017JLN833. PLANT MULTITROPHIC INTERACTIONS FOR BIOINSPIRED STRATEGIES OF PESTCONTROL (PROSPECT).

Collaborations

(max 500 caratteri spazi inclusi)

Departamento de Genética, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain.

Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Forest Mycology and Plant Pathology, Uppsala, Sweden.

Koppert Biological Systems, Rotterdam, the Netherlands.