

LA RICERCA ITALIANA PER LA SOSTENIBILITÀ E LA QUALITÀ DELLA FILIERA DEL FRUMENTO DURO



Risultati dei Progetti PRIN 2020, PRIN 2022 e PRIN 2022 PNRR





ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO
DI SCIENZE E TECNOLOGIE
AGRO-ALIMENTARI



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI BARI
ALDO MORO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

Dipartimento di Scienze e
Tecnologie Agrarie, Alimentari,
Ambientali e Forestali



Università di Foggia



DIPARTIMENTO di
AGRARIA



A.D. 1308
unipg
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI PERUGIA



UNIVERSITÀ
DEL SALENTO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI SALERNO

UNISS
UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI SASSARI



DIPARTIMENTO DI
AGRARIA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TERAMO



UNIVERSITÀ
DI TORINO



Dipartimento di
Scienze della Vita e
Biologia dei Sistemi



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
TUSCIA

DIPARTIMENTO
DI SCIENZE AGRARIE
E FORESTALI



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI UDINE

hic sunt futura

Consiglio Nazionale delle Ricerche
CIBBE
Istituto di Biologia e Biotecnologia Agrar

crea
Consiglio per la ricerca in agricoltura
e l'alimentazione agraria

Consiglio Nazionale delle Ricerche

ISPA
ISTITUTO DI SCIENZE DELLE
PRODUZIONE ALIMENTARI

LA RICERCA ITALIANA PER LA SOSTENIBILITÀ E LA QUALITÀ DELLA FILIERA DEL FRUMENTO DURO

Risultati dei Progetti
PRIN 2020, PRIN 2022 e PRIN 2022 PNRR



Citazione dell'opera

AA.VV. (2026) - LA RICERCA ITALIANA PER LA SOSTENIBILITÀ E LA QUALITÀ DELLA FILIERA DEL FRUMENTO DURO. Risultati dei Progetti PRIN 2020, PRIN 2022 e PRIN 2022 PNRR.

Supplemento a TerraèVita 03/2026 - VIII.+ 200 pp. - ISSN: 2421-356X

© Gli autori per il testo, 2026
Progetto grafico copertina: Davide Conti

L'edizione digitale dell'opera è rilasciata con licenza Creative Commons Attribution 4.0 - CC-BY, il cui testo integrale è disponibile all'URL:



<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Le edizioni digitali online sono pubblicate in Open Access con accesso mediante profilazione su:
<https://terraevita.edagricole.it/>

L'edizione cartacea è fuori commercio

Finito di stampare nel febbraio 2026 da LOGO S.p.A., Via Marco Polo 8 - 35010 Borgoricco (PD)

Indice generale

INTRODUZIONE	p.	1
L'innovazione genetica	"	3
Verso una cerealicoltura sostenibile in prospettiva rigenerativa	"	8
Una nuova dimensione della cerealicoltura	"	10
Agricoltura di precisione: un sistema integrato per gestire l'intensificazione sostenibile	"	12
Le sfide future	"	13

1 • RISORSE GENETICHE, GENOMICHE E BIOTECNOLOGICHE. STATO DELL'ARTE E NECESSITÀ EMERGENTI

IL CONTRIBUTO ITALIANO AL PROGRESSO DELLA GENETICA, DELLA GENOMICA E DELLE BIOTECNOLOGIE PER IL MIGLIORAMENTO GENETICO DEL FRUMENTO DURO	"	17
Dalle prime innovazioni fondamentali alle sfide e opportunità del presente: un excursus storico	"	17
Il panorama cerealicolo italiano dei primi del Novecento: le varietà locali o "landraces"	"	18
Dalle popolazioni e varietà locali del passato al miglioramento genetico e alle varietà moderne	"	18
La fondazione del miglioramento genetico del frumento in Italia	"	19
L'innovazione introdotta da Francesco Todaro (1864-1950) nella selezione delle varietà e nell'organizzazione della produzione di semente di qualità	"	19
L'innovazione introdotta da Nazareno Strampelli (1866-1942): le sue varietà innovative, il concetto di "ideotipo" e la rete di stazioni sperimentali Italiane	"	19
Principali tappe della innovazione genetica italiana dal post-Strampelli fino al XXI secolo	"	21
Una critica al miglioramento genetico tradizionale	"	21
Rassegna delle innovazioni introdotte dalla genetica e genomica nel <i>pre-breeding</i> e <i>breeding</i> del frumento duro in Italia	"	22
Sviluppo delle mappe genetiche molecolari. Identificazione di loci di principale interesse per il miglioramento genetico.	"	25
Utilizzo della selezione molecolare (1990-oggi)	"	25
Ottenimento delle prime mappe genetiche di linkage basate su marcatori molecolari, Identificazione di loci di interesse ed applicazioni della selezione assistita da marcatori molecolari (<i>Marker Assisted Selection</i> , MAS)	"	26
Mappatura per associazione genotipo-fenotipo (<i>Genotype-to-Phenotype</i> , G2P) in popolazioni naturali, collezioni di germoplasma, panel di varietà	"	27
Dalla MAS basata su singoli loci al ' <i>Breeding by Design</i> ' fino alla Selezione Genomica (GS)	"	28
Recenti avanzamenti della genomica e delle biotecnologie e relative opportunità	"	32

Le ricadute scientifiche ed applicate degli avanzamenti nelle tecniche genomiche	p.	35
Dalla genomica strutturale alla genomica funzionale e integrazione delle -omiche	"	36
La ricerca genomica avanzata finalmente sul campo anche per il frumento duro	"	37
Il contributo italiano per la coordinazione della ricerca collaborativa internazionale su genomica, caratterizzazione del germoplasma e miglioramento genetico	"	38
Partecipazione italiana alla progettazione del primo <i>SNP array</i> di marcatori molecolari genici ad alta densità in frumento	"	38
La mappa genetica ' <i>consensus</i> ' specifica per il frumento duro ed i frumenti tetraploidi	"	38
Il primo genoma di riferimento della varietà italiana Svevo	"	40
La collezione Tetraploid Global Collection (TGC)	"	41
La collezione <i>Global Durum Panel</i> (GDP) ed il <i>Global Durum Genetic Resources</i> (GDGR)	"	43
L'analisi Meta-QTL per prioritizzare e mappare più precisamente i loci per i caratteri quantitativi ('QTL')	"	44
Le risorse TILLING per la genetica inversa (' <i>reverse genetics</i> ') in frumento duro	"	45
Le promesse del <i>breeding</i> v4.0: le applicazioni di fenomica al <i>breeding</i> , lo <i>speed-breeding</i> e la Selezione Genomica sempre più performante	"	47
La recente innovazione e la grande promessa delle Nuove Tecniche Genomiche (NGT) applicate al frumento	"	49
Applicazioni della coltura <i>in vitro</i> , transgenesi e Tecniche di Evoluzione assistita (TEA)	"	49
Gli avanzamenti nelle tecniche-omiche, in particolare metabolomica e proteomica	"	52
La necessaria Integrazione nella Biologia dei sistemi, o <i>system biology</i>	"	53
Bibliografia	"	54
APPENDICE 1	"	57
Sunto schematico delle innovazioni italiane nel campo della genetica del frumento duro i primi anni del '900 fino al 2000, e loro ricadute a valle fino all'ottenimento varietale	"	57
Sunto delle innovazioni nel campo della genetica agraria recenti, ottenute ed adottate dal 2000 ad oggi	"	60
PRIN - PROGETTI DI RICERCA DI RILEVANTE INTERESSE NAZIONALE		
RISULTATI DELLA RICERCA FINANZIATA	"	65
PanWheatGrain Grain Pangenomics for Durum Wheat Sustainable Production	"	65
Introduzione	"	65
Le nuove sfide per il miglioramento genetico del frumento duro: clima e sostenibilità	"	66
La complessità genomica del frumento duro	"	66
Il genoma di riferimento: una svolta per il frumento duro	"	66
Oltre il genoma di riferimento: perché non basta	"	67
Obiettivi	"	67
Risultati	"	68

Il progetto PanWheatGrain: catalogare e rappresentare la diversità genetica dei frumenti tetraploidi	p.	68
Il progetto PanWheatGrain: un'infrastruttura genomica di livello internazionale	"	70
Il progetto PanWheatGrain: la trascrittomica come chiave per comprendere il funzionamento del pangenoma	"	72
Il progetto PanWheatGrain: i geni core, shell e cloud per una nuova lettura funzionale del pangenoma	"	73
Il progetto PanWheatGrain: identificazione della diversa composizione metabolica della granella	"	74
Il progetto PanWheatGrain: implicazioni per il miglioramento genetico	"	74
Il progetto PanWheatGrain: dalla conoscenza all'innovazione attraverso editing genetico e breeding informato	"	74
Il progetto PanWheatGrain: impatto scientifico e prospettive per le politiche pubbliche della filiera della pasta	"	76
WheatSustain Deciphering the adaptive response of wheat for climate change mitigation	"	77
Introduzione	"	77
Risultati	"	78
NEWRoots Evaluation and cloning of a major root angle QTL for a sustainable production in durum wheat	"	84
Introduzione	"	84
Il ruolo delle radici	"	84
Come NEWRoots ha affrontato lo studio delle radici in frumento duro	"	86
Conclusioni	"	89
Bibliografia	"	89
InnoWheatRes Advanced breeding with Innovative strategies to improve biotic stresses resistance in durum wheat	"	90
Introduzione	"	90
Risultati	"	94
Bibliografia	"	97
CADMIDUR Strategies to Reduce Cadmium Accumulation in Durum Wheat through Genetic and Agronomic Approaches	"	98
Introduzione	"	98
Struttura del progetto	"	99
Impatto atteso e possibili applicazioni	"	99
Risultati	"	99
Trasferimento delle innovazioni di CADMIDUR alla filiera produttiva	"	101
Trasferimento alla filiera della qualità (semola e pasta)	"	101
Trasferimento alle pratiche agronomiche	"	102
Conclusioni	"	102
Polypliodbreeding 4.0 Expanding the toolbox for cereal breeding: high-throughput genomics, 2D-3D phenomics and artificial intelligence for breeding with increasing genome complexity, from barley to durum and bread wheat	"	103
Genomica, fenotipizzazione avanzata e intelligenza artificiale per il miglioramento del frumento duro	"	103

La sfida della poliploidia e il ruolo del frumento duro	p. 103
Continuità della ricerca e valorizzazione degli investimenti progressi	" 104
Fenotipizzazione ad alta efficienza: droni e apparato radicale	" 105
Big data e intelligenza artificiale per la predizione: dalla Selezione Assistita da Marcatori alla Selezione Genomica	" 107
Validazione e trasferibilità dei risultati	" 108
Sviluppo futuro: collegare genetica, ambiente e ideotipi	" 108
Ricadute potenziali per la filiera del frumento duro	" 109
Bibliografia	" 109
DISTINCT Deciphering early signals in wheat mycorrhizal fungi communication and their role in mycorrhiza-induced resistance	" 111
NEXTPLORA A gene expression atlas on the role of polyphenol oxidases in <i>Triticum</i> adaptation to environmental change	" 112

2 • SISTEMI INTEGRATI PER LA GESTIONE AGRONOMICA DIGITALE DI PRECISIONE

STATO DELL'ARTE E NECESSITÀ EMERGENTI	" 115
Introduzione	" 115
Dall'intensificazione dell'agricoltura ad una produzione sostenibile	" 115
Contesto agronomico e limiti dei modelli gestionali tradizionali	" 116
Dall'Agricoltura Conservativa all'Agricoltura Conservativa di Precisione (PCA)	" 117
Telerilevamento e NNI per la gestione dell'azoto	" 118
Concianti biologici e bio-fertilizzazione in sistemi PCA	" 119
Valutazione oltre la resa: qualità, efficienza e ritorno economico	" 120
Necessità emergenti e prospettive operative	" 121
Sicurezza alimentare e gestione degli elementi potenzialmente tossici: la sfida del Cadmio	" 122
PRIN – PROGETTI DI RICERCA DI RILEVANTE INTERESSE NAZIONALE RISULTATI DELLA RICERCA FINANZIATA	" 123
CadMiDur Strategies to Reduce Cadmium Accumulation in Durum Wheat through Genetic and Agronomic Approaches	" 123
Introduzione	" 123
Elementi in traccia nel frumento duro: sicurezza alimentare e biofortificazione	" 123
Tecniche agronomiche per mitigare l'accumulo di cadmio nelle cariossidi di frumento duro	" 125
Applicazione di biochar per la riduzione della biodisponibilità dei metalli in traccia	" 126
Consorti microbici	" 126
Attività sperimentali	" 127
Screening territoriale delle aree cerealicole campane e pugliesi	" 127
Prove in mesocosmi	" 128
Risultati	" 129
Screening territoriale	" 129
Prove in mesocosmi	" 130
Conclusioni	" 131

SMABIODUR SMart Agriculture: to assess BIOstimulants solutions on DURum wheat to overcome abiotic stresses in Southern Italy	p. 132
Introduzione	" 132
Scopo del lavoro	" 133
Attività sperimentali	" 133
Risultati	" 136
Prova in vaso	" 136
Prova in pieno campo	" 137
Conclusioni	" 139
NAMASTE-PCA Novel Agroecosystem Management Strategies and Tools Evaluation: biofertilization and relay cropping under Precision Conservation Agriculture	" 140
Introduzione	" 140
Scopo del lavoro	" 141
Attività sperimentali	" 142
Risultati	" 144
Risposta produttiva	" 144
Qualità della granella e parametri tecnologici	" 145
Efficienza economica	" 146
Conclusioni	" 146
Innovazioni Sostanziali	" 147
BIBLIOGRAFIA	" 148

3 • INNOVAZIONI NELLA PROTEZIONE INTEGRATA E L'AGRICOLTURA BIOLOGICA

STATO DELL'ARTE E NECESSITÀ EMERGENTI	" 153
Excursus storico della difesa del frumento	" 155
LA PROTEZIONE INTEGRATA E L'AGRICOLTURA BIOLOGICA NELLA COLTIVAZIONE DEL FRUMENTO DURO	" 157
Difesa del frumento duro organizzata su differenti livelli	" 157
Avanzamento scientifico e tecnologico e nuove opportunità	" 157
Monitoraggio e Digitalizzazione (Agricoltura 4.0)	" 157
Protezione Biologica e Biocontrollo	" 158
Innovazione Meccanica e Robotica	" 159
Innovazione in Agroecologia	" 159
Innovazione Genetica	" 159
PRIN – PROGETTI DI RICERCA DI RILEVANTE INTERESSE NAZIONALE RISULTATI DELLA RICERCA FINANZIATA	" 161
BICONTRARIUM Filling gaps in the biological control of Fusarium diseases of durum wheat and of related mycotoxins	" 161
Introduzione	" 161
Principali risultati ottenuti	" 163
Efficacia dei trattamenti di <i>biopriming</i> al seme di frumento duro nella gestione di FRR e FCR	" 163
Efficacia dei trattamenti alla spiga di frumento duro con ceppi batterici per la gestione di FHB	" 165

CROWN Fusarium Crown Rot on durum wheat in Southern Italy: epidemiology, evolution and toxigenic potential in a climate change scenario	p.	167
Introduzione	"	167
Principali risultati ottenuti	"	170
Micotossigenicità degli isolati di <i>Fusarium</i> spp.	"	171
GRANARIUS Biological, chemical and genetic bases of granary weevil and purple wheat interactions	"	173
Introduzione	"	173
WP2. Caratterizzazione dei materiali genetici e identificazione di marcatori molecolari associati ai composti fenolici e agli antociani	"	174
WP3. Preparazione delle frazioni di <i>debranning</i> ed estratti fenolici	"	175
WP4. HOST LOCALIZATION: studio della risposta olfattiva di adulti di <i>S. granarius</i> ai Composti Organici Volatili (COV) delle linee HIFs-NILs	"	175
WP5. HOST ACCEPTANCE: studio della suscettibilità e dell'efficienza nutrizionale delle linee HIFs-NILs	"	175
Principali risultati ottenuti e conclusioni	"	176
ROOTEM Understanding the role of ROOT Exudation in drought stress response of wheat and its associated Microbiota	"	179
Introduzione	"	179
WP1 – Caratterizzazione degli essudati radicali prodotti da due differenti cultivar di grano in siccità e valutazione del loro effetto sui microrganismi del suolo	"	180
WP2 – Valutazione dell'impatto di PGPM in serra sulle risposte di grano alla siccità	"	182
WP3 – Valutazione dell'impatto di microrganismi PGPM sulla performance di grano in campo e sui livelli di micotossine nelle cariossidi	"	183
INNOVAZIONI SOSTANZIALI	"	185
Progetto BICONTRARIUM	"	185
Progetto CROWN	"	186
Progetto GRANARIUS	"	187
Progetto ROOTEM	"	189
BIBLIOGRAFIA	"	190
APPENDICE • SCHEDE DI PROGETTO	"	195

Introduzione

Luigi Cattivelli*, Michele Pisante**, Roberto Tuberosa***

La cerealicoltura in Italia occupa circa 2,8 milioni di ettari (il 20% dell'intera SAU), di cui circa 2 milioni sono destinati ai cereali autunno-vernini (frumento duro, frumento tenero, orzo e cereali minori), tutti coltivati senza irrigazione. **Nonostante il grande investimento in superficie agricola, la produzione cerealicola nazionale è gravemente insufficiente rispetto alle necessità del Paese, con una quota di autoapprovvigionamento che va dal 40% per il frumento tenero, al 60% per frumento duro.** Considerato che frumento tenero, duro ed orzo condividono la stessa collocazione nel contesto agricolo nazionale, è evidente che l'aumento di produzione di uno essi non può avvenire sottraendo superfici agli altri, piuttosto serve **un'intensificazione sostenibile della cerealicoltura capace di aumentare le rese per ettaro e una razionalizzazione delle semine sulla base dell'adattamento delle tre specie ai diversi areali agricoli**, inclusi i territori collinari oggi spesso abbandonati. **Questo obiettivo è raggiungibile nel medio termine attraverso l'adozione estesa delle innovazioni genetiche ed agronomiche.**

Il frumento duro in Italia è uno dei sistemi colturali emblematici dell'agricoltura italiana, il più importante per estensione con circa 1,2 milioni di ettari coltivati, fonte insostituibile di materia prima per l'industria molitoria, la produzione di prodotti da forno anche a marchio, ma soprattutto della pasta italiana, uno dei simboli dell'eccellenza del *Made in Italy*, tra le più rilevanti voci delle esportazioni agroalimentari italiane a livello globale. In molti areali produttivi del Centro-Sud, dove si concentra il 90% della superficie coltivata, la specie riveste un ruolo cardine degli avvicendamenti colturali, soprattutto per la mancanza di colture di sostituzione in grado di garantire la sostenibilità economica, malgrado gli altalenanti effetti congiunturali indotti dalla politica agricola comune, tra cui il disaccoppiamento dei primi anni 2000, a cui sono seguiti nel tempo incentivi per la coltivazione progrediti in contratti di filiera. Lo stesso andamento si è registrato negli anni di diffusione dell'agricoltura biologica, in cui l'iniziale significativo differenziale del prezzo a vantaggio dei prodotti bio, rispetto a quelli convenzionali, accompagnato da congrui sostegni economici, ha favorito l'espansione delle coltivazioni biologiche, superando i 110.000 ettari (circa il 10% della superficie) nel 2022 (ISMEA) in particolare al Sud e determinando, per la maggiore offerta, il livellamento dei valori di mercato agli omologhi prodotti dell'agricoltura integrata. Questa dinamica ha riflesso anche la progressiva introduzione dei limiti all'impiego di mezzi chimici (concimi azotati e agrofarmaci di sintesi) nei contratti di filiera che prevedono disciplinari di produzione secondo i requisiti dell'agricoltura integrata, un insieme di mezzi tecnici che di fatto convergono verso quelli dell'agricoltura biologica, riducendone la distintività.

* Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria, Centro di Ricerche Genomica e Bioinformatica.

** Università degli Studi di Teramo, Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari ed Ambientali.

*** *Alma Mater Studiorum* – Università di Bologna, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari.

La progressiva estensione da una certificazione di processo a una di processo e prodotto ha comportato un generale ribasso del differenziale di prezzo tra biologico e integrato, per l'incremento dell'offerta di prodotto bio ed una crescente domanda di una qualità tecnologica da parte dell'industria agroalimentare. In parallelo, la riduzione dei margini economici e la diffusione dei consumi, ha generato la nascita di specialità di nicchia, quali la coltivazione di varietà antiche o locali, in grado di trovare una collocazione privilegiata sul mercato. La varietà antica più nota e diffusa, il frumento duro Cappelli, è ancora iscritta al registro varietale e certifica circa 800 ton/anno di seme, una quantità che consente di seminare circa 4.000 ettari (0,35% della superficie a frumento duro). Questo dato, anche considerando la presenza di un imprecisato ammontare di seme aziendale, di Cappelli ed altre varietà antiche, evidenzia bene come le varietà antiche siano nicchie marginali, la cui diffusione certamente non aiuta l'incremento della produzione nazionale.

Alla luce di queste dinamiche, il frumento duro italiano si trova ad affrontare importanti sfide per rispondere alla domanda di prodotti di qualità (elevato contenuto proteico, assenza di micotossine ed altri contaminanti) da parte dell'industria della pasta, con la concreta possibilità di espansione negli areali del Nord per diminuire le importazioni dall'estero, rispondere alle differenziate esigenze delle filiere di trasformazione, ma soprattutto, intervenire sulla stabilità delle rese unitarie e ridurre i costi di produzione. Queste considerazioni, per molto tempo trascurate o ignorate, rivestono una nuova accezione e, alla luce dei più recenti risultati della ricerca, permettono di trarre un ottimismo al necessario cambio di paradigma per una concreta differenziazione del frumento duro di origine italiana.

La contrattualizzazione con monitoraggio continuativo della coltura previsto dai disciplinari di coltivazione, adattato ad ogni areale di produzione, la tracciabilità e lo stoccaggio differenziato per lotti omogenei corrispondenti alle richieste del mercato, rappresentano le nuove traiettorie della quota dei servizi aggiuntivi e distintivi che possono qualificare le produzioni italiane, con conseguente riposizionamento strategico da *commodity* a *specialty* e conseguente differenza del prezzo di commercializzazione.

Tuttavia, per conseguire questi obiettivi, è necessaria l'integrazione delle attuali conoscenze scientifiche per rispondere compiutamente alla *Genotype-by-Environment-by-Management interaction*, introducendo piante selezionate appositamente per caratteri qualitativi o legati alla sostenibilità della coltura (es. contenuto proteico o resistenze alle malattie) e per caratteri che definiscono l'interazione della pianta con il suo ambiente (es. competizione con infestanti, dimensione dell'apparato radicale) correlati alla vocazionalità dei terreni e degli ambienti di coltivazione.

Le moderne tecnologie di osservazione satellitare e l'impiego di procedure avanzate di Intelligenza Artificiale permettono di sviluppare mappe di vocazionalità a scala di singolo appezzamento di terreno coltivato. Le successive elaborazioni del fabbisogno razionale dei fattori agronomici integrano dati multisorgente e conoscenze avanzate inscindibili per stimare affidabili indici di sostenibilità da correlare al reddito netto del produttore. Questa visione prospettica, oltre ad affrontare una coerente classificazione della sostenibilità delle produzioni e la necessità di impiegare le risorse in modo più efficiente, massimizza la stabilità delle rese unitarie e la sostenibilità ambientale della coltura e pone in primo piano l'equa redditività di ogni operatore della filiera. Perché, anche se è relativamente facile definire la "buona pratica agricola" o identificare l'agricoltura che va oltre i requisiti ambientali di base, più articolata è la definizione dei metodi di agricoltura e le migliori pratiche che vanno introdotte per consentire agli agricoltori di accedere ai benefici e alle nuove opportunità riservate ai sistemi di produzione sostenibile. Infatti, l'implementazione e la diffusione delle innovazioni di processo sono sempre più lente rispetto alle innovazioni di prodotto. Tuttavia, in questo contesto storico e per raggiungere

una sostenibilità autentica della filiera italiana del frumento duro, ed in considerazione del riconoscimento di patrimonio immateriale dell'umanità alla cucina italiana, di cui la pasta rappresenta il valore simbolico più noto, è indispensabile che le innovazioni avanzino più rapidamente rispetto al recente passato per ridurre le importazioni dall'estero e affermare **una pasta italiana fatta con frumento duro italiano**.

L'INNOVAZIONE GENETICA

Alla base di ogni coltivazione di successo c'è l'utilizzo di varietà adatte all'ambiente di coltivazione e capaci di produrre in modo sostenibile e con elevati standard qualitativi. Il miglioramento genetico consente di migliorare costantemente le varietà coltivate e numerosi studi hanno quantificato questo miglioramento, noto come progresso genetico, confrontando le performance di varietà rilasciate nel corso degli anni. I risultati sono concordi nel dimostrare che più della metà dell'incremento produttivo realizzato nel corso dell'ultimo secolo è attribuibile al miglioramento genetico, e, in generale per i frumenti, anche negli ultimi 20 anni si registra un aumento della produttività dell'ordine di circa 1% annuo attribuibile al solo fattore genetico.

Tuttavia, è un dato di fatto che negli ultimi anni questo incremento della potenzialità produttiva non si è tradotto in un aumento della resa per ettaro, causa il crescente effetto negativo attribuibile al cambiamento climatico. Il bacino del Mediterraneo è un *hotspot* del cambiamento climatico, dove l'aumento della temperatura è più elevato rispetto alla media del pianeta ed è associato ad una riduzione della piovosità e ad una modifica della sua distribuzione nel corso dell'anno con pochi periodi piovosi ed eventi molto intensi. Il cambiamento del clima si esprime attraverso *trend* di lungo periodo che interessano tutta l'area mediterranea e eventi catastrofici localizzati. I *trend* di lungo periodo (aumento della temperatura) sono gestibili attraverso l'aggiornamento delle varietà e delle tecniche agronomiche, mentre gli eventi catastrofici (siccità estreme o alluvioni) vanno affrontati mediante la costruzione di infrastrutture dedicate (es. dighe, invasi e sistemi irrigui). L'aumento delle temperature è già tangibile soprattutto nel periodo invernale,



La filiera del frumento duro: dal Seme alla Pasta. In evidenza la diversità genetica dei frumenti tetraploidi (Simona Corneti).



Parcelle di frumento duro soggette a forte siccità primaverile (Marco Maccaferri).

condizione che accelera lo sviluppo vegetativo di tutte le piante coltivate ed anche dei cereali a paglia. In uno studio condotto dal CREA a Fiorenzuola d'Arda (PC) su alcune varietà di orzo seminate nella stessa località dal 2003 al 2017 è stato registrato un anticipo di 10 giorni nell'epoca di spigatura come conseguenza di inverni progressivamente più miti. In aggiunta all'aumento della temperatura invernale, negli ultimi anni sono più frequenti le ondate di calore durante la fase di riempimento delle cariossidi che decurtano pesantemente la resa. L'aumento di temperatura implica una maggiore domanda evapo-traspirativa, cosicché la performance produttiva della coltura sarà sempre più dipendente dalla capacità di recuperare acqua dal suolo attraverso apparati radicali con angolo radicale inferiore e quindi più profondi, caratteristica che consente di meglio accedere agli strati del suolo a maggiore umidità.

Non è un caso che le varietà di frumento duro coltivati in areali siccitosi mostrino un angolo radicale inferiore rispetto a varietà selezionate per ambienti irrigui. Lo sviluppo dell'apparato radicale è, inoltre, coordinato con il microbioma del suolo che influenza la struttura radicale e l'efficienza d'uso dell'acqua e degli elementi nutritivi, primo fra tutti l'azoto.



Diversità genetica per architettura degli apparati radicali in frumento duro (Marco Maccaferri).



Sintomi di fusariosi della spiga su frumento duro (Lorenzo Covarelli e Giovanni Beccari).

Inoltre, il cambiamento climatico impatta anche sulla diffusione delle malattie: la ruggine gialla, pressoché assente in Italia sino agli anni '90 è oggi una minaccia reale per il frumento duro insieme alle septoriosi, alla fusariosi della spiga e agli agenti di mal del piede. Le fusariosi sono frequenti soprattutto nel centro-nord Italia, con la conseguente contaminazione delle cariossidi da micotossine di rilevanza sanitaria, come i tricoteceni di tipo A e B e lo zearalenone.

Emblematico è l'effetto negativo delle aumentate temperature invernali sulla diffusione della virosi del mosaico comune del frumento duro, come dimostrato dalle ricerche condotte in un ventennio presso l'Università di Bologna, con conseguenti decurtazioni della resa.

In questo contesto **l'aggiornamento varietale è una condizione indispensabile**, in quanto le varietà selezionate nel passato, in un clima più freddo e piovoso dell'attuale, già manifestano criticità di adattamento alle alte temperature nelle fasi finali del ciclo vegetativo e non portano le necessarie resistenze alle moderne razze di ruggine, in particolare la gialla, alle septoriosi, alla fusariosi della spiga ed alle virosi. Le nuove varie-



Segregazione in campo per resistenza/suscettibilità a mosaico comune in una popolazione di frumento duro e relativa sintomatologia (Marco Maccaferri e Claudio Ratti).



Sintomi di ruggine bruna su frumento duro (Virginio Balmas).

tà dovranno avere un *habitus* di crescita alternativo o primaverile ma al tempo stesso garantire un buon sviluppo vegetativo ed una buona tolleranza alle alte temperature, specialmente nelle fasi critiche del ciclo vegetativo, oppure essere così precoci da sfuggire alle ondate di calore di inizio estate. Dovranno, inoltre, presentare resistenze genetiche alle principali patologie cosicché sia possibile arrivare ad alte rese con un ridotto impiego di fitosanitari.

Il contenuto proteico è il principale fattore qualitativo del frumento duro, dove è spesso utilizzato come parametro premiale nei contratti di coltivazione, e della pasta dove valori uguali o maggiori al 14% rappresentano un carattere distintivo della pasta di alta gamma. Produrre granella con un elevato contenuto proteico richiede una buona predisposizione genetica, elevate concimazioni azotate e protocolli di coltivazione dedicati. Il contenuto proteico, tuttavia, è il risultato di tanti compromessi, in quanto da un lato esiste una generale correlazione negativa tra produzione (sia potenziale che effettiva) e contenuto proteico, dall'altro un'elevata concimazione azotata impatta negativamente sulla sostenibilità ambientale ed economica della coltura.

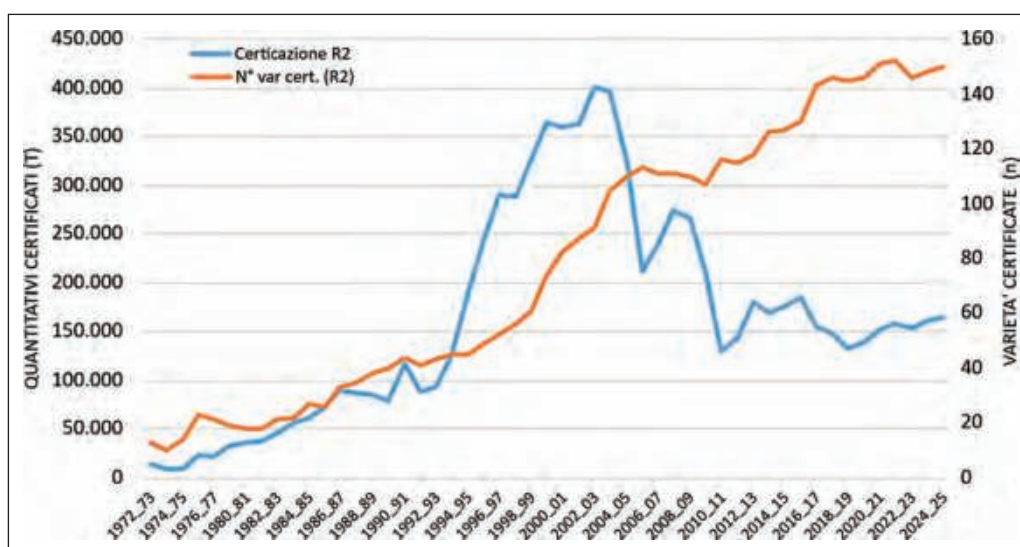
Adattamento alle nuove condizioni climatiche, resistenza a malattie e qualità sostenibile sono le principali aree di intervento della genetica e della genomica del frumento duro, per le quali risultano fondamentali gli avanzamenti della ricerca scientifica per garantire un futuro alla coltura. La ricerca inizia con gli studi "di base" legati al sequenziamento dei genomi (il catalogo di tutti i geni disponibili), l'identificazione dei geni e dei QTL (*Quantitative Trait Loci*) ed il loro clonaggio per poi applicare le Tecniche di Evoluzione Assistita (TEA), fasi propedeutiche al miglioramento genetico 4.0, che consente di selezionare varietà capaci di rispondere meglio alle esigenze attuali e future dell'agricoltura e dell'industria di trasformazione, consentendo di stabilizzare le rese produttive e diminuire l'impatto ambientale della coltivazione.

Il trasferimento del lavoro genetico alla filiera produttiva avviene attraverso l'uso di varietà certificate. **Usare varietà certificate garantisce la qualità e la tracciabilità della filiera e consente la remunerazione del lavoro di miglioramento genetico**, indispensabile per un adeguato e continuo sostegno economico, anche in considerazione della crescente concorrenza estera. In Italia, tuttavia, come di seguito riportato nelle tabelle e in rappresentazione grafica, nell'ultimo decennio l'uso di seme certificato è ancora insufficiente, a fronte di circa 1,2 milioni di ettari seminati a frumento duro ci sono ca. 160.000 ton/anno di seme certificato R2, una quantità potenzialmente in grado di seminare circa 800.000 ettari.

È preoccupante la tendenza negativa della certificazione varietale in Italia. Nei primi anni duemila, quando la superficie coltivata aveva raggiunto 1,7 milioni di ha con un pic-

Anno	Prebase e Base	R1	R2
2024-25	9.377	11.795	163.909
2023-24	7.720	12.906	162.022
2022-23	6.905	14.462	152.681
2021-22	6.932	13.529	158.464
2020-21	6.959	12.800	152.311
2019-20	6.715	11.426	139.071
2018-19	5.929	11.408	133.279
2017-18	7.547	11.906	149.036
2016-17	9.039	14.105	154.637
2015-16	9.314	14.969	185.242

Elaborazione Assosementi su dati CREA-DC, dati in tonnellate.



Elaborazione Assosementi su dati CREA-DC.

co di produzione di 5 milioni di tonnellate e l'obbligo dell'utilizzo di seme certificato per accedere ai contributi della PAC, il seme certificato di frumento duro registrava valori doppi rispetto agli attuali. Il cambiamento del regime di sostegno alla produzione ha determinato la diminuzione della superficie e la diffusione di seme non certificato.

Il panorama varietale disponibile in Italia è estremamente ampio, con circa 150 varietà certificate, tuttavia le prime 10 rappresentano circa la metà del mercato. La vita utile delle varietà può anche essere molto lunga con varietà di successo che rimangono sul mercato per 20 o più anni, un dato che suggerisce la presenza di cultivar con specifiche peculiarità qualitative o di adattamento a specifici ambienti. Questa forte specializzazione varietale rappresenta una ricchezza del panorama varietale italiano.

In questo contesto il sistema della ricerca pubblica e privata nazionale si trova di fronte a nuove sfide e deve fare di più ed in modo più strutturato, per fronteggiare l'urgenza di avere nuove varietà adatte alle esigenze attuali della filiera produttiva.

Varietà	Quantità certificata 2024-25 (ton)	% sul totale ton
Antalis	30.629,57	16,5%
Iride	14.832,79	8,0%
Farah	9.897,88	5,3%
Platone	6.700,68	3,6%
Core	5.045,81	2,7%
Claudio	4.933,58	2,7%
Odisseo	4.841,15	2,6%
Marco Aurelio	4.824,24	2,6%
Tirex	4.502,55	2,4%
Marakas	4.168,29	2,3%
Totale prime 10 varietà	90.377	48,8%
Altre varietà	94.703	51,2%
Achille	3.889,79	2,1%
Quadrato	3.567,63	1,9%
Simeto	3.410,63	1,8%
Sy Leonardo	3.322,39	1,8%
Nazareno	3.300,69	1,8%
Furio Camillo	3.298,96	1,8%
Fuego	3.134,45	1,7%
Monastir	2.654,09	1,4%
RGT Leondur	2.371,35	1,3%
RGT Voilur	2.235,35	1,2%
Totale prime 20 varietà	121.562	65,7%
Altre varietà	63.518	34,3%
Totale	185.080	

Elaborazione Assosementi su dati CREA-DC.

VERSO UNA CEREALICOLTURA SOSTENIBILE IN PROSPETTIVA RIGENERATIVA

La grande frammentazione delle superfici coltivate non consente un adeguato e capillare trasferimento delle tecnologie e delle conoscenze per fornire le risposte che il mercato richiede. L'individuazione di indicatori oggettivi di sostenibilità è imprescindibile per superare le limitazioni strutturali di natura dimensionale. Attraverso l'impiego di tecnologie digitali satellitari non invasive, accurate e rapide, secondo un approccio multidisciplinare in grado di monitorare oltre i confini delle singole unità produttive è possibile definire in ogni macroambiente di coltivazione, classi omogenee di sostenibilità per ogni ciclo di produzione. La valutazione della sostenibilità, declinata nei tre ambiti ambientali, economici e sociali, è un aspetto di primaria rilevanza per valutare le ricadute e gli ambiti di sviluppo delle politiche di settore e degli investimenti in ricerca e trasferimento tecnologico. Gli indicatori di sostenibilità consentirebbero di individuare i modelli capaci di possano favorire un riposizionamento strategico del frumento duro italiano sui merca-

La coltivazione del cece (*Cicer arietinum*), risorsa agronomica per gli avvicendamenti colturali nelle aree non irrigue, preziosa fonte proteica per l'alimentazione (Michele Pisante).



ti, da generica *commodity* ad esclusiva *specialty*, con conseguente aumento dei margini economici. Un risultato da sostenere nel tempo mediante appropriati investimenti in conoscenze, introducendo innovazioni di prodotto e di processo per sostenere la produttività, la qualità e la sicurezza.

Per una sostenibilità duratura in costante equilibrio ecologico della filiera del frumento duro che interessa aree non irrigue anche in media e alta collina, è necessario un articolato piano d'azione in cui selezionati sistemi colturali, leguminose o oleaginose a ciclo autunno-vernino, vengano coltivati in successione per ripristinare le rotazioni colturali capaci di ridurre la competizione con le malerbe e le fitopatie e ripristinare la fertilità del suolo. La necessità di considerare la doppia coltura frumento duro/leguminosa o oleaginosa scaturisce dal bisogno di invertire il preoccupante stato di degradazione della fertilità agronomica dei suoli.

Infatti, la quasi totalità dei seminativi italiani, a causa di intensi e diffusi fenomeni di erosione idrica, accelerati da processi di impermeabilizzazione e compattamento superficiale del suolo, richiedono una revisione urgente dei sistemi di gestione agronomica per generare equi profitti ed una distintiva riconoscibilità. Oggigiorno, l'Agricoltura Rigenerativa (AR) rappresenta un sistema integrato e sostenibile per un'agricoltura che rispetta la biodiversità autoctona, con l'obiettivo di incrementare la fertilità del suolo e la salute dell'agroecosistema, al fine di preservare paesaggi rurali diversi e multifunzionali, attraverso attività complementari a quelle produttive come la conservazione e il ripristino dell'ambiente rurale.

L'adozione dell'AR nei sistemi cerealicoli consente di applicare simultaneamente i suoi principi fondamentali, tra cui:

- sostenibile ed ecologica intensificazione colturale, per la massima efficienza delle risorse naturali, bassi input esterni e la massimizzazione degli input aziendali;
- riduzione o eliminazione degli interventi meccanici nel terreno (es. la pratica del rivoltamento profondo del terreno mediante aratura o altri interventi invasivi che distruggono la stratificazione del profilo del suolo); l'obiettivo è garantire nello strato superficiale del suolo abbondanti sostanze nutritive e humus, mediante la copertura permanente di vegetazione viva (ad esempio colture di copertura) nel periodo che intercorre dalla raccolta alla nuova semina per almeno il 30% della superficie;
- aumentare la diversità vegetale per migliorare il valore nutrizionale del suolo, la vita nel suolo e la stabilità dell'agroecosistema, attraverso l'impiego di specie associate a non meno di tre famiglie botaniche nella rotazione colturale, di cui almeno il 20%



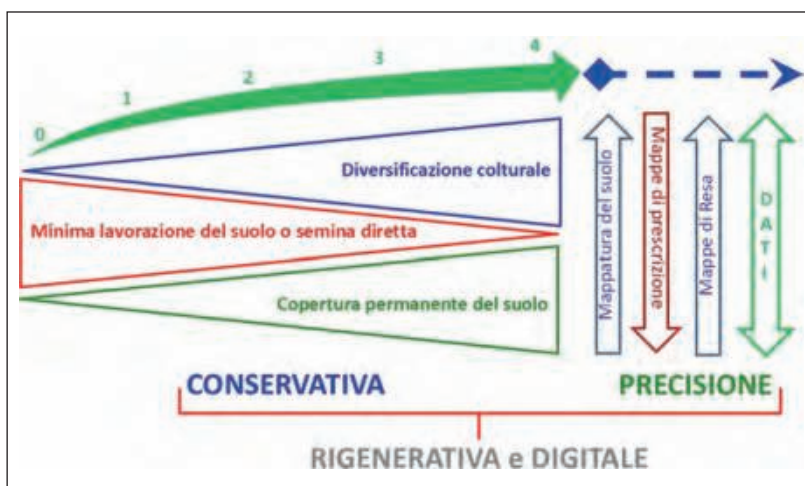
Semina diretta di frumento duro su residui colturali e vegetazione spontanea in Capitanata (Michele Pisante).

leguminose, per la fissazione biologica dell'azoto e, nel caso delle colture di copertura, mantenendo le radici vive nel terreno anche quando la parte aerea è stata terminata naturalmente o mediante trinciatura, tale da garantire una fornitura costante di carbonio – cibo organico che arricchisce il suolo.

Considerato che l'AR comprende anche altri progetti di “agricoltura per la natura” che includono pratiche che si estendono a tutta l'azienda agricola, più estensivamente al paesaggio agricolo in cui sono ubicate, la cerealicoltura rigenerativa prevedendo l'impianto di siepi e bordure con piante di interesse apistico (mellifere e nettariifere) finalizzate alla tutela degli impollinatori, protegge i margini dei campi. Inoltre, lasciando le stoppie durante il periodo invernale e ripari per gli organismi utili, ma anche fasce fiorite permanentemente lungo il perimetro dei campi coltivati, converge efficacemente a equilibrare la biodiversità. Secondo questi principi ed assicurando un equo compenso ai cerealicoltori, è possibile organizzare relazioni a più livelli: dalla rete di agricoltori che coltivano frumento duro con le stesse modalità a livello regionale/nazionale e internazionale e con la società civile, contribuendo realmente allo sviluppo e alla politica rurale.

UNA NUOVA DIMENSIONE DELLA CEREALICOLTURA

Mentre è molto attivo il dibattito sulle molteplici pratiche che si intrecciano in un'azienda agricola redditizia che promuove i servizi ecosistemici, il paradigma da superare riguarda l'attuale sfida che massimizza i profitti lordi a scapito dei guadagni netti per l'agricoltore. Tra gli elementi chiave di questo approccio di successo al nuovo sistema di agricoltura rientrano l'impatto e i risultati effettivi specifici al contesto, il che rende difficile (se non impossibile) implementare un approccio unico per tutti in quanto, spesso, c'è una relazione debole a livello di azienda agricola. Quantificare il numero (e possibilmente la qualità) delle attività agricole che portano ad una migliore sostenibilità delle prestazioni a livello di azienda agricola attualmente presenta dei limiti, a meno che non si considerino in forma ibrida le attuali misure agricole in combinazione con gli input e/o gli output realizzabili. Definire un insieme generale di obiettivi che potrebbero avere curvature e ambizioni specifiche, a seconda del contesto delle aziende agricole locali è



Da Conservativa a Rigenerativa attraverso l'Agricoltura Digitale di Precisione (Michele Pisante).

senz'altro raccomandabile, rispetto alla prescrizione di un insieme generale di misure agricole.

Anche in questo scenario, l'AR è ben allineata agli obiettivi fissati dall'*European Green Deal* al 2030, tra cui la riduzione del 50% di prodotti fitosanitari e di almeno il 20% dei fertilizzanti e la conversione all'agricoltura biologica fino al 25%, cui si sommano le strategie *Farm-to-Fork* e *Biodiversity*. E quindi, molto probabilmente, molte delle pratiche raccomandate verso i requisiti stabiliti dall'UE avranno sempre maggior rilievo, per indicizzare i pagamenti della PAC basati sui risultati. Conseguirli sarà diverso per ogni singolo agricoltore. Clima, suolo, pendenza, disponibilità di manodopera, valore economico dei terreni, dimensioni delle aziende agricole e l'attuale intensità di gestione, al momento sono inclusi tra i fattori determinanti nell'insieme degli aspetti considerati. Questi differiscono all'interno degli Stati Membri dell'UE e ancora di più all'interno di ogni Paese, in base al contesto specifico del territorio. Ad esempio, sui pendii vulnerabili all'erosione, la lavorazione ridotta e dove possibile la non lavorazione, insieme alla copertura permanente del suolo, possono essere considerate tra le pratiche obbligatorie per l'AR. A scala di bacino, per il delta dei fiumi e su terreni sabbiosi, in cui si verificano i principali processi di lisciviazione e deflusso di nitrati e agrofarmaci, l'impianto di fasce tampone e l'impiego di colture intercalari potrebbero risultare più appropriate. Pertanto, emerge con chiara evidenza che è difficile una definizione di AR univoca, ancor più per il frumento duro, considerata l'ampiezza delle categorie applicative. Una concreta proposta attuativa potrebbe considerare il tasso di implementazione delle pratiche, unitamente agli indicatori ambientali e sociali, almeno per una prima classificazione che consideri, ad esempio, quattro livelli di adozione, basati su risultati realizzabili e verificabili.

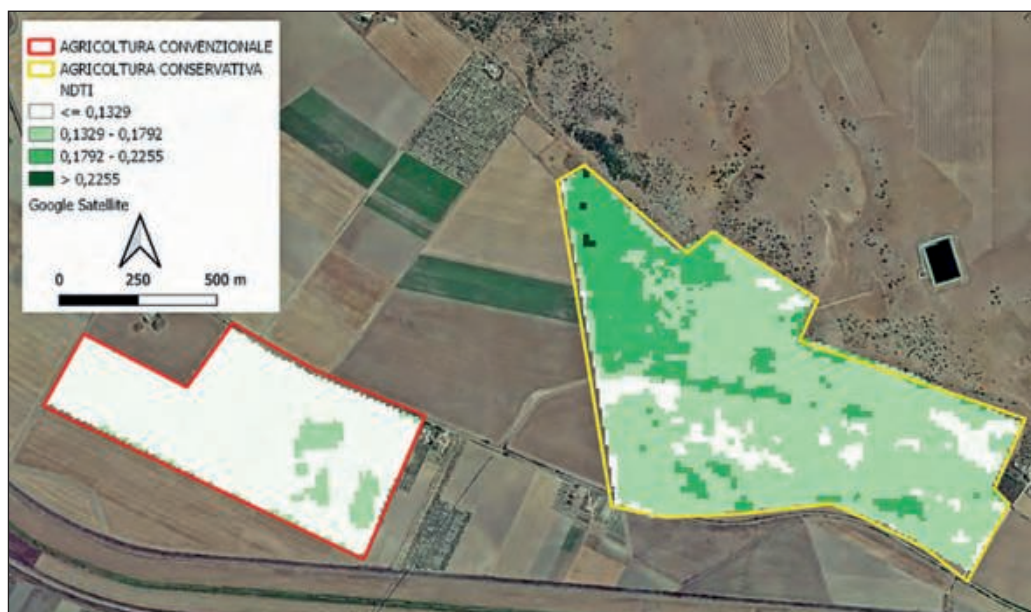
Infatti, l'agricoltura in generale e la cerealicoltura in particolare, al pari di altri comparti produttivi, si trova ad affrontare una transizione tecnologica senza precedenti per assicurare standard produttivi più elevati ed una gestione sostenibile delle risorse naturali, priorità fondamentali per il nostro Paese. L'Intelligenza Artificiale sta permeando ogni ambito della nostra società, l'agricoltura non può rivestire un ruolo marginale in questo processo. Deve entrare sempre più concretamente nell'epoca dell'informatizzazione e dei processi decisionali basati sui dati. È perciò indispensabile assicurare la massima rilevanza all'attività di formazione degli operatori e di aggiornamento professionale per gli addetti del settore. Nuove e accresciute conoscenze disciplinari si rileveranno sempre più essenziali per i produttori, chiamati ad attuare complessi processi gestionali caratterizzati da tempestività e proporzionalità, anche in termini di variabilità e sostenibilità, con lo sguardo rivolto all'equilibrio tra costi e benefici.

AGRICOLTURA DI PRECISIONE: UN SISTEMA INTEGRATO PER GESTIRE L'INTENSIFICAZIONE SOSTENIBILE

L'Agricoltura di Precisione, giovandosi dei progressi generati dall'Intelligenza Artificiale, rappresenta, quindi, un sistema integrato per affrontare le sfide della modernità, consentendo di elaborare una grande mole di informazioni provenienti da diverse sorgenti: telerilevamento satellitare e piattaforme aeree, sensori e reti di sensori, un ecosistema scientifico e tecnologico di grande attualità per le potenzialità attualmente inapplicate nella conduzione dei processi produttivi, la sostenibilità e l'adattamento ai cambiamenti climatici.

Il settore cerealicolo è, pertanto, di fronte ad una trasformazione epocale, progettuale e finanziaria, per costruire una nuova dimensione in grado di sfruttare tutte le opportunità delle nuove tecnologie, coniugando tradizione e innovazione in favore di un'economia circolare che ne sostenga e promuova la sostenibilità finanziaria, ambientale e sociale. Ne è prova la forte spinta al cambiamento dei processi produttivi del settore agricolo che sta ampliando l'originario ed esclusivo ruolo di produttore di materie prime per il consumo fresco e per l'industria di trasformazione, con azioni e politiche finalizzate a sviluppare un'agricoltura di qualità, più competitiva e aperta al mercato globale e alla fornitura di servizi ecosistemici multipli, per la collettività e per le aree rurali.

In questo processo anche il ruolo dell'innovazione si sta progressivamente ridefinendo. L'obiettivo principale dell'incremento della produttività ha provocato, nella seconda metà del secolo scorso, le "rivoluzioni verdi", legate alla genetica, alla meccanizzazione, alla chimica e all'organizzazione aziendale. Nell'attualità gli obiettivi delle nuove tecnologie sono integrati perché intersecano rinnovate esigenze, come la tutela delle risorse naturali e nuove sfide, tra cui la mitigazione e l'adattamento ai cambiamenti climatici ed ai collegati nuovi fattori di stress, biotici e abiotici, che causano gravi danni alle piante coltivate. Con un approccio multi- e inter-disciplinare, dall'agronomia alla genetica, dalla meccanizzazione alle soluzioni basate sulla natura, progressivamente si affacciano nuovi saperi ad elevato contenuto tecnologico, dalla fisica applicata all'informatica, dalla genomica alla proteomica, dalla mecatronica alla robotica.



Normalized Difference Tillage Index (NDTI) indice elaborato da dati satellitari per valutare la preparazione del terreno e la copertura dei residui culturali (Michele Pisante).

In questo complesso scenario, le tecnologie emergenti legate all'impiego dei dati, particolarmente promettenti per la loro interconnessione (Intelligenza Artificiale, Blockchain, Internet delle Cose e Informatica Quantistica), oltre ad applicazioni tecnologiche di frontiera (nanotecnologie, biotecnologie, telerilevamento, *data mining*, *machine learning*, modellistica, robotica) che devono assicurare simultaneamente riservatezza e protezione del patrimonio informativo, rappresentano nuove sfide che richiedono competenze specialistiche altamente qualificate. La possibilità di misurare e monitorare in modo sito-specifico gli effetti della gestione della produzione agricola rappresenterà la frontiera più avanzata di un profondo cambiamento. Il futuro dipenderà in larga parte dalla qualità degli investimenti strutturali per le reti di trasmissione dei dati per un efficiente sistema di digitalizzazione, con l'unica certezza che per l'Agricoltura occorre operare con rapidità ed efficacia, ma anche con estremo raziocinio, prima dell'avvento della nuova dimensione virtuale del digitale in cui confluiranno i prossimi stadi evolutivi delle reti mobili dell'informazione.

LE SFIDE FUTURE

Coltivare frumento duro in Italia è una premessa indispensabile per sostenere la filiera della pasta, emblema preminente del *Made in Italy*. La pasta italiana non sarebbe credibile se l'Italia abdicasse al ruolo di grande produttore di frumento duro e scendesse ulteriormente sotto gli attuali, già preoccupanti, livelli produttivi. Garantire un futuro alla filiera della pasta nel nostro Paese richiede **ricerca avanzata basata su un approccio multidisciplinare ed il trasferimento dell'innovazione al sistema agricolo**. La ricerca deve operare in un contesto pubblico-privato perseguendo alcuni prioritari obiettivi strategici, tra cui si elencano i seguenti.

- Sviluppo di conoscenze genomiche finalizzate alla descrizione del *gene pool* disponibile per il frumento (duro) e all'identificazione della funzione dei geni e QTL "utili" al miglioramento genetico (adattamento all'ambiente, resistenze a malattie, qualità, sostenibilità) per sostenere la competitività della cerealicoltura italiana nel medio e lungo termine.
- Intensificazione del miglioramento genetico in un contesto pubblico-privato, capace di promuovere l'industria sementiera nazionale rendendola competitiva sul mercato nazionale ed estero, le varietà italiane possono diventare il riferimento per l'intera area mediterranea.
- Studio del microbiota della pianta e del suolo e identificazione dei microrganismi capaci di competere con i principali fitopatogeni, promuovere la crescita delle piante e aumentarne la resilienza nei confronti di stress biotici e abiotici, una nuova frontiera molto promettente per migliorare la sostenibilità dei sistemi colturali, frumento duro incluso.
- Messa a punto di nuove strategie agronomiche per preservare e migliorare la fertilità dei suoli ad ampia scala territoriale, quale pre-requisito per l'inserimento del frumento duro in un contesto agricolo sostenibile ed un minore impatto in termini di rilascio di gas serra.
- Adozione su larga scala di tecnologie satellitari per il monitoraggio colturale, la diagnosi precoce dell'insorgenza di stress biotici e abiotici, sistemi di supporto alle decisioni per l'applicazione delle tecnologie dell'agricoltura di precisione, sito specifiche e rateo variabile per tutte le operazioni colturali.
- Aggiornamento professionale e dei programmi formativi, per l'adozione dei criteri di applicazione dell'innovazione tecnologica nelle aziende agricole con autovalutazione degli impatti e dei risultati.

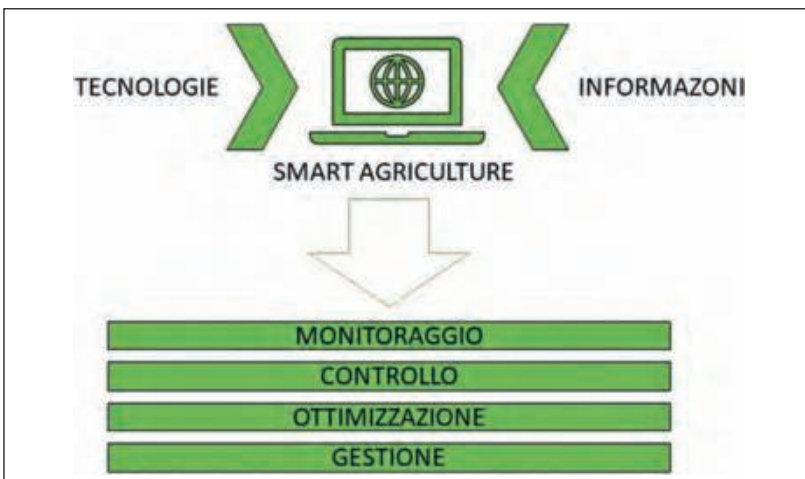
Infine, è necessario rimarcare che i **molteplici fattori che interagiscono tra loro nel determinare l'effettiva produzione di granella, devono essere considerati in**



Programmi di formazione e aggiornamento professionale continuo, in laboratori e pieno campo (Michele Pisante).

un approccio integrato, sistemico (GxExM) ed olistico, per definire la combinazione ottimale tra genotipi e gestione colturale, in ogni determinato ambiente di coltivazione. Data la forte interconnessione tra piante e suolo, l'attuale modello di selezione basato sull'ideotipo va aggiornato in base ad una prospettiva di agrosistema ideale, in cui il miglioramento di una varietà è solo una componente del processo di selezione. Il miglioramento genetico deve essere imperniato sulla approfondita conoscenza degli aplotipi che consentono di perseguire un *“breeding by design”* ed ogni varietà, accuratamente differenziata per caratteri morfologici e fisiologici, dovrebbe essere abbinata ad un protocollo di gestione specifico basato su un processo decisionale intelligente finalizzato a minimizzare l'impatto ambientale, migliorare l'efficienza della coltura, la sua resistenza agli stress e la resilienza dei sistemi alimentari del futuro. Il miglioramento genetico intelligente, quale componente centrale della *smart agriculture*, spingerà il “chip” agricolo, ovvero i “semi”, in una nuova era, trasformando radicalmente i processi di miglioramento genetico e conseguentemente i modelli di produzione, attraverso le nuove conoscenze nella progettazione del genoma delle piante.

Nel prossimo futuro, la *smart agriculture* continuerà a rimodellare le strategie e gli approcci metodologici della ricerca in agricoltura, promuovendo anche la coltivazione del frumento duro verso una maggiore efficienza, sostenibilità ed ecocompatibilità.



Smart agriculture: cosa richiede e cosa offre (Michele Pisante).

1

RISORSE GENETICHE, GENOMICHE E BIOTECNOLOGICHE STATO DELL'ARTE E NECESSITÀ EMERGENTI

- *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna: Marco Maccaferri, Cristian Forestan, Eugenia Carini, Enrico Noli, Elisabetta Frascaroli, Matteo Bozzoli
- Università degli Studi della Tuscia: Francesco Sestili, Stefania Masci, Samuela Palombieri
- Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR): Raul Pirona, Filippo Biscarini
- Università degli Studi di Bari Aldo Moro: Agata Gadaleta, Ilaria Marcotuli
- Università degli Studi del Salento: Alessio Aprile
- Università degli Studi dell'Insubria: Candida Vannini
- Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria (CREA): Raffaella Battaglia, Elisabetta Mazzucotelli, Anna Maria Mastrangelo, Pasquale De Vita

Il contributo italiano al progresso della genetica, della genomica e delle biotecnologie per il miglioramento genetico del frumento duro

Il frumento duro rappresenta una coltura strategica per l'Italia e per l'area mediterranea, per il suo valore economico e culturale, ma soprattutto perché costituisce la base della filiera della pasta, uno dei simboli più riconosciuti del Made in Italy agroalimentare. In un contesto agricolo italiano ed europeo caratterizzato dalle nuove necessità di:

- a. adattamento ai cambiamenti climatici**, causa di marcata instabilità produttiva,
- b. progressiva riduzione degli input agricoli**, quali fertilizzanti e fitofarmaci, ed aumento della **adozione di pratiche conservative e rigenerative**,

il miglioramento genetico rappresenta lo strumento chiave per garantire allo stesso tempo sostenibilità, sicurezza alimentare e competitività alla prima specie agraria italiana.

I recenti progressi nella genomica del frumento duro, culminati nel **sequenziamento del suo genoma di riferimento** (cv. Svevo; Maccaferri *et al.*, 2019), aprono oggi la strada per:

- **accelerare l'implementazione delle conoscenze e delle tecniche genomiche e biotecnologiche** nelle svariate applicazioni del miglioramento genetico e della produzione del seme di qualità, (breeding e gestione 'informata' dei sistemi agricoli),
- **contribuire a definire l'assetto genetico delle nuove varietà di frumento duro** per il prossimo futuro, adattate al cambiamento climatico ed alla conduzione sostenibile,
- **passare dalla genomica strutturale alla genomica funzionale**, cioè alla determinazione sistematica del funzionamento dei geni del frumento, singolarmente ed in interazione tra loro ('gene networks') e con gli stimoli ambientali,
- **costruire il 'pangenoma' dei frumenti tetraploidi**, per valorizzare l'intera diversità genetica disponibile ed **accelerare lo sviluppo di varietà più resilienti, efficienti e adatte alle esigenze della filiera italiana della pasta.**

La qualità della pasta italiana dipende in buona misura dalle caratteristiche genetiche del frumento duro: contenuto proteico, composizione del glutine, colore della semola e stabilità tecnologica. Per questo motivo, il miglioramento genetico non è solo una questione agronomica, ma un fattore strategico per l'intera filiera agro-industriale.

DALLE PRIME INNOVAZIONI FONDAMENTALI ALLE SFIDE E OPPORTUNITÀ DEL PRESENTE: UN EXCURSUS STORICO

Il frumento duro è da sempre un cereale caratterizzante dei sistemi agricoli italiani, alimentando filiere agroalimentari di rilevante importanza economica e di eccellenza.

Come tale, è sempre stato oggetto di attenzione da parte dei genetisti italiani, insieme a frumento tenero, vite, olivo, fruttiferi, pomodoro, e colture orticole.

In un'Italia che aspirava all'indipendenza economica, la coltivazione del frumento, tenero e duro, vista come garanzia di autosufficienza alimentare divenne un pilastro delle politiche economiche. **A partire dal 1925**, la cerealicoltura fu sospinta dalla politica economica con la "battaglia del grano" (Farolfi e Fornasari, 2011) e l'obiettivo venne raggiunto con l'ampia diffusione delle varietà di frumento tenero innovative a bassa taglia di Strampelli. Dal **secondo dopoguerra, e in particolare negli ultimi decenni del '900**, verrà incentivata progressivamente anche la coltura del **frumento duro, ancora grazie all'innovazione genetica** con la costituzione di cultivar di ampia adattabilità e grande capacità produttiva come Creso, che si espanderà agli ambienti del centro-nord.

IL PANORAMA CEREALICOLO ITALIANO DEI PRIMI DEL NOVECENTO: LE VARIETÀ LOCALI O "LANDRACES"

Agli inizi del Novecento era coltivata un'ampia gamma di **varietà locali ("landraces")** appartenenti a diverse sottospecie e varietà botaniche di frumenti tetraploidi ed esaploidi autopropagate dagli agricoltori stessi, che effettuavano così una sorta di blanda selezione massale empirica i cui effetti migliorativi erano però non costanti, aleatori, e diluiti nel tempo.

Queste **varietà locali presentavano alcune caratteristiche pregevoli** dal punto di vista qualitativo e dell'adattamento alle condizioni ambientali e colturali locali in cui si erano sviluppate, **ma anche aspetti negativi poi considerati incompatibili con lo sviluppo e diffusione delle nuove tecniche agronomiche.**

Descrizioni sistematiche ed accurate delle varietà locali furono condotte in qualche caso, e le varietà conservate fino ad oggi (Commissione Ministeriale per lo studio dei frumenti italiani, 1930; De Cillis, 1942). In Sicilia, nel 1933-34 Casale e De Cillis censirono, classificarono botanicamente e conservarono 45 varietà locali distinte, incluse varietà locali come Saragolla (da non confondersi con l'omonima varietà moderna), Timilia, Russello, Scorsonera, Bufala, etc. appartenenti alle sottospecie di *Triticum turgidum* subsp. *durum*, *turanicum*, *turgidum*. L'opera di caratterizzazione e valorizzazione di queste varietà locali continua tutt'oggi, con strumenti molecolari (Fiore *et al.*, 2022).

Le varietà locali presentavano caratteristiche qualitative diverse da quelle richieste oggi per la pasta, in particolare glutine debole e basso contenuto di pigmenti gialli. Erano destinate a prodotti locali, come il pane in varie forme. Inoltre, come già osservato da Strampelli, **non mostravano una buona risposta in termini di produttività e risposta alle tecniche di coltivazione emergenti.**

DALLE POPOLAZIONI E VARIETÀ LOCALI DEL PASSATO AL MIGLIORAMENTO GENETICO E ALLE VARIETÀ MODERNE

Sulla spinta del bisogno economico del paese (a quei tempi fortemente dipendente dalle importazioni di grano, come oggi d'altronde) e della necessità di rafforzare, organizzare e modernizzare l'agricoltura italiana, l'obiettivo principale della "**battaglia del grano**" non fu quello di mirare all'aumento delle superfici coltivate a cereali ma a quello della **produttività media per ettaro**, organizzando la produzione su tre pilastri fondamentali:

1. rendere disponibile agli agricoltori **seme selezionato di qualità**;
2. introdurre e diffondere la **meccanizzazione**, in particolare delle operazioni di semina e trebbiatura, e nuove tecniche agronomiche, incluso l'uso dei fertilizzanti;
3. le **politiche agrarie ed il controllo dei prezzi.**

LA FONDAZIONE DEL MIGLIORAMENTO GENETICO DEL FRUMENTO IN ITALIA

L'INNOVAZIONE INTRODOLTA DA FRANCESCO TODARO (1864-1950) NELLA SELEZIONE DELLE VARIETÀ E NELL'ORGANIZZAZIONE DELLA PRODUZIONE DI SEMENTE DI QUALITÀ

L'agronomo Francesco Todaro operava principalmente in Emilia-Romagna, era docente e agronomo a Bologna e Modena. Ebbe i meriti di:

- introdurre contemporaneamente **innovazioni agronomiche e genetiche** nel tessuto del sistema agricolo regionale ed italiano,
- organizzare sistemi agricoli con una concezione moderna basata sulla **cerealicoltura industriale** e su **semente di qualità**, da rendere disponibile agli agricoltori,
- introdurre estensivamente il metodo di **“selezione per linea pura”**.

Storicamente:

- fondò nel 1908 il Laboratorio analisi sementi, oggi LaRAS presso l'Università di Bologna;
- fondò nel 1911 la 'Società Cooperativa Bolognese per la produzione di Sementi della Grande Cultura', una società sementiera privata, oggi Società Produttori Sementi: un esempio poi seguito in altre regioni italiane;
- fondò nel 1921 l'Istituto di Allevamento Vegetale, allo scopo di selezionare, a partire dalle razze e varietà locali, le migliori linee pure, per portare agli agricoltori il seme migliore.

Queste innovazioni, introdotte nei primi anni del '900, richiesero anni per affermarsi. Ad esempio, il sistema odierno fondato sul Registro Nazionale delle Varietà entrò in vigore solo negli anni '70.

L'INNOVAZIONE INTRODOLTA DA NAZARENO STRAMPELLI (1866-1942): LE SUE VARIETÀ INNOVATIVE, IL CONCETTO DI “IDEOTIPO” E LA RETE DI STAZIONI SPERIMENTALI ITALIANE

Nazareno Strampelli, già chimico a Camerino, nel 1903 assunse la cattedra ambulante di agricoltura a Rieti dove si dedicò, assieme alla moglie Carlotta Parisani, allo studio del germoplasma ed alla selezione di nuovi tipi di frumento.

Nonostante grandi difficoltà finanziarie e l'incertezza del risultato, credette fermamente nella tecnica dell'**incrocio o ibridazione artificiale, controllata dall'uomo** come tecnica innovativa per produrre varietà con combinazioni di caratteri desiderati non esistenti prima.

- Egli studiò la variabilità esistente nei frumenti, comparando materiali provenienti da ogni parte del mondo, con l'obiettivo di migliorarne sia la qualità sia la produttività.
- Introdusse il concetto di **“ideotipo”**, un modello concettuale di nuovo tipo di pianta con caratteristiche fisiologiche, agronomiche e di resistenza alle malattie ideali, da realizzarsi tramite l'accurata scelta dei parentali e l'ibridazione controllata tra di essi.
- Compresse che **le varietà locali, benché pregiate, portavano anche caratteristiche sfavorevoli**, che avrebbero impedito di aumentare la produttività per unità di superficie nella misura necessaria ai tempi. Tra questi difetti la taglia eccessiva e la non responsività ai fattori della produzione, il conseguente allettamento e la risposta negativa alla fertilizzazione, e l'eccessiva tardività, che esponeva le piante a siccità e calore precoce.
- Compresse che solo tramite **l'incrocio artificiale sarebbe stato possibile ottenere nuove varietà con nuove caratteristiche positive**. Eseguì più di 800 incroci arti-

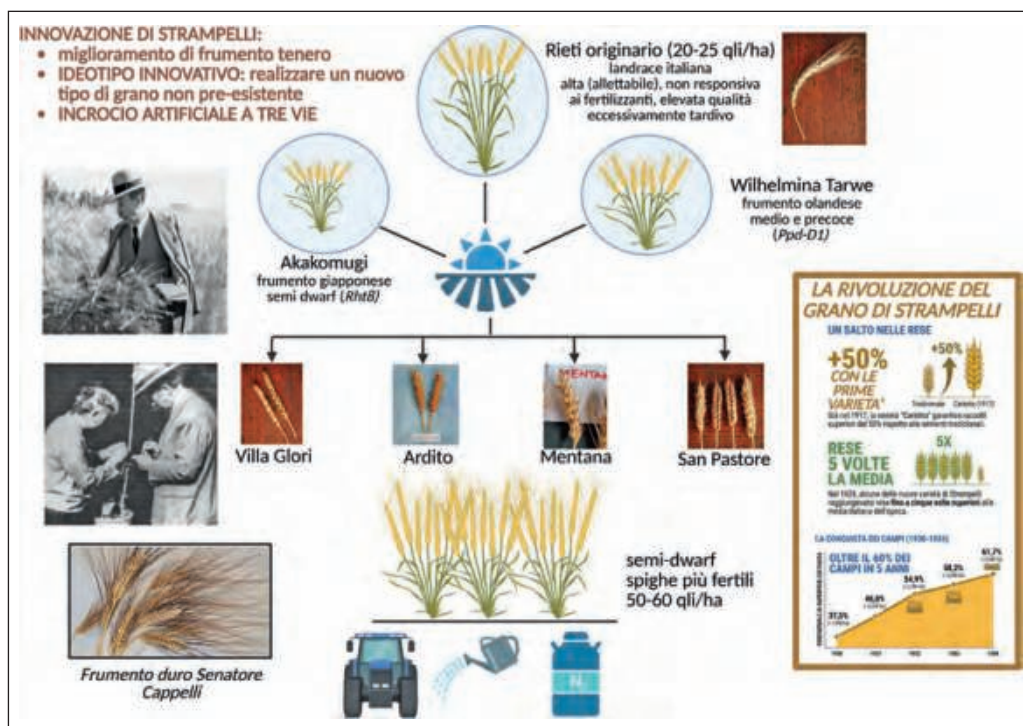


Figura 1.1 | L'innovazione di Strampelli: nuovi incroci di frumento che aumentarono rese e produttività, rivoluzionando l'agricoltura italiana.

ficiali, ed in particolare, realizzò nuove varietà che permisero al Paese di raggiungere gli obiettivi della “battaglia del grano”.

- Ideò il famoso **“incrocio perfetto”** a tre vie tra frumenti teneri parentali donatori di tratti innovativi, con il quale costituì le varietà di maggiore successo, denominate da lui stesso **‘semi elette’** (Fig. 1.1).
- Per il frumento duro, a Foggia Strampelli selezionò per linea pura la famosa varietà **‘Senatore Cappelli’** a partire dalla landrace tunisina Jenah Rhetifah. Questa varietà, combinazione di produzione, rusticità e qualità, dominerà la superficie coltivata a frumento in Italia fino agli anni 50-60 e verrà estesamente utilizzato come parentale per nuove varietà.
- Fondò nel 1907 la **Stazione sperimentale di Granicoltura a Rieti** e successivamente nel 1919 l'**Istituto Nazionale di Genetica per la Cerealicoltura a Roma**. Si rese conto dell'importanza di una rete adeguata di prove sperimentali in varie regioni d'Italia per valutare l'adattabilità delle nuove varietà di frumento e fondò una **rete di aziende sperimentali poi organizzate nel CREA**.
- Vinse nel 1939 la **‘Battaglia del Grano’**, istituita nel 1925, grazie principalmente alle sue nuove varietà, e a superficie investita a frumento quasi invariata. La produzione nazionale passò da ca. 50 Mq.li del 1926 (con importazione di 20-25 Mq.li) a ca. 80 Mq.li nel 1933 ed anni successivi. Infatti, a fronte di produttività medie di 15 q.li/ha, le nuove varietà di Strampelli raggiungevano anche produttività record di 30 q.li/ha, e successivamente anche di 50-60 q.li/ha.

Le varietà di Strampelli ebbero successo in diverse parti del mondo e vennero utilizzate come parentali per programmi di miglioramento genetico in Argentina, Brasile, Portogallo, Paesi dell'Europa dell'Est, inclusa la Russia, ed in particolare in Cina.

Lo stesso percorso concettuale, anche se con parentali e geni diversi, viene successiva-

mente compiuto da Norman Borlaug nella famosa Rivoluzione Verde degli anni '60 e '70, con impatti su scala mondiale (Brown, 1970).

PRINCIPALI TAPPE DELLA INNOVAZIONE GENETICA ITALIANA DAL POST-STRAMPELLI FINO AL XXI SECOLO

Il frumento duro, pur con minore attenzione rispetto al frumento tenero a livello internazionale, è sempre stato di grande interesse per genetisti e miglioratori italiani. Seguendo l'impostazione di Strampelli, nei decenni successivi essi continuarono ad applicare al miglioramento di questa specie a questa specie le innovazioni scientifiche e tecnologiche che si rendevano disponibili.

Queste note riassumono alcune delle principali innovazioni che hanno poi dato luogo a trasferimento tecnologico nelle varie attività di **'breeding'** o di **'pre-breeding'**.

Definizioni di **'breeding'** e **'pre-breeding'**

Oggi il miglioramento genetico, soprattutto quello privato, ha assunto caratteristiche di organizzazione industriale. In esso si distinguono nettamente le operazioni e le metodiche di **'breeding'** da quelle di **'pre-breeding'**.

Il **'breeding'** propriamente detto è il processo di incrocio e selezione per ottenere nuove varietà adattate a specifici ambienti, combinando caratteristiche di qualità, produttività e fenologia. I parentali devono essere geneticamente diversi e dotati dei requisiti necessari. Il breeding utilizza un **pool genico 'elite' adattato** e garantisce guadagni genetici nel breve periodo, ma richiede nuova variabilità nel lungo termine.

Il **'pre-breeding'** è la fase preliminare che introduce nuova variabilità genetica da fonti esotiche o selvatiche nel pool genico adattato, creando la base per i programmi di breeding successivi. Utilizza tecniche avanzate come reincrocio, mutagenesi, e, ove e quando possibile, Tecniche di Evoluzione Assistita (TEA). Si tratta di un'attività tipicamente di ricerca e sviluppo, necessaria nel lungo periodo per assicurare la continuità del guadagno genetico del breeding anche nel lungo periodo.

UNA CRITICA AL MIGLIORAMENTO GENETICO TRADIZIONALE

Nel caso del frumento tenero e del frumento duro, il metodo principe ampiamente utilizzato nel breeding moderno che si cristallizzò negli anni d'oro del breeding e della Rivoluzione Verde fu, ed è tutt'ora, quello denominato **'cross the Best with the Best, and select for the Best'**. Purtroppo, questo principio è sì efficace nel breve periodo, mentre nel lungo periodo non regge.

Il vantaggio iniziale del breeding porta rapidamente alla **fissazione in omozigosi dei migliori assetti genetici**, anche tra parentali apparentemente diversi. Questo limita i progressi futuri, poiché la ricombinazione di segmenti genomici tra loro 'identici per discendenza' non produce nuovi effetti.

Inoltre, nel lungo periodo, la fissazione degli alleli migliori conduce ad una **perdita di diversità genetica**, che sarebbe invece utile al variare degli obiettivi del miglioramento, come accade ora per l'adattamento al *global change* e gli obiettivi di sostenibilità.

Nel caso del frumento duro, la riduzione della base genetica delle varietà moderne è evidente, esacerbata dal fatto che sono relativamente pochi nel mondo i programmi di breeding che si occupano del frumento duro (Italia, Francia, Spagna, Nord America, CIMMYT e ICARDA).

È quindi necessario affiancare al breeding un efficiente **'pre-breeding'** in grado di fornire rapidamente i nuovi alleli necessari a rispondere ai mutati obiettivi e permettere ulte-

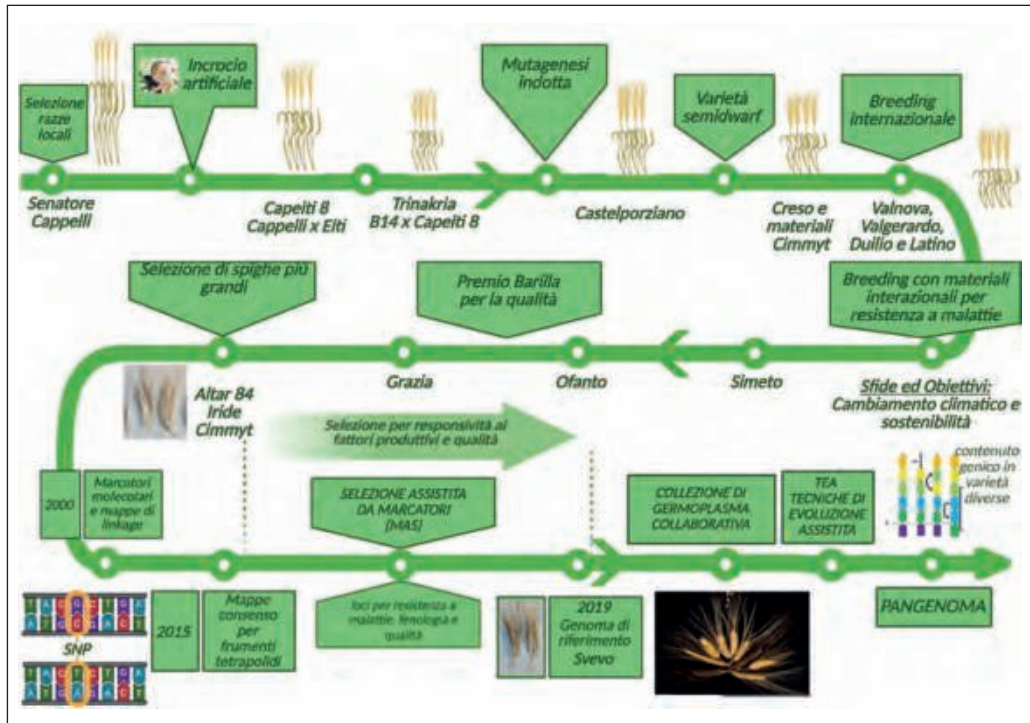


Figura 1.2 | Evoluzione del miglioramento genetico del frumento per qualità, resa e sostenibilità: dalla selezione tradizionale alle moderne tecniche genomiche.

riori ‘balzi in avanti’. Il punto critico è che il ‘pre-breeding’ è costoso e richiede risorse. Spesso, privati di dimensioni medie o medio piccole (*small-medium enterprises*, SME) non hanno le risorse sufficienti ad assicurarsi un programma di *pre-breeding* dedicato. Questa situazione è tipica delle *orphan crops* ed è demandata a:

- alla ricerca pubblica, anche co-finanziata dal settore privato (modello canadese),
- all’organizzazione di private-public partnerships, PPP, anche tra privati (modello francese),
- alla coordinazione della ricerca sulla base di progetti collaborativi internazionali.

In ogni caso, l’assenza di una adeguata azione di pre-breeding espone l’intero sistema agricolo a ritardi nell’adozione della innovazione.

Di seguito vengono recensite le principali tappe che hanno caratterizzato l’evoluzione del breeding, del pre-breeding e della ricerca pubblica in Italia per il frumento duro (Fig. 1.2).

RASSEGNA DELLE INNOVAZIONI INTRODOTTE DALLA GENETICA E GENOMICA NEL PRE-BREEDING E BREEDING DEL FRUMENTO DURO IN ITALIA

Per ciascuna di queste innovazioni, uno schema dettagliato dei principali risultati e relative pubblicazioni ottenuti dalla ricerca italiana è riportato in Appendice 1.

1. Incrocio artificiale seguito da autofecondazione e selezione, metodo ‘pedigree’ (1920-oggi). Il metodo di miglioramento genetico introdotto da Strampelli, **basato sull’incrocio e la selezione (metodo ‘pedigree’)**, è oggi considerato la strategia fondamentale e universalmente adottata nei programmi di breeding di specie di interesse economico. La sua efficacia risiede nella capacità di generare nuove combinazioni genetiche e di eliminare alleli deleteri, rendendolo imprescindibile per oltre

un secolo, dai primi del '900 fino ad oggi. Potrebbe essere superato solo da innovazioni radicali come l'editing genetico e la selezione genomica.

Attualmente, il breeding del frumento duro in Italia è prevalentemente gestito da soggetti privati, con alcune partnership con il settore pubblico, e si caratterizza per un aumento delle varietà registrate e un rapido turn-over varietale, ma ultimamente deve affrontare una crescente competizione da parte del breeding industriale europeo.

2. Applicazione della mutagenesi indotta (1950-1980). Come detto precedentemente, pur raggiungendo importanti risultati attraverso l'incrocio e la selezione dei materiali, il progresso varietale risulta comunque limitato dalla diversità genetica disponibile.

La **mutagenesi indotta** mediante l'uso di agenti fisici o chimici consente di indurre nuovi varianti, in modo casuale ma riproducibile, ad un tasso (10^{-3} - 10^{-4}) ben superiore a quello naturale di mutazione (10^{-6} - 10^{-9}), aumentando così la frequenza di alleli potenzialmente utili per il breeding. Questo consente di generare nuova variabilità genetica anche per tratti di interesse che non si riscontrano in natura.

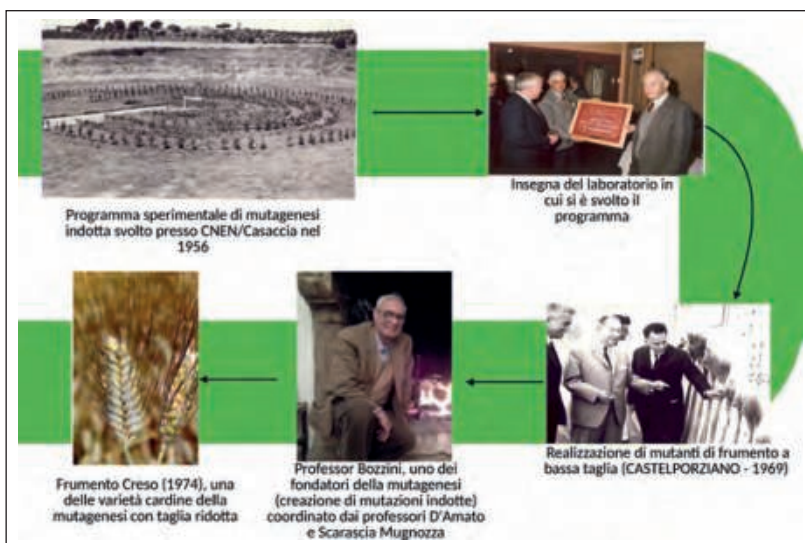
L'applicazione della mutagenesi al breeding risale al periodo post-bellico, in coincidenza con il grande sviluppo della chimica e della fisica, in particolare di quella nucleare. In Italia questo metodo ebbe una grande espressione nel **programma coordinato FAO/IAEA/CNEN a metà degli anni '50** con la direzione di Francesco D'Amato, Gian Tommaso Scarascia Mugnozza, Alessandro Bozzini, Carlo Mosconi e Luigi Rossi, in collaborazione con eminenti ricercatori come Gustafsson, Swaminathan, Borojevic, Bogyo (Fig. 1.3). Il programma produsse diversi mutanti di Cappelli di bassa taglia, tra cui il Castelporziano (CpB132) e culminò con l'ottenimento della varietà Creso a bassa taglia, altamente produttiva, più resistente al freddo e di buona qualità (300.000 ha in Italia, 60% del seme certificato nel 1983).

Oggi questi metodi sono tutt'ora in uso con l'adozione delle tecniche molecolari moderne e con il sequenziamento massivo del DNA (approccio 'TILLING'), e le moderne tecniche di editing dei geni e del genoma, in italiano Tecniche di Evoluzione Assistita (TEA), in inglese *New Genomic Techniques* (NGT).

3. Raccolta, conservazione e caratterizzazione del germoplasma (1960-1980).

La **conservazione delle risorse genetiche** a rischio di estinzione è fondamentale per rendere disponibile il 'carburante' della diversità genetica alle applicazioni di pre-

Figura 1.3 | Tappe del miglioramento genetico del frumento tramite mutagenesi. Partendo dai campi sperimentali degli anni '50 e attraverso il lavoro del laboratorio CNEN, la ricerca ha portato alla selezione di varietà a taglia ridotta. Questo processo è culminato nel successo del frumento 'Creso' (1974), esempio emblematico di come la mutagenesi indotta abbia rivoluzionato la produttività cerealicola italiana.



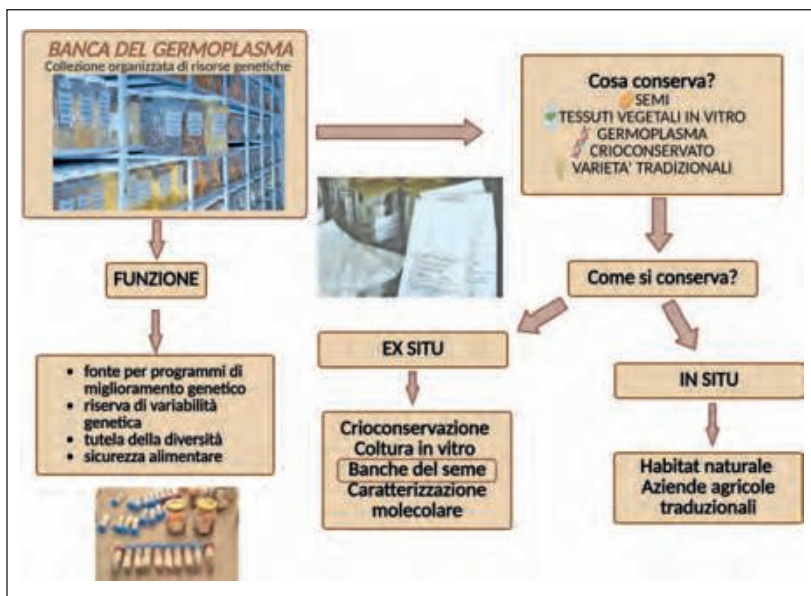


Figura 1.4 | La banca del germoplasma è l'Ente/Istituzione che assicura la raccolta, la conservazione e la caratterizzazione delle risorse genetiche vegetali, rendendole disponibili per la ricerca scientifica, il miglioramento genetico e la salvaguardia della biodiversità.

breeding. Per i frumenti e le altre specie erbacee di interesse agrario dell'area mediterranea, l'Italia ha contribuito con la fondazione della propria banca di germoplasma (Fig. 1.4), presso l'Istituto del Germoplasma di Bari, oggi IBBR-CNR, e con diverse spedizioni di raccolta nei paesi di origine dei frumenti.

Recentemente l'iniziativa è stata rinvigorita con il coordinamento italiano del *Durum Wheat Expert Working Group* della *Wheat Initiative*, con l'assemblaggio e la diffusione della collezione collaborativa denominata **Global Durum Genomic Resources** (https://graingenes.org/GG3/global_durum_genomic_resources), arricchita dalla caratterizzazione molecolare dei genotipi, iniziativa discussa in dettaglio nel seguito e in Appendice 1.

- 4. Incrocio interspecifico tra frumenti domestici e specie selvatiche affini. Studi di citogenetica applicata. Ingegneria cromosomica per il trasferimento genico (1960-oggi).** Le specie allopoliploidi come i frumenti, che originano dall'ibridazione naturale tra due o tre specie ancestrali diploidi, consentono una certa flessibilità nell'attuazione di incroci interspecifici con specie affini, fenomeno che nelle *Triticeae* avviene occasionalmente anche in natura. La tecnica, nota come '**ingegneria cromosomica**', richiede notevoli conoscenze di biologia riproduttiva e citogenetica ma rende possibile il trasferimento nei frumenti coltivati di segmenti cromosomici da specie affini che mostrano **tratti di resilienza agli stress abiotici e resistenza ai patogeni persino superiori a quelli espressi nei frumenti stessi** (Figg. 1.5 e 1.6). I ricercatori italiani, in particolare dell'Università di Pisa e Bari prima e dell'Università della Tuscia a Viterbo poi, hanno dato importanti contributi a questa branca molto specialistica e difficoltosa della citogenetica, che oggi però può beneficiare di avanzate tecniche molecolari e di editing del genoma (TEA). Le *Triticeae* che hanno ricevuto maggiore attenzione per migliorare il frumento duro, a partire dallo stesso Strampelli, sono state *Secale cereale*, *Hynaldia villosa*, *Aegilops geniculata*, *Thinopyrum ponticum* ed altre specie di *Aegilops* incluso *Ae. caudata*. In particolare, sono stati trasferiti con successo loci a forte impatto per resistenza a malattie come *Lr19* da *Thinopyrum ponticum* verso la ruggine bruna, la traslocazione 1B/1R dalla segale verso ruggine e fusariosi, ed un locus sul cromosoma 7EL da *Thinopyrum elongatum* verso la fusariosi (riferimenti nell'Appendice 1).

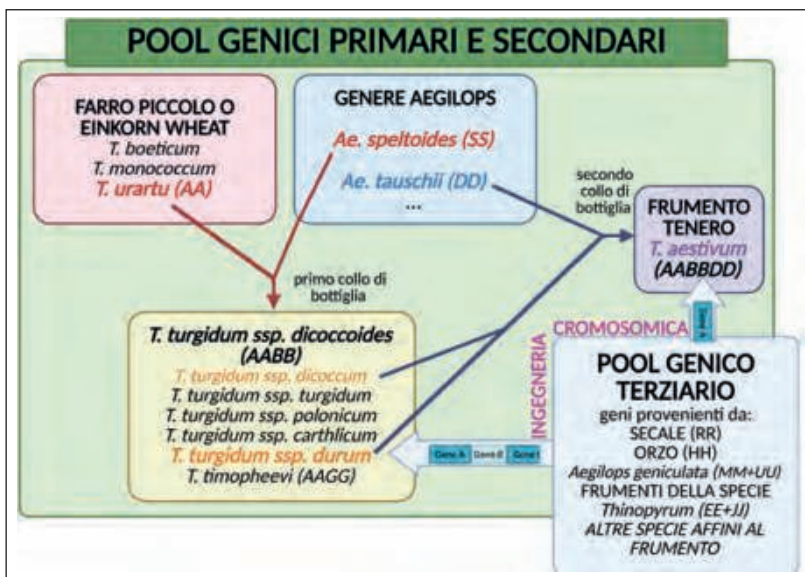


Figura 1.5 | Origine filogenetica e pool genetici del frumento: relazioni evolutive tra specie progenitrici, frumenti coltivati e risorse genetiche primarie, secondarie e terziarie.

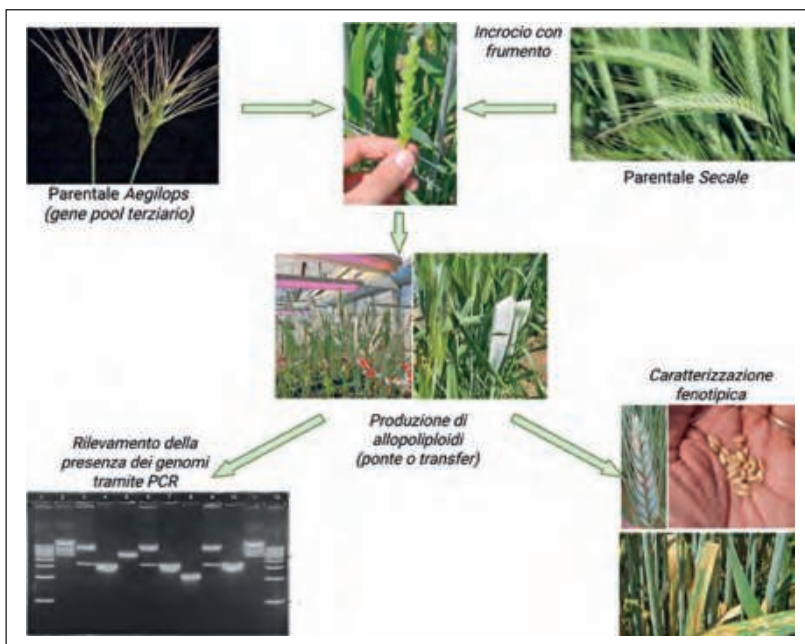


Figura 1.6 | Applicazione in campo dell'ingegneria cromosomica partendo dalla realizzazione degli incroci fino alla fenotipizzazione delle linee ottenute.

SVILUPPO DELLE MAPPE GENETICHE MOLECOLARI. IDENTIFICAZIONE DI LOCI DI PRINCIPALE INTERESSE PER IL MIGLIORAMENTO GENETICO. UTILIZZO DELLA SELEZIONE MOLECOLARE (1990-OGGI)

L'Italia, insieme agli Stati Uniti ed al Canada, si è storicamente distinta per l'attività di ricerca sul frumento duro e sulle specie di frumenti tetraploidi. I risultati principali sono riassunti nelle tabelle riportate in Appendice 1. Meno efficace e coordinato è stato l'impatto sull'adozione dell'innovazione nelle attività a valle del pre-breeding e del breeding in Italia. In questo campo l'organizzazione canadese e francese costituiscono validi esempi da tenere bene presente.

OTTENIMENTO DELLE PRIME MAPPE GENETICHE DI LINKAGE BASATE SU MARCATORI MOLECOLARI, IDENTIFICAZIONE DI LOCI DI INTERESSE ED APPLICAZIONI DELLA SELEZIONE ASSISTITA DA MARCATORI MOLECOLARI (MARKER ASSISTED SELECTION, MAS)

L'utilizzo dei marcatori molecolari, insieme ai marcatori morfologici, per costruire mappe genetiche costituisce il primo passo dei genetisti moderni verso la comprensione dei genomi delle specie agrarie. Allo stesso tempo i marcatori molecolari, in particolare quelli basati sulla PCR, hanno permesso lo sviluppo di saggi di laboratorio rapidi e diagnostici degli alleli dei loci fenotipici, aprendo la strada da una parte all'**assemblaggio dei genomi**, dall'altra alla selezione molecolare, o '**Marker Assisted Selection**' (MAS, Lande & Thompson 1990, Figg. 1.7 e 1.8).

Nel 1998, a cura principalmente del contributo di diverse Università, con l'Università di Bari come elemento trainante, viene realizzata la prima mappa genetica di frumento duro dall'incrocio altamente polimorfico frumento duro (cv. Messapia) x *Triticum dicoccoides*. Successivamente vengono realizzate altre mappe genetiche dall'Università di Bologna (progetti IDUWUE e AGER) e dal CREA di Foggia, di Fiorenzuola e Università di Bari (progetto AGROGEN), in particolare dai parentali Svevo, Simeto, Ofanto, Creso. I principali risultati ottenuti in termini di loci di interesse identificati sono riportati in Appendice 1.

Dal DNA al Fenotipo ('*Genotype-to-Phenotype*', 'G2P'), la strada passa attraverso la identificazione dei varianti molecolari del DNA degli individui di una popolazione, organizzati in '**aplotipi**', che controllano l'espressione di un carattere di interesse agrario.

Queste mappe genetiche consentono, tramite analisi del *linkage genetico cromosomico*, l'identificazione di una serie di loci responsabili per tali caratteri e la produzione dei primi saggi diagnostici per la MAS. Tra essi si ricordano i loci per il controllo del **contenuto proteico** e di quello in **pigmenti gialli e carotenoidi** della granella, loci per la **data di spigatura** e **componenti della resa**, la **resistenza alle malattie**, come il locus **Lr14** per la **resistenza a ruggine bruna** da Creso, il locus **Sbm2** per la **resistenza al mosaico comune del frumento** dai materiali nord-americani e francesi, il locus **Cdu1** per il **contenuto di cadmio nella granella**, e diversi **QTL per la risposta alla fusariosi** e per il **contenuto di DON** (deossinivalenolo, micotossina) nella granella.

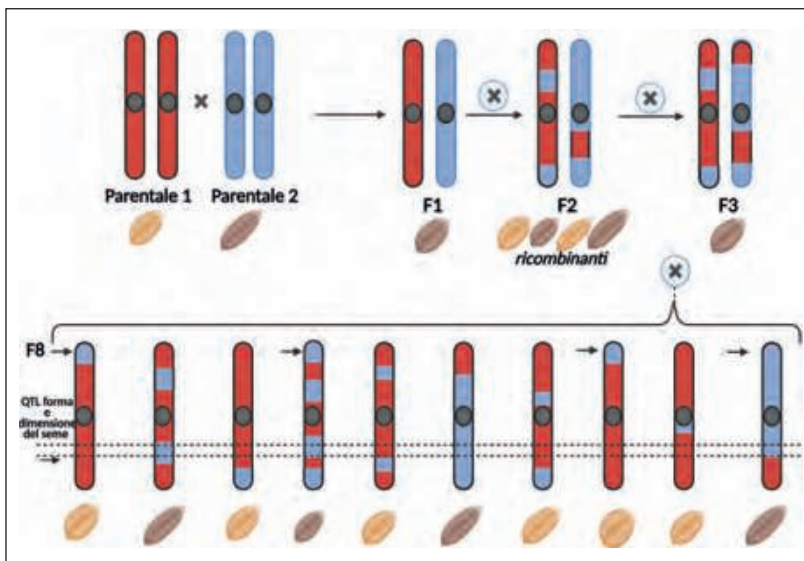
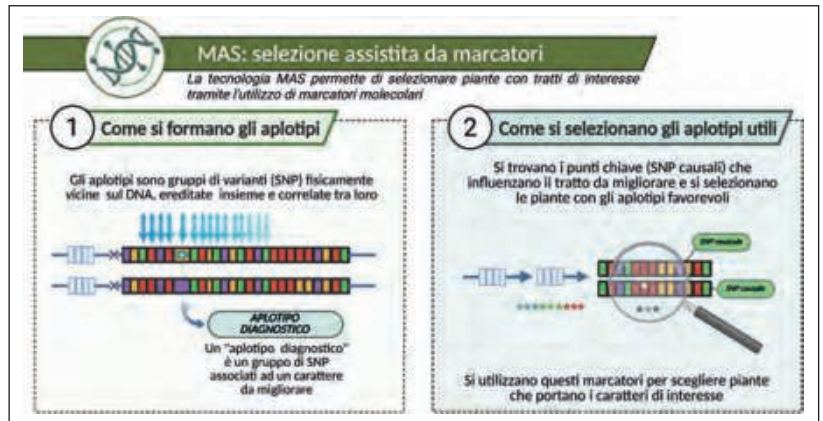


Figura 1.7 | Incrocio di genotipi parentali (linee pure) che presentano semi di dimensioni e colorazioni differenti da cui si ottiene una progenie F1 eterozigote. Questa progenie viene autofecondata per ottenere una F2 segregante. Tramite successive generazioni di autofecondazione si ottiene in F6-F8 una popolazione di linee inbred ricombinanti (RIL) utile sia alla mappatura genetica che al miglioramento genetico. Ciascuna di queste linee è omozigote.

Figura 1.8 | Rappresentazione grafica della tecnologia MAS per il miglioramento genetico vegetale. Il diagramma illustra l'associazione tra SNP e tratti d'interesse, evidenziando come l'identificazione di aplotipi favorevoli permetta di accelerare i programmi di breeding selezionando le piante sulla base del genotipo piuttosto che del solo fenotipo.



MAPPATURA PER ASSOCIAZIONE GENOTIPO-FENOTIPO (GENOTYPE-TO-PHENOTYPE, G2P) IN POPOLAZIONI NATURALI, COLLEZIONI DI GERMOPLASMA, PANEL DI VARIETÀ

Lo sviluppo trainante delle tecniche di mappatura genetica nella specie umana e negli animali ha suggerito la possibilità di eseguire, anche in campo vegetale, la mappatura genetica direttamente in *popolazioni naturali*, *panel di accessioni di germoplasma* o *panel di varietà*, cioè insiemi di genotipi/linee relativamente poco imparentati tra di loro e con pedigree sconosciuto.

Questa procedura innovativa di mappatura, denominata *'mappatura per associazione a livello dell'intero genoma (Genome-wide association mapping)*, a differenza di quella tradizionale non è basata su popolazioni di mappa generate *ad hoc* e rispetto a questa presenta diversi vantaggi.

I marcatori molecolari, necessari ad elevata densità sui genomi, consentono di effettuare allo stesso tempo due tipi di analisi che si integrano nella mappatura per associazione, entrambe utili al breeding:

- a. l'analisi della struttura genetica delle popolazioni ('population structure')**, cioè l'individuazione di aplotipi ben distinti caratteristici ed ereditati dai fondatori, e la loro organizzazione in subpopolazioni o linee di sangue ('lineages'), che spesso coincidono con l'origine e la diffusione geografica o il programma di breeding, elementi molto importanti per la comprensione della genetica di popolazione. Questa analisi consente ai genetisti di compiere un balzo in avanti nella comprensione dell'organizzazione della diversità genetica dei materiali di interesse, e fornisce informazioni particolarmente utili nella pianificazione dei futuri incroci;
- b. la mappatura per associazione propriamente detta**, cioè la conduzione di **test genomici di associazione tra marcatori molecolari/varianti/aplotipi e fenotipo**. Questa analisi, similmente alla analisi QTL con le mappe di linkage, conduce alla identificazione di loci e QTL di interesse.

VANTAGGI DELLA MAPPATURA PER ASSOCIAZIONE ('GWAS')

La mappatura per associazione (Fig. 1.9) consente l'identificazione dei loci di interesse direttamente su collezioni di germoplasma e panel di varietà utilizzate dal breeder, permettendone l'**applicazione immediata** nel programma di miglioramento.

Rispetto alle mappe biparentali da incrocio classico, consente di identificare **un maggior numero di loci e con maggiore precisione molecolare**, un vantaggio anche per la selezione molecolare che ne consegue.

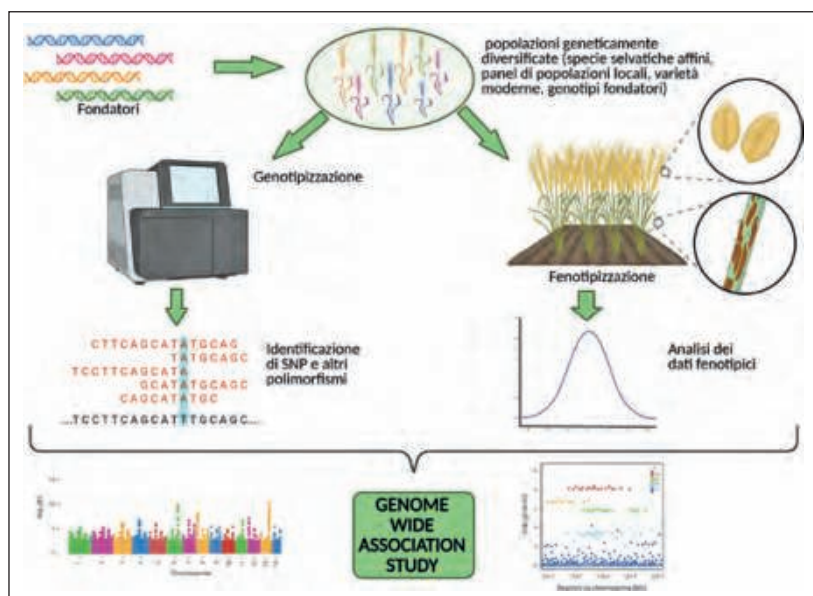


Figura 1.9 | Flusso operativo di uno Studio di Mappatura per Associazione *Genome-Wide* (GWAS) nel frumento. Il protocollo integra la genotipizzazione (identificazione di SNP e polimorfismi genomici) con la fenotipizzazione (analisi di tratti biologici come resistenza alle malattie o qualità del seme). L'analisi statistica di associazione permette di identificare le regioni genomiche associate ai caratteri d'interesse.

Gli alleli dei loci fenotipici vengono associati a particolari segmenti genomici identificati da una serie di marcatori molecolari concatenati ed organizzati in **'aplotipi'**, ereditati anticamente dai **'fondatori'** delle popolazioni.

Inoltre, la mappatura per associazione applicata a collezioni di landraces o popolazioni di frumenti selvatici consente di identificare **loci di grande valore adattativo, e di recuperare variabilità genetica non utilizzata dal breeding moderno.**

- Grazie a questi metodi di analisi genetica è possibile ragionare non più in termini di **singoli marcatori molecolari** quanto piuttosto in termini di **'aplotipi genetici'** o 'blocchi di linkage' ereditati per discendenza dai progenitori ancestrali fino alle varietà moderne, con un effetto quantificabile sul fenotipo di interesse. Questa analisi è molto più precisa rispetto all'uso dei singoli marcatori (Brinton *et al.* 2020) ed è stata sviluppata inizialmente in ambito umano.
- In frumento duro si distinguono il contributo della Università di Bologna, con i progetti IDUWUE e AGER, e dell'Università di Bari e CREA di Foggia, con il progetto AGROGEN. Oggi sono in atto diversi progetti (riportati in Appendice 1).
- Negli ultimi anni questa azione di fondamentale importanza a monte del pre-breeding e del breeding è stata rinvigorita dalla iniziativa del *Durum Wheat Expert Working Group della Wheat Initiative* (WI) con la costituzione di panel collaborativi (GDGR) per il GWAS. (riferimenti di seguito e in Appendice 1).

DALLA MAS BASATA SU SINGOLI LOCI AL **'BREEDING BY DESIGN'** FINO ALLA SELEZIONE GENOMICA (GS)

A seguito della mappatura genetica dei loci mendeliani e poi quantitativi (QTL) con marcatori molecolari è stato possibile iniziare ad utilizzare questa conoscenza per assistere le pratiche di selezione nel breeding.

La MAS, almeno a livello dello screening dei parentali ma anche su scala maggiore, a livello di popolazioni segreganti, è stata progressivamente adottata prima dalle grandi *companies* del breeding internazionale e poi anche, ma solo in parte, dai miglioratori genetici medio-piccoli, in particolare nelle ditte sementiere che si occupano di specie orticole, ad elevato valore aggiunto.

Questo processo è avvenuto più rapidamente per il frumento tenero, per il quale sono stati subito assemblati panel di marcatori molecolari predittivi, o diagnostici per la presenza di loci ed alleli utili nel germoplasma del breeder e del pre-breeder (Rasheed *et al.*, 2016).

Lo sviluppo dei genomi di riferimento e dei marcatori molecolari disponibili in elevata densità permettono di leggere il genoma e l'organizzazione della diversità genetica con una lente ad una risoluzione senza precedenti.

- La comprensione dell'organizzazione in 'blocchi di linkage' della diversità genetica delle popolazioni, e la tracciatura della 'identità per discendenza' di questi blocchi dai fondatori, donatori di alleli utili ai materiali di breeding e varietà coltivate permette una **gestione 'informata' dei programmi ('informed breeding')** dalla pianificazione degli incroci alla pre-selezione molecolare.

Queste osservazioni permettono a Peleman & van der Voort (2003), ai vertici della compagnia di breeding genomico KeyGene, di lanciare il concetto del '**breeding by design**'. Secondo il modello di Peleman, il '**Breeding by Design**' (Fig. 1.10) si basa su tre pilastri tecnologici:

- 1. mappatura genetica precisa:** identificazione della posizione esatta dei loci e geni che controllano i tratti desiderati (sui genomi di riferimento, ed oggi dei pangeneri);
- 2. aplotipizzazione cromosomica ad alta risoluzione:** analisi dettagliata delle varianti genetiche (alleli) presenti in diverse linee. Ciò rende possibile la tracciatura molecolare degli alleli utili, attraverso la discendenza (concetto della 'identity by descent') nelle popolazioni di breeding;
- 3. fenotipizzazione estesa ed accurata, insieme alla riduzione dei tempi del breeding:** valutazione accurata delle caratteristiche fisiche e produttive della pianta per collegarle ('associarle') ai marcatori genetici, anche utilizzando le innovazioni tecnologiche come la fenomica e lo 'speed-breeding';
- 4. realizzazione dell'obiettivo di costruzione di nuovi genotipi** partendo dalla definizione dell'ideotipo target come combinazione ottimale di loci e alleli portati da parentali donatori noti. Segue la definizione di un piano di incroci e selezione molecolare atti a raggiungere più velocemente possibile genotipi portatori delle combinazioni multiple degli aplotipi utili ('staking' o 'pyramiding').

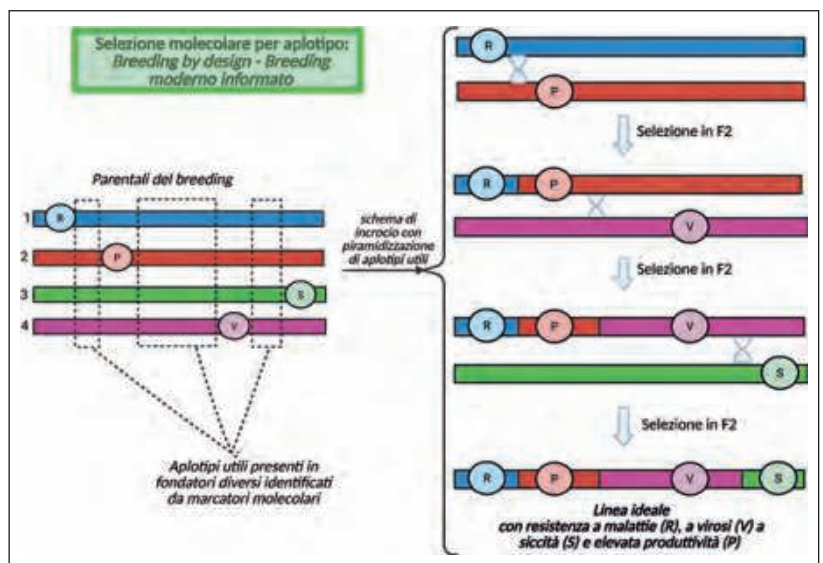


Figura 1.10 | Nel *Breeding by Design* si svolgono cicli successivi di incrocio, rein-crocio e autofecondazione pianificati sulla base del genotipo parentale. L'obiettivo è piramidizzare (accumulare) in una linea ideale gli alleli favorevoli ai diversi loci.

CARATTERISTICHE DEL PROCESSO

- **Approccio scientifico:** questo metodo si innesta ottimamente nel breeding tradizionale (basato su incroci e selezioni visive ed empiriche). Utilizza marcatori e bioinformatica per individuare i parentali migliori e combinare gli alleli favorevoli in modo mirato.
- **Efficienza:** consente di velocizzare ed ottimizzare il processo che porta all'ottenimento della varietà (*'time-to-market'*, stimato tra i 4-5 anni contro gli 8-10 del metodo tradizionale).
- **Alternativa agli OGM:** questi metodi ottimizzano l'utilizzo della diversità genetica nativa, offrendo un potenziale di miglioramento simile a quello delle biotecnologie transgeniche, ma con costi inferiori e l'accettazione pubblica, poiché sfrutta la variabilità genetica naturale. Questo getterà i prodromi per la successiva introduzione delle Tecniche di Evoluzione Assistita (TEA).
- Questo tipo di breeding viene denominato *'informed breeding'*, o *'breeding v4.0'*, non più *breeding empirico* quindi. Necessita però di nuovi breeder con un adeguato training, mentalità e capacità di gestione in particolare guarda alle nuove generazioni molto più a loro agio nell'uso degli strumenti informatici.

IL PASSAGGIO DALLA MAS E BREEDING-BY-DESIGN ALLA SELEZIONE GENOMICA

In parallelo a questo notevole progresso basato sulle tecnologie molecolari che avviene a partire degli anni 2000, diventa però sempre più evidente **un nuovo limite applicativo** delle tecniche di selezione molecolari basate su singoli loci (MAS) o anche su multi-loci (*Breeding by Design*).

Da un punto di vista scientifico (genetica agraria e genomica) risulta evidente che la mappatura dei loci e dei QTL è vista come azione prodromica e necessaria alla comprensione e quindi al dominio del controllo genetico dei caratteri, quindi l'identificazione dei singoli loci è scientificamente sempre auspicabile, come aspetto preliminare e necessario all'isolamento, o 'clonaggio', dei geni e quindi alla genomica funzionale e al successivo utilizzo o manipolazione.

Da un punto di vista applicativo risulta invece progressivamente sempre più chiaro che, specialmente per **i caratteri poligenici complessi di maggior interesse agrario** come la produzione, o la resilienza agli stress abiotici e biotici complessi, **l'approccio basato sulla selezione per singoli loci ha limiti intrinseci** che permettono di avvicinarsi solo in parte alla predizione della performance fenotipica finale delle progenie segreganti.

Questo problema viene nominato in genetica come il **'problema della missing-heritability'**, letteralmente dall'inglese il **problema dell'eredità perduta, o mancante**. Un **fenotipo altamente quantitativo** come la capacità di produrre latte o carne, o la capacità di produrre granella, ha certamente una base genetica ereditabile, e quindi potenzialmente selezionabile, ma questa base genetica è molto ampia. **Ad esempio, i loci che influenzano la capacità produttiva di un genotipo possono essere migliaia. Per i caratteri complessi, la sommatoria dei singoli effetti dei loci identificati tramite la mappatura genetica spesso non raggiunge nemmeno il 50% del totale della variazione fenotipica**, o poco più, ed in molti casi anche molto meno. **Questo limita fortemente l'impatto della MAS.**

Dalla genetica quantitativa, soprattutto umana ed animale, appare progressivamente chiaro che il problema della *missing-heritability* è dovuto in gran parte dalla presenza e al contemporaneo effetto, negli individui segreganti e nelle popolazioni, **di un numero elevatissimo (centinaia e migliaia) di loci e varianti naturali ad altrettanti geni o elementi significativi del genoma che hanno un effetto fenotipico sin-**

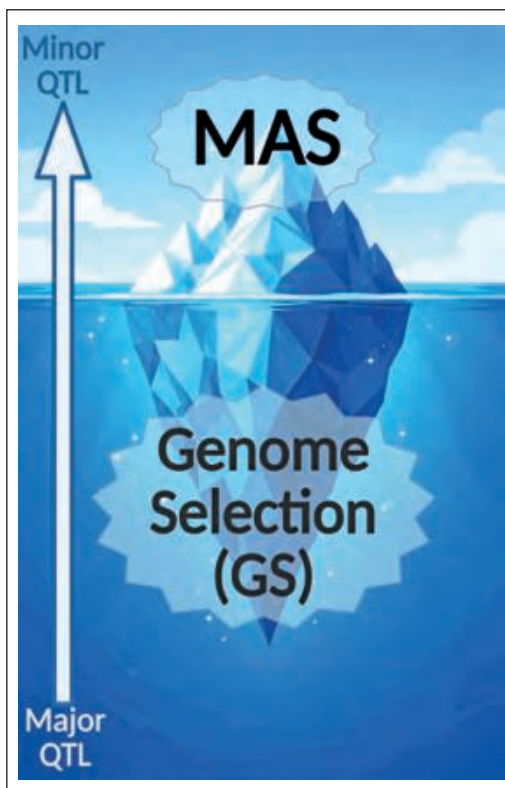


Figura 1.11 | Mentre la selezione assistita da marcatori (MAS) si focalizza su loci e varianti genetiche specifiche e facilmente identificabili, la Selezione Genomica (GS) “guarda sotto la superficie”, analizzando l'effetto combinato dell'intero profilo genomico, costituito da migliaia di migliaia di marcatori distribuiti su tutto il genoma. Questo metodo permette di prevedere le performance della pianta anche per tratti influenzati da moltissimi geni con effetti minimi, che la MAS classica non riuscirebbe a rilevare.

golo molto piccolo, anche inferiore all' 1% del totale. Inoltre, subentrano anche difficoltà nell'interpretazione delle reti di interazione gene x gene e genotipo x ambiente. **Ne consegue che tutti questi loci non solo singolarmente selezionabili tramite MAS** (Fig. 1.11).

La risposta a questo problema risiede proprio negli stessi marcatori molecolari che via via sono stati sviluppati dalla ricerca scientifica ed applicata sotto la spinta della mappatura genetica.

Le mappe molecolari con gli anni sono diventate via via più dense e sofisticate. Ogni genotipo appare oggi composto da un proprio 'unicum molecolare', un profilo unico costituito da migliaia di varianti molecolari mappati, organizzati in aplotipi ereditati dai fondatori.

Nuovi metodi e algoritmi sempre più avanzati e complessi, oggi basati sulla intelligenza artificiale, vengono messi a punto per predire il fenotipo (incluso la performance) di un individuo sulla base del proprio profilo molecolare nella sua interezza, non più dei singoli QTL. Questi nuovi approcci sono raggruppati con il termine di 'Selezione Genomica'.

Nasce quindi la **selezione genomica, o 'genomic selection, GS'** (Lande & Thompson, 1990; Meuwissen *et al.*, 2001) e non più *selezione genetica*.

Le applicazioni della selezione genomica sono state recentemente studiate per il frumento duro in Italia soprattutto dal gruppo della cerealicoltura di Foggia, dal CNR di Milano e dal CREA di Genomica e Bioinformatica (si veda il seguito).

Dal DNA al Fenotipo (Genotype-to-Phenotype, 'G2P'), la strada passa attraverso l'identificazione dei varianti molecolari del DNA degli individui di una popolazione, organizzati in 'aplotipi', che influenzano l'espressione di un carattere di interesse agrario (Fig. 1.12; 1.13).

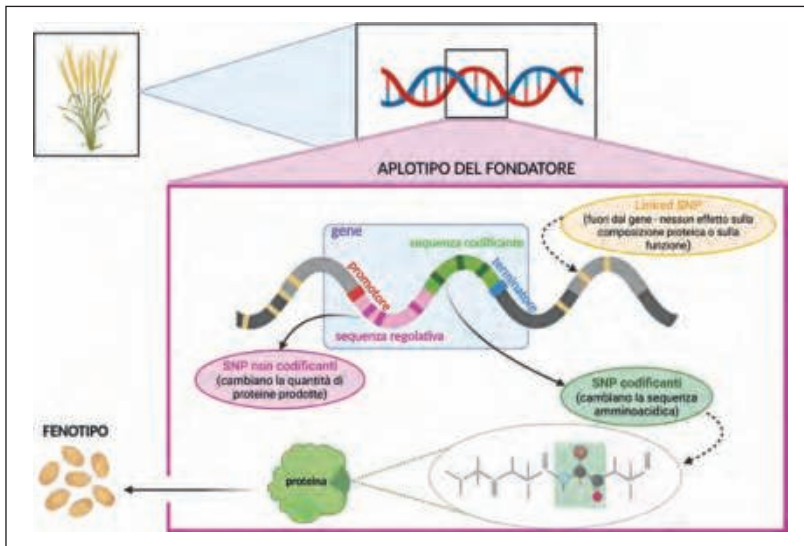


Figura 1.12 | Lo schema illustra diverse varianti molecolari concatenate ('aplotipi') in un locus genetico che influenza un fenotipo. Queste varianti possono interessare diverse regioni geniche e intergeniche. gli SNP non codificanti nelle sequenze regolatrici (promotore) possono variare la quantità di proteine prodotte, mentre gli SNP codificanti nella sequenza genica alterano direttamente la sequenza amminoacidica della proteina.

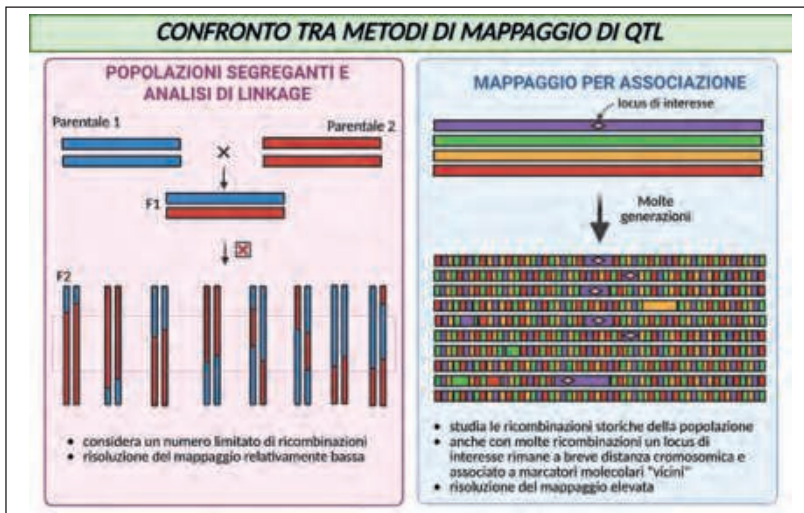


Figura 1.13 | Confronto tra il metodo di mappatura di QTL basato su progenie segreganti (sinistra) e il metodo di mappatura per associazione (destra). Le analisi linkage utilizzano popolazioni artificiali ed un numero limitato di ricombinazioni, mentre il mappaggio per associazione permette di analizzare le ricombinazioni di una intera popolazione naturale o collezione di germoplasma.

RECENTI AVANZAMENTI DELLA GENOMICA E DELLE BIOTECNOLOGIE E RELATIVE OPPORTUNITÀ

Le scienze genomiche e biotecnologiche hanno registrato negli ultimi anni avanzamenti ad un ritmo mai osservato prima. **Le tecniche di sequenziamento dei genomi e dei trascrittomi** sono evolute molto rapidamente, insieme alle **tecniche -omiche come la metabolomica, la proteomica e la fenomica**. Le prime hanno raggiunto una certa maturità soprattutto in termini di i) capacità di sequenziamento e modularità, ii) notevole lunghezza dei segmenti di DNA sequenziati e trascritti completi (*full-transcripts*), iii) accuratezza del sequenziamento.

La **disponibilità di almeno un genoma di riferimento correttamente assemblato ed annotato** (descritto) **nel suo spazio/contenuto genico e in elementi trasponibili** è uno dei requisiti fondamentali per permettere alla genetica e alla genomica funzionale di isolare e studiare i loci genetici compresi i QTL e di studiare il loro impatto sul fenotipo, a livello cellulare, di organo/tessuto e di organismo.

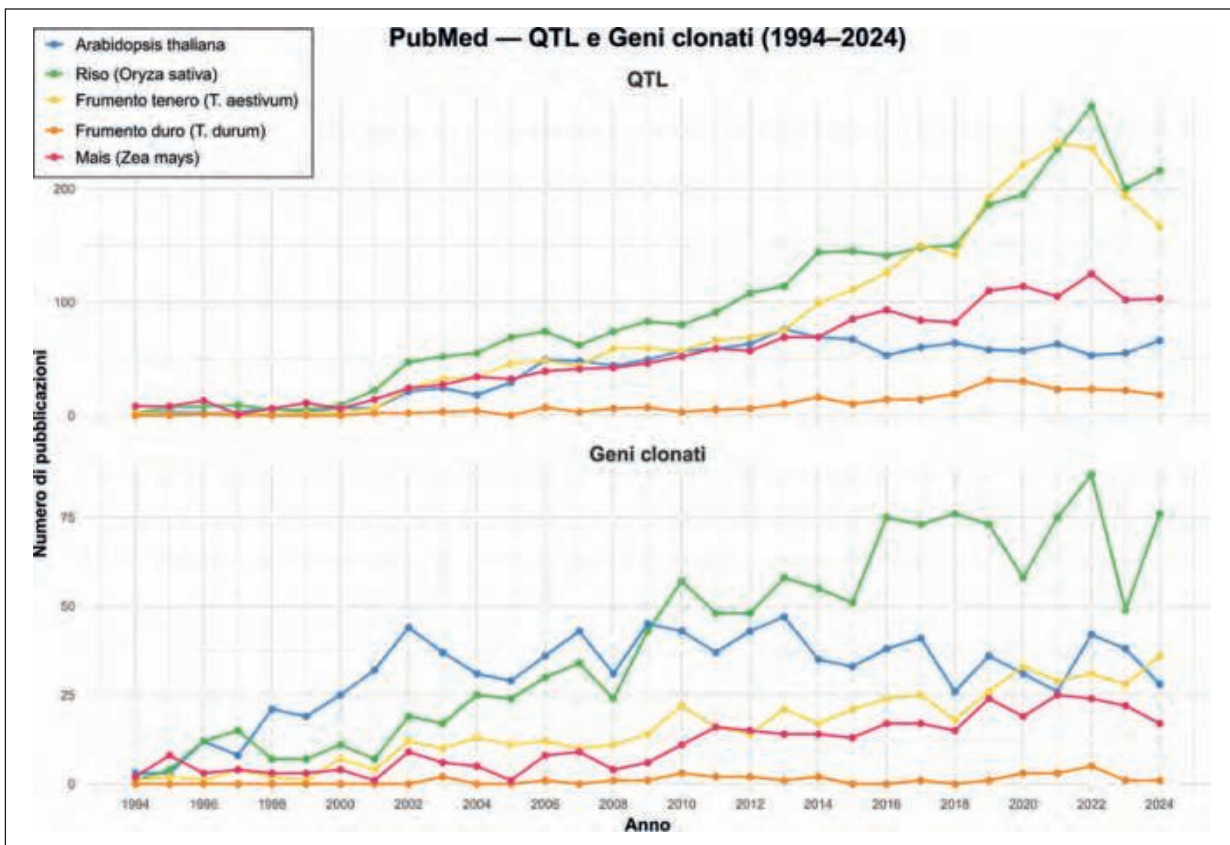


Figura 1.14 | Andamento delle pubblicazioni PubMed su QTL e geni clonati in cinque specie modello e coltivate (1994-2024). Il pannello superiore mostra l'evoluzione annuale del numero di studi sui QTL, mentre il pannello inferiore riporta le pubblicazioni sui geni clonati per *Arabidopsis thaliana*, riso (*Oryza sativa*), frumento tenero (*T. aestivum*), frumento duro (*T. durum*) e mais (*Zea mays*).

Storicamente, il numero di loci genetici isolati ai quali è stata assegnata una funzione cresce inevitabilmente con la disponibilità del genoma di riferimento (Fig. 1.14).

Come si vede dalla figura 1.14, il frumento inteso come genere *Triticum* è stata una delle ultime specie a beneficiare dello sviluppo dei genomi di riferimento, vista la grande dimensione e complessità del genoma di questo genere.

Dopo una impresa durata ben 13 anni coordinata a livello internazionale dall' *International Wheat Genome Sequencing Consortium* (IWGSC) solo grazie allo sviluppo di metodi innovativi di sequenziamento di terza generazione è stato possibile ottenere nel **2018** e poi nel **2019 la sequenza assemblata a livello di qualità 'gold' delle varietà di frumento tenero 'Chinese Spring' e di frumento duro 'Svevo'**.

Una volta però che i genomi si sono resi disponibili, anche in frumento gli studi sia di base che applicativi hanno subito un rapido aumento.

Come noto, I frumenti sono allopoliploidi, in particolare sono rispettivamente un allopoliploide segmentale tetraploide nel caso del frumento duro (genomi BBAA) ed esaploide nel caso del frumento tenero (genomi DDBBAA). Poiché portano quindi non una singola, ma almeno due o tre serie cromosomiche 'omeologhe', i frumenti hanno caratteristiche di adattamento e di interesse adattativo ed agrario superiori rispetto ai frumenti diploidi ed uniche. Grazie alla **duplicazione naturale dei genomi dei frumenti**, questi hanno potuto evolvere in condizioni di minore pressione selettiva naturale, e di estrinsecare proprietà peculiari utili sia per la sopravvivenza in natura che per l'uomo, quali:

- 1. la presenza agli stessi geni, di due o tre copie omeologhe e relativi alleli, consente ai frumenti di esprimere adattamenti all'ambiente e fenotipi più quantitativi, continui,** di quanto non sia possibile per una specie diploide. La poliploidia permette il manifestarsi di pressoché infinite serie e combinazioni alleliche e fenotipiche, e complesse interazioni geniche e tra geni ed ambiente;
- 2. la ridondanza delle serie cromosomiche ha permesso ai genomi dei frumenti di accumulare un numero molto più elevato di mutazioni, in quantità superiore a quanto non sia possibile per una specie diploide, e quindi sviluppare nuove funzioni.** La poliploidia permette infatti alla selezione naturale di esercitare una pressione selettiva più 'rilassata', causata dalla duplicazione dei genomi e conseguente effetto tampone o 'buffering' verso le mutazioni. Ciò consente fenomeni unici di 'subfunzionalizzazione' o 'neofunzionalizzazione' dei geni delle copie omeologhe ridondanti;
- 3. la 'fissazione' in poliploidi autogami di combinazioni alleliche favorevoli alle varie serie omeologhe,** spesso evidenziando maggiore vigoria, rusticità e dimensioni delle cariossidi (fenomeno della 'eterosi fissata').

Purtroppo, questi vantaggi evolutivi ed adattativi dei frumenti vanno di pari passo con il grado di complessità dei loro genomi.

I genomi che compongono il frumento sono stati anticamente colonizzati da famiglie di retrotrasposoni (simili ai retro-virus) che hanno portato ognuno di questi genomi diploidi a raggiungere dimensioni eccezionali di ca. 70 milioni di basi nucleotidiche (70 Gb).

La porzione ripetuta del genoma di frumento ne rappresenta circa l'85% e rende l'operazione di assemblaggio del genoma particolarmente complessa. Inoltre, il significato funzionale di queste regioni è ancora in gran parte ignoto.

Le *mappe genetiche consensus* prima ed i *genomi di riferimento* poi consentono di:

- 1. ancorare i marcatori molecolari a sequenze note del genoma** (*contigs* e *scaffolds*), anche in relazione alla struttura fisica dei cromosomi (regioni distali eucromatiche e regioni peri-centromeriche eterocromatiche);
- 2. mappare e localizzare precisamente i loci** e le varianti genetiche nel genoma;
- 3. fornire una base comune per comparare risultati di studi genetici** diversi

Tabella 1.1 - Confronto tra caratteristiche genomiche di diverse specie modello e coltivate.

	<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>Brachypodium distachyon</i>	Riso	Mais	Sorgo	Orzo	<i>Triticum monococcum</i>	<i>Triticum turgidum</i>	<i>Triticum aestivum</i>
Numero cromosomico	5	5	12	10	10	7	7	14	21
Dimensione del genoma (Mb e Gb)	135 Mb	271 Mb	373 Mb	2,2 Gb	709 Mb	4,2 Gb	5,2 Gb	10 Gb	16 Gb
Spazio genico (numero di geni)	27.636	25.535	35.000	39.756	34.118	35.826	53.168	66.559	108.639
Spazio genico, (% del genoma)	50%	35%	26%	8%	16%	4%	3%	3.1%	3.4%
Elementi ripetuti, (% del genoma)	20%	21%	30%	63%	55%	80%	78%	82%	85%

Tabella 1.2 - Andamento dei costi relativi al sequenziamento genomico.

Assemblaggio del genoma di frumento	2014	2017-2019	2025
Tempo richiesto	Anni (solo la porzione espressa del genoma)	Tre anni	Un mese
Risorse necessarie	Inestimabile	300.000 euro	20.000 euro

4. **identificare e mappare i varianti nucleotidici** (come varianti nucleotidiche di sostituzione, SNP e piccoli INDEL) e, più recentemente, i **varianti strutturali** (come variazione del numero di copie di un gene, *copy number variation*, o grandi presenze/assenze).
5. **fornire una struttura genomica per la conduzione delle analisi di struttura genetica di popolazione, identificazione degli aplotipi e blocchi di linkage principali**, effettuare efficacemente la mappatura genetica sia su base linkage che GWAS.

Ad oggi, le tecniche di sequenziamento dei genomi sono evolute molto rapidamente, permettendo di generare ed assemblare genomi 'reference', ad un livello qualitativo cosiddetto 'gold' del costo attuale di poche decine di migliaia di euro, mentre il ri-sequenziamento di genotipi di intere popolazioni è oggi accessibile al costo di poche centinaia di euro per genotipo.

LE RICADUTE SCIENTIFICHE ED APPLICATE DEGLI AVANZAMENTI NELLE TECNICHE GENOMICHE

In ogni caso, gli avanzamenti tecnologici e la maggiore accessibilità in termini di costo hanno fornito le basi ed aperto la strada a successivi studi di:

- **caratterizzazione della diversità genetica nativa**, in particolare collezioni di germoplasma, materiali di *breeding* (Fig. 1.15);
- **metodiche di selezione tramite MAS e selezione genomica**, molto più approfonditi di quanto fosse possibile in passato;
- **annotazione dello spazio genico, comprensione della funzione dei geni, e**

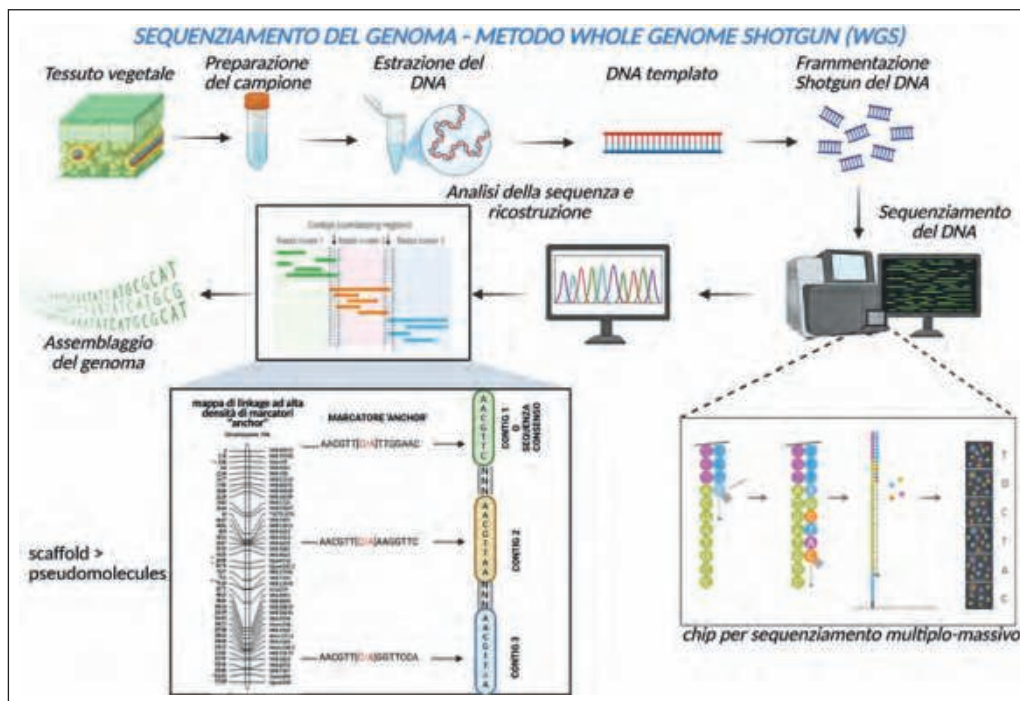


Figura 1.15 | Il processo di sequenziamento dell'intero genoma ("Whole Genome Shotgun") inizia con l'estrazione del DNA da tessuto vegetale, seguito dalla frammentazione casuale della molecola (frammentazione tramite sonicazione). I frammenti vengono sequenziati massivamente in array (chip). La fase finale prevede l'analisi bioinformatica per la ricostruzione di lunghi tratti di sequenze tramite sovrapposizione delle singole sequenze (contigs), e loro ordinamento tramite mappatura di linkage ad alta densità di marcatori ("anchor"). Il processo porta all'assemblaggio del genoma.

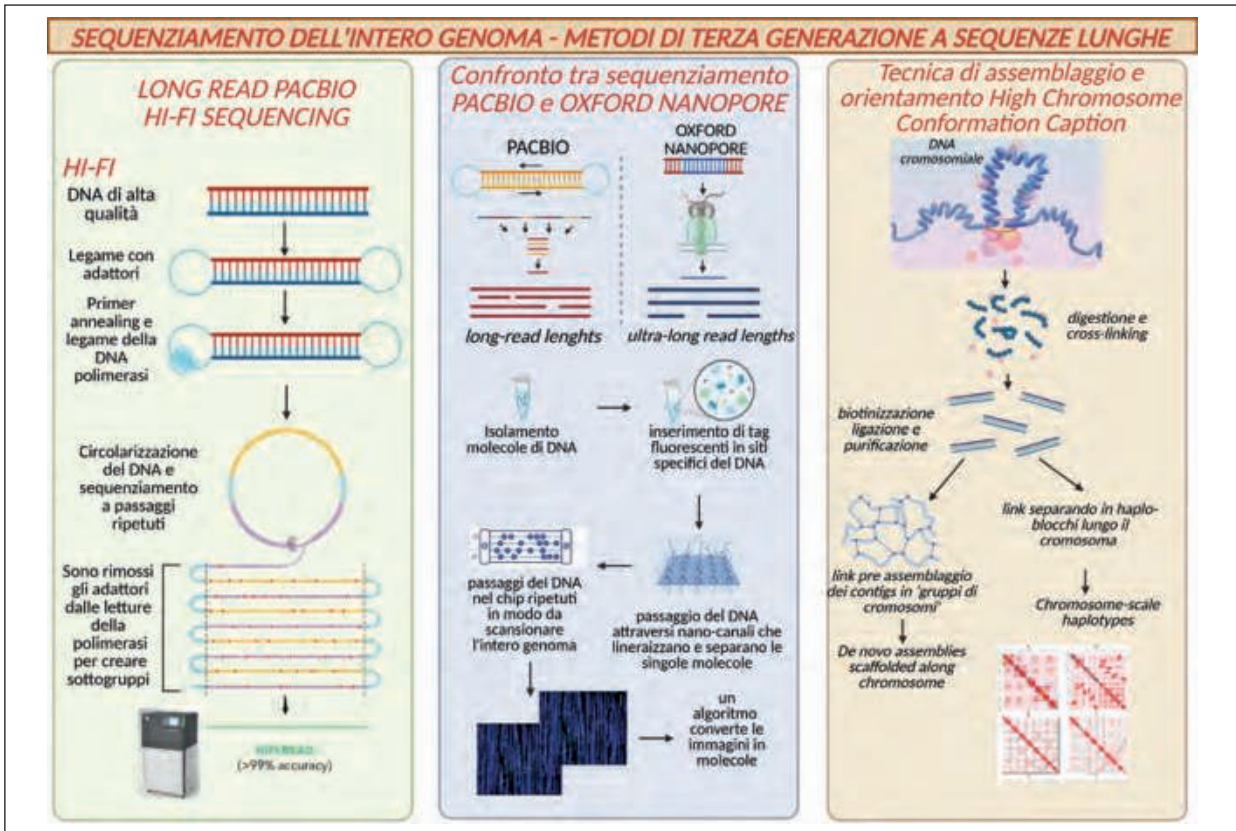


Figura 1.16 | Evoluzione del sequenziamento genomico verso le tecniche di terza generazione che permettono di sequenziare interi tratti molto lunghi di molecole di DNA ('long reads'). Lo schema illustra come le tecnologie PacBio e Oxford Nanopore permettano di superare i limiti del sequenziamento tradizionale, leggendo frammenti di DNA molto estesi. Viene inoltre evidenziato il processo di assemblaggio de novo, dove algoritmi bioinformatici e tecniche di cattura della conformazione cromosomica permettono di ricostruire direttamente la sequenza di interi cromosomi.

quindi generare le conoscenze fondamentali per le applicazioni biotecnologiche, incluso ingegneria genetica ed oggi editing dei geni e dei genomi (tecniche TEA).

Grazie all'impiego delle tecniche di sequenziamento massivo 'long-read' di terza generazione (Fig. 1.16), l'analisi genomica di intere popolazioni prima in *Arabidopsis* e riso, e oggi anche in frumento, ha evidenziato la **presenza di un intero range di varianti molecolari di tipo strutturale** che non era stato possibile esplorare e catalogare prima.

DALLA GENOMICA STRUTTURALE ALLA GENOMICA FUNZIONALE E INTEGRAZIONE DELLE -OMICHE

Oggi la priorità per la ricerca di base si sposta quindi **dalla genomica strutturale alla genomica funzionale, cioè alla parte della genomica che studia il funzionamento dei geni, in particolare come i geni determinano i fenotipi, a livello cellulare, di tessuto, organo ed intero organismo.**

Una parte fondamentale della genomica funzionale riguarda la decifrazione dello sviluppo e della riproduzione degli organismi, la differenziazione di tessuti ed organi in funzione degli stimoli ambientali, le interazioni con il microbioma e gli organismi patogeni, tutti processi biologici complessi.

Tabella 1.3 - Genomi e pan-genomi disponibili per le diverse specie dal 2020 (tratto da Shi *et al.*, 2022; <https://doi.org/10.1016/j.molp.2022.12.009>).

		<i>Arabidopsis</i>	Riso	Mais	Orzo	Frumento tenero	Frumento duro
		Numero dei genomi					
Pangenome	PACBIO	8	47	26	/	/	/
	Nanopore	/	362	/	/	/	/
	Illumina	/	3076	1230	20	33	/
Illumina/ PACBIO	<i>Reference genome</i>	4 (Col-0)	1 (cv. <i>japonica</i>) - 1 indica - 11 (specie selvatiche)	3 (B73) - 26 (<i>multi-reference</i>)	4 (Morex) - 1/orzo selvatico OUH602)	3 (Chinese Spring)	1 (Svevo)

Target principali della genomica funzionale applicata:

- 1. eseguire studi di associazione genotipo-fenotipo** che partendo dalla mappatura tramite linkage basato sulle mappe genetiche e popolazioni biparentali, oggi si estende agli studi di associazione genotipo-fenotipo (*genotype-to-phenotype*, G2P) direttamente in popolazioni, collezioni di germoplasma, frumenti selvatici, panel di varietà e interi programmi di breeding;
- 2. determinare la funzione dei geni e delle altre porzioni di sequenze 'biologicamente significative'**. Oggi che il sequenziamento dei genomi non è un ostacolo, lo sviluppo di tecniche rapide, veloci e precise per individuare la funzione dei geni diventa critico, con particolare riferimento alle '*New Genomic Techniques*' (NGT) quali il gene editing, ma anche le tecniche reporter, per investigare precisamente a livello cellulare, di tessuti/organi l'espressione dei geni, come il 'single cell sequencing' e la 'spatial transcriptomics';
- 3. studiare il funzionamento genico in relazione alle altre componenti del genoma, metaboloma e proteoma, ai fattori ambientali e di management**, in particolare dei geni regolatori della risposta ai fattori ambientali e meccanismi di feed-back e omeostasi tra metaboliti ed ormoni.

A questo scopo, assumono fondamentale importanza: (i) **le tecniche di analisi dell'intero trascrittoma**, sia a livello qualitativo (con tecniche di sequenziamento long-read di terza generazione, Iso-seq) che quantitativo (RNAseq), (ii) **gli studi dinamici di tipo time-course** che analizzano le variazioni dinamiche in frazioni di tempi che intercorrono tra lo stimolo iniziale e la risposta della pianta a vari livelli fino al fenotipo, (iii) la mappatura delle interazioni complesse tra geni, reti neurali, geni regolatori-chiave o *master switch* e geni regolati a valle;

- 4. l'integrazione con le scienze -omiche**, associando variazioni della trascrizione alla traduzione e successive interazioni proteina-proteina, metaboliti e proteina-DNA.

LA RICERCA GENOMICA AVANZATA FINALMENTE SUL CAMPO ANCHE PER IL FRUMENTO DURO

Per quanto riguarda il frumento duro, fino al 2010 la ricerca genetica e genomica è sempre stata trainata dagli avanzamenti condotti a livello internazionale per il frumento tenero, con scarsa comunicazione ed interscambio tra i due ambiti.

Ciò ha portato **il frumento duro da una parte ad essere considerato tra le orphan crops**, cioè nella categoria di specie a ridotta rilevanza economica, il cui *breeding* non può beneficiare di adeguati investimenti ed attenzione nella ricerca genetica di base.

D'altra parte, anche il mondo della **ricerca scientifica ed applicata del frumento**

tenero ha ben poco beneficiato dell'estesa ed utile diversità genetica presente nei frumenti tetraploidi.

La situazione è cambiata a partire dalla istituzione della *Wheat Initiative* (WI) il 15 settembre del 2011, a seguito di un accordo storico tra i Ministeri dell'Agricoltura dei Paesi del G20 per contribuire a contenere i problemi della sicurezza alimentare (*Food Security*) nel mondo.

La WI mira a rafforzare le sinergie tra le comunità di ricerca sul frumento e i programmi di ricerca nazionali e internazionali volti ad aumentare la sicurezza alimentare, il valore nutrizionale e la salubrità, tenendo conto delle esigenze dei sistemi di produzione agricola sostenibili e resilienti.

La WI fornisce un supporto per identificare le priorità strategiche globali della ricerca sul frumento, promuove la comunicazione tra membri, finanziatori e decisori politici globali per raggiungere gli obiettivi di ricerca e sviluppo. Supporta l'accesso globale a informazioni, risorse e tecnologie.

Il *Durum Wheat Genomics and Breeding – Expert Working Group* della WI ha avuto un ruolo trainante nel condensare attorno ad un interesse comune i ricercatori operanti nei Paesi dove il frumento duro è diffuso ed ha una rilevanza economica: il Canada, gli Stati Uniti, Italia, Spagna, Turchia e Nord Africa. **Con il supporto dei centri CGIAR ICARDA e CIMMYT, è stato quindi avviato un programma di ricerca collaborativo internazionale**, a guida principalmente italiana, che ha supportato la ricerca genomica e la valorizzazione del germoplasma.

IL CONTRIBUTO ITALIANO PER LA COORDINAZIONE DELLA RICERCA COLLABORATIVA INTERNAZIONALE SU GENOMICA, CARATTERIZZAZIONE DEL GERMOPLASMA E MIGLIORAMENTO GENETICO

PARTECIPAZIONE ITALIANA ALLA PROGETTAZIONE DEL PRIMO SNP ARRAY DI MARCATORI MOLECOLARI GENICI AD ALTA DENSITÀ IN FRUMENTO

In un primo contributo, l'Italia ha partecipato alla realizzazione del primo array di marcatori molecolari SNP ad alta densità per frumento, nell'ambito del progetto statunitense *Wheat CAP*. Questo strumento innovativo ha sostituito le vecchie mappe genetiche basate su marcatori PCR, consentendo l'accesso e l'uso dei **polimorfismi a singolo nucleotide (SNP)**, più numerosi, distribuiti nel genoma, disegnati sulla porzione espressa (genica) del genoma e rilevati in modo massivo tramite tecnologia Illumina.

Nel 2014, Wang *et al.* hanno pubblicato l'*Infinium iSelect wheat SNP array*, composto da **81.587 marcatori SNP** derivati da geni noti, diventato un riferimento mondiale per mappatura, analisi di popolazioni, fingerprinting varietale, MAS e selezione genomica (1.964 citazioni al 2025). L'Italia, grazie al progetto AGER e alla collaborazione tra Università di Bologna e Udine, ha contribuito con **8.000 sonde SNP identificate direttamente in frumento duro**.

LA MAPPA GENETICA 'CONSENSUS' SPECIFICA PER IL FRUMENTO DURO ED I FRUMENTI TETRAPLOIDI

L'uso dello *SNP array* è stato immediato anche per il frumento duro e frumenti tetraploidi: su proposta del DW-EWG della *Wheat Initiative*, i dati grezzi delle mappe genetiche prodotte da diversi gruppi di ricerca furono condivisi tra i gruppi di ricerca per creare una mappa genetica consenso di riferimento. Questa mappa (Maccaferri *et al.*, 2015) integrava 13 mappe di linkage indipendenti.

Il risultato è stato una **mappa genetica integrata consenso** (Fig. 1.17) dei frumenti tetraploidi molto precisa, composta da 30.144 marcatori e copertura ottimale del genoma, superiore alle singole mappe.

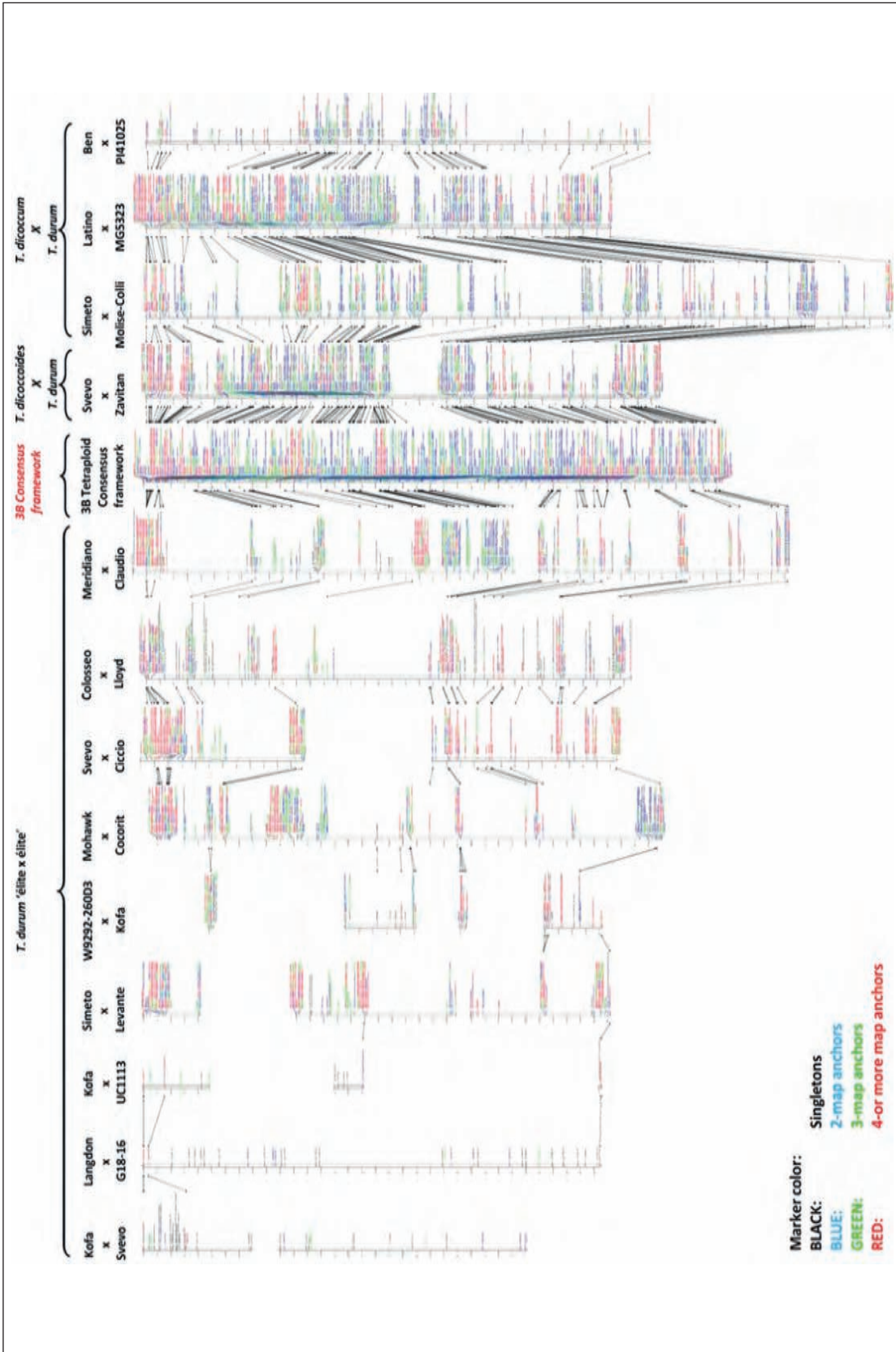


Figura 1.17 | Rappresentazioni di singole mappe di consenso per il cromosoma 3B. La mappa quadro di consenso è al centro. Le mappe elite × elite di grano duro sono riportate a sinistra, mentre le mappe duro × farro coltivato e selvatico sono riportate a destra. I marcatori singoli sono in nero e i marcatori di ancoraggio presenti in due, tre e quattro o più mappe sono riportati rispettivamente in blu, verde e rosso. I connettori uniscono le posizioni dei marcatori altamente informativi. Per maggiore chiarezza, i marcatori singoli unici non sono riportati nella mappa 'tetraploid consensus'. Tratto da Maccaferri *et al.* (2015).

Oltre alla densità un altro aspetto rilevante della mappa era l'uso di marcatori SNP ancorati per omologia di sequenza alla porzione espressa del genoma, cioè direttamente a geni trascritti, aggiungendo un notevole valore aggiunto alla mappa. Tale mappa è ancora oggi utilizzata come riferimento per studi di genetica e genomica applicata.

IL PRIMO GENOMA DI RIFERIMENTO DELLA VARIETÀ ITALIANA SVEVO

Negli stessi anni della realizzazione della mappa di consenso SNP ancorata alle regioni espresse del genoma, si sono intensificati gli sforzi mirati ad ottenere un assemblaggio completo e accurato del genoma del frumento, in particolare del frumento tenero.

Le tecniche di sequenziamento massivo basate su "Illumina short reads" avevano permesso di assemblare i genomi di molte specie coltivate, ma la complessità e l'elevato contenuto di DNA ripetuto dei genomi omeologhi del frumento rendevano proibitivo un assemblaggio corretto.

Grazie ai metodi innovativi sviluppati da NRGene per l'assemblaggio delle sequenze generate con metodo Illumina da short reads, ed alla disponibilità delle nuove mappe consenso furono infine ottenuti in pochi anni e pubblicati in rapida successione i genomi di riferimento del frumento selvatico (Avni *et al.*, 2017), del frumento tenero Chinese Spring (*The International Wheat Genome Sequencing Consortium – IWGSC et al.*, 2018) e del frumento duro Svevo (Maccaferri *et al.*, 2019).

L'ottenimento del genoma 'reference' del frumento duro in particolare ha visto una forte partecipazione italiana con un notevole contributo da parte di CNR, CREA e UNIBO. In questo ambito, per la prima volta il consorzio internazionale collaborativo riunito attorno all' *DW-Expert working group* della WI presenta il genoma del frumento duro 'Svevo' pressoché completo ed annotato del contenuto genico e di trasposoni e retrotrasposoni (Fig. 1.18), ma non solo.

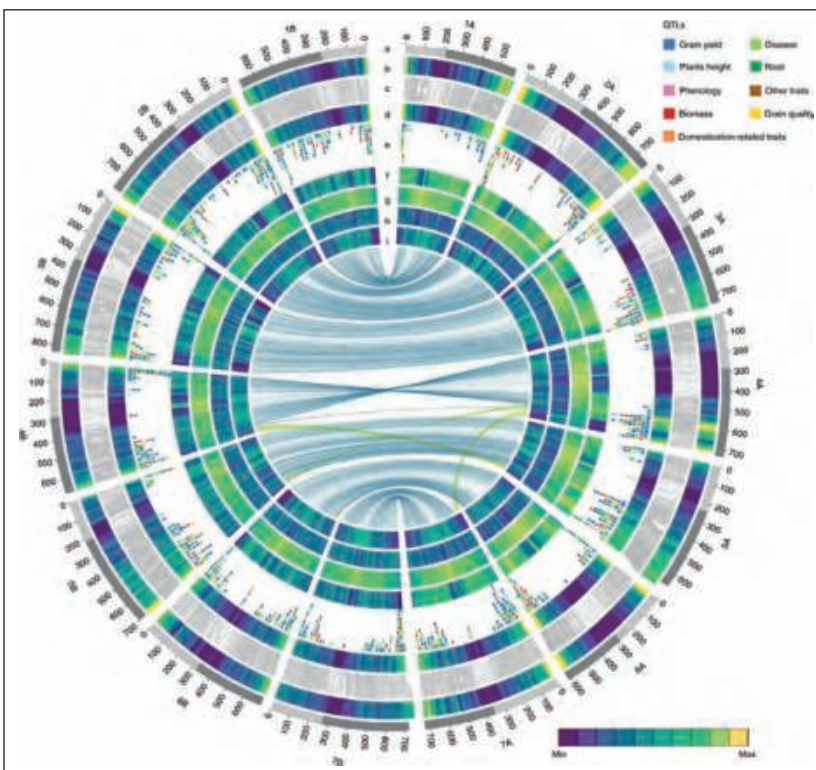


Figura 1.18 | Rappresentazione grafica del genoma di Svevo. Tracce dall'esterno verso l'interno: a, nome e dimensione del cromosoma (tacche da 100 Mb, bracci differenziati in grigio); b, densità dei modelli genici di WEW (0-25 geni/Mb); c, collegamenti tra geni omologhi di WEW e DW; d, densità dei modelli genici di DW (0-22 geni/Mb); e, posizione dei QTL pubblicati; f, frequenze dei k-mer; g, densità degli LTR-retrotrasposoni; h, frequenza dei trasposoni; i, espressione media dei geni calcolata come $\log(\text{FPKM}+1)$ del valore medio tra tutte le condizioni (1,6-8,2); i collegamenti centrali uniscono geni omeologhi tra subgenomi, con collegamenti blu tra cromosomi omeologhi e verdi tra ampie regioni traslocate. Tratto da Maccaferri *et al.* (2019).

Per la prima volta, sul lavoro di Nature Genetics, viene presentata anche una estesa ricerca sulla variabilità genetica e sulla struttura della diversità genetica presente nei frumenti tetraploidi (*Triticum turgidum* ssp.) assemblata in forma di collezione (**Tetraploid Global Collection, TGC**) di materiali genetici ottenuti dalle più importanti banche di germoplasma mondiali.

LA COLLEZIONE TETRAPLOID GLOBAL COLLECTION (TGC)

Le collezioni rappresentative, ampie e diversificate sono una risorsa primaria per analizzare la diversità genetica e supportare il *breeding* attraverso l'identificazione di alleli benefici.

La **Tetraploid Global Collection (GTC)** è una ampia collezione di **frumenti tetraploidi (*Triticum turgidum* ssp.) rappresentativa delle 11 sottospecie e varietà botaniche e delle principali popolazioni e sottopopolazioni** che caratterizzano i frumenti tetraploidi negli areali di origine.

La collezione collaborativa TGC è stata costruita con un approccio 'top-down', partendo dalla conoscenza dall'inventario dei tetraploidi presenti nelle principali Banche di germoplasma mondiali. Analizzando le informazioni di 'passaporto' (origine, anno e luogo di raccolta, caratteristiche morfologiche, foto), sono state selezionate oltre 2.500 accessioni da USDA, IPK, CNR, EIAR e altre banche. Tutte le accessioni sono state purificate con avanzamento per discendenza da singolo seme (SSD) in serra o campo e genotipizzate con il chip *Infinium iSelect wheat SNP array* (90K).

Al termine della analisi dei dati, la TGC risulta composta da 1.856 accessioni non ridondanti e botanicamente e geneticamente correttamente classificate.

I risultati della analisi della diversità genetica presente nella *Tetraploid Global Collection* vengono presentati nel lavoro di sequenziamento del genoma della varietà Svevo come prima applicazione di largo interesse ottenuta sulla base della disponibilità del genoma di riferimento.

Lo studio della diversità genetica rappresentato dalla TGC ha immediatamente messo in luce due evidenze principali, ad un livello che non era noto in precedenza:

- 1. il germoplasma di frumento duro moderno mostra una diversità genetica estremamente ridotta e forte *inbreeding*.** Come evidenziato in figura 1.19, le varietà attuali (in rosso) sono nettamente separate dai frumenti ancestrali (blu e verde) e dalle *landraces* di *Triticum turgidum*, incluso il duro (giallo e arancio). Inoltre, l'ampiezza della diversità genetica nelle varietà moderne è minima rispetto alla diversità complessiva disponibile (Fig. 1.19, pannello b);
- 2. la maggiore riduzione della diversità genetica è in realtà molto antica e strettamente legata alla domesticazione primaria da frumento selvatico a farro domestico,** con un notevole effetto 'collo di bottiglia' riscontrabile in estese porzioni del genoma. Un indice globale di diversità genetica (DI, *Diversity Index*) è stato calcolato utilizzando le informazioni dello SNP array separatamente per i quattro grandi gruppi dei frumenti tetraploidi: i) frumento o farro selvatico, ii) frumento vestito domestico o farro, iii) *Triticum turgidum landraces*, iv) frumento duro coltivato moderno, e mappato sul genoma di Svevo.

I risultati sono riportati dalla figura 1.20, che rappresenta un plot del *diversity index* per i quattro grandi gruppi di germoplasma rappresentati in cerchi concentrici.

Il plot mostra che i frumenti selvatici (plot esterno in azzurro) presentano una diversità genetica elevata e uniforme, mentre già la domesticazione primaria a farro domestico ha causato una drastica riduzione della diversità genetica, soprattutto nelle regioni centromeriche dei cromosomi 2A, 3A, 4A, 6A, 4B, 5B e 6B, dove un singolo aplotipo è quasi fissato. Questa perdita di diversità, originata da eventi di

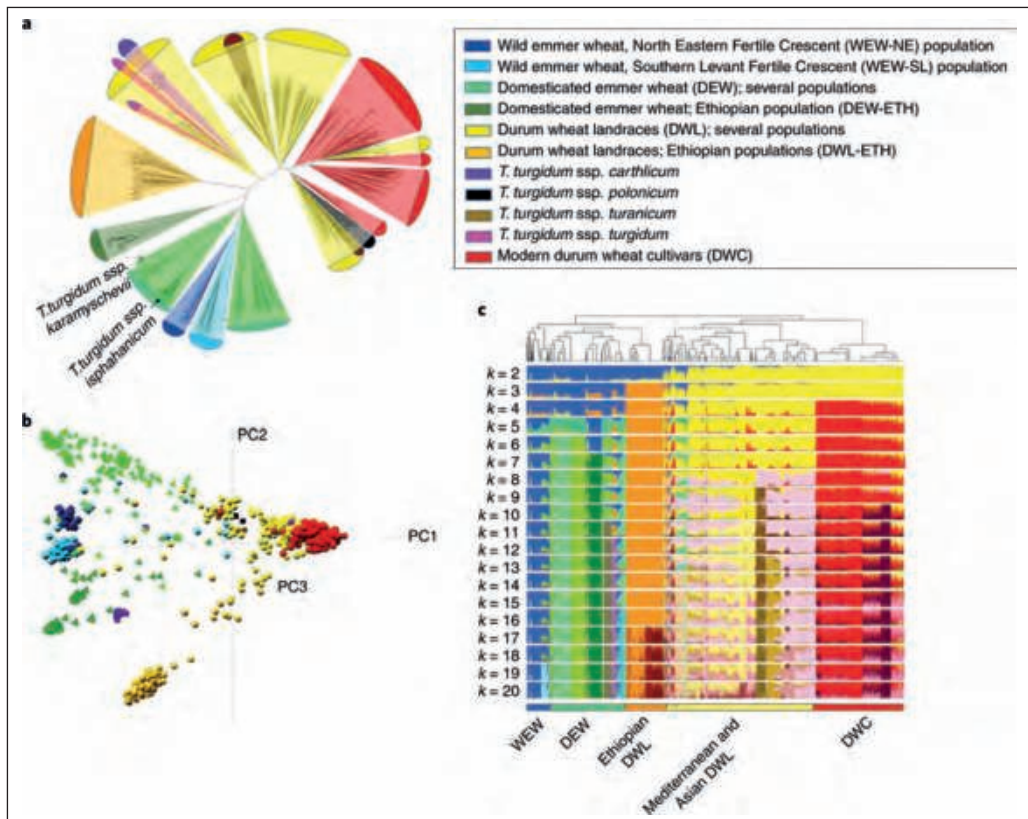


Figura 1.19 | Filogenesi e struttura di popolazione dei frumenti tetraploidi. a) Neighbor joining tree ottenuto dalle distanze genetiche di Nei calcolate su 1.856 accessioni della *Global Tetraploid Wheat Collection* utilizzando 5.775 SNP genome-wide filtrati per *linkage disequilibrium* ($r^2 = 0,5$); la corrispondenza tra i rami e i principali taxa o popolazioni di frumento tetraploide, definita tramite ADMIXTURE e altre analisi di struttura, è indicata con codici colore, mentre *T. turgidum* ssp. *karamychevii* e ssp. *isphahanicum* sono segnalati direttamente; la significatività è stata valutata con 1.000 bootstrap; b) grafico PCA della collezione globale basato su distanze genome-wide derivate dagli SNP filtrati per LD; c, risultati dell'analisi ADMIXTURE sulla stessa collezione con k variabile da 2 a 20. Tratto da Maccaferri *et al.* (2019).

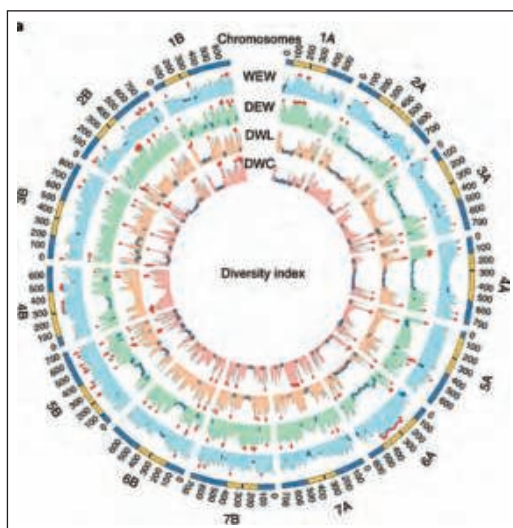


Figura 1.20 | Rappresentazione circolare dei cromosomi del genoma A e B, con i profili dell'indice di diversità (π) mostrati per quattro gruppi: WEW (farro selvatico, *wild emmer*), DEW (farro domestico, *domesticated emmer*), DWL (*durum landraces*) e DWC (*durum cultivars*). Ogni anello riporta la variazione della diversità lungo i cromosomi, evidenziando regioni di alta e bassa variabilità genetica. I picchi indicano aree di maggiore diversità, mentre i cali corrispondono a regioni soggette a selezione o riduzione della variabilità durante i processi di domesticazione e miglioramento genetico. Tratto da Maccaferri *et al.* (2019).

domesticazione relativamente rari circa 8-10.000 anni fa nella Mezzaluna Fertile, non è stata recuperata nei successivi processi di domesticazione e differenziazione. Al contrario, **con la domesticazione secondaria da farro a frumento *T. turgidum* e poi a frumento duro moderno si sono aggiunti ulteriori colli di bottiglia**, meno estesi ma più numerosi, che hanno progressivamente ridotto e fissato la variabilità genetica fino al germoplasma moderno.

Appare quindi chiaro che **la perdita di diversità genetica nei materiali coltivati ha radici antiche**, legate alle dinamiche stesse della domesticazione, come evento relativamente puntiforme e raro, avvenuto circa 8-10.000 anni fa nell'areale della Mezzaluna Fertile.

Successivamente ed attraverso gli eventi di domesticazione secondaria e di differenziazione, questi eventi di riduzione della diversità genetica non sono stati recuperati, sono stati invece mantenuti fino al germoplasma moderno, ed anzi **si sono via via aggiunti ulteriori eventi di riduzione della diversità genetica, meno estesi ma più numerosi** portando ad una progressiva riduzione e fissazione della diversità genetica.

LA COLLEZIONE GLOBAL DURUM PANEL (GDP) ED IL GLOBAL DURUM GENETIC RESOURCES (GDGR)

L'Expert working Group dedicato al frumento duro nell'ambito di *Wheat Initiative* ha promosso e realizzato, insieme alla *Tetraploid Global Collection*, un *Global Durum Wheat Panel* (GDP) comprendente 1.011 genotipi che rappresenta la gran parte della diversità genetica utilizzata dai breeders del frumento duro nel mondo (Fig. 1.21).

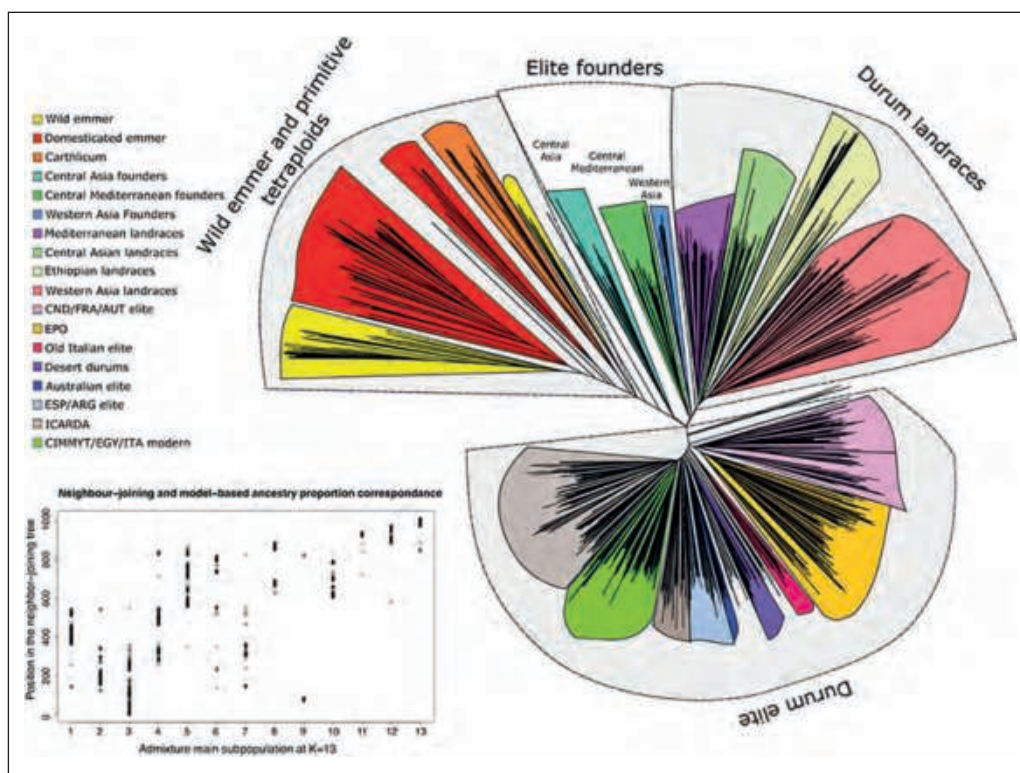


Figura 1.21 | Rappresentazione della diversità genetica del *Global Durum Panel* (GDP) con la separazione tra forme primitive, landraces e varietà moderne, i diversi colori identificano i vari gruppi compresa la separazione tra i diversi breeding pool del breeding moderno. Tratto da Mazzucotelli *et al.* (2020).

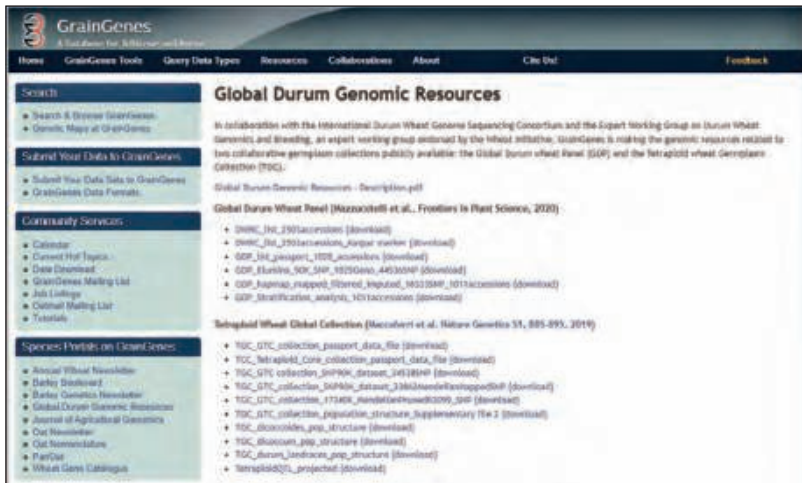


Figura 1.22 | Interfaccia di *GrainGenes* relativa alla pagina delle collezioni collaborative TGC e GDP, denominate collettivamente GDGR.

Il GDP, a differenza del TGC, è stato realizzato con un approccio ‘bottom-up’, cioè richiedendo ai breeder di frumento duro di tutto il mondo di contribuire volontariamente materiali. Il GDP è infatti costituito da un’ampia rappresentanza di varietà moderne e landraces di *Triticum turgidum* ssp. *durum*, insieme a una selezione di farro e grani tetraploidi primitivi per massimizzare la diversità. Le accessioni del GDP sono state genotipizzate utilizzando l’array SNP iSelect 90K. La disponibilità pubblica dei semi e la caratterizzazione genetica approfondita del GDP e del TGC rendono queste collezioni una risorsa unica e ideale per identificare e mappare la diversità genetica utile nei loci di interesse per qualsiasi programma di selezione.

Le due collezioni TGC e GDP sono state armonizzate sulla base dello strumento molecolare SNP array e sono riunite sotto la denominazione di *Global Durum Genetic Resource, GDGR* i cui dati genotipici sono disponibili sul repository *GrainGenes* https://graingenes.org/GG3/global_durum_genomic_resources) (Fig. 1.22).

L'ANALISI META-QTL PER PRIORITIZZARE E MAPPARE PIÙ PRECISAMENTE I LOCI PER I CARATTERI QUANTITATIVI ('QTL')

L’analisi Meta-QTL (MQTL) è oggi uno strumento chiave per aumentare affidabilità e precisione nell’identificazione dei loci associati ai caratteri quantitativi (QTL), alla base di tratti agronomici complessi come resa, tolleranza agli stress e qualità tecnologica. Questi caratteri sono controllati da molti geni con effetti piccoli e influenzati da ambiente e background genetico, rendendo difficile l’uso diretto dei QTL dei singoli studi, spesso con intervalli di confidenza ampi e variabili tra popolazioni. L’approccio MQTL integra i risultati di numerosi studi indipendenti, fornendo una mappa più solida e condivisa dell’architettura genetica dei caratteri quantitativi.

Il principio alla base dell’analisi Meta-QTL consiste nell’integrazione di dataset provenienti da esperimenti di mappatura condotti in differenti contesti genetici e ambientali, allo scopo di individuare posizioni di consenso per i QTL lungo il genoma.

Attraverso procedure statistiche e bioinformatiche, i QTL provenienti da studi diversi vengono proiettati su una mappa genetica o meglio sul genoma di riferimento, generando MQTL con intervalli di confidenza molto più ridotti rispetto ai QTL originali. Questo aumenta la precisione della mappatura e l’affidabilità biologica, poiché i MQTL rappresentano regioni confermate in più popolazioni e condizioni ambientali. Di conseguenza, i MQTL sono loci stabili e robusti, ideali per la selezione assistita da marcatori (MAS).

Un punto di forza dell'analisi MQTL è la capacità di individuare regioni genomiche pleiotropiche, cioè "hotspot" che ospitano QTL associati a più caratteri (QTL clusters), probabilmente regolati da geni chiave. Questi cluster permettono di comprendere le relazioni tra tratti complessi e di valutare sinergie o compromessi. Dal punto di vista applicativo, MQTL pleiotropici consentono di migliorare simultaneamente più caratteri, aumentando l'efficienza dei programmi di breeding. Nel frumento, ciò è cruciale per combinare produttività, qualità della granella e resistenza agli stress biotici e abiotici. Nel frumento tenero, l'analisi MQTL è stata ampiamente applicata a caratteri chiave come architettura radicale, adattamento a siccità e calore, resistenza alla fusariosi e tratti della cariosside. L'integrazione di decine di studi ha permesso di individuare regioni genomiche affidabili, riducendo drasticamente i loci prioritari per studi funzionali e breeding.

Nel frumento duro, le applicazioni sono state inizialmente limitate, ma negli ultimi anni l'interesse è cresciuto: studi recenti hanno identificato MQTL per qualità, tolleranza agli stress e tratti agronomici (fenologia, biomassa, resa). L'analisi integrata di circa vent'anni di dati ha fornito una visione complessiva dell'architettura genetica, superando la frammentazione tipica degli studi tradizionali e offrendo basi solide per la selezione mirata (lavori riportati in Appendice 1).

La riduzione degli intervalli di confidenza nell'analisi MQTL facilita l'identificazione di geni candidati e l'integrazione con dati omici, permettendo di passare dalla semplice associazione statistica alla comprensione dei meccanismi molecolari alla base dei caratteri quantitativi.

In sintesi, l'analisi Meta-QTL è un ponte strategico tra ricerca genetica e breeding, integrando dati per identificare regioni genomiche stabili e pleiotropiche, ridurre l'incertezza e supportare lo sviluppo di varietà di frumento più produttive, resilienti e sostenibili.

LE RISORSE TILLING PER LA GENETICA INVERSA ('REVERSE GENETICS') IN FRUMENTO DURO

La mutagenesi indotta è una strategia efficace per ampliare la variabilità genetica del frumento, superando i limiti della ridotta diversità delle popolazioni coltivate e della disponibilità di nuovi alleli funzionali.

A differenza dell'approccio tradizionale basato su incroci e selezione, l'uso controllato di agenti mutageni fisici o chimici, come l'EMS, genera mutazioni puntiformi casuali (prevalentemente transizioni G/C → A/T), **aumenta la diversità allelica** e le **opportunità di miglioramento agronomico**, qualitativo e nutrizionale. L'interesse per questa tecnica è cresciuto grazie alle tecnologie molecolari ad alta processività e alla necessità di alternative alla transgenesi: la mutagenesi non introduce DNA esogeno, riproduce meccanismi naturali accelerati e le varietà ottenute sono accettate nei programmi convenzionali, senza le restrizioni normative degli OGM.

Nel frumento, la mutagenesi indotta è particolarmente rilevante per la complessità del genoma poliploide, dove la presenza di copie omoeologhe maschera gli effetti delle mutazioni su singoli geni, limitando gli approcci classici. La possibilità di generare mutazioni per perdita di funzione ('loss of function') in più omoeologhi e combinarle tramite incroci tradizionali rende la mutagenesi uno strumento potente, soprattutto se integrata con strategie di genetica inversa, per svelare funzioni geniche e sviluppare nuove varianti utili al breeding.

La tecnica TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) (Fig. 1.23) **combina mutagenesi chimica e analisi molecolari per individuare mutazioni puntiformi in geni specifici**, partendo dal gene per risalire al fenotipo. È utile sia per lo studio funzionale dei geni sia per creare nuove varianti alleliche per il breeding. Nel frumento duro (tetraploide) il TILLING è particolarmente vantaggioso rispetto al fru-

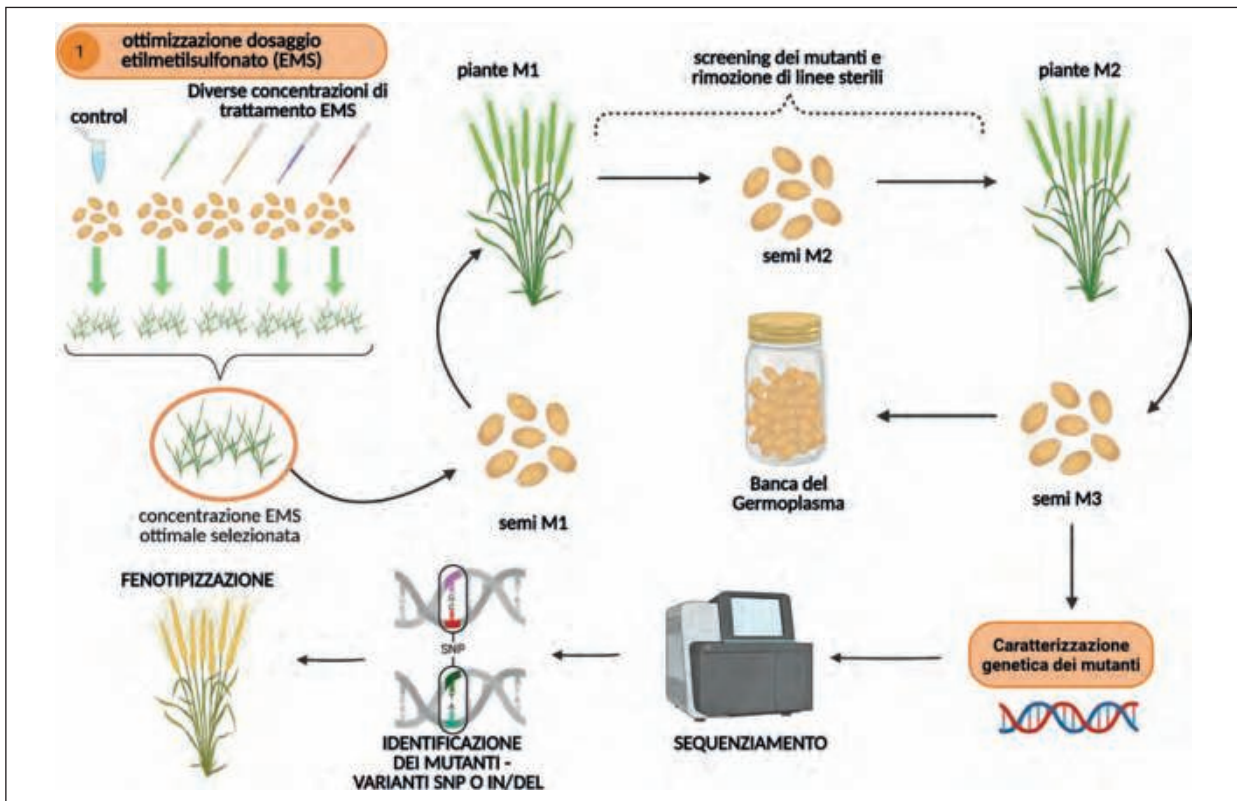


Figura 1.23 | Schema della tecnica TILLING: mutagenizzazione dei semi (M0) con agenti chimici (es. EMS), ottenimento delle generazioni M1-M4, estrazione del DNA da piante M2, identificazione delle mutazioni mediante screening molecolare e sequenziamento e successiva caratterizzazione fenotipica dei mutanti selezionati.

mento tenero (esaploide), grazie alla minore complessità genomica che riduce la ridondanza tra omoologhi e facilita l'identificazione e l'interpretazione degli effetti fenotipici delle mutazioni.

Nel frumento duro, le popolazioni TILLING sono state ottenute in cultivar come Kronos, Svevo e Marco Aurelio (Bovina *et al.*, 2014; Colasuonno *et al.*, 2016; Krasileva *et al.*, 2017) e sono caratterizzate da un'elevata densità di mutazioni che consente di individuare serie alleliche multiple. L'introduzione di tecniche di screening ad alta processività, ed oggi il sequenziamento massivo, hanno migliorando drasticamente l'efficienza di identificazione delle mutazioni.

Tra i principali risultati del TILLING nel frumento duro vi è il miglioramento nutrizionale con genotipi ad alto contenuto di amilosio e amido resistente, ottenuti tramite mutazioni combinate nei geni *SBEIIa*, che riducono l'indice glicemico dei prodotti trasformati. Questo processo è più agevole nel frumento duro rispetto al tenero, grazie alla minore complessità genomica.

Il TILLING nel frumento duro è stato applicato con successo alla **biofortificazione**, individuando mutazioni in geni coinvolti nella biosintesi e nel trasporto dell'acido fitico (*IPK1*, *MRP3*) per ridurne il contenuto nella granella e aumentare la biodisponibilità di minerali essenziali come ferro, zinco e magnesio. Parallelamente, mutazioni di silenziamento (loss-of-function) dei geni *LCYE* e β -*HYD* hanno permesso di **incrementare il contenuto di β -carotene, precursore della vitamina A.**

Un esempio emblematico di TILLING per integrare miglioramento nutrizionale e agronomico è rappresentato dalla **combinazione delle mutazioni *Starch Synthase IIa***

(SSIIa) ad alto contenuto di amilosio con l'allele nullo *Grain Width 2-A (GW2-A1)* per il controllo del peso della cariosside. Attraverso un approccio di piramidazione allelica, è stato possibile ottenere genotipi doppi mutanti con incremento sostanziale di amilosio ed amido resistente, accompagnato da un miglioramento del peso dei semi rispetto alle linee *SSIIa* mutate singolarmente (Frittelli *et al.*, 2025).

Nel complesso, **questi risultati confermano che il TILLING è uno strumento altamente efficace per generare e combinare nuova variabilità genetica funzionale**. Tale approccio consente di modulare vie metaboliche complesse e migliorare varie caratteristiche simultaneamente. Inoltre, permette di ottenere genotipi di elevato interesse per i programmi di miglioramento genetico e condurre studi approfonditi di genomica funzionale.

LE PROMESSE DEL *BREEDING* V4.0: LE APPLICAZIONI DI FENOMICA AL *BREEDING*, LO *SPEED-BREEDING* E LA SELEZIONE GENOMICA SEMPRE PIÙ PERFORMANTE

La dicitura “Breeding 4.0” sintetizza un cambiamento di paradigma epocale nella selezione delle moderne varietà di frumento duro: il passaggio da un processo sequenziale di operazioni (incrocio-avanzamento-valutazione) in buona parte empiriche, a un ecosistema decisionale integrato e *data-driven*.

In questo scenario, **la velocità del ciclo, la scala di valutazione e l'accuratezza predittiva diventano i driver primari del guadagno genetico annuale**, come dalla famosa formula del breeding [$\Delta G=(i \times r \times \sigma_a)/L$] (Cobb *et al.*, 2019).

Fenomica, speed-breeding (SB) e selezione genomica (GS) non sono più innovazioni isolate, ma leve sinergiche che agiscono rispettivamente sulla diversità genetica (σ_a), l'accuratezza (r), sul tempo (L) e sull'intensità della selezione (i).

La fenomica ad alto rendimento (*High-Throughput Phenotyping, HTP*) risolve il “collo di bottiglia fenotipico”, fornendo dati multi-dimensionali su caratteri complessi e dinamici, come l'efficienza d'uso delle risorse e la tolleranza a stress abiotici, superando i limiti della valutazione visiva tradizionale (Araus *et al.*, 2018).

Le attuali piattaforme fenomiche consentono una fenotipizzazione multiscala, dal livello di cellula/organo/pianta/parcella fino al campo, combinando sensori prossimali e remoti (RGB, multispettrale, termico, LiDAR, spettroscopia) e trasformando misure indirette (vigore, copertura, indici spettrali, temperatura ed architettura della canopy) in *proxy* quantitativi di processi fisiologici rilevanti per l'adattamento all'ambiente di coltivazione. L'elemento realmente abilitante, oggi, non è solo la sensoristica, ma l'esistenza di infrastrutture di ricerca che rendono queste tecnologie snelle, accessibili e comparabili tra laboratori e Paesi: in Europa, la costruzione di una **infrastruttura coordinata per la fenotipizzazione delle piante come EMPHASIS (*European Infrastructure for Plant Phenotyping*)** ha l'obiettivo esplicito di consolidare e integrare capacità sperimentali multi-scala, favorendo standard, interoperabilità e accesso alla comunità scientifica (<https://emphasis.plant-phenotyping.eu>). In modo complementare, iniziative di rete con accesso transnazionale a piattaforme e servizi hanno già dimostrato la fattibilità operativa di **esperimenti distribuiti**, offrendo a gruppi accademici e industriali l'accesso a decine di facility di fenotipizzazione (serre controllate e piattaforme di campo) come base per studi su larga scala e per la caratterizzazione di collezioni di germoplasma.

In questo contesto, l'Italia gioca un ruolo centrale attraverso **Phen-Italy, il nodo nazionale dell'infrastruttura europea che aggrega i principali centri di competenza per la fenotipizzazione delle piante**. Phen-Italy garantisce ai ricercatori l'accesso a piattaforme HTP all'avanguardia, essenziali per la caratterizzazione del germoplasma di frumento duro in risposta ai cambiamenti ambientali (Costa *et al.*, 2019). Su scala

internazionale, centri come CIMMYT stanno spingendo verso pipeline integrate in cui le acquisizioni di immagini georeferenziate, l'annotazione e cura dei dati e l'uso di modelli di Intelligenza Artificiale (AI) trasformano la fenotipizzazione in un flusso riproducibile e scalabile, particolarmente rilevante per i programmi di breeding multi-ambiente.

In questa prospettiva, **la fenomica diventa “funzionale” al breeding** quando i dati vengono raccolti con disegni sperimentali coerenti con gli obiettivi (Target Population of Environments, TPE), quando si ripetono lungo fasi chiave del ciclo e quando alimentano direttamente modelli di predizione.

Il secondo pilastro del breeding 4.0 è lo *speed-breeding* (SB)(Fig. 1.24), cioè l'**insieme di protocolli e condizioni controllate mirate a comprimere la durata generazionale, anticipare fioritura e maturazione** così da accelerare l'avanzamento delle generazioni e la costruzione di linee fissate (Watson *et al.*, 2018). L'efficacia dello SB dipende da una combinazione ottimizzata di fotoperiodo, sorgenti e spettro luminoso (LED), temperatura, CO₂, vernalizzazione (quando necessaria), nutrizione, volume di substrato e tecniche di gestione della fase riproduttiva (ad es., *embryo rescue*, essiccazione forzata di semi immaturi e *breaking* della dormienza).

Un punto chiave per l'adozione pratica nei cereali è che lo SB non sostituisce i metodi di gestione dei materiali genetici, ma li potenzia: l'integrazione con Single Seed Descent (SSD), per esempio, consente di avanzare rapidamente popolazioni segreganti mantenendo rappresentatività genetica, arrivando in condizioni ottimizzate a molteplici generazioni annue e riducendo drasticamente tempi e spazio necessari per ottenere linee inbred, senza compromettere la logica selettiva del metodo. In prospettiva di breeding, l'impatto maggiore dello SB emerge quando viene combinato con la (i) fenotipizzazione rapida di tratti ad alta ereditabilità o di resistenze specifiche in ambiente controllato, e la (ii) selezione assistita e/o selezione genomica per prendere decisioni precoci, riducendo il numero di linee genetiche candidate che entrano nelle fasi di prove agronomiche più costose.

È esattamente qui che si innesta **il terzo pilastro, la selezione genomica (GS), che nel breeding 4.0 evolve da “metodo statistico” a “piattaforma predittiva” continuamente aggiornata**. La GS risponde al limite intrinseco della MAS su pochi loci per caratteri poligenici, sfruttando l'informazione distribuita su migliaia di marcatori.

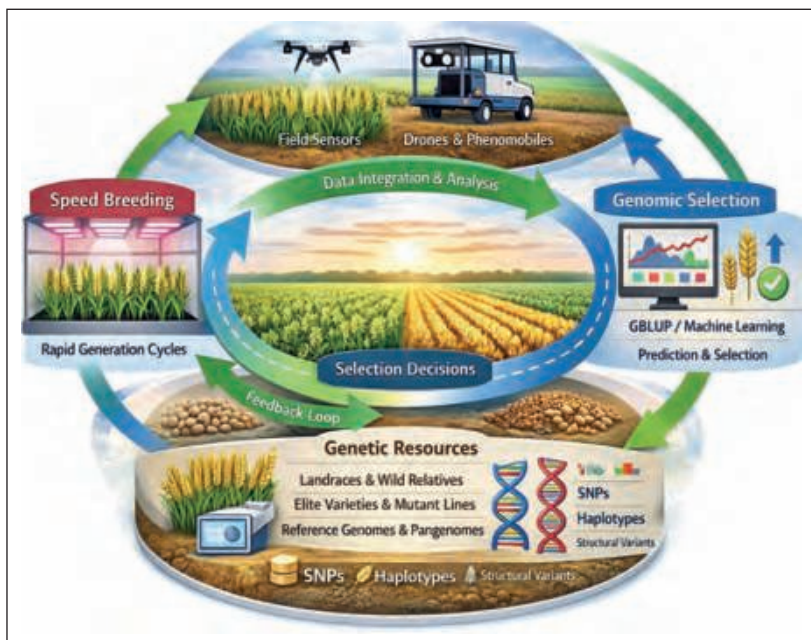


Figura 1.24 | Il paradigma del breeding 4.0 nel frumento: integrazione di fenomica, *speed-breeding* e selezione genomica in un sistema decisionale *data-driven*.

La GS, infatti, permette di stimare il valore genetico complessivo (*Genomic-Estimated Breeding Value, GEV*) di individui non ancora fenotipizzati, sfruttando la densità di marcatori molecolari su scala genomica (Crossa *et al.*, 2017). Negli ultimi anni la discussione scientifica si è spostata dalla sola scelta del modello (GBLUP vs. bayesiani e modelli sempre più avanzati) alla definizione delle condizioni che determinano l'accuratezza predittiva: (i) composizione e dimensione della Training Population, (ii) relazione con la popolazione di selezione, densità/qualità dei dati genomici e, soprattutto, (iii) gestione della componente $G \times E$ tramite modelli multi-ambiente e multi-tratto. **Attualmente, la frontiera risiede nell'integrazione di modelli di Machine Learning (ML) e Deep Learning, capaci di gestire la non-linearità delle interazioni $G \times E$ e di incorporare dataset complessi** (multi-ambiente, firme spettrali, dati meteo-suolo e pratiche agronomiche), con l'obiettivo di migliorare l'abilità predittiva dei modelli in scenari non lineari e di sfruttare al meglio le strutture complesse dei dati. **In termini operativi, la direzione più promettente per il frumento è la costruzione di modelli "ibridi" in cui genomica e fenomica sono fuse in un'unica architettura predittiva (Genotype + Envirotyping + Phenomics), con aggiornamento dinamico della Training Population a ogni ciclo e con strategie di active learning per decidere quali nuovi genotipi fenotipizzare in modo intensivo.** In questo scenario, **lo SB agisce come acceleratore fisico del ciclo e la fenomica come acceleratore informativo, mentre la GS (supportata da AI) diventa il motore decisionale** per anticipare la selezione e di aumentare la precisione in condizioni ambientali variabili.

È importante sottolineare che l'obiettivo non è portare tutto in "ambiente controllato": **per il frumento duro, come per il tenero, la validazione finale della performance agronomiche e della qualità tecnologica resta ancorata a prove multi-ambiente e multi-anno in campo.** Tuttavia, la combinazione SB-HTP-GS permette di **ridurre drasticamente il tempo necessario per generare candidati competitivi e di entrare in campo con un set più ristretto ma più promettente**, già arricchito per i target genetici (qualità, resistenze, adattamento) e con una probabilità di successo superiore. In definitiva, la promessa concreta del breeding 4.0 per il frumento è la transizione a un miglioramento genetico "data-driven", in cui **l'infrastruttura sperimentale (fenotipizzazione scalabile), l'infrastruttura biologica (genomi/pangenomi e risorse di diversità) e l'infrastruttura algoritmica (predizione genomica e AI) convergono in un processo integrato** capace di sostenere simultaneamente produttività, stabilità e sostenibilità.

LA RECENTE INNOVAZIONE E LA GRANDE PROMESSA DELLE NUOVE TECNICHE GENOMICHE (NGT) APPLICATE AL FRUMENTO

APPLICAZIONI DELLA COLTURA *IN VITRO*, TRANSGENESI E TECNICHE DI EVOLUZIONE ASSISTITA (TEA)

Con l'acronimo TEA si identificano due tecniche principali: **l'editing genetico e la cisgenesi.** Le TEA (Fig. 1.25) sono considerate la **nuova frontiera della genetica e genomica agraria**, con campi di applicazione molto vasti, **tra cui modifiche precise del DNA** per migliorare resistenza a parassiti/stress, aumentare il valore nutritivo e ottimizzare i raccolti, **superando i limiti degli OGM tradizionali, e "domesticando" rapidamente specie minori o genotipi selvatici della stessa specie**, con l'obiettivo di una maggiore sicurezza alimentare e sostenibilità agricola, pur sollevando dibattiti su brevetti e regolamentazione.

L'editing genomico e le modifiche cis-geniche, a differenza dei transgenici, **agiscono direttamente ed esclusivamente nello spazio genico caratteristico della**

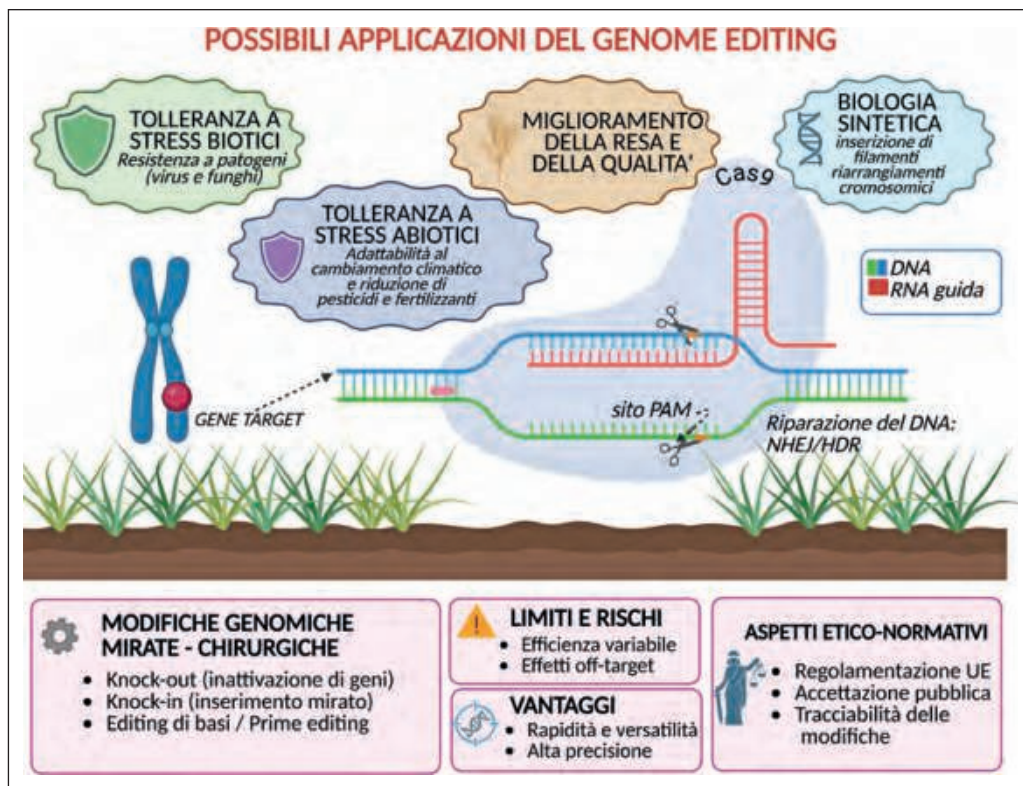


Figura 1.25 | Rappresentazione schematica delle tecniche di editing del genoma, o Tecniche di Evoluzione Assistita (TEA).

specie, consentono modifiche molto precise, anche a livello di singolo nucleotide, rendendo le modifiche più veloci e mirate rispetto alla selezione o alla mutagenesi indotta tradizionali. Nel campo del frumento duro, le TEA sono già state applicate con successo dalla ricerca italiana.

Negli ultimi anni, le **Nuove Tecniche Genomiche (NGT)**, (Li *et al.*, 2024) note in Italia come Tecniche di Evoluzione Assistita (TEA) hanno profondamente trasformato il panorama del miglioramento genetico del frumento, offrendo strumenti senza precedenti per l'analisi funzionale dei geni e per lo sviluppo di varietà più produttive, resilienti e sostenibili. A differenza delle strategie di breeding convenzionale, della mutagenesi casuale e della transgenesi, le NGT consentono **interventi mirati e rapidi** sul genoma, permettendo di modificare specifiche sequenze senza introdurre DNA esogeno in cultivar élite e preservando così il loro background genetico.

Le TEA – specificatamente genome editing e cisgenesi – sono metodiche molto differenti da quelle che sono alla base degli Organismi Geneticamente Modificati (OGM). Mentre per OGM si intende una pianta nel cui genoma è stato inserito un gene derivante da una qualsiasi altra/e specie vivente (es. il mais BT resistente alla piralide contiene il gene di un batterio che produce una sostanza tossica per l'insetto), le piante frutto di genome editing si caratterizzano per portare solo una mutazione in un proprio gene, cioè non contengono alcun DNA esogeno. **Una pianta cisgenica è invece una pianta nel cui genoma è stato inserito un gene derivante da un'altra varietà della stessa specie**, una modifica che semplicemente accelera ciò che verrebbe ottenuto dal breeder tramite incroci e reincroci che richiederebbero anche parecchi anni.

IL PRE-REQUISITO PER L'USO EFFICIENTE DELLE NGT

L'applicazione delle NGT richiede tuttavia conoscenze dettagliate dei genomi, dei geni e delle loro funzioni, per sapere con precisione quale gene e come modificarlo per acquisire una nuova funzione. Il frumento duro rappresenta un caso emblematico per l'applicazione delle NGT per la complessità intrinseca del suo genoma. La natura poliploide, le grandi dimensioni genomiche e la presenza di famiglie geniche ridondanti hanno storicamente rappresentato un ostacolo allo studio di caratteri complessi. Le NGT, e in particolare le **Tecniche basate su CRISPR/Cas**, hanno reso possibile superare molte di queste limitazioni, consentendo l'editing simultaneo di più omeoalleli e la validazione funzionale di geni coinvolti in processi chiave quali lo sviluppo della pianta, il riempimento della cariossida, l'accumulo di nutrienti e la risposta agli stress (Li *et al.*, 2024).

Un elemento di forte innovazione introdotto dalle NGT è la possibilità di generare alleli specifici e di valutare direttamente l'effetto di singole mutazioni o combinazioni alleliche su caratteri agronomici e qualitativi. Questo approccio è particolarmente rilevante nel frumento, dove molti caratteri di interesse risultano regolati da **network genici complessi e da interazioni tra omeoalleli funzionalmente differenziati**. Un vantaggio notevole è che le piante risultanti, prodotte attraverso le TEA, presentano mutazioni del tutto analoghe a quelle ottenibili con metodi convenzionali, collocandosi così al di fuori della definizione normativa di OGM.

Le NGT si inseriscono inoltre in modo sinergico con i recenti progressi della **genomica strutturale e funzionale, inclusi il sequenziamento di genomi di riferimento e lo sviluppo di pangenomi**.

L'accesso a una rappresentazione completa della diversità genetica consente di individuare alleli assenti dal genoma di riferimento ma cruciali per adattamento, qualità e resistenza.

Le Nuove Tecniche Genomiche (NGT) offrono strumenti per validare funzionalmente nuovi alleli e trasferirli in strategie di breeding di precisione. Il loro valore non si limita alla creazione di nuove varietà, ma include studi funzionali: l'uso delle TEA come strumento di genomica funzionale chiarisce il ruolo di geni regolatori, fattori di trascrizione e pathway metabolici, fornendo basi solide per ottimizzare i programmi di miglioramento genetico e ridurre i tempi di selezione.

Un esempio emblematico del potenziale delle NTG applicate al frumento è rappresentato dalla selezione di **frumenti teneri e duri deprivati parzialmente di glutine**. Le persone affette dal morbo celiaco non possono mangiare prodotti contenenti glutine, cioè tutti i prodotti a base di frumento. Tuttavia, attraverso l'uso delle TEA sono state recentemente selezionate linee di frumento duro e di frumento tenero privi dei geni del glutine e che di conseguenza risultano molto depresse della frazione di glutine che contiene i tratti che scatenano la risposta autoimmune tipica della celiachia (Sánchez-León *et al.*, 2018).

Il genome editing è stato applicato nel frumento per **ridurre l'asparagina libera**, precursore dell'acrilamide (potenzialmente cancerogena) nei prodotti da forno, ottenendo fino al 50% di riduzione grazie alla mutazione di geni dell'asparagina sintetasi, con risultati confermati anche in campo (Kaur *et al.*, 2024).

Infine, Camerlengo *et al.* (2020) ha utilizzato le TEA per indagare il ruolo degli **Amylase/Trypsin Inhibitors (ATI)**, noti allergeni che causano problemi al consumo di prodotti a base di frumento duro.

Attraverso l'editing mirato di geni codificanti ATI, gli autori hanno dimostrato che le NGT possono essere impiegate come strumento di miglioramento genetico e di genomica funzionale per modulare componenti specifiche della granella legate alla sicurezza alimentare, senza alterare le caratteristiche agronomiche e qualitative del frumento duro.

Il parere di Assosementi sulle innovazioni genomiche e sulle TEA

Tra i principali obiettivi delle aziende sementiere vi è quello di mettere sul mercato, in tempi brevi, nuove varietà che rispondano alle esigenze di sostenibilità ed alle emergenze fitosanitarie, salvaguardando le tipicità locali.

L'adozione di nuove tecnologie (genetiche, agronomiche, informatiche, digitali), l'ampliamento della biodiversità, che occorre conservare e valorizzare, ed una maggiore integrazione tra ricerca pubblica e privata sono interventi essenziali per rispondere all'urgente necessità di sviluppare varietà vegetali adattate alle esigenze attuali e future dell'agricoltura e dell'intera filiera.

Grazie al miglioramento genetico, negli ultimi decenni è stato possibile aumentare le produzioni agricole e le rese per ettaro delle principali specie coltivate. Si stima che, senza il miglioramento varietale, nel ventennio 2000-2020 la produzione di frumento in Italia sarebbe stata in media inferiore del 19%.

Rese più elevate per ettaro permettono di aumentare l'offerta di prodotti agricoli sui mercati internazionali. Ad esempio, negli ultimi vent'anni è stato possibile produrre in Europa 53 milioni di tonnellate di cereali in più grazie ai progressi del miglioramento genetico. Ciò ha contribuito a stabilizzare i mercati e a ridurre la volatilità dei prezzi, garantendo l'accesso al cibo anche alle famiglie con redditi medio-bassi.

L'utilizzo delle TEA consentirà al settore sementiero di mettere a disposizione degli agricoltori varietà più produttive, anche in un quadro segnato dai cambiamenti climatici e dalle crescenti richieste di una maggiore sostenibilità dei modelli di produzione. Le TEA sono uno strumento in grado di far compiere notevoli passi avanti al breeding, consentendo ai ricercatori di migliorare le nostre colture in modo più semplice e veloce rispetto al passato.

Le NGT applicate al frumento duro offrono soluzioni strategiche per affrontare sfide globali come cambiamento climatico, riduzione degli input chimici e richiesta di alimenti più nutrienti. Grazie alla loro rapidità e precisione, le NGT consentono di sviluppare varietà resilienti, efficienti nell'uso delle risorse e compatibili con gli obiettivi di sostenibilità, ridefinendo il ruolo del miglioramento genetico nel futuro agroalimentare.

GLI AVANZAMENTI NELLE TECNICHE-OMICHE, IN PARTICOLARE METABOLOMICA E PROTEOMICA

Data la necessità di considerare la coltura agraria come insieme un *unicum* costituito da pianta-suolo-microbioma ('olobionte'), l'integrazione delle tecniche-omiche è essenziale nella comprensione di meccanismi complessi come l'eredità dei caratteri quantitativi o complessi, l'interazione $G \times E \times M$.

Il passaggio dalla genomica strutturale alla genomica funzionale ha reso evidente come la sola informazione sul DNA, pur essenziale, non sia sufficiente a spiegare la complessità dei caratteri quantitativi di interesse agronomico nel frumento.

L'attenzione della ricerca si è quindi spostata progressivamente verso l'analisi dei livelli funzionali intermedi che collegano il genotipo al fenotipo, in particolare trascrittoma, proteoma e metaboloma, promuovendo lo sviluppo e l'integrazione delle tecnologie "-omiche". In questo quadro, **proteomica e metabolomica** rappresentano strumenti chiave per comprendere come le variazioni genetiche si traducano in risposte fisiologiche della pianta. Mentre il genoma definisce il potenziale genetico, proteine e metaboliti ne costituiscono **l'espressione funzionale, rispondendo in modo dinamico alle condizioni pedoclimatiche, alla disponibilità di nutrienti, alla presenza di patogeni e alle pratiche agronomiche.**

Lo sviluppo di questi approcci è stato reso possibile dalla disponibilità di strumenti analitici ad alta risoluzione, **principalmente la spettrometria di massa e la risonanza**

magnetica nucleare, affiancati da **tecniche bioinformatiche e statistiche sempre più avanzate per l'analisi, l'elaborazione e l'integrazione di grandi volumi di dati**.

Attraverso tecniche avanzate di estrazione proteica, spettrometria di massa e analisi bioinformatica, la proteomica consente di analizzare l'insieme delle proteine espresse in specifici tessuti o stadi di sviluppo, includendo non solo la loro abbondanza, ma anche le modificazioni post-traduzionali e le interazioni proteina-proteina.

Nel frumento, nonostante la complessità del genoma e l'elevato livello di omeologia genica, gli **studi proteomici** hanno fornito contributi rilevanti alla comprensione dei meccanismi di risposta agli stress abiotici, in particolare al caldo e alla siccità, e agli stress biotici. Un esempio significativo è rappresentato dagli **studi sul proteoma della cariosside**, che hanno evidenziato variazioni nell'accumulo di proteine coinvolte nel metabolismo energetico, nella sintesi delle proteine di riserva e nei sistemi di protezione cellulare, con implicazioni dirette sulla qualità tecnologica della granella.

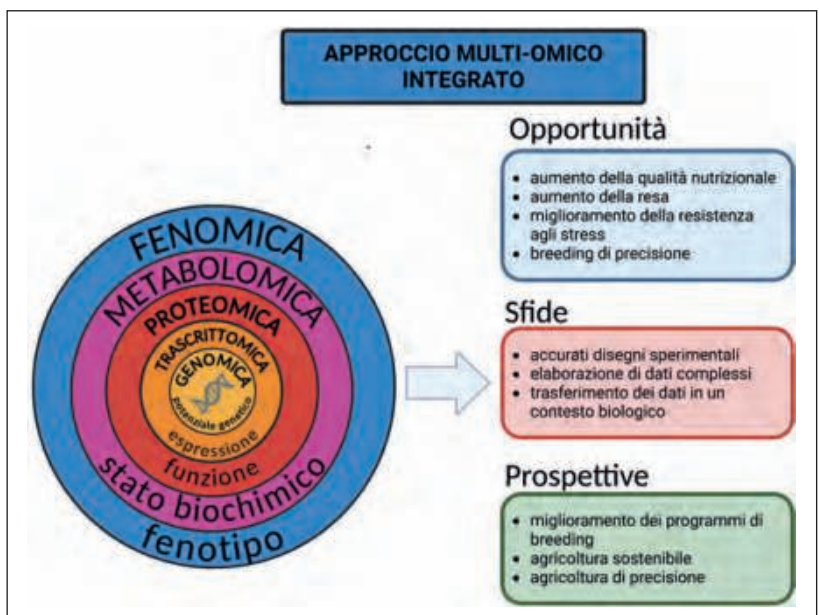
La metabolomica analizza l'insieme dei metaboliti prodotti dalla pianta e fornisce una fotografia diretta dello stato fisiologico del frumento. Questo approccio è stato applicato con successo allo studio della risposta alle carenze nutrizionali, allo stress idrico e ai patogeni fungini, consentendo l'identificazione di composti associati a meccanismi di tolleranza e resistenza, come nel caso della fusariosi della spiga.

LA NECESSARIA INTEGRAZIONE NELLA BIOLOGIA DEI SISTEMI, O SYSTEM BIOLOGY

Di particolare rilevanza è l'integrazione dei diversi livelli funzionali analizzati dalle scienze omiche (Fig. 1.26) che consentono di ricostruire le reti molecolari e biochimiche alla base dei caratteri quantitativi complessi. L'integrazione tra proteomica e metabolomica e gli studi di associazione genomica (GWAS) consente di associare direttamente varianti genetiche a metaboliti o proteine specifici, spesso più vicini al controllo genetico rispetto ai caratteri agronomici finali, ampliando le prospettive del miglioramento genetico.

L'impiego di dati -omici in studi condotti in condizioni di campo rafforza un approccio di biologia dei sistemi vegetali (*system biology*), in cui la risposta della pianta è interpretata come il risultato emergente dell'interazione tra molteplici componenti biologiche e am-

Figura 1.26 | - Integrazione delle scienze "omiche" per un'agricoltura di precisione. L'infografica evidenzia come la combinazione di diverse discipline (genomica, metabolomica, fenomica, ecc.) permetta di comprendere a fondo il legame tra genotipo e fenotipo. Questo approccio integrato apre la strada a nuove prospettive per il miglioramento della resa, della qualità nutrizionale e della resistenza agli stress delle colture, favorendo la transizione verso modelli agricoli più efficienti e sostenibili.



bientali. In questa prospettiva, la pianta non è considerata una singola entità genetica, bensì un sistema complesso e integrato, un olobionte costituito dall'interazione dinamica tra pianta, suolo e comunità microbiche associate. In tale contesto, proteine e metaboliti possono essere considerati sensori biologici delle interazioni genotipo × ambiente ($G \times E$) e/o genotipo × ambiente × gestione agronomica ($G \times E \times M$), riflettendo non solo la risposta del genotipo ai fattori abiotici ma anche i processi biologici mediati dal microbioma. La riduzione dei costi delle tecnologie omiche sta consentendo la generazione di dataset su larga scala e ad alta risoluzione, favorendo un'esplorazione più completa delle interazioni molecolari tra trascritti, proteine, metaboliti in diversi contesti ambientali e sperimentali. L'integrazione di questi dataset favorisce la visione sistemica della biologia, essenziale per lo sviluppo di varietà tolleranti ai cambiamenti climatici.

Infine, i recenti progressi nelle tecnologie multi-omiche, in particolare nella *single-cell omics* e nella *spatial-omics*, hanno spostato l'analisi a livello di singola cellula e di risoluzione spaziale, permettendo di cogliere l'eterogeneità cellulare, la specializzazione funzionale e l'organizzazione dei tessuti. Sebbene l'elevata complessità dei dati richieda strategie avanzate di integrazione, infrastrutture computazionali adeguate e protocolli standardizzati, questi approcci rafforzano ulteriormente la visione sistemica più realistica della biologia vegetale e aprono nuove prospettive.

BIBLIOGRAFIA

Araus J.L., Kefauver S.C., Zaman-Allah M., Olsen M.S. & Cairns J.E. (2018). Translating High-Throughput Phenotyping into Genetic Gain. *Trends in Plant Science*, 23(5), 451-466. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.02.001>

Avni R., Nave M., Barad O., Baruch K., Twardziok S.O., Gundlach H., Hale I., Mascher M., Spannagl M., Wiebe K., Jordan K.W., Golan G., Deek J., Ben-Zvi B., Ben-Zvi G., Himmelbach A., MacLachlan R.P., Sharpe A.G., Fritz A., ... Distelfeld, A. (2017). Wild emmer genome architecture and diversity elucidate wheat evolution and domestication. *Science (New York, N.Y.)*, 357(6346), 93-97. <https://doi.org/10.1126/science.aan0032>

Bovina R., Brunazzi A., Gasparini G., Sestili F., Palombieri S., Botticella E., Lafiandra D., Mantovani P. & Massi A. (2014). Development of a TILLING resource in durum wheat for reverse- and forward-genetic analyses. *Crop & Pasture Science*, 65(1), 112-124. <https://doi.org/10.1071/CP13226>

Brown L.R. (1970). *Seeds of change. The Green Revolution and development in the 1970's*. Praeger Publishers for the Overseas Developmental Council.

Camerlengo F., Frittelli A., Sparks C., Doherty A., Martignago D., Larré C., Lupi R., Sestili F. & Masci S. (2020). CRISPR-Cas9 Multiplex Editing of the α -Amylase/Trypsin Inhibitor Genes to Reduce Allergen Proteins in Durum Wheat. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00104>

Cobb J.N., Juma R.U., Biswas P.S., Arbelaez J.D., Rutkoski J., Atlin G., Hage, T., Quinn M. & Ng E.H. (2019). Enhancing the rate of genetic gain in public-sector plant breeding programs: Lessons from the breeder's equation. *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik*, 132(3), 627-645. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03317-0>

Colasuonno P., Incerti O., Lozito M.L., Simeone R., Gadaleta A. & Blanco A. (2016). DHPLC technology for high-throughput detection of mutations in a durum wheat TILLING population. *BMC Genetics*, 17(1), 43. <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0350-0>

- Costa R., Fraga H., Fonseca, A., García de Cortázar-Atauri I., Val M C., Carlos C., Reis S., & Santos J.A. (2019). Grapevine Phenology of cv. Touriga Franca and Touriga Nacional in the Douro Wine Region: Modelling and Climate Change Projections. *Agronomy*, 9(4), 210. <https://doi.org/10.3390/agronomy9040210>
- Crossa J., Pérez-Rodríguez P., Cuevas J., Montesinos-López O., Jarquín D., de Los Campos G., Burgueño J., González-Camacho J.M., Pérez-Elizalde S., Beyene Y., Dreisigacker S., Singh R., Zhang X., Gowda M., Roorkiwal M., Rutkoski J., & Varshney R.K. (2017). Genomic Selection in Plant *Breeding*: Methods, Models, and Perspectives. *Trends in Plant Science*, 22(11), 961-975. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.08.011>
- De Cillis U. (1942). I frumenti Siciliani. Stazione Sperimentale di Granicoltura «Benito Mussolini» per la Sicilia – Catania. *pubblicazione n.9*, 323.
- Farolfi B., Fornasari M. (2011). *Agricoltura e sviluppo economico: il caso italiano (secoli XVIII-XX)*. Quaderni-Working Paper DSE N. 756. Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, Department of Economics.
- Fiore M.C., Blangiforti S., Preiti G., Spina A., Bosi S., Marotti I., Mauceri A., Puccio G., Sunseri F., & Mercati, F. (2022). Elucidating the Genetic Relationships on the Original Old Sicilian *Triticum* Spp. Collection by SNP Genotyping. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 13378. <https://doi.org/10.3390/ijms232113378>
- Frittelli A., Botticella E., Palombieri S., Metelli G., Masci S., Silvestri M., Lafiandra D., & Sestili F. (2025). Improving the agronomic performance of high-amylose durum wheat. *Plant Science*, 355, 112459. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2025.112459>
- Kaur N., Brock N., Raffan S., & Halford N.G. (2024). Low asparagine wheat: Europe's first field trial of genome edited wheat amid rapidly changing regulations on acrylamide in food and *genome editing* of crops. *Breeding Science*, 74(1), 37-46. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.23058>
- Krasileva K.V., Vasquez-Gross H.A., Howell T., Bailey P., Paraiso F., Clissold L., Simmonds J., Ramirez-Gonzalez, R.H., Wang X., Borrill P., Fosker C., Ayling S., Phillips A.L., Uauy C., & Dubcovsky J. (2017). Uncovering hidden variation in polyploid wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(6), E913-E921. <https://doi.org/10.1073/pnas.1619268114>
- Lande R., & Thompson R. (1990). Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics*, 124(3), 743-756. <https://doi.org/10.1093/genetics/124.3.743>
- Li B., Sun C., Li J., & Gao C. (2024). Targeted genome-modification tools and their advanced applications in crop *breeding*. *Nature Reviews Genetics*, 25(9), 603-622. <https://doi.org/10.1038/s41576-024-00720-2>
- Maccaferri M., Harris N.S., Twardziok S.O., Pasam R.K., Gundlach H., Spannagl M., Ormanbekova D., Lux T., Prade V.M., Milner S.G., Himmelbach A., Mascher M., Bagnaresi P., Faccioli P., Cozzi P., Lauria M., Lazzari B., Stella A., Manconi A., ... Cattivelli L. (2019). Durum wheat genome highlights past domestication signatures and future improvement targets. *Nature Genetics*, 51(5), 885-895. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0381-3>
- Maccaferri M., Ricci A., Salvi S., Milner S.G., Noli E., Martelli P.L., Casadio, R., Akhunov, E., Scalabrin, S., Vendramin, V., Ammar, K., Blanco, A., Desiderio, F., Distelfeld, A., Dubcovsky, J., Fahima T., Faris J., Korol A., Massi A., ... Tuberosa R. (2015). A high-density, SNP-based consensus map of tetraploid wheat as a bridge to integrate durum and bread

- wheat genomics and *breeding*. *Plant Biotechnology Journal*, 13(5), 648-663. <https://doi.org/10.1111/pbi.12288>
- Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., & Goddard M.E. (2001). Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. *Genetics*, 157(4), 1819-1829. <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>
- Peleman J.D., & van der Voort J.R. (2003). *Breeding by design*. *Trends in Plant Science*, 8(7), 330-334. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00134-1](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00134-1)
- Rasheed A., Wen W., Gao F., Zhai S., Jin H., Liu J., Guo Q., Zhang Y., Dreisigacker S., Xia X., & He Z. (2016). Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat. *TAG. Theoretical and Applied Genetics. Theoretische Und Angewandte Genetik*, 129(10), 1843-1860. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2743>
- Sánchez-León S., Gil-Humanes J., Ozuna C.V., Giménez M.J., Sousa C., Voytas D.F., & Barro F. (2018). Low-gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnology Journal*, 16(4), 902-910. <https://doi.org/10.1111/pbi.12837>
- Shi J., Tian Z., Lai J., & Huang X. (2022). Plant pan-genomics and its applications. *Molecular Plant*, 16. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2022.12.009>
- The International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC), Appels R., Eversole K., Stein N., Feuillet C., Keller B., Rogers J., Pozniak C.J., Choulet F., Distelfeld A., Poland J., Ronen G., Sharpe A.G., Barad O., Baruch K., Keeble-Gagnère G., Mascher M., Ben-Zvi G., Josselin A.-A., ... Wang L. (2018). Shifting the limits in wheat research and *breeding* using a fully annotated reference genome. *Science*, 361(6403), eaar7191. <https://doi.org/10.1126/science.aar7191>
- Watson A., Ghosh S., Williams M.J., Cuddy W.S., Simmonds J., Rey M.-D., Asyraf Md Hatta, M., Hinchliffe A., Steed A., Reynolds D., Adamski N.M., Breakspear A., Korolev A., Rayner T., Dixon L.E., Riaz A., Martin W., Ryan M., Edwards D., ... Hickey L.T. (2018). Speed *breeding* is a powerful tool to accelerate crop research and *breeding*. *Nature Plants*, 4(1), 23-29. <https://doi.org/10.1038/s41477-017-0083-8>

Appendice 1

SUNTO SCHEMATICO DELLE INNOVAZIONI ITALIANE NEL CAMPO DELLA GENETICA DEL FRUMENTO DURO I PRIMI ANNI DEL '900 FINO AL 2000, E LORO RICADUTE A VALLE FINO ALL'OTTENIMENTO VARIETALE

1. Miglioramento per selezione di linea pura delle razze locali ('landraces') (1900-1950)

- ▶ **Strampelli** nel 1915 ottiene '**Senatore Cappelli**' per selezione da popolazione tunisina di Jeahn Rhetifah, coltivato in più del 60% delle terre per diverse decadi, oggi riscoperto nella filiera del biologico
- ▶ **De Cillis e Casale (1942)** raccolgono centinaia di campioni di popolazioni siciliane e descrivono secondo la classificazione botanica 45 razze locali ben distinte (incluso le **Timile, Russelli, Perciasacchi, Scorsone, Bufale**)
- ▶ **De Cillis** seleziona il Russello SG7 dalle popolazioni di Russello siciliane
- ▶ La selezione di Oued Zenati 368 denominata 'B14', di elevata produttività, qualità e resistente a malattie

1. Incrocio artificiale seguito da selezione con metodo 'pedigree' (1920-2000)

- ▶ **Strampelli** ottiene alcune varietà di duro da incrocio (come il **Garigliano**), ma concentra sul frumento tenero la maggior parte della sua attività
- ▶ **De Cillis, Casale, Grifoni e Jannelli (1964)** producono varietà innovative da incrocio, prevalentemente incrocio complementare tra tipi nord-africani e tipi siriani, come **Capeiti 8 e Patrizio 6** (Cappelli × Eiti) più precoci, più basse e resistenti alla siccità, più produttive di Cappelli, ma con minore valore qualitativo, and **Isa-1**. Capeiti8 verrà considerato uno dei parentali più utilizzati
- ▶ **Dionigi (1970)** Su questo indirizzo ottiene la varietà **Appulo** [(Cappelli × Grifoni235) × Capeiti 8] molto resistente alla scarsità idrica e parentale
- ▶ **Ballatore, Di Prima, Sarno (1973)** ottengono la varietà **Trinakria** (B14 × Capeiti8) più bassa e precoce, resistente alle ruggini, e di qualità eccellente.

2. Applicazione della mutagenesi indotta e trasferimento di loci per la bassa taglia e la resistenza alle malattie dal frumento tenero (1950-1980)

- ▶ **Scarascia-Mugnozza e D'Amato (1956-1958)** iniziano presso il CNEN di Roma (Casaccia) un programma di genetica, citogenetica e mutagenesi indotta utilizzando metodi fisici (radiazioni-X e neutroni veloci) che poi diventa un programma coordinato FAO/IAEA/CNEN per l'ottenimento e valutazione di nuovi materiali radio-indotti. Gli obiettivi sono: i) ridurre la taglia, ii) diversificare la data di fioritura ed il ciclo, iii) ottenere mutanti migliorativi in varie componenti della resa.
- ▶ Viene ottenuta una serie di mutanti migliorativi a taglia più bassa rispetto a Cappelli, incluso **Castelporziano, Casteldelmonte, Castelnuovo, Castelfusano**
- ▶ Sulla base della collaborazione tra ENEA e CIMMYT, **Vallega e Zitelli** provvedono ad importare a Roma progenie segreganti ottenute da Norman Borlaug dall'incrocio tra frumento duro e frumento tenero e trasferimento genico dell'allele per la bassa taglia del gene *Rht-B1b*, ottenuto da Borlaug e collaboratori a partire dal tenero Norin 10 (Vallega e Zitelli, 1973), in particolare in quegli anni il CIMMYT ottiene le

varietà a bassa taglia innovative Tehuacan 60, Oviachic 65, Chapala 67, e soprattutto Crane, Jori C69, Cocorit 71 e Mexicali 75.

- ▶ Queste progenie di bassa taglia vengono utilizzate dai miglioratori italiani per produrre frumenti di bassa taglia e produttivi, fortemente innovativi, che daranno una svolta alla coltura, consentendone anche l'espansione al nord. Tra questi:
- ▶ **Vallega e Zitelli (1973)**, da incroci multipli incluso i donatori di *Rht-B1b* sviluppano La serie di frumenti 'Val' incluso **Valgerardo, Valselva, Valforte e Valnova**, resistenti a ruggine nera, altamente produttivi e di buona qualità pastificatoria.
- ▶ **Bozzini e Bagnara (1974)** presso ENEA descrivono l'ottenimento della nuova varietà **Creso** ottenuta da un incrocio che combina due fonti di bassa taglia: il mutante CpB144 a bassa taglia × la linea messicana ottenuta dal CIMMYT [(Yt54, N10-B) Cp-63]Tc²- quest'ultima portatrice della introgressione dal tenero del gene *Rht-B1b*. In pochi anni la varietà Creso verrà estesamente coltivata nel centro-nord in areali dove veniva principalmente coltivato il frumento tenero. La produttività del frumento duro Creso per la prima volta raggiunge quella dei migliori teneri (Rossi, 1985).

3. Campionamento, conservazione e caratterizzazione del germoplasma (1960-1980)

- ▶ **Scarascia-Mugnozza (1969)** fonda l'Istituto del Germoplasma di Bari oggi Istituto di Bioscienze e BioRisorse (IBBR) come nucleo di riferimento per la conservazione ed utilizzo delle risorse genetiche in Italia, **Porceddu, Perrino, Olita (1973)** Organizzano spedizioni di raccolta del materiale genetico tetraploide in Etiopia e lo caratterizzano
- ▶ **Spagnoletti-Zeuli (1987)** contribuisce alla valutazione della USDA durum wheat core collection di più di 3000 accessioni in Davis, California.
- ▶ **Salamini et al. (2002), ozkan et al (2002, 2005), Ozkan et al. (2011)**, contribuiscono a delineare e ricostruire la diversità genetica presente nei frumenti selvatici *Triticum dicoccoides* negli areali di origine.

4. Incrocio interspecifico con specie domestiche e selvatiche affini. Studi di citogenetica applicata. Ingegneria cromosomica per il trasferimento genico da specie affini (1960-2000)

- ▶ **Strampelli (1932)** esegue i primi incroci tra frumento duro e frumento tenero e segale allo scopo di trasferire caratteri positivi, con ottenimento della varietà Balilla. Presso il CIMMYT, il gene per la bassa taglia *Rht-B1b* viene trasferito dal tenero (Norin 10) al duro.
- ▶ Negli anni '60 studi di citogenetica di **Bozzini, Martini, Giorgi (1966), Martini e Bozzini (1967), Bozzini et al. (1969)** studiano l'ottenimento di linee aneuploidi, linee monosomiche indotte tramite radiazioni
- ▶ **Giorgi nel 1978 e 1983**, descrive l'ottenimento di **mutanti al gene Ph (pairing homologous) sul cromosoma 5B delle varietà Cappelli e Creso**, mutanti denominati *Ph1c* che consentiranno l'appaiamento tra cromosomi omeologhi e quindi i crossing over ed il trasferimento cromosomico anche da specie affini. **Blanco et al.** nel 1988 descrivono l'appaiamento omeologo con specie affini come *Hynaldia villosa*.
- ▶ **De Pace et al., Simeone et al. (1984) e Blanco et al. Blanco et al. (1988)** descrivono la presenza di geni che permettono l'appaiamento tra omeologhi in combinazioni interspecifiche. **Blanco et al.** nel 1984 lavorano ed ottengono aneuploidi sintetici e linee di addizione interspecifica con la *Hynaldia villosa*.
- ▶ **Giorgi et al. (1981, 1983), Giorgi and Ceoloni (1985)** ottengono ibridi ed aneuploidi da incroci con varie *Aegilops* (*Ae. Longissima, kotschy, columaris, triuncialis*) per incorporare nuovi caratteri come resistenza a stress biotici ed abiotici.
- ▶ **Simeone et al.** descrive il trasferimento del gene *Pm13* (review in Simeone et al. 2020).
- ▶ **Ceoloni et al. (1988, 1992, 1996)** trasferiscono in duro il gene *Pm13* di resistenza all'oidio da *Aegilops longissima*. Ceoloni nel 1996 descrive il trasferimento su frumento duro del cromosoma 7Ag e psue porzioni segmentali dal *Thinopyrum ponticum* con i geni *Lr19* per resistenza a ruggine bruna e *Yp*, contenuto in pigmento giallo nelle cariossidi.
- ▶ **Gennaro et al. (2009)** descrive il trasferimento e la mappatura del gene *Lr19* e la identificazione di geni candidati.
- ▶ **Boggini et al. (1998), Pogna et al. (1988, 1993), Mazza et al. (1995)** lavorano insieme ad un team internazionale al CIMMYT ed in California alla caratterizzazione della importante traslocazione del braccio

cromosomico 1RS della segale in frumento tenero e duro (1BL.1RS) che consente un eccezionale incremento del 10-15% delle rese, anche in condizioni di stress idrico, e resistenza alle ruggini, ma al contempo ha effetti negativi sulla qualità a causa del trasferimento delle secaline (*Sec-1*) poi risolto con il successivo lavoro di ricombinazione.

5. Identificazione e utilizzo di loci genetici di interesse principale per il miglioramento genetico, incluso i loci per le glutenine e gliadine (1990-2000)

- ▶ **D'Ovidio, Tanzarella, Porceddu e Lafiandra (1991, 1992, 1994)** sequenziano via PCR i geni per le proteine di riserva in frumento duro, incluso gliadine e glutenine, utilizzando anche la cultivar 'Lira' come modello genetico ed introducendo l'uso del singolo seme.
- ▶ **Pogna *et al.* (1990) e Lafiandra *et al.* (2000)** lavorano sulla composizione in glutenine e gliadine dei frumenti duri e teneri italiani e ne associano i profili alle caratteristiche tecnologiche.
- ▶ **Masci *et al.* (2000)** comparano le sequenze proteiche delle proteine di riserva di duro e tenero.
- ▶ **Pogna *et al.* (1996), Ceoloni *et al.* (2000, 2003), Blanco *et al.* (2002)** lavorano sulla ricombinazione omeologa 1A/1D tra frumento tenero e duro che risulta nella incorporazione dei loci *Gli-D1/Glu-D3* nel duro con effetti positivi sulla qualità tecnologica del glutine.

6. Ottenimento delle prime mappe di linkage (mappe genetiche) basate su marcatori molecolari al fine di mappare loci di rilevante interesse al miglioramento genetico (1990-2000)

- ▶ **Blanco *et al.* (1996)** usano linee inbred ricombinanti dall'incrocio *Messapia* × *T. dicoccoides* MG4343 per mappare loci per il contenuto proteico delle cariossidi.
- ▶ **Blanco *et al.* (1998)** ottengono la prima mappa genetica (di linkage) in frumento duro dall'incrocio. *Messapia* × *T. dicoccoides* MG4343. La mappa è basata su marcatori di prima generazione RFLP ed include 259 loci molecolari e servirà per mappare diversi loci di interesse agrario.
- ▶ **Korzun *et al.* (1999)** integrano ulteriori loci microsatelliti nella mappa genetica.
- ▶ **Pasqualone *et al.* (1999)** lavorano sulla identificazione varietale in frumento duro con marcatori molecolari di tipo microsatellite.
- ▶ **Lotti *et al.* (2000)** migliorano la mappa con marcatori AFLP.

8. Applicazioni della coltura in vitro e transgenesi (1990-2000)

- ▶ **Borrelli *et al.* (1991)** ottimizza le colture embriogenetiche in vitro di 5 varietà di frumento duro.
- ▶ **Lamacchia *et al.* (2001)** produce un gene chimerico utilizzando il *Glu-D1-1* dal frumento tenero Cheyenne per trasformare geneticamente il frumento duro Ofanto.
- ▶ **Gadaleta *et al.* 2005.** Sviluppo di piante transgeniche deprivate dei marker di selezione utilizzando la tecnologia 'gene clean'.

9. I risultati varietali del *breeding* organizzato dal 1970 al 2000 (1970-2000)

- ▶ **Il CIMMYT** lavora sul miglioramento della produttività del frumento duro sulla scia degli approcci ed ideotipi sviluppati per il tenero. Vengono ottenute le seguenti linee avanzate e varietà messicane che vengono poi estesamente utilizzate in Italia.
- ▶ In particolare: **Crane, Gaviota, Jori C69, Cocorit 71, Mexicali 75, Yavaros C79, Altar C84, Aconchi 89** di bassa taglia, produttività elevata e stabile, mediamente precoci (-15 gg rispetto a Cappelli).
- ▶ **Questi materiali (linee sorelle ancora segreganti) vengono importanti anche in Italia tramite le 'nursery' condivise dal CIMMYT e vengono utilizzati sia come parentali per nuovi incroci che per l'ottenimento di selezioni adattate.**
- ▶ **ENEA** ottiene la varietà Creso. **Vallega e Zitelli** ottengono la serie 'Val'.
- ▶ **Federconsorzi con Zucchini e Brevedan** ottengono le varietà di grande successo **Appio**, e **Duilio e Latino** di produttività elevata e stabile derivate dal **Yavaros C79 del CIMMYT**.
- ▶ **Calcagno e Gallo presso la Stazione Sperimentale per la Granicoltura di Sicilia e poi come Proseme** ottengono il **Simeto (1988) di grande successo**, dall'incrocio combinatorio Capeiti 8 × Valnova, il **Colosseo** ottenuto dal Creso, il **Ciccio**, il **Core**.

- ▶ Di Fonzo all'Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura a Foggia ottiene una serie di varietà culminate con la varietà **Arcangelo** (Creso × Appulo, 1983) e **Ofanto** (Appulo × Adamello, 1990) adatta agli ambienti del sud e altamente produttiva ma di scarsa qualità.
- ▶ Maliani Genetica e poi ISEA ottengono **Grazia, San Carlo, Claudio** (2000) varietà che coniugano produttività ed elevata qualità (premi Barilla).
- ▶ La Produttori Sementi Bologna in collaborazione con Barilla ottengono le varietà **Lira, Zenit, Baio, Levante, Iride** (da Aconchi 89) e **Svevo** (incrocio complesso con materiali CIMMYT).
- ▶ Iride e Svevo per la produttività l'una e per la qualità il secondo risultano **due delle varietà più longeve in Italia, insieme al Simeto**, coltivate tutt'ora. In particolare, lo **Svevo** (selezione CIMMYT × Zenit) porta nei suoi chicchi molte delle caratteristiche qualitative innovative oggi considerate base per la produzione di pasta di qualità.

SUNTO DELLE INNOVAZIONI NEL CAMPO DELLA GENETICA AGRARIA RECENTI, OTTENUTE ED ADOTTATE DAL 2000 AD OGGI

1. Studio della struttura della diversità genetica nei germoplasmi di frumenti tetraploidi con metodi molecolari

- ▶ Maccaferri *et al.* (2003, 2005, 2006, 2007a, 2007b). Studio di struttura di popolazione con marcatori molecolari e pedigree in germoplasma di frumento duro. Identificazione di aplotipi molecolari dei principali fondatori, tracciati fino alle varietà moderne (identità per discendenza).
- ▶ De Vita *et al.* (2007). Caratterizzazione del progresso genetico del frumento duro in Italia nel XX secolo.
- ▶ De Vita *et al.* (2010). Excursus del miglioramento genetico per stabilità della resa in frumento duro.
- ▶ Laidò *et al.* (2013, 2014). Studio di struttura di popolazione con marcatori molecolari e pedigree in germoplasma di frumento duro.
- ▶ Palombieri *et al.* (2023). Caratterizzazione di frumenti turanici e polonici in relazione all'ambiente di coltivazione.
- ▶ Mastrangelo *et al.* (2025). Studio di struttura di popolazione in un panel di frumento selvatico *T. dicoccoides*.
- ▶ Dia Sow *et al.* (2025). Caratterizzazione delle convergenze evolutive tra frumento duro, frumento tenero e orzo.

2a. Studio e dissezione del controllo genetico dei caratteri di interesse I. Mappatura con metodi di linkage, mappe genetiche e per caratteri quantitativi (QTL) di interesse per il miglioramento genetico. Applicazioni della selezione assistita da marcatori molecolari (Marker Assisted Selection, MAS)

- ▶ Gadaleta *et al.* (2007). Identificazione di loci per il contenuto proteico delle cariossidi, da frumento selvatico *T. dicoccoides* in frumento duro ed in Svevo × Ciccio (Blanco *et al.*, 2012).
- ▶ Maccaferri *et al.* (2008). Mappatura di QTL per resa e caratteri agronomici nella popolazione Svevo × Kofa.
- ▶ Maccaferri *et al.* (2008), Marone *et al.* (2009). Mappatura del locus *Lr14* di resistenza a ruggine bruna dal donatore fondatore Creso.
- ▶ Blanco *et al.* (2008). Mappatura del locus *Pm36* di resistenza all'oidio sempre da *T. dicoccoides*.
- ▶ Verlotta *et al.* (2010). Studio dei geni per le lipossigenasi in relazione al colore della pasta.
- ▶ Blanco *et al.* (2011). Identificazione di loci per il contenuto di pigmenti gialli e carotenoidi.
- ▶ Maccaferri *et al.* (2011, 2012). Mappatura del locus *Sbm2* di resistenza a mosaico del frumento duro.
- ▶ Nigro *et al.* (2013). *NADH-dependent glutamine-2-oxoglutarate amidotransferases* e contenuto proteico.
- ▶ Nigro *et al.* (2014). *Ferredoxin-dependent glutamine-oxoglutarate amidotransferase* (Fd-GOGAT) e contenuto proteico.
- ▶ Taranto *et al.* (2015). Mappatura dei geni per le polifenol-ossidasi *Ppo-B1* e *Ppo-B2*.
- ▶ Milner *et al.* (2016). Mappatura di loci di interesse agronomica in una popolazione di mappa da incrocio a quattro vie.

- ▶ **Nigro et al. (2016, 2020).** *Glutamine synthetase* in frumento duro e contenuto proteico.
- ▶ **Giancaspro et al. (2016).** Mappatura di QTL per fusariosi della spiga (FHB) su una popolazione ottenuta da incrocio frumento duro × tenero.
- ▶ **Iannucci et al. (2017).** Mappatura di QTL per caratteri dell'apparato radicale in una popolazione di *T. dicoccum* × *T. durum*.
- ▶ **Desiderio et al. (2019).** Mappatura dei caratteri del seme in una popolazione di *T. Durum* × *landraces iraniana*.
- ▶ **Gadaleta et al. (2019).** Mappatura fine del locus *QFhb.mgb-2A* per resistenza a FHB.
- ▶ **Valladares et al. (2023).** Mappatura dei caratteri del seme in una popolazione di *T. dicoccum* × *T. durum*.
- ▶ **Esposito et al. (2024).** Mappatura dei geni per la cariosside pigmentata di antociani porpora nei frumenti duri etiopici.
- ▶ **Kiros et al. (2024).** Mappatura dei fattori genetici che determinano il numero di spighe per spiga in frumento duro.

2b. Studio e dissezione del controllo genetico dei caratteri di interesse II. Mappatura per associazione marcatore-fenotipo (**Genome-Wide Association Mapping, GWAS**)

- ▶ **Maccaferri et al. (2010).** Mappatura di loci per resistenza a ruggine bruna nel germoplasma coltivato di frumento duro.
- ▶ **Maccaferri et al. (2011).** Mappatura di loci per caratteri agronomici in germoplasma coltivato di frumento duro.
- ▶ **Letta et al. (2013, Liu et al. 2017a).** Mappatura di loci per resistenza alle ruggini nel germoplasma coltivato di frumento duro
- ▶ **Liu et al. (2017b, 2017c).** Mappatura di loci per resistenza alle ruggini nel germoplasma di *landrace* etiopiche e di farro coltivato
- ▶ **Canè et al. (2014) e Maccaferri et al. (2016).** Mappatura per associazione di caratteri dell'apparato radicale.
- ▶ **Marcotuli et al. (2015, 2016).** Caratterizzazione di popolazioni e mappatura di loci per contenuto in Arabinoxilani e B-glucani in frumenti tetraploidi.
- ▶ **Colasuonno et al. (2017).** Mappatura di geni per la biosintesi della catena metabolica della sintesi dei carotenoidi.
- ▶ **Nigro et al. (2017).** Varianti alleliche della glutamina sintasi e glutammato sintetasi in frumento duro e contenuto proteico.
- ▶ **Mangini et al. (2018).** Mappatura di loci per componenti della produzione.
- ▶ **Alemu et al. (2021).** Mappatura di loci per caratteri dell'apparato radicale in frumento duro etiopico.
- ▶ **Condorelli et al. (2022).** Mappatura di loci per risposta a scarsità idrica tramite aggiustamento osmotico in germoplasma coltivato di frumento duro

2c. Studio e dissezione del controllo genetico dei caratteri di interesse III. **QTL meta-analysis**

- ▶ **Marone et al. (2013).** Meta-analisi dei loci per resistenza ad oidio in frumento duro.
- ▶ **Colasuonno et al. (2019).** Meta-analisi dei loci per il contenuto in pigmenti gialli e carotenoidi in frumento duro.
- ▶ **Soriano et al. (2021).** Meta-analisi dei loci per qualità.
- ▶ **Arriagada et al. (2022).** Meta-analisi dei loci per produttività e sue componenti.

3. Trasferimento genico per ingegneria cromosomica e lavori di caratterizzazione del germoplasma di specie affini

- ▶ **Gennaro et al. (2019).** Caratterizzazione del gene *Lr19* per resistenza a ruggine bruna trasferito in frumento duro da *Thinopyrum ponticum*.
- ▶ **Giorgi et al. (2013).** Uso della *Fluorescence in situ hybridization* in frumento duro e *Hynaldia villosa*.
- ▶ **Ceoloni et al. (2017).** Mappatura citogenetica di un locus principale per resistenza a FHB e FCR da *Thinopyrum elongatum*.

- ▶ **Kuzmanovic et al. (2018, 2020, 2021)**. Introgressioni da *Thinopyrum ponticum* e *Thinopyrum elongatum* per migliorare la resistenza a FHB e FCR.
- ▶ **Marcotuli et al. (2024)**. Caratterizzazione del germoplasma di *Aegilops caudata*.
- ▶ **Tounsi et al. (2024)**. Introgressione di porzioni del cromosoma 7EL di *Thinopyrum elongatum* per resistenza alla salinità.

4. Sviluppo di risorse genomiche per il frumento duro ed i frumenti tetraploidi

- ▶ **Trebbi et al. (2011); van Poecke et al. (2013)**. Identificazione di loci e marcatori molecolari SNP nel germoplasma di frumento duro.
- ▶ **Marone et al. (2012)**. Sviluppo di una mappa consenso ad alta densità per il frumento duro.
- ▶ **Wang et al. (2015)**. Sviluppo dell' *Infinium iSelect SNP array* in frumento tenero e duro. Iniziativa collaborativa internazionale.
- ▶ **Maccaferri et al. (2015)**. Sviluppo di una mappa consenso di marcatori molecolari SNP per i frumenti tetraploidi. Iniziativa collaborativa internazionale.
- ▶ **Avni et al. (2017)**. Assemblaggio del genoma di riferimento per il *T. dicoccoides* Zavitan.
- ▶ **Vendramin et al. (2019)** Mappatura di marcatori molecolari SNP in frumento duro.
- ▶ **Maccaferri et al. (2019)**. Assemblaggio del genoma di riferimento per la cultivar Svevo e caratterizzazione della collezione *Tetraploid Germplasm Collection* (TGC). Iniziativa collaborativa internazionale.
- ▶ **Mazzucotelli et al. (2020)**. Caratterizzazione della collezione *Global Durum Panel* (GDP). Iniziativa collaborativa internazionale.
- ▶ **Viviani et al. (2025)**. Excursus delle azioni prioritarie da mettere in campo per la resistenza ad FHB in frumento duro.

5. Applicazione della tecnica innovativa di mutagenesi indotta accoppiata alle tecniche molecolari e di sequenziamento genico (TILLING). Silenziamento genico. Editing genetico.

Applicazione delle Tecniche di Evoluzione Assistita (TEA)

- ▶ **Sestili et al. (2010), Lafiandra et al. (2010), Botticella et al. (2011)**. Utilizzo della mutagenesi e della tecnica TILLING per indurre nuovi alleli ai geni della biosintesi dell'amido.
- ▶ **Sestili et al. (2010)**. Utilizzo della tecnica di *RNA interference* per modificare il contenuto di amilosio in frumento duro (gene *SBEIIa*).
- ▶ **Colasuonno et al. (2016)**. Screening della popolazione mutagenizzata di Marco Aurelio tramite tecnica DHPLC.
- ▶ **Bovina et al. (2014)**. Sviluppo di una popolazione TILLING in frumento duro Svevo.
- ▶ **Sestili et al. (2015)**. Mutanti TILLING per alto amilosio.
- ▶ **Sestili et al. (2019)**. *RNA interference* per silenziare il gene *GW2* ed ottenere un aumento della dimensione delle cariossidi.
- ▶ **Camerlengo et al. (2020)**. Editing delle α -*Amylase/Trypsin Inhibitors* (ATI) per ridurre il potenziale allergico del frumento duro.
- ▶ **Frittelli et al. (2023a;b)**. Silenziamento tramite TILLING dei geni *inositol pentakisphosphate 2-kinase 1* (*TdIPK1*) e *Multidrug Resistance-Associated Protein 3* (*MRP3*) coinvolti nella biosintesi e nel trasporto dell'acido fitico e aumento della concentrazione dei micronutrienti in frumento duro.
- ▶ **Sestili et al. (2019), Garcia Molina et al. (2021) e Palombieri et al. (2025)**. Mutanti TILLING nei geni *licopene ϵ -ciclasi* e *β -idrossilasi 1*, e la loro combinazione tramite *pyramiding*, per aumentare il contenuto di β -carotene e per modificare il metabolismo dei carotenoidi nel frumento duro.
- ▶ **D'Attilia et al. (2026)**. Ricombinazione intragenica ed overespressione del gene *TONNEAU1b* che controlla la divisione cellulare e aumenta la dimensione delle cariossidi.
- ▶ **Frittelli et al. (2025)**. Miglioramento delle prestazioni agronomiche del frumento duro ad alto contenuto di amilosio.

6. Applicazioni di fenomica e di *speed-breeding* alla caratterizzazione dei materiali di *breeding*

- ▶ **Casadesus et al. (2007)**. Rilevazione di indici di vegetazione dai plot di frumento in esperimenti di campo a diversa disponibilità idrica.

- ▶ **Condorelli *et al.* (2018)**. Applicazione comparativa di remote sensing con rilevamento di indici multi-spettrali della *canopy* simultaneamente da drone e da phenomobile. Mappatura per associazione dei loci che controllano gli indici di vegetazione.
- ▶ **Groli *et al.* (2024)**. Caratterizzazione fenotipica dettagliata di germoplasma di frumento duro in condizioni di stress da caldo controllato durante il ciclo vegetativo.
- ▶ **Fania *et al.* (2025)**. Utilizzo degli indici di vegetazione per la differenziazione dei genotipi in relazione alla loro performance agronomica.

7. Applicazioni di Selezione Genomica

- ▶ **Crossa *et al.* (2016)**. Integrazione della interazione genotipo × ambiente nei modelli di predizione genomica e di GWAS.
- ▶ **Montesinos-Lopez *et al.* (2019)**. Applicazione di modelli multi-tratto e multi-ambientali nella analisi di predizione genomica con applicazioni di *deep learning*.
- ▶ **Vitale *et al.* (2024)**. Predizione genomica di caratteri agronomici in frumento duro.
- ▶ **Crossa *et al.* (2025)**. Utilizzo dei big data e della AI nella selezione genomica.
- ▶ **Puglisi *et al.* (2025)**. Modelli di predizione genomica che incorporano gli alleli ai loci *Vrn*, *Ppd*, e *Rht*.

8. Applicazioni di trascrittomica, metabolomica e proteomica, integrazione delle -omiche

- ▶ **Aprile *et al.* (2009)**. Studio della trascrittomica in risposta a stress idrico terminale.
- ▶ **Laino *et al.* (2010)**. Studio del proteoma delle cariossidi di Svevo in risposta a stress da caldo.
- ▶ **Mastrangelo *et al.* (2012)**. Studio dello *splicing* alternativo in risposta agli stress.
- ▶ **Curci *et al.* (2017)**. Studio della risposta del trascrittoma alla ridotta disponibilità di azoto.
- ▶ **Zuluaga *et al.* (2017, 2018)**. Studio dei microRNA in risposta a ridotta disponibilità di azoto.
- ▶ **Curci *et al.* (2018)**. Studio dei geni per l'asparagina sintetasi *SsnS1* e *AsnS2* in frumento duro e loro espressione in risposta a ridotta disponibilità di azoto.
- ▶ **Fanelli *et al.* (2023)**. Metabolomica della risposta a FHB di materiali portatori della introgressione da *Thinopyrum elongatum* con il gene di resistenza *Fhb7E*.
- ▶ **Pieri *et al.* (2024), Beleggia *et al.* (2024)**. Risposta del trascrittoma e del metaboloma dei frumenti tetraploidi attraverso il processo di domesticazione in risposta alla disponibilità di azoto.

PRIN – Progetti di Ricerca di rilevante Interesse Nazionale

Risultati della ricerca finanziata

PanWheatGrain

Grain Pangenomics for Durum Wheat Sustainable Production

Titolo del Progetto (in italiano): Il pangenoma dei frumenti tetraploidi per la produzione sostenibile del frumento duro

Coordinatori: Roberto Tuberosa, *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari) e Michele Morgante, Università degli Studi di Udine (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari)

Unità Operative

- *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari): Cristian Forestan, Matteo Bozzoli, Lorenzo Pancaldi, Chiara Cappucci, Muhammad Awais Farooq, Marco Maccaferri, Roberto Tuberosa
- Università degli Studi di Udine (Dipartimento di Scienze AgroAlimentari, Ambientali ed Animali): Michele Morgante
- Università degli Studi della Tuscia (Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali): Francesco Sestili, Samuela Palombieri, Stefania Masci
- Consiglio Nazionale delle Ricerche (Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria): Aldo Ceriotti, Raul Pirona, Roberto Consonni, Laura Ruth Cagliani, Antonella Caterina Boccia, Elahe Tavakol, Gabriella Sonnante, Pasquale Luca Curci
- Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria (Centro di Ricerca Genomica e Bioinformatica): Luigi Cattivelli, Cristina Crosatti, Raffaella Battaglia

INTRODUZIONE

Il **frumento duro** rappresenta una coltura strategica per l'Italia e per l'area mediterranea, per il suo valore economico e culturale e perché costituisce la base della **filiera della pasta**, uno dei simboli più riconosciuti del **Made in Italy** agroalimentare. In un contesto caratterizzato da cambiamenti climatici, instabilità produttiva e crescente pressione per la riduzione degli input agricoli (fertilizzanti e fitofarmaci), **il miglioramento genetico rappresenta lo strumento chiave per garantire sostenibilità, sicurezza alimentare e competitività.**

I recenti progressi nella genomica del frumento duro, culminati nel sequenziamento del genoma di riferimento, aprono oggi la strada a una nuova fase: la costruzione di un pangenoma dei frumenti tetraploidi, capace di valorizzare l'intera **diversità genetica** disponibile nei frumenti duri e nei loro progenitori e di **accelerare lo sviluppo di varietà più resilienti, efficienti e rispondenti alle esigenze della filiera italiana della pasta.** Negli ultimi decenni, i programmi di miglioramento genetico hanno privilegiato un nu-

mero relativamente limitato di genotipi élite, selezionati per l'elevata resa in condizioni agronomiche ottimali. Questo approccio ha determinato un progressivo restringimento della variabilità genetica, riducendo le risorse disponibili per affrontare nuove pressioni ambientali e climatiche.

LE NUOVE SFIDE PER IL MIGLIORAMENTO GENETICO DEL FRUMENTO DURO: CLIMA E SOSTENIBILITÀ

Il sistema produttivo del frumento duro è oggi sottoposto a pressioni crescenti dovute ai cambiamenti climatici, che comportano:

- a. inverni sempre più miti**, che riducono il tempo e le condizioni favorevoli allo sviluppo dei cereali autunno-vernini;
- b. periodi di siccità più lunghi e svincolati dalla stagionalità**, che possono verificarsi in qualsiasi fase del ciclo colturale, inclusi lo sviluppo vegetativo e la botticella-floritura;
- c. ondate di calore più frequenti** durante il riempimento della cariosside, associate a stress idrico, con effetti negativi su resa e qualità;
- d. una rapida evoluzione delle popolazioni di patogeni**, favorita dagli inverni miti e dalle attività umane, con un aumento della frequenza e dell'intensità degli episodi epidemici.

Parallelamente, le strategie agricole europee (*Green Deal, Farm to Fork*) promuovono una riorganizzazione delle pratiche agronomiche verso la sostenibilità, imponendo una riduzione degli input, in particolare dei fertilizzanti azotati e dei fitofarmaci, con impatti diretti su resa, contenuto proteico e rischio fitosanitario. **In questo contesto, varietà geneticamente più efficienti e resilienti diventano essenziali per mantenere produttività e qualità riducendo l'uso di input esterni.**

LA COMPLESSITÀ GENOMICA DEL FRUMENTO DURO

Il frumento duro possiede un **genoma tetraploide** di grandi dimensioni (circa 10,5 Gb), estremamente ricco di sequenze ripetute. Il suo genoma è circa 3,5 volte più grande di quello umano e presenta quattro copie di ciascun cromosoma. Questa complessità ha rallentato per decenni lo sviluppo di risorse genomiche avanzate; tuttavia, i recenti progressi tecnologici hanno permesso di superare tali limiti, anche grazie alle esperienze maturate sul frumento tenero.

IL GENOMA DI RIFERIMENTO: UNA SVOLTA PER IL FRUMENTO DURO

Il sequenziamento e l'annotazione del genoma di riferimento del frumento duro (Maccaferri *et al.*, 2019) hanno rappresentato una svolta, fornendo una base solida per l'identificazione di geni associati alla qualità della semola e della pasta, allo studio delle risposte genetiche a stress abiotici e biotici e allo sviluppo di marcatori molecolari per la selezione assistita.

Questa risorsa ha favorito l'integrazione della genomica nei programmi di *breeding*, riducendo tempi e costi rispetto alla selezione tradizionale, ma ha anche evidenziato alcuni limiti. Un singolo genoma di riferimento descrive infatti una sola varietà (Svevo) e non cattura l'intera diversità genetica di *Triticum turgidum*, **specie caratterizzata da una storia evolutiva complessa che include poliploidia, domesticazione multipla ed elevata variabilità intra-specifica.**

Numerose varietà tradizionali e locali, italiane e mediterranee o originarie del Corno d'Africa, del Nord Africa e del Vicino Oriente, conservano tratti utili per l'adattamento a condizioni marginali. Inoltre, varianti genetiche rilevanti per la resistenza ai patogeni e per l'efficienza nutrizionale risultano assenti nel genoma di riferimento.

Box 1**Wild relatives e landraces: cosa sono e perché sono cruciali per il pangenoma****Parentali selvatici (Crop Wild relatives)**

I *wild relatives* sono le specie o popolazioni strettamente imparentate con le colture domestiche, che crescono in ambienti naturali e non sono state selezionate dall'uomo. Nel caso del frumento duro, includono forme selvatiche come il farro selvatico (*Triticum dicoccoides*), progenitore diretto dei frumenti tetraploidi.

Questi materiali genetici non hanno subito i colli di bottiglia genetici della domesticazione, presentano quindi un'elevata diversità genetica e strutturale e sono spesso portatori di geni per resistenza a stress ambientali estremi.

Nel pangenoma, i *wild relatives* permettono di identificare geni "perduti" durante la domesticazione avvenuta ad opera degli uomini e delle donne del Neolitico, esplorando regioni genomiche assenti nelle varietà coltivate.

Varietà tradizionali locali, ecotipi o Landraces

Le *landraces* sono popolazioni coltivate selezionate nei secoli dagli agricoltori in specifici contesti ambientali e culturali. A differenza delle varietà moderne, sono geneticamente eterogenee e fortemente adattate ai territori di origine. Le *landraces* rappresentano un passaggio evolutivo chiave tra *wild relatives* e cultivar moderne, mostrando generalmente elevata stabilità produttiva in condizioni ambientali variabili grazie all'integrazione tra adattamento locale e qualità tecnologica.

Nel contesto pangenomico, le *landraces* consentono di collegare la diversità genetica ancestrale a tratti agronomici già compatibili con i sistemi produttivi attuali.

L'inclusione sistematica di *wild relatives* e *landraces* nella costruzione del pangenoma consente non solo di ampliare in modo significativo lo spazio genetico analizzabile, ma anche di identificare varianti funzionali di elevato valore applicativo, facilitando il trasferimento mirato di alleli utili nei programmi di miglioramento genetico.

In questo scenario di sfide complesse si inserisce il progetto **PanWheatGrain (Grain Pangenomics for Durum Wheat Sustainable Production)**, finanziato dal Ministero dell'Università e della Ricerca nell'ambito del PRIN 2020, che nasce dalla fondamentale consapevolezza che **la biodiversità genetica del frumento tetraploide costituisce una risorsa strategica ancora largamente sottoutilizzata**. L'obiettivo non è stato soltanto descrivere questa diversità, ma renderla operativa, integrandola in strumenti genomici avanzati in grado di supportare un nuovo paradigma di selezione: più informata, più sostenibile, più resiliente, capace di adattarsi ai cambiamenti con efficienza e velocità.

OLTRE IL GENOMA DI RIFERIMENTO: PERCHÉ NON BASTA

L'approccio del **pangenoma** rappresenta un'evoluzione sostanziale nello studio e nel miglioramento genetico delle colture, poiché consente di superare i limiti del singolo genoma di riferimento e di descrivere in modo sistematico la massima variabilità genetica di una specie o di specie sessualmente compatibili. Il pangenoma si basa sul sequenziamento e sull'analisi di numerosi genomi per identificare varianti genetiche strutturali e nucleotidiche. In questo contesto, parenti selvatici e *landraces* del frumento duro assumono un ruolo strategico. I *wild relatives* ancestrali (come *Triticum urartu*, *Aegilops speltoides* e *Triticum dicoccoides*, Box 1) conservano una ricchezza di alleli e varianti strutturali assenti nel germoplasma moderno, spesso associati a tolleranza agli stress e a una maggiore efficienza d'uso delle risorse. Le *landraces*, frutto di secoli di selezione locale, rappresentano invece un ponte evolutivo tra forme selvatiche e cultivar moderne, combinando adattamento ambientale, stabilità produttiva e qualità tecnologica. In questa prospettiva, il pangenoma diventa uno strumento operativo per valorizzare la biodiversità agricola come leva centrale per l'innovazione e la sostenibilità.

OBIETTIVI

Il progetto **PanWheatGrain** si è posto l'obiettivo di rispondere a una domanda cruciale: **“Come valorizzare la biodiversità genetica del frumento tetraploide per rendere la produzione più sostenibile, senza compromettere resa e qualità?”**.

Il progetto ha contribuito in modo sostanziale a posizionare l'Italia in una leadership scientifica internazionale, coordinando un consorzio internazionale di ricercatori che hanno collaborato alla costruzione del pangenoma dei frumenti tetraploidi, una **risorsa genomica avanzata destinata a influenzare profondamente le future strategie di miglioramento genetico e di innovazione nella filiera cerealicola**.

RISULTATI

IL PROGETTO PANWHEATGRAIN: CATALOGARE E RAPPRESENTARE LA DIVERSITÀ GENETICA DEI FRUMENTI TETRAPLOIDI

La costruzione di un pangenoma richiede una scelta strategica: quali genotipi includere. Non si tratta di una selezione casuale, ma di un processo guidato da criteri scientifici finalizzati a **massimizzare la rappresentatività della diversità genetica con un numero gestibile di genomi di riferimento**.

L'obiettivo del progetto è stato lo sviluppo di un “*pangenoma core*”, capace di catturare la variabilità genetica associata a tratti di interesse agronomico e rappresentare l'intero *continuum* evolutivo del frumento tetraploide, dalle forme selvatiche, alle varietà locali fino alle cultivar moderne perché potesse fungere da base per analisi comparative, funzionali e applicative.

Il punto di partenza è stata la costituzione di una “*Tetraploid Core Collection*” composta da circa 450 accessioni, comprendente sia varietà moderne con elevate potenzialità produttive, ma anche *landraces* storiche, farri domestici e forme selvatiche ancestrali.

Questa collezione è stata coltivata e caratterizzata in pieno campo e in ambiente protetto (serra o fitotroni) per valutarne i tratti legati a resa, qualità del seme, efficienza d'uso dell'azoto, resistenza a malattie o a stress. I risultati hanno evidenziato un'elevata variabilità di questi caratteri, confermando il valore del germoplasma non domesticato come riserva genetica strategica per l'agricoltura sostenibile (Fig. 1).



Figura 1 | Caratteri fenotipici fenotipizzati nella collezione di frumenti tetraploidi.

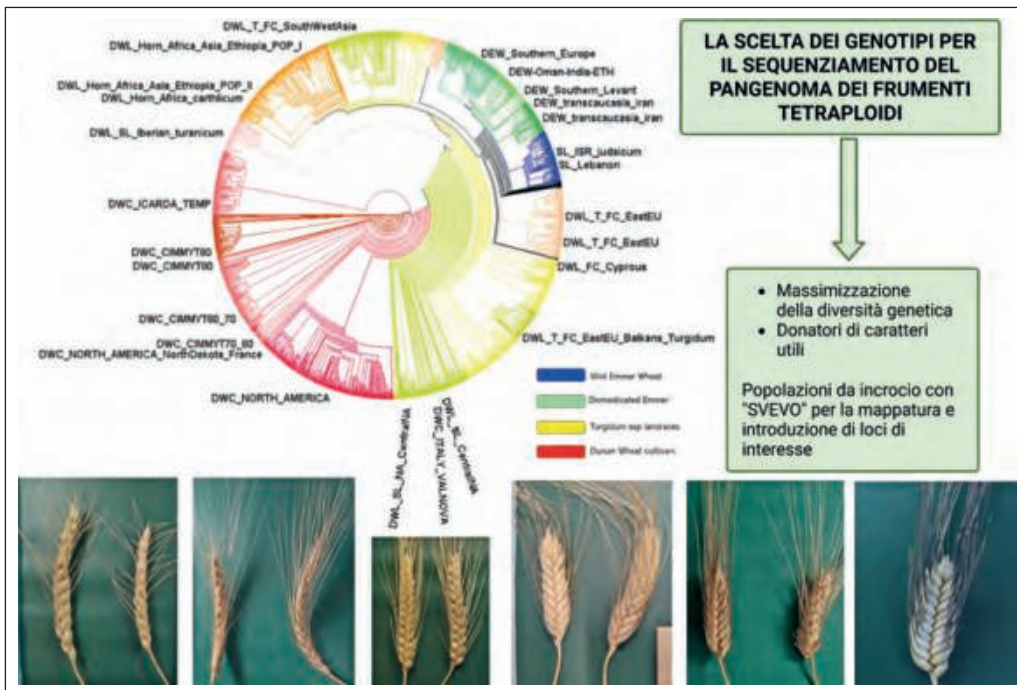


Figura 2 | Albero evolutivo dei frumenti tetraploidi e selezione dei genotipi per il pangenoma.

Sulla base dei dati genetici e fenotipici sono state selezionate 40 accessioni per massimizzare la diversità genetica di specie di frumento tetraploidi sessualmente compatibili e coprire l'intero spettro evolutivo dei frumenti tetraploidi (Fig. 2) e tra queste, le dieci accessioni riportate in Tabella 1, che rappresentano la parte centrale, il *core* e il punto di partenza del progetto pangenoma dei frumenti tetraploidi.

L'obiettivo non è stato quello di individuare i genotipi "migliori", ma quelli più informativi, in grado di rivelare differenze strutturali, funzionali e regolative nel genoma. In que-

Tabella 1 - Elenco e descrizione dei 10 genotipi inclusi nel pangenoma "core".

Accessione	Sottospecie	Status e caratteristiche principali
Zavitan	<i>dicoccoides</i>	Parentale selvatico, genoma di riferimento per farro selvatico
Lucanica	<i>dicoccum</i>	Farro domesticato, molto rustico, alto fabbisogno di vernalizzazione, resistente alla Septoria
98EP2	<i>aethiopicum</i>	Landrace etiopica, resistente alle ruggini
LD264	<i>turanicum</i>	Landrace mediterranea appartenente al sottogruppo dei frumenti Korasan
AUS28244	<i>turgidum</i>	Landrace balcanica, caratterizzata da alta fertilità della spiga
Senatore Cappelli	<i>durum</i>	Landrace nord-africano, fondatore dei frumenti teneri moderni
Claudio	<i>durum</i>	Cultivar moderna, resistente a stress idrico
MarcoAurelio	<i>durum</i>	Cultivar moderna, con elevato contenuto di proteine nella granella ma suscettibile alla ruggine gialla
AltarC84	<i>durum</i>	Cultivar moderna, resistente a ruggine gialla e molto utilizzata nei programmi di miglioramento del CYMMYT
Svevo	<i>durum</i>	Cultivar moderna, genoma d riferimento per frumento duro

sto senso, il pangenoma *core* diventa uno strumento di conoscenza strategica, un bacino di variabilità genetica e non un elenco di varietà élite.

IL PROGETTO PANWHEATGRAIN: UN'INFRASTRUTTURA GENOMICA DI LIVELLO INTERNAZIONALE

Il cuore tecnologico del progetto è stato il **sequenziamento e l'assemblaggio dei genomi** di otto delle accessioni selezionate (di Svevo e Zavitan, infatti, il genoma era già disponibile in quanto riferimenti per il frumento duro e il farro selvatico, rispettivamente). Gli otto genomi *core* sono stati sequenziati e assemblati a livello di **qualità "gold"** applicando le **tecnologie e gli algoritmi informatici più avanzati e accurati** (Box 2) per ricostruire le sequenze complete dei singoli cromosomi.

Le sequenze genomiche stanno consentendo di identificare varianti genetiche e strut-

Box 2

Tecnologie per il sequenziamento e l'assemblaggio dei genomi complessi

Per ottenere un genoma di qualità "*gold standard*", soprattutto in specie con genomi grandi, poliploidi e ricchi di ripetizioni come il frumento duro, non è sufficiente utilizzare solo tecnologie di sequenziamento tradizionali. Il progetto PanWheatGrain ha sfruttato una combinazione di tre tecnologie avanzate che, integrate tra loro, consentono di ottenere assemblaggi completi e accurati.

Sequenziamento PacBio HiFi

La **tecnologia PacBio HiFi** è una forma di sequenziamento del DNA di **terza generazione** che genera sequenze lunghe e ad alta accuratezza (fino a decine di migliaia di basi per ciascuna lettura). Queste sequenze consentono di superare i problemi posti dalle **sequenze ripetute** e dalle **regioni complesse** tipiche dei grandi genomi vegetali, facilitando l'**assemblaggio *de novo* di sequenze contigue più lunghe e più corrette**. Inoltre, la tecnologia PacBio permette di rilevare **varianti strutturali** e differenze tra copie di cromosomi in genomi poliploidi con elevata precisione.

Mappe ottiche Bionano

Le **mappe ottiche Bionano** sono una tecnologia complementare che genera **mappe fisiche del DNA molto lunghe** (centinaia di migliaia di basi e oltre) basate sull'etichettatura di sequenze specifiche lungo molecole di DNA intere. Queste mappe non danno sequenze di basi, ma schemi di segnali sulla molecola che consentono di confermare l'ordine e l'orientamento delle sequenze contigue ottenute dal sequenziamento e unirle in strutture più grandi con informazioni di posizionamento a livello cromosomico, mettendo in luce la presenza di grandi varianti strutturali difficili da rilevare solo con il sequenziamento. Le mappe Bionano sono quindi uno strumento essenziale per collegare e correggere le regioni complesse e ripetute del genoma.

Hi-C per catturare la conformazione della cromatina e collegare il genoma tridimensionale

Hi-C è una tecnica basata sulla cattura conformazionale della cromatina, che **cattura quindi le interazioni fisiche tra segmenti di DNA che si trovano vicini nello spazio tridimensionale del nucleo cellulare**, ma non necessariamente contigui nel sequenziamento lineare della sequenza. Quando i frammenti interagenti vengono sequenziati, queste informazioni vengono usate per risolvere l'**organizzazione generale del genoma a livello di cromosoma**. Hi-C è particolarmente utile per ottenere assemblaggi a livello di cromosoma completo, perché fornisce **informazioni di connessione molto a lungo raggio tra regioni distanti del genoma**, consentendo di stabilire quali contigui appartengono allo stesso cromosoma e come si connettono tra loro.

Integrazione delle tecnologie

Nell'assemblaggio moderno dei genomi complessi, PacBio HiFi, Bionano mappe e Hi-C non sono alternative ma **strumenti complementari**:

- PacBio costruisce le basi dell'assemblaggio con letture accurate e lunghe;
- Bionano fornisce mappe lunghe che confermano e ordinano le sequenze;
- Hi-C organizza le contigs su scala cromosomica, associando *contigs* alla struttura fisica dei cromosomi.

Questa combinazione assicura che il genoma assemblato sia completo, coerente e fedele alla struttura reale dei cromosomi, anche nei casi più complessi come i genomi ripetitivi dei frumenti tetraploidi.

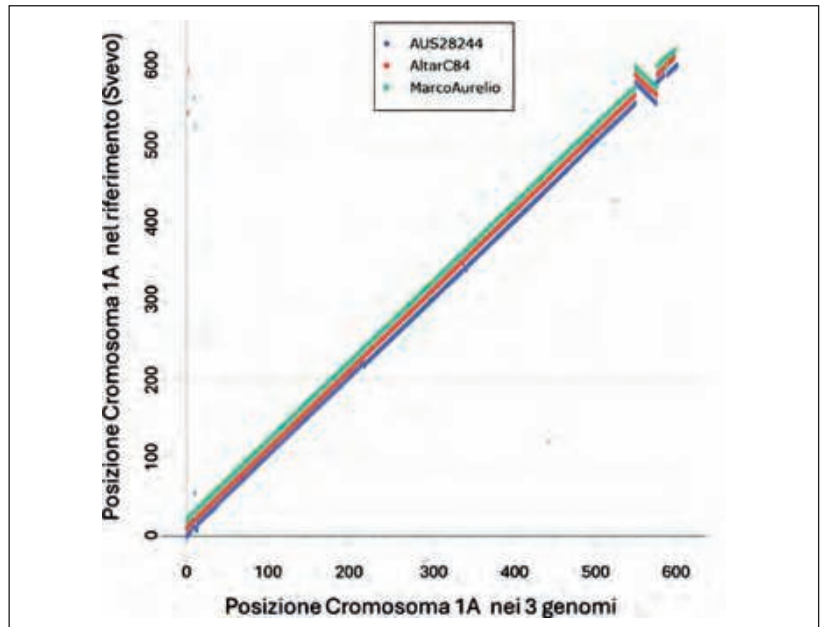


Figura 3 | Confronto multi-genoma mediante *dot plot* che evidenzia una grande inversione sul cromosoma 1A nelle accessioni AUS28244, AltarC84 e Marco Aurelio rispetto all'assemblaggio di riferimento Svevo Rel2.0.

turali rilevanti e confrontare genotipi moderni e ancestrali alla ricerca di variabilità genetica utile ai fini del miglioramento genetico. Come dimostrazione, si vede in Figura 3 la presenza di una grande inversione sul cromosoma 1A delle accessioni AUS28244, AltarC84 e MarcoAurelio rispetto al riferimento Svevo.

I dieci genomi di frumenti tetraploidi sono successivamente diventati la base su cui i partner di **PanWheatGrain** hanno costruito e contribuito a coordinare una collaborazione internazionale che ha portato a sequenziare e assemblare l'intera selezione dei 40 genomi di frumenti tetraploidi (Tab. 2) usando un approccio metodologico condiviso. L'Italia ha svolto un ruolo chiave nella governance scientifica del **Tetraploid Pangenome Project**, che include tra gli altri, Università di Saskatchewan (Canada), Earlham Institute (UK), Helmholtz Zentrum München (Germania), Murdoch University (Australia), Corteva (USA), USDA (USA), University of Arizona (USA) e Kansas State University (USA), rafforzando il proprio posizionamento nel panorama Internazionale della genomica vegetale.

Tabella 2 - Composizione finale del pangenoma del frumento tetraploide.

Genotipi	Numero
Cultivar di frumento duro moderno	12
<i>T. turgidum</i> landraces incluso <i>T. durum</i> , <i>turgidum</i> , <i>carthlicum</i> , <i>turanicum</i> , <i>aethiopicum</i>	10
<i>T. dicoccum</i>	7
<i>T. dicoccoides</i>	8
<i>T. timopheevi</i> e <i>T. urartu</i>	2 + 1
Totale	40

Il **Tetraploid Pangenome Project**, con il doppio contributo italiano di **PanWheatGrain** e del progetto **AGRITECH – National Research Centre for Agricultural Technologies**, ha realizzato nel 2025 il sequenziamento a livello 'gold' con tecnologia 'long read' e mappe ottiche bionano di ben 40 genomi rappresentativi della diversità ge-

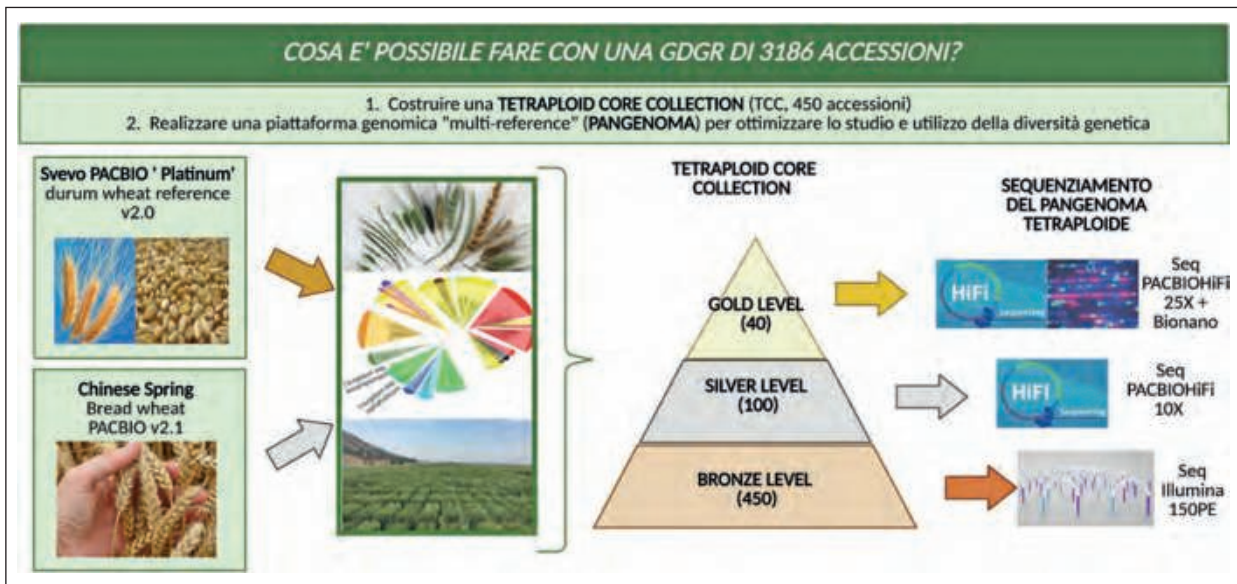


Figura 4 | La piramide del pangenoma tetraploide.

netica dei frumenti tetraploidi, mentre altri 100 genomi sono in corso di sequenziamento a più bassa copertura, con l'intento di sequenziare infine l'intera "*Tetraploid Core Collection*" per la costruzione della piramide del pangenoma tetraploide (Fig. 4).

IL PROGETTO PANWHEATGRAIN: LA TRASCRITTOMICA COME CHIAVE PER COMPRENDERE IL FUNZIONAMENTO DEL PANGENOMA

Se il pangenoma descrive l'insieme complessivo dei geni disponibili, la **trascrittomica** (il sequenziamento massivo del trascrittoma, RNA messaggero) consente di capire **quando, dove e in che misura questi geni vengono espressi e quindi utilizzati dalla pianta**. Nel progetto PanWheatGrain, l'analisi trascrittomica è stata concepita come un elemento centrale per collegare la variabilità genomica alle differenze fenotipiche osservate. L'attenzione si è concentrata sullo sviluppo della cariosside, una fase cruciale in cui si determinano: **l'accumulo di amido e proteine, la dimensione finale del seme e la quantità e qualità tecnologica della produzione**.

I dieci genotipi del pangenoma *core* sono stati coltivati in condizioni di crescita controllate e applicando due diversi livelli di fertilizzazione azotata (ottimale, corrispondente a 150U/ha e ridotto, 50U/ha di azoto). Da tutte le accessioni, nelle due diverse condizioni di crescita, sono stati raccolti 4 diversi campioni biologici, corrispondenti a ovari maturi pre-fecondazione, semi in fase precoce di accrescimento (5 giorni dopo la fecondazione), semi in fase di accrescimento rapido pre-accumulo di sostanza secca (10 giorni dopo la fecondazione) e cariossidi in pieno accumulo di sostanze di riserva con endosperma cereoso (15 giorni dopo la fecondazione). Tutti i campioni biologici sono stati raccolti in tre repliche biologiche e l'analisi trascrittomica è stata condotta con sequenziamento Illumina, che ha consentito di stimare l'espressione di tutti i geni del genoma delle singole accessioni nelle diverse condizioni di crescita e stadi di sviluppo.

Questo disegno sperimentale, orientato alla produttività e sostenibilità, integrato con diversi approcci statistici, ha permesso di identificare:

a. i geni con espressione genotipo-specifica (quale risultato di possibili variazioni strutturali a livello genomico);

- b. i geni regolati in modo differenziale durante lo sviluppo del seme nei diversi genotipi;**
c. in particolare, i geni che rispondono in maniera differenziale alla fertilizzazione azotata nei diversi genotipi analizzati.

IL PROGETTO PANWHEATGRAIN: I GENI CORE, SHELL E CLOUD PER UNA NUOVA LETTURA FUNZIONALE DEL PANGENOMA

Integrando i dati strutturali e trascrittomici generati per il pangenoma, i geni sono stati classificati sulla base della loro espressione genotipo-specifica durante le diverse fasi di sviluppo e condizioni di crescita. I geni sono stati infatti classificati in tre categorie (Box 3): **core**, espressi in tutti i genotipi, **shell** espressi solo in una parte delle accessioni e **cloud**, specifici di singoli genotipi.

Un risultato di particolare rilievo è che i geni **shell risultano maggiormente correlati con funzioni biologiche estremamente importanti** come la regolazione dello sviluppo, la risposta ormonale e agli stimoli ambientali e soprattutto la regolazione dell'accumulo di sostanze di riserva nel seme.

Questo indica che **le differenze funzionali più rilevanti tra genotipi non risiedono nei geni "di base", ma nei geni variabili**, che rappresentano un bacino privilegiato di innovazione per il miglioramento genetico.

Box 3

Geni *core*, *shell* e *cloud* nel pangenoma

Nel contesto di un pangenoma, cioè l'insieme di tutti i geni presenti nei diversi individui di una specie, è utile classificare i geni in base alla loro frequenza di presenza ed espressione tra i genomi analizzati. Questo permette di capire quali elementi genetici sono fondamentali, quali sono variabili e quali sono unici o rari.

Geni fondamentali (*core*)

I geni *core* sono presenti in tutti i genomi considerati nel pangenoma. Rappresentano il cosiddetto "set fondamentale" di funzioni biologiche condivise da tutti gli individui di una specie.

Questi geni tipicamente controllano processi cellulari essenziali e mantengono le funzioni di base necessarie per la crescita, il differenziamento e la sopravvivenza dell'organismo. Pertanto, nel pangenoma sono considerati il nucleo stabile dell'identità genetica della specie.

Geni variabili (*shell*)

I geni *shell* sono presenti in una parte significativa dei genomi, ma non in tutti. Questi geni variano tra i genotipi e sono spesso associati a adattamenti ambientali o risposte a condizioni specifiche, ovvero funzioni che non sono essenziali in tutti gli individui ma conferiscono vantaggi in contesti particolari.

I geni *shell* sono estremamente importanti in un'ottica di miglioramento genetico perché riflettono la variabilità adattativa intermedia tra i genomi.

Geni unici o privati (*cloud*)

I geni *cloud* sono quelli presenti in pochissimi o in un singolo genotipo all'interno dell'insieme studiato. Possono comprendere geni unici o rari, varianti specifiche di popolazioni o singole linee, elementi genetici associati a caratteristiche eccezionali, acquisite recentemente o perse precocemente durante le prime fasi di domesticazione di una specie coltivata.

I geni *cloud* costituiscono la parte più dinamica e diversificata del pangenoma, spesso associata all'adattamento rapido e alla specializzazione.

Questa classificazione in *core*, *shell* e *cloud* è importante perché aiuta a distinguere tra funzioni fondamentali e varianti adattative e a identificare geni legati a tratti agronomici rilevanti come resistenza a stress, efficienza d'uso dell'azoto o qualità del seme, per valorizzare la diversità genetica di *wild relatives* e *landraces*, dove molti geni *shell* o *cloud* possono essere fonti di innovazione genetica ancora non presenti nelle varietà moderne.

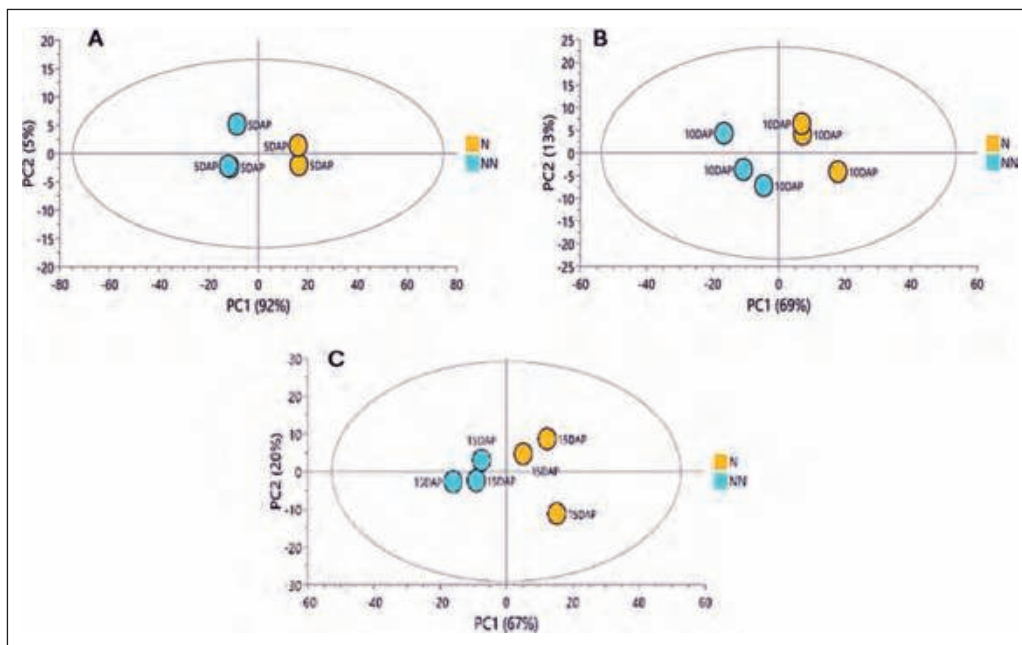


Figura 5 | Risultati dell'analisi PCA dell'espressione genica del genotipo Lucanica in condizioni ottimali e non ottimali di azoto (N and NN). A) a 5DAP, B) a 10 DAD, C) a 15 DAP.

IL PROGETTO PANWHEATGRAIN: IDENTIFICAZIONE DELLA DIVERSA COMPOSIZIONE METABOLICA DELLA GRANELLA

Oltre ad una caratterizzazione genetica, sono stati analizzati i **profili metabolomici** (tramite Risonanza Magnetica Nucleare) dei semi maturi a due differenti livelli di azoto (ottimale e sub-ottimale). Per identificare i metaboliti che mostrano una risposta all'apporto o meno di azoto, abbiamo analizzato separatamente ogni genotipo in ciascuna fase di sviluppo, la risposta all'apporto di azoto è evidente in alcuni genotipi e meno in altri. In generale, **la risposta all'azoto è più marcata a 15 DAP**. La separazione dei campioni in base all'apporto di azoto è evidente anche a 10 DAP, e meno a 5 DAP in alcuni genotipi. Un esempio di PCA sul genotipo Lucanica è riportato in Figura 5.

IL PROGETTO PANWHEATGRAIN: IMPLICAZIONI PER IL MIGLIORAMENTO GENETICO

L'integrazione di genomica, trascrittomica e metabolomica adottata in PanWheatGrain fornisce una base scientifica solida per migliorare l'efficienza d'uso dell'azoto, ridurre la dipendenza da fertilizzanti e fitofarmaci e selezionare varietà più resilienti agli stress ambientali.

In prospettiva, questa conoscenza contribuisce a un passaggio cruciale, ovvero quello dalla selezione empirica alla **selezione informata**, capace di integrare genomica, fisiologia e sostenibilità nei programmi di miglioramento genetico per le sfide dei prossimi anni.

IL PROGETTO PANWHEATGRAIN: DALLA CONOSCENZA ALL'INNOVAZIONE ATTRAVERSO EDITING GENETICO E BREEDING INFORMATO

Nell'ambito del progetto *PanWheatGrain*, l'integrazione tra analisi genomiche avanzate e tecnologie di *genome editing* ha rappresentato un passaggio chiave per tradurre la conoscenza genetica in strumenti concreti per il miglioramento del frumento duro. In par-

icolare, il progetto ha esplorato l'impiego di CRISPR/Cas9 per la validazione funzionale di geni e regolatori trascrizionali coinvolti nel controllo della resa, del tempo di fioritura e della qualità della granella, affrontando al contempo le sfide poste dalla natura poliploide del genoma del frumento duro.

Attraverso l'editing mirato di fattori di trascrizione appartenenti alle famiglie **bZIP**, **NAC** e **SPA**, nonché di potenziali regolatori negativi della resa quali **TdFUWA** e **TdCKX2.2**, sono state generate nuove varianti alleliche in grado di alterare specifici caratteri agronomici. In diversi casi, l'editing simultaneo degli omoalleli ha permesso di ottenere mutazioni stabili e trasmissibili, alcune delle quali hanno mostrato effetti fenotipici misurabili sul tempo di fioritura, sull'architettura della pianta e su componenti chiave della resa, confermando il ruolo centrale di questi geni nei network di regolazione dello sviluppo e dell'accumulo di riserve nella cariosside.

In particolare, per i geni TdFUWA- e TdCKX2.2 sono state generate mutazioni su entrambi gli omoalleli e le piante ottenute sono state caratterizzate fenotipicamente per l'epoca di fioritura ed i componenti della resa (numero di culmi, numero di spighe, numero di spighette per spiga, numero di semi per spiga, altezza della pianta) in confronto le piante *wild-type* della varietà Svevo (Fig. 6).

Come si può osservare in Figura 6 le piante editate identificate dalla sigla ML1 e ML2 fioriscono più tardi ed hanno foglie più corte e più strette del controllo (Svevo), questi tratti sono associati ad una crescita più rallentata ed a spighe più ridotte. Complessiva-

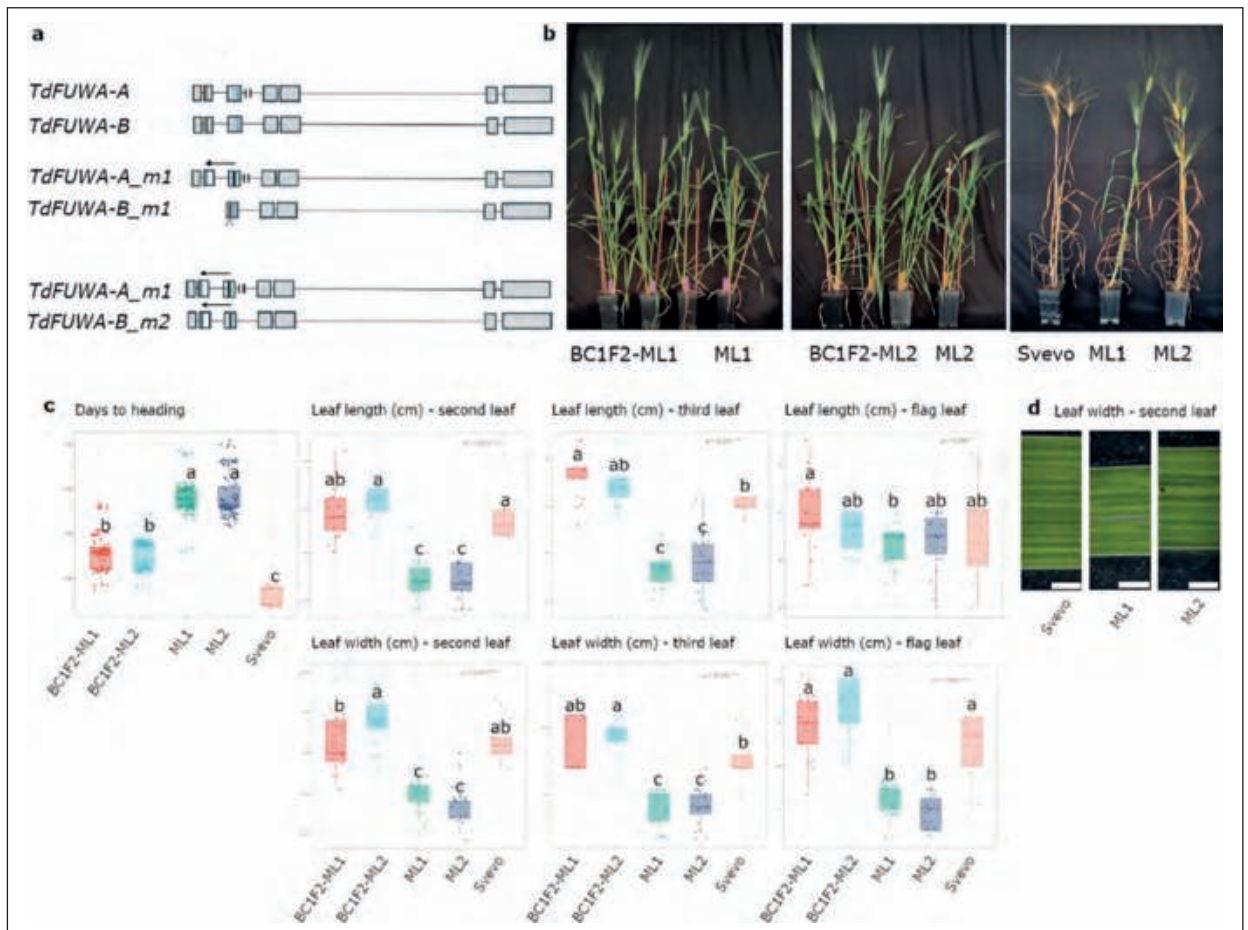


Figura 6 | Risultati del genome editing per il gene FUWA in frumento duro.

mente i risultati suggeriscono che il gene TdFUWA svolge diversi ruoli durante lo sviluppo della pianta regolando l'altezza e la dimensione della foglia, la lunghezza della spiga, il numero di fiori per spigetta e il numero di semi. TdFUWA agisce come un regolatore positivo di tutti i caratteri analizzati ad eccezione del numero di fiori per spigetta dove agire come regolatore negativo. Uno studio condotto in parallelo sul ruolo di TdFUWA nel *breeding* di frumento duro e frumento tenero ha dimostrato che specifiche varianti alleliche sono state selezionate, in modo empirico, durante il processo di miglioramento genetico di entrambe le specie, confermando il ruolo fondamentale di questo gene per la produzione (Dia Sow *et al.*, *Nature Plants*, 2025).

Parallelamente, le difficoltà riscontrate nell'editing di alcuni geni essenziali, come i membri della famiglia NAC, hanno fornito indicazioni preziose sulla loro possibile funzione vitale, evidenziando come l'assenza di mutanti rappresenti essa stessa un'informazione biologicamente rilevante. Questo approccio ha quindi consentito non solo di identificare alleli funzionali, ma anche di delineare vincoli genetici e fisiologici fondamentali per il miglioramento genetico del frumento duro.

Le attività di *genome editing* condotte nel progetto non erano finalizzate alla generazione immediata di nuove varietà commerciali, bensì alla costruzione di una **base di conoscenza funzionale solida**, indispensabile per orientare strategie di *breeding* assistito e di precisione. L'identificazione di alleli causali, la comprensione delle relazioni genotipo-fenotipo e la possibilità di disaccoppiare effetti pleiotropici indesiderati rappresentano infatti prerequisiti essenziali per ridurre i tempi di selezione e aumentare l'efficienza dei programmi di miglioramento genetico.

In questo quadro, PanWheatGrain si configura come un esempio di come il *genome editing*, integrato con approcci pangenomici e fenotipici, possa fungere da ponte tra ricerca di base e applicazione, contribuendo allo sviluppo futuro di varietà di frumento duro più resilienti, sostenibili e pienamente coerenti con gli obiettivi ambientali e produttivi definiti dalle politiche agricole europee.

IL PROGETTO PANWHEATGRAIN: IMPATTO SCIENTIFICO E PROSPETTIVE PER LE POLITICHE PUBBLICHE DELLA FILIERA DELLA PASTA

Il progetto PanWheatGrain dimostra come investimenti mirati nella ricerca genomica possano generare infrastrutture scientifiche di valore strategico, competenze avanzate e reti di collaborazione internazionale di alto profilo.

Dal punto di vista delle politiche pubbliche, i risultati del progetto PanWheatGrain rappresentano una risorsa chiave per sostenere la transizione verso un'agricoltura sostenibile, ma ad elevato contenuto tecnologico, e valorizzare la biodiversità agricola in accordo con il **Biodiversity Action Plan** europeo e rafforzare la competitività della filiera cerealicola italiana.

Il pangenoma dei frumenti tetraploidi rappresenta per il futuro una risorsa aperta e frutto della collaborazione tra partner internazionali, destinata a sostenere nel lungo periodo la sicurezza alimentare, la competitività della filiera e gli obiettivi di sostenibilità promossi a livello nazionale ed europeo ed internazionale.

WheatSustain

Deciphering the adaptive response of wheat for climate change mitigation

Titolo del Progetto (in italiano): Decifrare la risposta adattativa del frumento tenero e duro per la mitigazione del cambiamento climatico

Coordinatore: Marco Maccaferri, *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari)

Unità Operative

- *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari): Marco Maccaferri, Cristian Forestan
- Università degli Studi di Bari Aldo Moro (Dipartimento di Scienze del Suolo della Pianta e degli Alimenti): Agata Gadaleta, Sara Muciaccia
- Università degli Studi dell'Insubria (Dipartimento di Biotecnologie e Scienze della Vita): Candida Vannini, Guido Domingo, Marcella Bracale

INTRODUZIONE

L'agricoltura contemporanea si trova ad affrontare una delle fasi più complesse della sua storia. Da un lato, il cambiamento climatico sta rendendo sempre più frequenti condizioni estreme: periodi prolungati di siccità, temperature elevate e fenomeni meteorologici irregolari. Questi fattori mettono a rischio la stabilità produttiva e amplificano le preoccupazioni globali legate alla sicurezza alimentare. Dall'altro lato, la transizione ecologica richiede sistemi agricoli più efficienti e sostenibili, in linea con gli obiettivi europei del *Green Deal*, che punta a ridurre del 25% l'uso di fertilizzanti e fitofarmaci entro il 2030. In questo contesto, il frumento (*Triticum* spp.) assume un ruolo centrale. È la coltura più diffusa al mondo e fornisce circa il 20% delle calorie consumate dall'umanità. Il frumento tenero (*T. aestivum*), base della panificazione globale, è particolarmente vulnerabile agli stress climatici, mentre il frumento duro (*T. durum*), coltura strategica dei Paesi mediterranei, risente sempre più spesso della scarsità idrica. Per entrambe le specie, la sfida è chiara: sviluppare varietà più resilienti e capaci di utilizzare in modo più efficiente acqua e nutrienti.

Gli effetti negativi del cambiamento climatico sulla produzione di frumento sono ormai ben documentati. La siccità sta diventando più frequente e più intensa, influenzando la pianta in tutte le fasi del ciclo colturale e colpendo in modo particolarmente grave le aree dell'Europa meridionale e del bacino mediterraneo. Anche la gestione dell'azoto rappresenta un punto critico: se da un lato è essenziale per garantire alte rese, dall'altro un suo eccesso può generare impatti ambientali rilevanti attraverso emissioni gassose e perdite per lisciviazione. Il fosforo, anch'esso fondamentale per la crescita, è spesso un fattore limitante nei suoli agricoli e richiede quantità significative per garantire una crescita ottimale. Le piante rispondono a stress idrici e nutrizionali attraverso una rete complessa di meccanismi fisiologici e molecolari: modificano l'espressione genica, i profili ormonali e il metabolismo, adattando il proprio sviluppo alle condizioni ambientali. **Tuttavia, la vera sfida scientifica e agronomica è individuare varietà che, pur mantenendo un'elevata produttività, sappiano utilizzare meglio le risorse e tollerare condizioni avverse senza perdite importanti di resa.** Finora, molti studi si sono concentrati su stress singoli o estremi, spesso in condizioni di laboratorio che non riflettono la complessità del campo. In realtà, le piante affrontano combinazioni di stress e condizioni che si sviluppano nel lungo periodo, con risposte specifiche che non sempre emergono in studi semplificati. Esperimenti su altre specie hanno mostrato che solo una

parte dei geni attivi sotto uno stress isolato mantiene lo stesso comportamento quando gli stress si combinano, evidenziando la necessità di approcci più integrati.

Oggi, nuovi strumenti tecnologici stanno rivoluzionando il settore, infatti, la disponibilità di genomi di riferimento ad alta qualità sia per il frumento tenero sia per il duro, insieme ai recenti pangenomi basati sull'assemblaggio di più genotipi, offre una base senza precedenti per identificare i meccanismi funzionali che regolano resilienza, efficienza d'uso dei nutrienti e risposta agli stress. Allo stesso tempo, l'evoluzione delle tecniche di **network analysis** su geni e metaboliti permette di comprendere come le piante riorganizzino le proprie reti regolative in presenza di più fattori di stress.

In questo contesto, il progetto “Decifrare la risposta adattativa del grano per la mitigazione del cambiamento climatico – WheatSustain” mira a decifrare le complesse reti regolatorie alla base dell'uso efficiente delle risorse e delle risposte adattivi/plastiche alla carenza di acqua e nutrienti nel frumento, attraverso una combinazione unica di fisiologia, genomica e metabolomica.

RISULTATI

Il progetto **WheatSustain** ha avuto l'obiettivo di capire come frumento duro e tenero reagiscano a condizioni di stress ambientale legate alla riduzione di **acqua** e nutrienti essenziali, in particolare **azoto (N)** e **fosforo (P)**. Per rappresentare in modo efficace le due specie, sono state scelte due varietà di riferimento ampiamente caratterizzate a livello genomico: **Svevo** per il frumento duro e **Chinese Spring** per il frumento tenero. Per studiare la loro risposta in un ambiente controllato ma realistico, le piante sono state coltivate all'interno di **lisimetri**, strutture che riproducono dinamiche simili al campo ma permettono di regolare con precisione l'apporto di acqua e nutrienti (Fig. 1). In questo modo è stato possibile applicare sia condizioni ottimali sia situazioni di limitazione nutritiva e idrica, simulando scenari culturali più sostenibili.

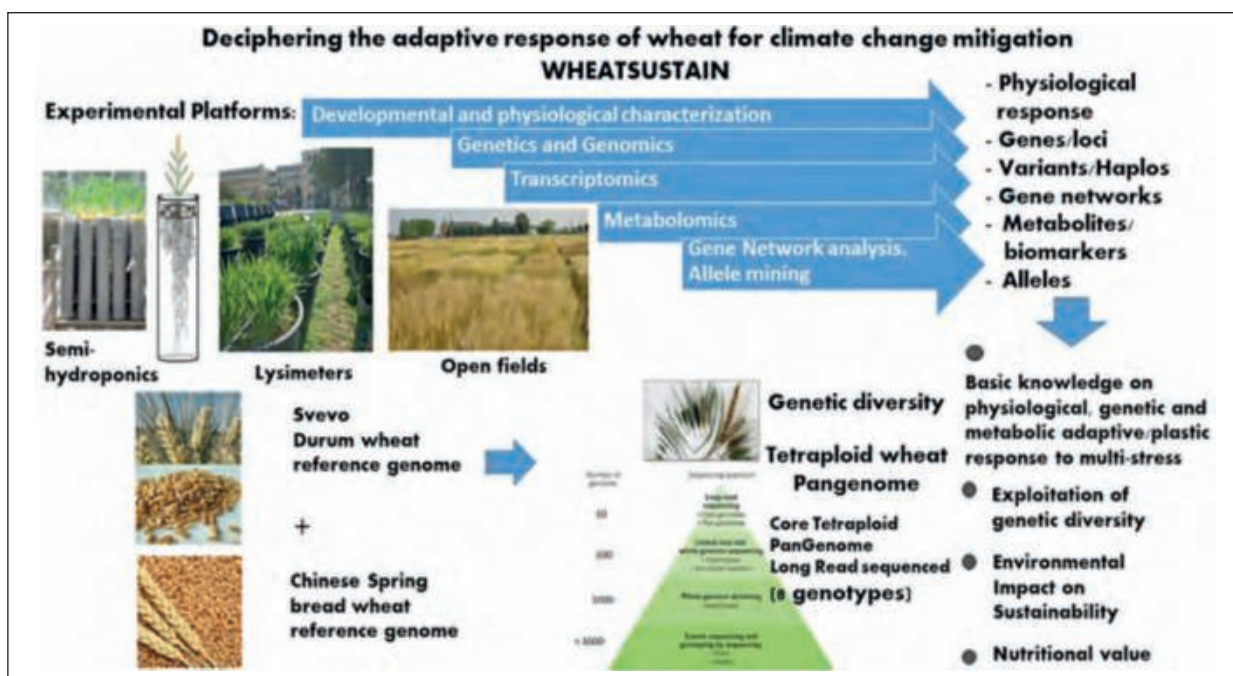


Figura 1 | Rappresentazione grafica del progetto WheatSustain.



Figura 2 | Immagine della prova sperimentale condotta su Svevo e Chinese Spring utilizzando i lisimetri presso l'Università degli Studi di Bari Aldo Moro.

La gestione della fertilizzazione ha seguito le pratiche comunemente adottate nel frumento duro del Sud Italia: l'**azoto (N)** distribuito in due momenti chiave, prima della semina e alla fioritura, mentre il **fosforo (P)** applicato interamente in pre-semina. Ciò ha permesso di imitare fedelmente tecniche agronomiche reali e valutare come le due cultivar rispondessero a combinazioni diverse di stress. Il comportamento delle piante è stato osservato lungo l'intero ciclo colturale, dall'accostamento fino alla maturità. In più fasi sono state effettuate misurazioni fisiologiche fondamentali: la **conduttanza stomatica (porometro)**, che fornisce indicazioni sull'efficienza degli scambi gassosi; il **contenuto di clorofilla (SPAD)**, misurato con sensore SPAD, utile per monitorare lo stato dell'azoto nella foglia; e la **fluorescenza della clorofilla (fluorimetro)**, che permette di valutare l'efficienza del fotosistema II.

Parallelamente sono stati raccolti campioni di tessuti vegetali – sia fogliari sia riproduttivi – dalle prime fasi di antesi fino ai momenti iniziali della formazione della cariosside, consentendo un'analisi dettagliata dei processi che governano crescita e sviluppo. Ac-

Tabella 1 - Tabella riassuntiva sui trattamenti applicati a Svevo e Chinese Spring. Per ogni trattamento è riportato il tipo di stress applicato (idrico, N o P) e la loro combinazione. Inoltre, vengono riportati gli stadi fenologici dei campionamenti di tessuto fogliare o spiga.

Nome trattamento	Descrizione trattamento	Campionamenti fogliari	Campionamenti della spiga
T1	Acqua	Plantula, botticella, spigatura, antesi, spiga precoce, maturazione lattea	Spigatura, antesi, spiga precoce, maturazione lattea
T2	Acqua + fosforo		
T3	Mancanza di acqua, azoto e fosforo		
T4	Acqua + azoto + fosforo		
T5	Acqua + azoto		
T6	Azoto + fosforo		
T7	Fosforo		

Box 1

Il progetto **WheatSustain (PRIN 2022)** studia come frumento duro (*Svevo*) e tenero (*Chinese Spring*) rispondono a **stress idrico e nutrizionale**. Le piante sono coltivate in **lisimetri**, che permettono di controllare acqua e nutrienti e di simulare condizioni di campo realistiche. Sono stati applicati **sette trattamenti (T1-T7)** con diverse combinazioni di **acqua, azoto (N) e fosforo (P)**, includendo condizioni ottimali (W+N+P) e scenari di forte limitazione (assenza totale di nutrienti). Durante il ciclo culturale sono stati misurati parametri fisiologici chiave - **conduttanza stomatica, clorofilla (SPAD), fluorescenza** - e raccolti tessuti fogliari e riproduttivi per analisi **produttive, qualitative** (proteine, glutine, indice Zeleny, W) e **metaboliche** (zuccheri, aminoacidi liberi, fenoli, flavonoidi, contenuti di N, P e C).

canto alle misurazioni fisiologiche, sono state condotte analisi produttive, qualitative e metaboliche. Sulle cariossidi raccolte da ogni singola tesi sono stati valutati parametri come contenuto proteico, glutine (umido e secco), durezza, indice di Zeleny, colore (indice di giallo), amido e caratteristiche alveografiche (W). Sul versante produttivo sono stati considerati elementi come **numero di culmi e peso secco fogliare** per culmo. Le analisi metaboliche hanno incluso la quantificazione degli elementi (%N, %P, %C) e la valutazione di metaboliti chiave - **aminoacidi liberi (FAA)**, zuccheri, amido, fenoli e flavonoidi - che descrivono in dettaglio lo stato fisiologico della pianta. La Tabella 1 riassume tutti i trattamenti sperimentali applicati (T1-T7), indicando per ciascuno la combinazione di stress e gli stadi di sviluppo in cui sono stati effettuati i campionamenti di foglia e spiga.

La crescita e la qualità del frumento dipendono in modo stretto dalla disponibilità di acqua e nutrienti minerali. Per comprendere come le piante reagiscano alle diverse combinazioni di azoto (N), fosforo (P) e acqua, due varietà di frumento - **Chinese Spring e Svevo** - sono state sottoposte a sette trattamenti che vanno dal semplice apporto idrico a condizioni di stress estremo prive di acqua e nutrienti.

L'obiettivo era osservare come questi fattori influenzassero i principali parametri produttivi e qualitativi, e contemporaneamente come modulassero il profilo metabolico interno della pianta (Fig. 3 e Fig. 4).

Partendo dall'analisi dai dati rilevato tramite l'esperimento di campo (Fig. 3), la fluo-

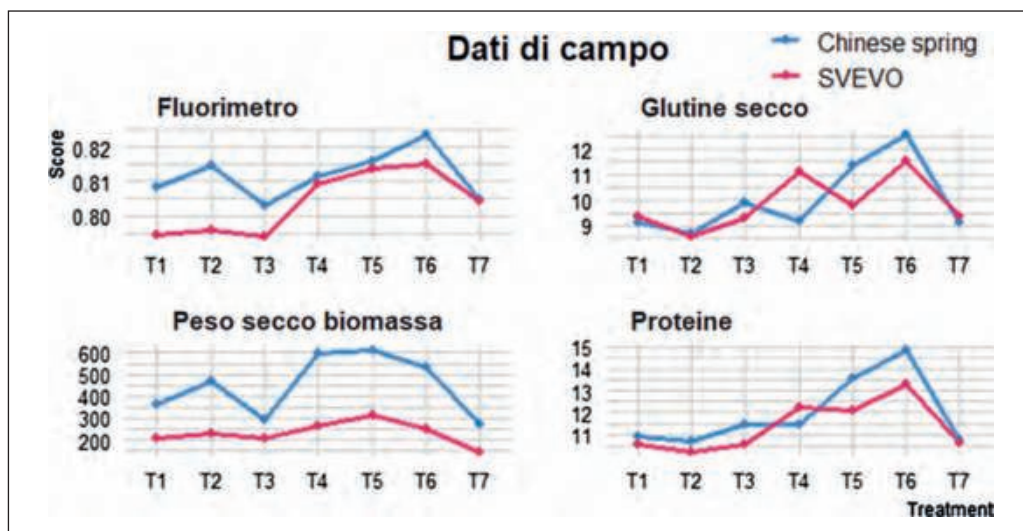


Figura 3 | Andamento dei caratteri fenotipici connessi con sviluppo della biomassa, attività fotosintetica e qualità della granella, per i 7 trattamenti nutritivi diviso per Svevo e Chinese Spring.

rescenza rilevata dal fluorimetro evidenzia differenze chiare tra i trattamenti. Il valore più basso si osserva in **T3**, la condizione di stress totale senza acqua né nutrienti, in cui entrambe le varietà riducono drasticamente l'attività fotosintetica. Questo punto rappresenta il limite minimo fisiologico. L'efficienza aumenta invece nei trattamenti che includono nutrienti, in particolare **T6 (N+P)** e **T4 (acqua+N+P)**, che risultano tra i più efficaci nel sostenere il funzionamento dell'apparato fogliare. È interessante osservare che **T6**, pur essendo privo di acqua, mantiene valori elevati: la sola disponibilità di N e P è sufficiente a sostenere l'attività fotosintetica a breve termine. Nei trattamenti più intermedi, come **T2 (acqua+P)** o **T5 (acqua+N)**, entrambe le varietà mostrano risposte positive ma meno pronunciate, riflettendo un effetto parziale del singolo nutriente. Il peso secco della biomassa, misurato come peso secco delle foglie per m², fornisce un quadro molto chiaro della capacità della pianta di convertire acqua e nutrienti in crescita reale.

Chinese Spring produce più biomassa di **Svevo** praticamente in tutti i trattamenti, ma il contrasto diventa particolarmente evidente nei trattamenti completi o ricchi di nutrienti. Il massimo si osserva ancora una volta in **T4 (acqua + N + P)** e **T6 (N + P)**: le due combinazioni che mettono a disposizione i nutrienti essenziali, con o senza acqua. In queste condizioni **Chinese Spring** raggiunge i valori più elevati, mentre **Svevo** mantiene un incremento più moderato. Nei trattamenti sbilanciati, come **T7 (P)** o **T2 (acqua + P)**, la crescita rimane limitata, soprattutto per **Svevo**. **T3**, privo di ogni input, rappresenta il punto più critico per entrambe le varietà. Passando ai dati connessi con la produttività, la qualità della granella risponde in modo diretto alla presenza dell'azoto. Nei trattamenti in cui N è presente (**T4**, **T5**, **T6**) si osservano aumenti netti sia delle proteine sia del glutine. Il trattamento **T6 (N + P)** porta i valori ai massimi livelli, confermando il ruolo centrale dell'azoto nella sintesi proteica. Nei trattamenti privi di azoto, come **T1 (solo acqua)**, **T2 (acqua + P)** e **T7 (solo P)**, i livelli proteici rimangono bassi. In particolare, **T7**, pur fornendo fosforo, non riesce a sostenere la qualità proteica, mentre **T3** mostra il valore minimo assoluto. È interessante osservare che **Svevo**, pur producendo meno biomassa, aumenta in modo efficace il glutine e parzialmente anche il contenuto proteico nei trattamenti ricchi di N, mostrando una buona efficienza nell'uso dell'azoto a scopi qualitativi.

Per quanto riguarda i dati metabolici (Fig. 4), l'andamento degli zuccheri mostra una forte dipendenza dall'attività fotosintetica e dalla disponibilità di nutrienti. **Chinese**

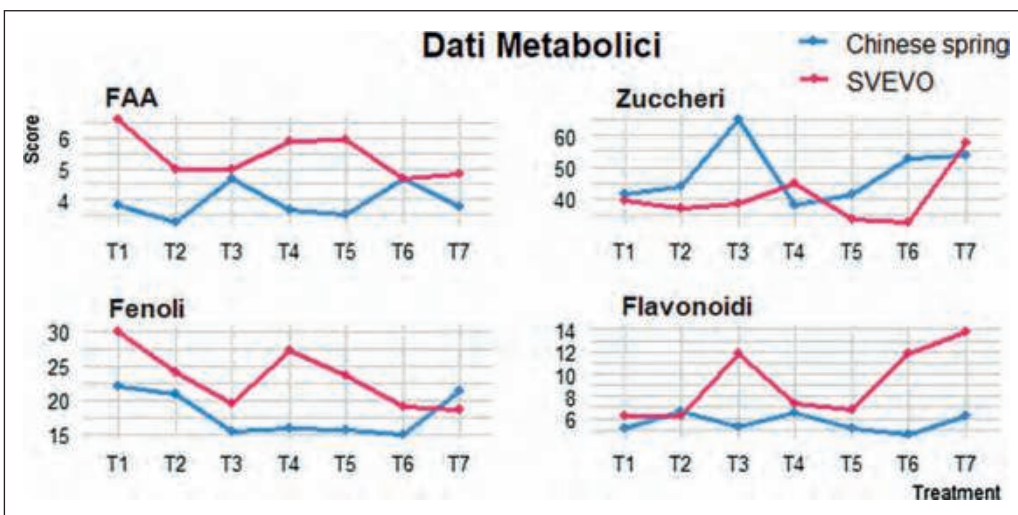


Figura 4 | Andamento dei tratti fenotipici derivanti dall'analisi dei metaboliti, per i 7 trattamenti nutritivi di-
viso per Svevo e Chinese Spring.

Spring accumula molti zuccheri in **T6 (N+P)**, dove la fotosintesi è elevata ma la crescita è moderata dall'assenza di acqua, portando a un accumulo di carboidrati. **Svevo** presenta variazioni meno estreme e un andamento più regolare, tranne per un picco in **T4** che rappresenta le condizioni ottimali, segno che la produzione e l'accumulo di zuccheri sono più moderati e meno influenzati dal singolo trattamento. Gli amminoacidi liberi rappresentano una riserva metabolica, evidenziando differenze marcate tra le due varietà. **Svevo** mostra oscillazioni estese, con aumenti nei trattamenti più nutrienti (**T4**) e in quelli più critici (**T3**). Questo suggerisce una forte modulazione del metabolismo proteico, con meccanismi di degrado e risintesi attivati in risposta alle condizioni ambientali. **Chinese Spring** mantiene invece livelli più costanti, indicando una regolazione metabolica più stabile e meno reattiva agli stress. Fenoli e flavonoidi costituiscono indicatori di difesa e risposta allo stress, aumentando soprattutto nei trattamenti più critici dal punto di vista nutrizionale. In quasi tutti i trattamenti **Svevo** mostra livelli più elevati di questi composti rispetto a **Chinese Spring**. Il divario aumenta in **T3 (stress totale)** e **T7 (solo P)**: due condizioni che stimolano la produzione di composti protettivi. **Chinese Spring**, invece, mantiene livelli più bassi e meno variabili, anche nei trattamenti più sfavorevoli. In conclusione, considerando i dati riportati nell'intero esperimento, emerge che:

- **T3** rappresenta lo stress più severo e porta a valori minimi in tutti i parametri;
- **T4** e **T6** sono i trattamenti più performanti: sostengono biomassa, proteine e fotosintesi, e modulano il metabolismo in modo coerente;
- **T7** e **T2**, trattamenti sbilanciati, mostrano che acqua o fosforo da soli non sono sufficienti a sostenere performance elevate;
- **SVEVO** attiva risposte metaboliche difensive soprattutto quando uno dei nutrienti è limitante;
- **Chinese Spring** investe principalmente nella crescita e nella qualità quando i nutrienti sono disponibili, senza aumentare in modo sostanziale i composti secondari.

Queste differenze tra trattamenti e varietà mostrano come la nutrizione minerale influenzi simultaneamente resa, qualità e metabolismo interno, e forniscono indicazioni utili per gestire acqua e nutrienti in modo più mirato, soprattutto in scenari agricoli caratterizzati da disponibilità variabile delle risorse.

L'impatto del progetto WheatSustain si manifesterà sui futuri programmi di miglioramento genetico orientati al rilascio di varietà commercialmente competitive, il progetto infatti, ha consentito di identificare i principali fattori e meccanismi coinvolti nella risposta delle piante alla combinazione di due dei principali fattori limitanti della produttività agricola. L'applicazione integrata di genomica e metabolomica, affiancata da studi agronomici e fisiologici, ha consentito di individuare i meccanismi responsabili di un uso più efficiente dell'acqua e dei nutrienti come Azoto e fosforo. Queste conoscenze permetteranno di definire nuove strategie e strumenti di selezione utili allo sviluppo di cultivar più resilienti e meglio rispondenti ai requisiti di sostenibilità.

Un risultato rilevante del progetto è stato lo studio sistematico della risposta del frumento non solo a singoli stress, ma anche a diverse combinazioni di disponibilità di acqua, azoto e fosforo, riproducendo fedelmente le condizioni reali che si verificano in campo.

I risultati ottenuti hanno chiarito come le diverse combinazioni di stress idrici e nutrizionali interagiscano e influenzino il frumento, con particolare riferimento a caratteri di elevata importanza agronomica quali l'insediamento e lo sviluppo dell'apparato radicale, la differenziazione degli organi riproduttivi, la senescenza, i processi di traslocazione e, infine, la resa e la qualità della granella. Le risposte adattative sono state analizzate adottando condizioni di stress progressive, lievi e di lungo periodo, che hanno mimato fedelmente l'insorgenza e l'andamento degli stress in campo, mantenendo al contempo un elevato controllo sperimentale.

Nel complesso, il progetto ha contribuito in modo sostanziale a una migliore compren-

sione e gestione dei processi dinamici associati alle variazioni abiotiche combinate e ai loro effetti sulle colture. Le conoscenze acquisite sulle risposte delle piante all'ambiente hanno fornito basi solide per la progettazione di genotipi di frumento meglio adattati e per lo sviluppo di pratiche di gestione colturale più efficienti in termini di resa e qualità. Il progetto ha consentito l'identificazione e la validazione di biomarcatori e geni candidati associati all'efficienza d'uso dell'azoto (NUE) e dell'acqua (WUE), attraverso un approccio integrato agronomico, fisiologico, genetico e metabolomico. Tali risultati sono direttamente applicabili al miglioramento genetico verso un ideotipo di frumento più resiliente, includendo sia gli organi epigei sia quelli ipogei.

WheatSustain ha ampliato in modo significativo le conoscenze sulla plasticità adattativa del frumento in risposta agli stress ambientali e ha chiarito la complessa interazione tra genotipo e input idrici e nutrizionali grazie a tecniche di fenotipizzazione avanzate e capacità di analisi innovative.

NEWRoots

Evaluation and cloning of a major root angle QTL for a sustainable production in durum wheat

Titolo del Progetto (in italiano): Valutazione e clonaggio di un QTL ad effetto maggiore sull'angolo radicale per una produzione sostenibile nel grano duro

Coordinatore: Roberto Tuberosa, *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari)

Unità operative

- *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari): Roberto Tuberosa, Marco Maccaferri, Cristian Forestan, Matteo Bozzoli, Enrico Noli, Chiara Cappucci
- Consiglio Nazionale delle Ricerche (Istituto di biologia e biotecnologia agraria): Aldo Ceriotti, Giovanna Frugis, Raul Pirona, Andrea Tafuri
- Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria (Centro di Ricerca Cerealicoltura e colture Industriali) (subcontraente): Pasquale De Vita, Fabio Fania, Patrizio Spadanuda, Ivano Pecorella

INTRODUZIONE

Ogni giorno, quando mangiamo pane, pasta o altri prodotti a base di cereali, raramente pensiamo a quanto il frumento sia centrale per la nostra sussistenza. Eppure, il frumento è la coltura più coltivata al mondo e fornisce circa il 20% delle proteine e delle calorie consumate quotidianamente da oltre quattro miliardi di persone. In molte aree del pianeta, soprattutto nel bacino del Mediterraneo, il grano non è solo una coltura agricola: è cultura, tradizione, economia e identità.

Ad oggi, tuttavia, produrre frumento sta diventando sempre più difficile. Il cambiamento climatico sta rendendo le stagioni più imprevedibili, con periodi di siccità prolungata alternati a eventi estremi. Inoltre, i periodi siccitosi possono verificarsi ormai in qualsiasi fase dello sviluppo del frumento, incluso l'autunno/inverno e la prima primavera, colpendo fortemente la potenzialità produttiva.

Allo stesso tempo, i fertilizzanti azotati, fondamentali per ottenere produzioni elevate e di buona qualità, sono diventati sempre più costosi e hanno un altissimo impatto ambientale, in quanto rappresentano una delle principali fonti di emissioni di gas serra in agricoltura: si stima infatti che fino al 70% delle emissioni associate alla produzione di grano derivi proprio dall'uso di fertilizzanti azotati. Ricordiamo che l'uso dell'urea verrà vietato nel Bacino Padano con decorrenza dal 1 gennaio 2028.

La scienza si pone quindi una domanda fondamentale: come possiamo migliorare la produzione di grano riducendone allo stesso tempo l'impatto ambientale? La risposta non si trova solo nella parte aerea della pianta ma anche nelle radici.

IL RUOLO DELLE RADICI

Il sistema radicale fornisce acqua e nutrienti necessari a sostenere adeguatamente la crescita della pianta e la resa. Pertanto, una migliore comprensione degli effetti dei caratteri genetici legati all'architettura del sistema radicale (*Root System Architecture*, RSA) e della loro base molecolare è essenziale per selezionare piante con una maggiore capacità di reperire acqua e azoto nel suolo garantendo così una produttività più elevata in condizioni di siccità e/o in sistemi agricoli a basso input, riducendo al contempo l'impronta ambientale.

La variabilità dei caratteri associati alla RSA, quali l'angolo di crescita delle radici (*Root Growth Angle*, RGA), la profondità radicale, la velocità di crescita e la densità delle radici laterali, influisce sulla distribuzione delle radici nel suolo e sull'adattamento del frumento a specifici ambienti target, influenzando anche la competizione ipogea tra piante vicine in funzione della loro densità. L'RGA controlla la direzione di crescita delle radici e influisce sulla distribuzione relativa della biomassa radicale tra gli strati superficiali e quelli più profondi del suolo: un RGA stretto generalmente determina sistemi radicali più profondi, in grado di intercettare meglio l'azoto (N) solubile prima che venga lisciviato nelle acque sotterranee. Inoltre, in condizioni di limitata disponibilità idrica, un RGA stretto consente una maggiore captazione dell'acqua negli strati profondi del suolo (Fig. 1). Al contrario, un sistema radicale superficiale, dovuto a un RGA più ampio e a una maggiore distribuzione delle radici negli strati superiori del suolo, permette alle piante di intercettare meglio il fosforo, più abbondante nella parte superficiale del suolo, aumentando tuttavia la competizione tra piante in popolamenti ad alta densità.

Il controllo molecolare dell'RGA è stato analizzato in dettaglio in specie modello come *Arabidopsis* e anche in piante coltivate come riso, con l'identificazione di numerosi geni che controllano direttamente o indirettamente l'RGA. Un QTL (*Quantitative Trait Locus*, regione del genoma che determina un maggiore o minore angolo radicale) per l'RGA è stato identificato e utilizzato con successo nei programmi di miglioramento genetico del riso. Importanti QTL per l'RGA sono stati identificati anche nel frumento duro, come QRga.ubo-6A sul cromosoma 6A, risultato associato anche alla resa in granella in condizioni di siccità in prove di campo nel Mediterraneo e in Australia (Alahmad *et al.*, 2019; Alemu *et al.*, 2021). L'isolamento e la caratterizzazione dei geni/polimorfismi causali in QRga.ubo-6A è di grande rilevanza per il miglioramento genetico del frumento duro e del frumento tenero (Kang *et al.*, 2025), poiché le conoscenze relative ai caratteri agronomici possono essere trasferite tra le due specie.

È importante sottolineare che lo sviluppo e la crescita dell'apparato radicale è un carattere complesso: la distribuzione verticale delle radici è determinata dalla combinazione dell'RGA e della lunghezza massima delle radici seminali e nodali (Uga *et al.*, 2015). La

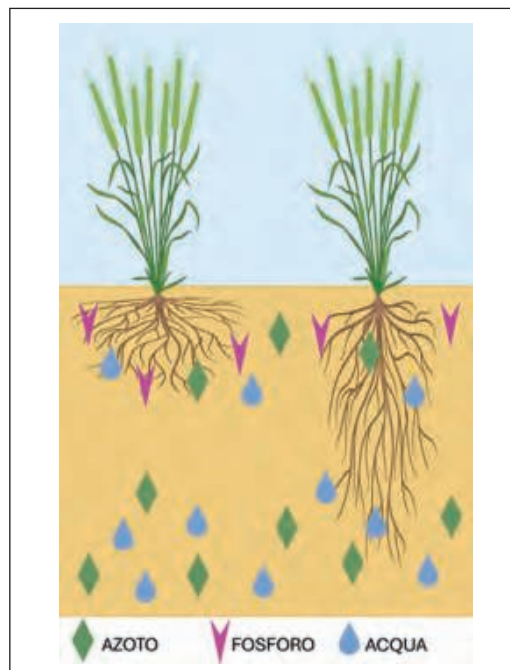


Figura 1 | Schema semplificato di due varietà di frumento contrastanti per angolo radicale e il suo effetto nello sviluppo delle radici.

traiettoria di crescita delle radici è determinata dall'angolo di riferimento gravitropico, modulato dalla distribuzione asimmetrica spazio-temporale dell'auxina nei primordi radicali e nelle cellule della zona di espansione (Nakamura *et al.*, 2019). È noto che tale ormone, insieme ad altri quali le citochinine, controlla l'equilibrio tra divisione, allungamento e differenziamento cellulare nel meristema apicale radicale, contribuendo alla determinazione della lunghezza e dell'architettura della radice (Moubayidin *et al.*, 2009; Kurepa and Smalle, 2022). Tuttavia, i meccanismi attraverso cui le radici producono, trasportano e rispondono all'auxina sono complessi e solo in parte compresi nelle colture agrarie. Inoltre, la rete regolatoria dell'auxina è strettamente interconnessa e modulata da fattori genetici e ambientali, così come da altri regolatori della crescita, in particolare l'acido abscissico (Asim *et al.*, 2020; Bhoi *et al.*, 2021).

Pertanto, una migliore comprensione dei geni coinvolti nella plasticità della RSA è cruciale per progettare nuovi ideotipi di architettura radicale e selezionare cultivar meglio adattate alla siccità e/o per sistemi colturali a basso input con ridotto impiego di fertilizzanti azotati, come quelli dell'agricoltura biologica.

COME NEWROOTS HA AFFRONTATO LO STUDIO DELLE RADICI IN FRUMENTO DURO

Il progetto NEWRoots è suddiviso in tre principali attività.

1) Analisi di linee ricombinanti per l'identificazione dei determinanti genetici che controllano l'architettura della struttura radicale sotto differenti livelli di azoto

Due varietà contrastanti per il loro angolo radicale, Colosseo e Lloyd, sono state utilizzate per creare una popolazione di linee ricombinanti (**RILs, Recombinant Inbred Lines**). Sulla base dei dati di genotipizzazione, con un pannello di 90.000 marcatori SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), sono state selezionate dieci coppie di linee con aplotipi contrastanti per il QTL, ma quanto più possibile simili nel resto del genoma, al fine di isolare l'effetto del QTL *QRga.ubo-6A*. I genotipi sono stati testati in un esperimento pilota in sistemi semi-idroponici adatti alla gestione di un elevato numero di campioni (Rufo *et al.*, 2020), in cinque diversi regimi di azoto, al fine di identificare le due concentrazioni corrispondenti a input ottimale e ridotto di azoto e gli intervalli temporali di induzione dell'azoto. In Figura 2 è mostrato un esempio di sistema semi-idroponico utilizzato nel progetto.

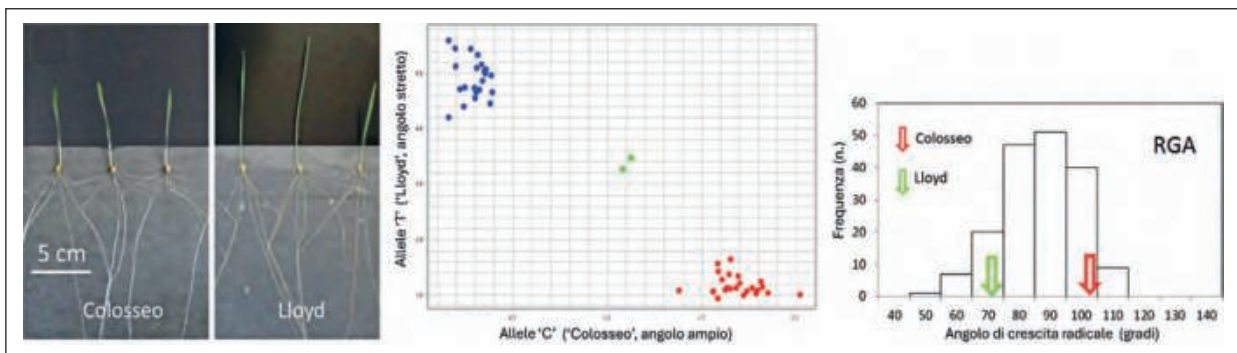


Figura 2 | A sinistra: fenotipi radicali delle cv. Colosseo e Lloyd parentali della popolazione di linee (RIL) segreganti per ampiezza dell'angolo radicale. A destra: distribuzione di frequenza del carattere nella popolazione (da Maccaferri *et al.*, 2016, modificato). Al centro: genotipizzazione di alcune linee mediante tecnica KASP ad uno SNP nel QTL maggiore *QRga.ubo-6A* (al centro in verde genotipi eterozigoti di controllo).

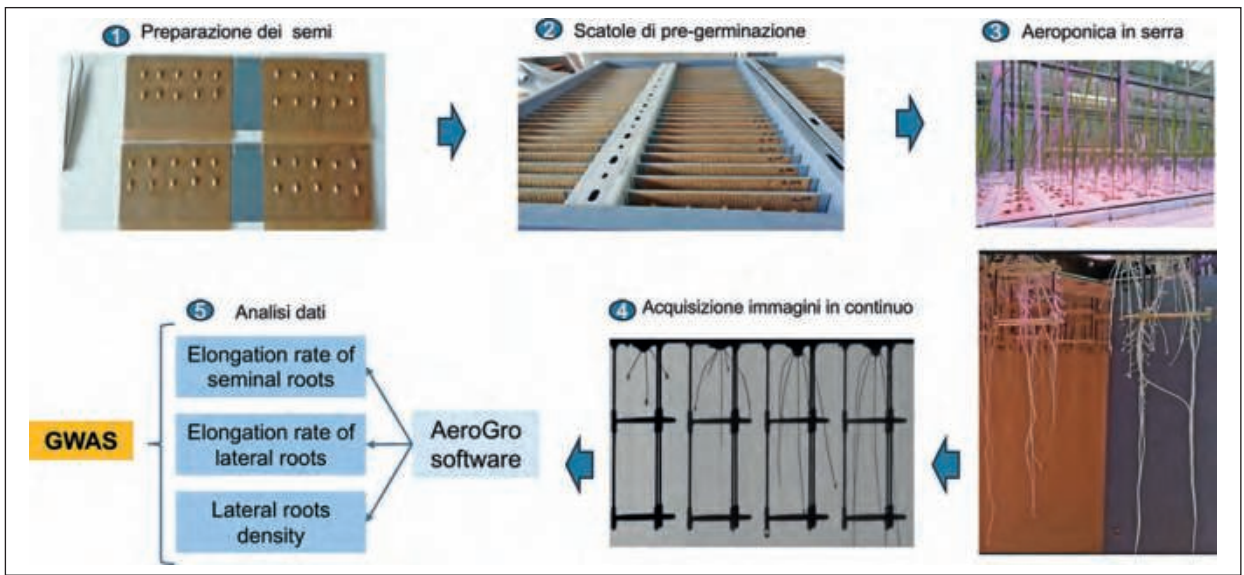


Figura 3 | Analisi dell'architettura dell'apparato radicale in presenza di diversi livelli di azoto su accessioni rappresentative della diversità genetica presente nei principali pool genetici di grano duro (collaborazione con Xavier Draye, UC Louvain).

2) Studio della variazione naturale della plasticità della RSA a diversi livelli di azoto.

La plasticità dell'architettura del sistema radicale in risposta alle fonti di azoto è stata ulteriormente esplorata nelle collezioni di germoplasma mediante fenotipizzazione e profilazione dei fitormoni su 100 linee selezionate dalla *Tetraploid Core Collection* (TCC), che cattura quasi l'80% della diversità genetica del frumento duro (Fig. 3). Inoltre, sono in corso le analisi di 10 cultivar élite selezionate dalla collezione *Global Durum Panel* (GDP) con l'obiettivo di identificare potenziali fonti di variabilità genetica favorevole per RSA in differenti condizioni di azoto. Per una migliore comprensione della RSA in risposta a diverse fonti di azoto, sono stati anche studiati i fenotipi associati ai peli radicali.

BOX 1

Innovazioni scientifiche e tecnologiche generate dal progetto NEWRoots Isolamento del gene causale del QTL QRga.ubo-6A

Il progetto trasforma quindi un QTL di interesse scientifico in una risorsa genetica pronta per l'applicazione nel *breeding*.

Il legame tra azoto, ormoni e sviluppo radicale

Il progetto supera l'approccio "input-driven", permettendo lo sviluppo di piante predisposte a usare meglio l'azoto, riducendo la dipendenza dai fertilizzanti.

Valorizzazione della biodiversità del frumento duro

Uso della biodiversità collegando risorse genetiche e performance agronomica.

Integrazione tra genetica, fenotipizzazione avanzata e prove in campo

NEWRoots combina:

- fenotipizzazione radicale controllata
- analisi genomiche
- prove in campo a basso input.

BOX 2**Trasferimento delle innovazioni di NEWRoots alla filiera produttiva****Trasferimento al miglioramento genetico e al settore sementiero**

Benefici per la filiera:

- riduzione dei costi di produzione
- maggiore stabilità di resa
- sementi ad alto valore aggiunto "climate-smart".

Trasferimento alle pratiche agronomiche

- Maggiore efficienza degli input
- Riduzione dell'impatto ambientale
- Miglior gestione della variabilità climatica.

Trasferimento alla filiera della qualità (semola e pasta)

- Maggiore affidabilità delle materie prime.
- Rafforzamento delle filiere corte e nazionali.
- Miglior posizionamento dei prodotti ad alta sostenibilità.

Trasferimento all'agricoltura biologica e a basso input

- Aumento della produttività in ambienti marginali.
- Maggiore resilienza economica degli agricoltori.
- Coerenza con gli obiettivi del *green deal* europeo.

3) Caratterizzazione in campo dell'impatto dell'architettura dell'angolo radicale sull'efficienza d'uso dell'acqua e dell'azoto e sulla resa

Attraverso prove in campo, si può determinare l'influenza dell'angolo di crescita delle radici sull'assorbimento di acqua e azoto in condizioni di bassa disponibilità dell'elemento e il conseguente impatto sull'accumulo di biomassa, sulla resa in granella e sulle componenti della resa. Le prove in campo sono state condotte in collaborazione con la subunità CREA (Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria) presso la stazione sperimentale di Foggia per due anni consecutivi (Fig. 4).

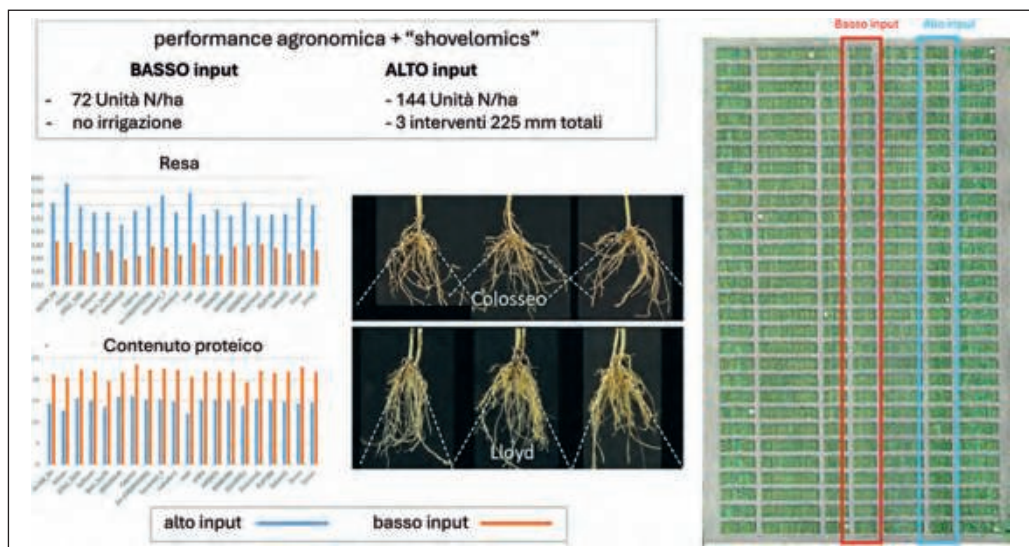


Figura 4 | Prova sperimentale svolta presso CREA-CI di Foggia su 20 accessioni allevate in condizioni di input diversi (alto e basso) per valutarne l'effetto sull'architettura radicale in relazione a caratteri produttivi e qualitativi.

CONCLUSIONI

Il progetto NEWRoots arricchisce le basi scientifiche e operative per identificare i determinanti genetici coinvolti nell'architettura dell'apparato radicale del frumento duro con un focus sull'angolo radicale, al fine di ridurre l'uso di fertilizzanti azotati, mitigare l'impatto climatico e aumentare la sicurezza alimentare del frumento duro. Attraverso lo sviluppo delle attività sopradescritte, l'obiettivo del progetto non è quello di creare una "pianta perfetta", ma quello di offrire varietà più resilienti, capaci di adattarsi a climi difficili e a sistemi agricoli più sostenibili, come l'agricoltura biologica o a basso input. Il progetto mostra quindi come il miglioramento genetico dell'apparato radicale sia una leva concreta per rendere sostenibile l'intera filiera del frumento duro, dalla selezione varietale alla produzione agricola fino alla trasformazione industriale.

BIBLIOGRAFIA

- Alahmad S., El Hassouni K., Bassi F.M. *et al.*, (2019). A major root architecture QTL responding to water limitation in durum wheat. *Front Plant Sci* 10: 436. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00436>
- Alemu A., Feyissa T., Maccaferri M. *et al.* (2021). Genome-wide association analysis unveils novel QTLs for seminal root system architecture traits in Ethiopian durum wheat. *BMC Genomics* 22: 20. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07320-4>.
- Asim M., Ullah Z., Oluwaseun A., Wang Q., Liu H. (2020). Signalling overlaps between nitrate and auxin in regulation of the root system architecture: insights from the Arabidopsis thaliana. *Int J Mol Sci* 21: 2880. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21082880>.
- Bhoi A., Yadu B., Chandra J., Keshavkant S. (2021). Contribution of strigolactone in plant physiology, hormonal interaction and abiotic stresses. *Planta* 254: 28. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03678-1>
- Kang Y, Alahmad S, Haeften S V., *et al* (2025) Mapping quantitative trait loci for seminal root angle in a selected durum wheat population. *Plant Genome* 18:. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20490>
- Kurepa J., Smalle J.A. (2022). Auxin/cytokinin antagonistic control of the shoot/root growth ratio and its relevance for adaptation to drought and nutrient deficiency stresses. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 1933. <https://doi.org/10.3390/ijms23041933>
- Maccaferri M., El-Feki W., Nazemi G., Salvi S., Canè M.A., Colalongo M.C., Stefanelli S., Tuberosa R. (2016). Prioritizing quantitative trait loci for root system architecture in tetraploid wheat. *J. Exp. Bot.* 67:1161-1178. <https://doi.org/10.1007/s00122-021-03819-w>
- Moubayidin L., Di Mambro R., Sabatini S. (2009). Cytokinin-auxin crosstalk. *Trends Plant Sci.* 14:557-562. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.06.010 Epub 2009 Sep 4. PMID: 19734082.
- Nakamura M., Nishimura T., Morita M.T. (2019). Gravity sensing and signal conversion in plant gravitropism. *J. Exp. Bot.* 70:3495-3506. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erz158>. PMID: 30976802.
- Rufo R., Salvi S., Royo C., Soriano J.M. (2020). Exploring the genetic architecture of root-related traits in mediterranean bread wheat *landraces* by genome-wide association analysis. *Agronomy*, 10, 613. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050613>
- Uga Y., Okuno K., Yano M. (2011). Dro1, a major QTL involved in deep rooting of rice under upland field conditions. *J. Exp. Bot.* 62: 2485-2494. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq429>

InnoWheatRes

Advanced breeding with Innovative strategies to improve biotic stresses resistance in durum wheat

Titolo del Progetto (in italiano): Miglioramento genetico avanzato con strategie innovative per aumentare la resistenza agli stress biotici in frumento duro (InnoWheatRes)

Coordinatore: Agata Gadaleta, Università degli Studi di Bari Aldo Moro (Dipartimento di Scienze del Suolo della Pianta e degli Alimenti)

Unità Operative

- *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari): Marco Maccaferri, Ambra Viviani
- CREA, Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria (Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali) (subcontraente): Daniela Marone
- Università degli Studi di Bari Aldo Moro (Dipartimento di Scienze del Suolo della Pianta e degli Alimenti): Agata Gadaleta

INTRODUZIONE

Oggi e nel prossimo futuro la produzione agricola deve affrontare due esigenze fondamentali e interconnesse: (i) la transizione verso un'agricoltura sostenibile e (ii) la gestione di uno scenario di cambiamento climatico quasi irreversibile. Incrementare l'adozione di pratiche agricole sostenibili è una priorità assoluta in Europa e nel mondo. Questo obiettivo rientra negli Obiettivi di Sviluppo Sostenibile delle Nazioni Unite, nel Programma Quadro Europeo e nel *Green Deal* (strategia "dal produttore al consumatore"). Questi programmi mirano ad accelerare la transizione verso un sistema alimentare sostenibile con impatto ambientale neutro (o positivo).

Il cambiamento climatico rappresenta una minaccia anche per la sicurezza alimentare a causa di un incremento degli stress abiotici e biotici che influenzano le rese produttive. Gli stress biotici (diffusione di parassiti e malattie) si stanno aggravando comportando una riduzione significativa delle rese. Le temperature più elevate soprattutto associate ad inverni più miti consentono ai parassiti e ai patogeni agricoli di:

1. superare più facilmente il filtro selettivo dell'inverno e presentarsi più precocemente in primavera con maggiore quantità di inoculo naturale,
2. espandere il proprio areale geografico, effetto questo collegato anche alle attività umane,
3. riprodursi a ritmi accelerati causando epidemie più frequenti e gravi.

Le modifiche climatiche possono agire sull'interazione ospite-patogeno andando a ridurre le difese delle piante e la loro qualità nutrizionale (Fig. 1), aumentando potenzialmen-



Figura 1 | Stress a cui la pianta può essere sottoposta.

te la suscettibilità alle infezioni oltre a determinare, a loro volta, una ulteriore riduzione della resilienza delle colture. Si prevede che la siccità diventi più frequente e severa a causa della variazione dei regimi di precipitazione con una conseguente riduzione delle rese (FAO, 2017). In questo contesto, è immediatamente chiaro che anche l'interazione patogeno \times ambiente svolge un ruolo fondamentale e deve essere adeguatamente considerata per modellarne gli effetti insieme alle componenti di genotipo \times ambiente \times management ($G \times E \times M$).

L'integrazione di varietà tolleranti e resilienti all'interno di pratiche agricole sostenibili rappresenta quindi un metodo prezioso per garantire la produzione alimentare, preservando al contempo le risorse naturali.

Soffermandosi sui patogeni fungini, principali agenti di malattia di frumento, con l'aumento delle temperature globali e l'intensificarsi della variabilità climatica sono fattori favorevoli alla proliferazione dei patogeni fungini, questi fattori sono in fase di aumento determinando una maggiore vulnerabilità del grano. Temperature elevate e maggiore umidità creano ambienti ottimali per lo sviluppo di funghi come *Fusarium graminearum*, *Puccinia* spp. e *Zymoseptoria tritici*, rispettivamente agenti causali della fusariosi della spiga, della ruggine e della septoriosi fogliare del frumento. Queste malattie determinano perdite di resa significative e un peggioramento della qualità della granella, con ripercussioni economiche e problemi di sicurezza alimentare.

Ottenere una resistenza efficace e duratura ('durevole') ai patogeni del frumento è un obiettivo prioritario per le attività di miglioramento genetico del frumento a livello mondiale. Tuttavia, raggiungere questo obiettivo è complesso per numerose ragioni. Tra queste, principalmente: (i) il declino della diversità genetica del frumento coltivato moderno dovuto alla selezione di cultivar élite ad alte prestazioni, che ha contribuito alla perdita di una ricca variabilità genetica nativa co-evoluta con i patogeni; (ii) la scarsa conoscenza dell'evoluzione molecolare dei patogeni in relazione al loro ambiente e ai meccanismi di interazione ospite-patogeno.

Nel caso del frumento duro, le *Global Durum Genomic Resources* sono il risultato di fruttuose collaborazioni internazionali e dello scambio di germoplasma da parte della comunità mondiale di miglioramento del frumento duro (Maccaferri *et al.* 2019; Mazzucotelli *et al.* 2020). Si tratta di una ricca collezione di circa 3.000 accessioni comprendenti (i) genotipi primitivi/selvatici e varietà tradizionali localmente adattate – comunemente chiamate *landraces* (pool genico primario e secondario del frumento), spesso poco caratterizzate e sottoutilizzate, nonché (ii) varietà moderne di frumento duro da ogni parte del mondo (vedi paragrafi precedenti). Poiché il frumento duro tetraploide è originario della regione mediterranea, il suo germoplasma ha co-evoluto con i patogeni locali, incluso *Fusarium* e *Z. tritici* e *Puccinia* spp., per circa 10.000 anni. Pertanto, le GenRes rappresentano un enorme serbatoio di diversità genetica, contenente loci nativi e varianti alleliche benefiche per la resistenza, con grande potenziale per un miglioramento genetico duraturo contro le malattie. Tuttavia, è stato recentemente dimostrato che questa diversità non è stata mantenuta nell'assetto genetico delle cultivar moderne, né è stata efficacemente caratterizzata e resa disponibile per attività di *pre-breeding* e *breeding* assistite da strumenti molecolari.

Il nostro obiettivo è quindi stato quello di caratterizzare prima e sfruttare poi in modo efficiente queste risorse genetiche per arricchire il frumento elite di resistenze genetiche perdute. Inoltre, il frumento tenero e duro condividono i due genomi BBAA, il che rende possibile l'incrocio e il trasferimento di alleli benefici, rendendo l'uso di GenRes di notevole vantaggio per l'intera comunità del frumento tenero stesso.

La malattia delle piante è definita come qualsiasi alterazione dello stato normale di una pianta che ne compromette le funzioni vitali a causa di specifici agenti casuali. I patogeni capaci di indurre malattie in specifici ospiti agiscono generalmente come parassiti traendo nutrimento da piante viventi e le piante normalmente convivono con numerosi

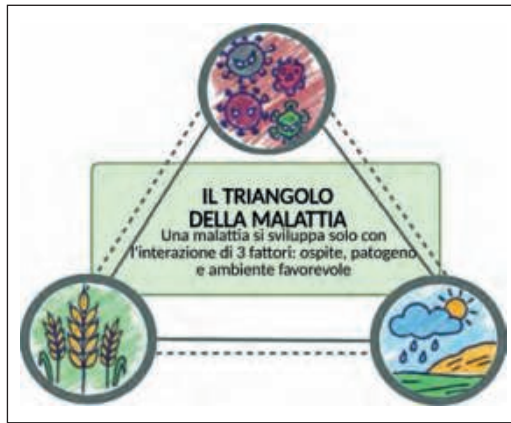


Figura 2 | Triangolo della malattia.

microorganismi, tra cui batteri, funghi e nematodi, rimanendo esposte per tutto il loro ciclo di vita. Per instaurare un'infezione, i patogeni devono penetrare nei tessuti vegetali e acquisirne i nutrienti necessari per eludere i sistemi di difesa, alcuni patogeni possono presentare sintomatologia della malattia (virulenti) altri no (avirulenti). Alla base dell'infezione si ha il “triangolo della malattia” (Fig. 2).

Il triangolo della malattia spiega il processo di sviluppo della malattia che si basa sull'interazione tra tre componenti: Ospite suscettibile, Patogeno virulento, Ambiente favorevole. La resistenza delle piante può essere suddivisa in due principali tipologie: orizzontale e verticale. La resistenza verticale o resistenza qualitativa è conferita da specifici geni R che innescano interazioni gene-per-gene con le proteine del patogeno, determinando un elevato livello di resistenza, ma risulta essere superabile facilmente nel tempo in quanto dipende dai singoli geni. Contrariamente a ciò, la resistenza quantitativa (orizzontale) deriva dall'effetto cumulativo di più geni con un effetto minore rendendola più duratura ed efficace contro una vasta gamma di patogeni.

Una delle criticità della resistenza è rappresentata dalla capacità di restare efficace nelle cultivar nel tempo (durabilità) anche dopo coltivazione prolungata e ciò si ottiene, solitamente attraverso la piramidizzazione di più fattori di resistenza provenienti da diversi background genetici. Per ottenere ciò oggi si utilizza il reincrocio assistito da marcatori (MABC, *Marker Assisted Back-Cross*) e le moderne tecniche di *speed-breeding* che permettono, a valle di un mappaggio accurato dei QTL, la rapida introgressione di loci nei genotipi élite con conseguente sviluppo di cultivar resistenti che portano, oltre ad un miglior controllo delle malattie, anche ad una riduzione dell'impatto ambientale mantenendo le combinazioni genomiche di valore per l'adattamento ambientale e l'incremento della potenzialità produttiva

Malattie quali la fusariosi della spiga (*Fusarium graminearum*), la ruggine gialla (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*), la ruggine bruna (*Puccinia triticina*), la ruggine del fusto (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*), la septoriosi fogliare del frumento (*Zymoseptoria tritici*), l'oidio (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*), il carbone comune (*Tilletia caries*, *T. foetida*) e la fusariosi del colletto (*Fusarium pseudograminearum*) continuano a causare danni rilevanti in specifiche zone agroecologiche, soprattutto in sistemi agricoli biologici o a basso input, dove l'uso di trattamenti chimici del seme è limitato. Questi funghi provocano alterazioni visibili, alcune identificabili con immediatezza, altre riconoscibili con apposite analisi in laboratorio e possono avere sviluppo in diverse fasi del ciclo di vita della coltura andando ad impattare sulla resa produttiva e modificando la composizione della cariosside alterando la salubrità del prodotto finale, ad esempio, attraverso la produzione di micotossine dannose per l'uomo e gli animali. Questa problematica si può ridurre attraverso una scelta varietale accurata, all'applicazione di corrette pratiche agronomiche

e il corretto uso delle strumentazioni tecniche che permettono di ridurre l'inoculo potenziale e la riduzione della proliferazione del patogeno.

La fusariosi della spiga (FHB), causata principalmente da *Fusarium graminearum* e, in misura minore, da *F. culmorum*, rappresenta una delle malattie più devastanti del frumento. Sebbene ingenti sforzi di ricerca e miglioramento genetico siano stati dedicati alla comprensione e al contenimento della FHB nel frumento tenero, il controllo della malattia risulta più complesso nel frumento duro. Nel frumento tenero è stata infatti descritta un'ampia variabilità genetica, prontamente sfruttabile nei programmi di miglioramento per la resistenza, mentre il frumento duro presenta una maggiore suscettibilità alla malattia e fonti di resistenza più limitate. Oltre alle perdite produttive, i patogeni responsabili della FHB contaminano la granella con diversi metaboliti fungini tossici, noti come micotossine, che rappresentano un rischio per la salute umana e animale.

La malattia fogliare **Septoria Tritici Blotch (STB)**, causata dal fungo *Zyzoesporea tritici*, è una tra le più problematiche in campo e durante epidemie gravi, STB può causare perdite di resa fino al 50% nei campi coltivati con varietà suscettibili.

Per quanto riguarda le malattie comunemente denominate come **ruggini** (bruna, gialla e nera) si hanno tre differenti patogeni responsabili dell'infezione quali *Puccinia tritici-na*, *Puccinia striiformis* e *Puccinia graminis* responsabili rispettivamente di ruggine bruna o fogliare, ruggine gialla o striata e ruggine nera o ruggine del fusto (meno diffusa). La ruggine gialla, in particolare, risulta essere aggressiva e può causare riduzioni di resa comprese tra il 10% e 70%, ma in casi particolarmente gravi può comportare un calo di resa anche del 100%.

La diffusione e l'evoluzione di queste malattie e dei relativi patogeni rendono necessario l'impiego integrato di più strategie di controllo, che includano l'utilizzo di varietà resistenti, il controllo chimico e biologico, misure fisiche e pratiche agronomiche, con un adeguato e tempestivo adattamento di tali strategie nel tempo (Singh *et al.*, 2025). Accanto alle pratiche di difesa integrata, lo sviluppo e l'impiego di genotipi geneticamente resistenti rappresentano la soluzione più efficace, ecologica ed economicamente sostenibile.

Il progetto InnoWheatRes nasce con lo scopo di sviluppare una conoscenza approfondita delle basi genetiche della resistenza e della loro efficacia nei diversi contesti ambientali. L'identificazione di QTL, geni e varianti alleliche favore-



Figura 3 | Struttura del progetto InnoWheatRes.

voli è quindi fondamentale per sviluppare marcatori molecolari strettamente associati ai caratteri di interesse, da utilizzare in programmi di selezione assistita da marcatori (MAS). Tali strumenti consentono di individuare rapidamente i genotipi più resistenti e di trasferire in modo efficiente le resistenze in varietà élite coltivate.

Questo progetto si fonda su una collezione di circa 2.000 accessioni di frumento tetraploide (*Global Durum Resource – GenRes*) comprendente varietà moderne, *landraces*, frumenti selvatici e specie affini, su cui è stata eseguita una caratterizzazione genetica del germoplasma, basata su SNP-array ad alta densità (Illumina iSelect 90K) e dati di risequenziamento dell'esoma, assieme a popolazioni segreganti e linee *inbreed* costituite ad hoc per lo studio dei diversi patogeni.

RISULTATI

Le analisi funzionali, espresse e regolative condotte hanno consentito di identificare, per la prima volta in modo sistematico, i principali regolatori della resistenza (inclusi QTL, geni candidati ed eventuali marcatori epigenetici) da utilizzare come biomarcatori in programmi di miglioramento più efficaci per migliorare le resistenze a FHB, STB e ruggini. L'approccio multi-omico ha consentito di approfondire gli aspetti di interazione pianta-patogeno, individuando fattori biochimici e genomici chiave e consentendo la formulazione di ipotesi biologiche supportate da basi statistiche solide. I pathway regolativi identificati potranno fornire ulteriori candidati, direttamente o indirettamente coinvolti nei meccanismi di resistenza o suscettibilità, aprendo nuove prospettive di ricerca.

Grazie all'uso di strumenti genomici di ultima generazione, come mappaggi ad alta den-

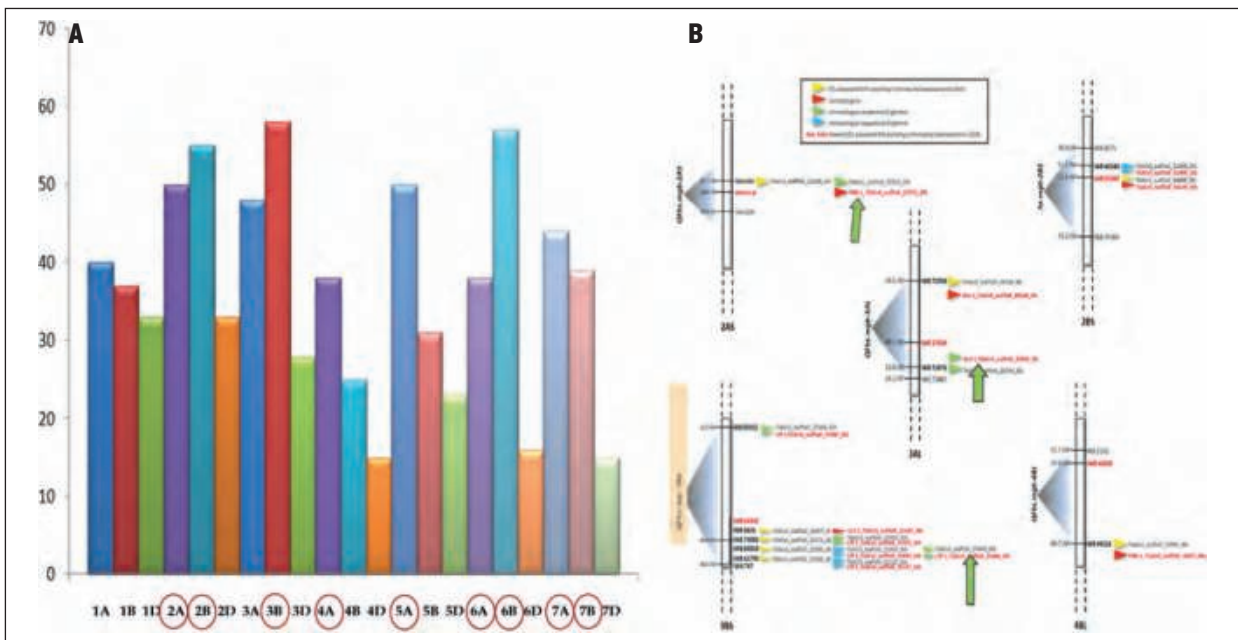


Figura 4 | (A) Localizzazione cromosomica di geni candidati per la resistenza alla fusariosi in una popolazione segregante di frumento duro (B) Localizzazione cromosomica del gene candidato *WheatPme-1*, (2AS) che catalizza la de-metilazione della pectina; in letteratura è riportato che lo stato di metilazione della pectina influenza l'accessibilità della parete cellulare (CW) agli enzimi degradativi fungini (DE); e del gene *WAKs* (2AS) enzima che consente alle cellule vegetali di rispondere ai segnali di stress biotici provenienti dall'ambiente esterno.

sità, analisi GWAS, *bulk segregant analysis* supportata da NGS e RNA-seq, **InnoWheatRes** ha contribuito ad ampliare in modo significativo il “catalogo” di loci e alleli chiave per la resistenza ai patogeni fungini nel frumento duro. Questi risultati consentiranno inoltre di ridurre sensibilmente i tempi necessari per l’identificazione di sequenze candidate da sottoporre a validazione funzionale e successiva applicazione nel *breeding*.

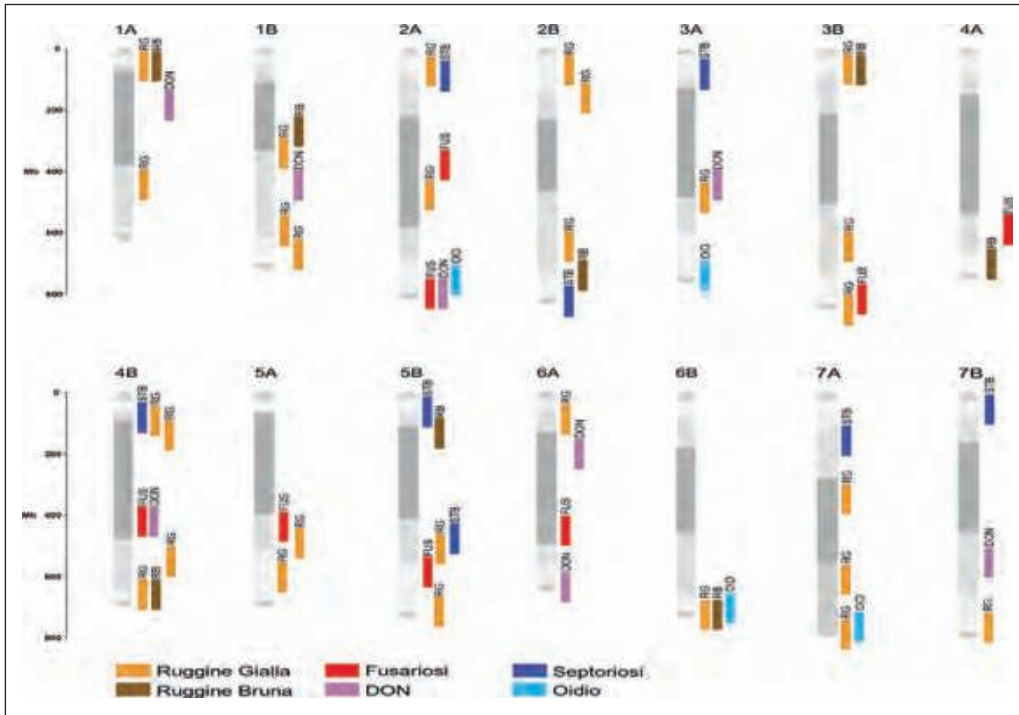


Figura 5 | Rappresentazione delle regioni genomiche responsabili delle resistenze alle malattie fungine individuati nell’ambito del progetto InnoWheatRes da landraces di frumento duro. Ogni cromosoma è rappresentato da una barra verticale grigia, con la posizione espressa in megabasi (Mb) dall’alto verso il basso.



Figura 6 | Incroci per la costituzione di linee di breeding resistenti.

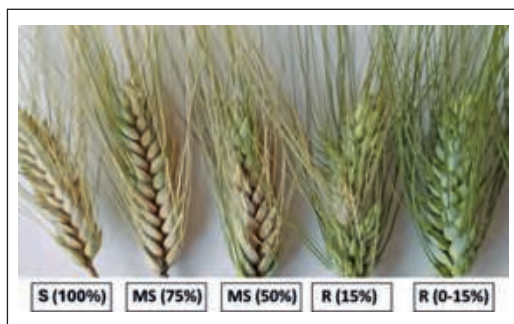


Figura 7 | Linee suscettibili (S) e resistenti (R) prodotte nell'ambito del progetto.

L'impatto del progetto **InnoWheatRes** non è solo scientifico, ma anche sociale ed economico. L'applicazione dei risultati ottenuti potrà essere utilizzata in programmi di miglioramento genetico consentendo lo sviluppo di sistemi colturali più sostenibili, riducendo l'uso di fungicidi e l'impatto ambientale nella cerealicoltura. Le nuove varietà resistenti garantiranno stabilità nelle produzioni di grano duro negli anni, e una maggiore qualità tecnologica e sanitaria, con minori livelli di micotossine e quindi prodotti finali più sicuri per i consumatori. I benefici si estenderanno lungo l'intera filiera, coinvolgendo non solo ricercatori e *breeder*, ma anche agricoltori, comunità rurali, operatori agroindustriali, decisori politici e pubbliche amministrazioni.

Sul piano del *breeding*, il risultato più immediato è stato l'ampliamento sostanziale del repertorio di loci, alleli e geni candidati associati alla resistenza a *Fusarium head blight*, *Septoria tritici blotch* e ruggini. L'identificazione di QTL stabili e riproducibili in diversi ambienti, unitamente alla loro caratterizzazione molecolare e funzionale, che permetterà di superare l'attuale dipendenza da poche resistenze monogeniche facilmente aggirabili dai patogeni. Le linee genetiche e gli stock *pre-breeding* sviluppati nel progetto rappresenteranno materiale "ready-to-use" per i programmi di miglioramento, accelerando l'introggressione di resistenze efficaci in cultivar élite senza penalizzare resa e qualità.

Le analisi funzionali e trascrittomiche effettuate nel progetto avranno un impatto rilevante anche sul piano della comprensione dei meccanismi biologici alla base delle interazioni pianta-patogeno. L'identificazione di reti regolative, geni differenzialmente espressi e fattori di suscettibilità offrirà nuove opportunità applicative, sia per il miglioramento genetico convenzionale sia per l'impiego di nuove tecnologie di *breeding*. In particolare, la validazione funzionale dei geni candidati e l'uso di approcci di cisgenesi ed editing genomico consentiranno di generare linee con resistenze mirate e stabili, riducendo l'incertezza legata all'introggressione casuale di grandi segmenti genomici.

Dal punto di vista agronomico e ambientale, l'adozione di varietà resistenti sviluppate a partire dai risultati di **InnoWheatRes** potrà contribuire in modo significativo alla riduzione dell'uso di fungicidi. Questo si tradurrà in una minore pressione selettiva sulle popolazioni fungine, in una diminuzione del rischio di comparsa di ceppi resistenti e in un impatto ambientale complessivamente inferiore, in linea con le politiche europee di riduzione degli input chimici in agricoltura. La diminuzione dei trattamenti chimici comporterà inoltre benefici economici diretti per gli agricoltori, grazie alla riduzione dei costi di produzione e a una maggiore stabilità delle rese in condizioni di elevata pressione patogena.

Un aspetto particolarmente rilevante riguarda la qualità e la sicurezza alimentare. Nel caso della fusariosi della spiga, l'introduzione di resistenze efficaci alla diffusione del fungo e all'accumulo di deossinivalenolo (DON) consentirà di ridurre in modo sostanziale la contaminazione della granella da micotossine, con un impatto diretto sulla salute dei consumatori, sulla conformità ai limiti normativi e sul valore commerciale del prodotto, rafforzando la competitività del grano duro europeo sui mercati nazionali e internazionali Gadaleta *et al.* (2019).

Infine, l'impatto sociale del progetto è legato alla sua capacità di coinvolgere un ampio spettro di *stakeholder*, dai ricercatori ai *breeder*, dagli agricoltori agli operatori della filiera agro-alimentare, fino ai decisori politici e alle amministrazioni pubbliche. La disponibilità di varietà più resistenti, sostenibili e sicure contribuirà a rafforzare la fiducia dei consumatori, a sostenere le economie rurali e a promuovere modelli agricoli coerenti con gli obiettivi dell'Agenda 2030 e dei programmi europei per la transizione ecologica. In questo senso, InnoWheatRes rappresenta non solo un avanzamento scientifico, ma anche uno strumento concreto per una cerealicoltura più resiliente, sostenibile e orientata al lungo periodo.

BIBLIOGRAFIA

- Gadaleta A. *et al.* (2019). Map-based cloning of QFhb. mgb-2A identifies a WAK2 gene responsible for Fusarium Head Blight resistance in wheat. *Scientific Reports* 9.1 6929-6929.
- Maccaferri M., Harris N.S., Twardziok S.O. *et al.* (2019). Durum wheat genome highlights past domestication signatures and future improvement targets. *Nat. Genet.* 51, 885-895 <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0381-3>
- Mazzucotelli E. *et al.* (2020). The Global Durum Wheat Panel (GDP): an international platform to identify and exchange beneficial alleles. *Front. Plant Sci. – Sec. Plant Breeding*, 11 <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.569905>

CADMIDUR

Strategies to Reduce Cadmium Accumulation in Durum Wheat through Genetic and Agronomic Approaches

Titolo del Progetto (in italiano): Gestione del cadmio nel frumento duro: approcci agronomici, fisiologici e genetici

Coordinatori: Alessio Aprile, Eliana Nutricati, Università degli Studi del Salento (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali)

Unità Operative

- Università degli Studi di Bari Aldo Moro (Dipartimento di Scienze del suolo, della pianta e degli alimenti): Ilaria Marcotuli
- Università degli Studi di Foggia (Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimenti, Risorse Naturali e Ingegneria): Zina Flagella, Angela Libutti, Michele Andrea De Santis
- Università degli Studi di Napoli Federico II (Dipartimento di Agraria): Nunzio Fiorentino, Massimo Fagnano

INTRODUZIONE

Il grano duro (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) rappresenta una delle principali colture strategiche per l'agroalimentare italiano, alla base della produzione di pasta, alimento identitario del nostro Paese. Tuttavia, negli ultimi anni, l'attenzione della comunità scientifica e delle autorità regolatorie si è concentrata sulla crescente contaminazione da metalli pesanti, in particolare cadmio (Cd), che può accumularsi nei tessuti vegetali ed entrare nella catena alimentare umana. Il cadmio è classificato come elemento tossico e cancerogeno per l'uomo, motivo per cui l'Unione Europea ha introdotto limiti sempre più stringenti nei prodotti destinati al consumo alimentare (Regolamento UE 2021/1323).

Nel caso del frumento duro, l'assorbimento e il trasporto del Cd a livello radicale e sistemico possono variare in funzione della genetica varietale, della composizione del suolo, della presenza di altri elementi nutritivi come zinco, ferro e rame, e di numerosi fattori fisiologici (Grant *et al.*, 2008; Clemens *et al.*, 2013). Studi condotti negli ultimi due decenni hanno evidenziato l'esistenza di una significativa variabilità genotipica per l'accumulo di Cd nelle cariossidi (Lopez-Millan *et al.*, 2009; Guttieri *et al.*, 2015), aprendo la strada a programmi di selezione orientati alla sicurezza alimentare oltre che alla produttività.

Il progetto CADMIDUR, finanziato nell'ambito del PNRR dal Ministero dell'Università e della Ricerca, affronta questa problematica attraverso un approccio integrato e multidisciplinare, che combina:

- screening fenotipico e ionomico di genotipi di grano duro coltivati in condizioni controllate, con particolare attenzione all'assorbimento e traslocazione del Cd;
- validazione molecolare e funzionale di linee mutanti TILLING per geni coinvolti nel trasporto di metalli e nella risposta allo stress;
- sperimentazioni in mesocosmi con suoli naturalmente e antropicamente contaminati, trattati con ammendanti innovativi come biochar e PGPR, per valutare l'interazione tra genotipo, suolo e gestione agronomica.

L'obiettivo finale è duplice: da un lato, identificare linee genetiche resilienti che presentino basso accumulo di Cd e buone performance agronomiche; dall'altro, sviluppare strategie di mitigazione agronomica applicabili anche in ambienti pedologicamente complessi, garantendo così la qualità e la sicurezza della produzione nazionale di grano duro.

Il progetto risponde in modo diretto agli obiettivi di sostenibilità ambientale, salute pubblica e innovazione genetica promossi dal PNRR, e si propone di generare risultati trasferibili al mondo produttivo, inclusi strumenti per la selezione assistita, indicazioni per l'uso di ammendanti e linee guida per la coltivazione in aree a rischio contaminazione.

STRUTTURA DEL PROGETTO

Il progetto CADMIDUR nasce con l'obiettivo di sviluppare strategie integrate per ridurre l'accumulo di cadmio nel grano duro, un metallo pesante di elevata tossicità per l'uomo, che può contaminare la catena alimentare attraverso l'assorbimento da parte delle colture cerealicole.

Il progetto si articola in tre linee principali di attività:

1. caratterizzazione genetica e fisiologica di genotipi di frumento duro coltivati in condizioni controllate (idroponica e aeroponica), al fine di valutare l'accumulo di Cd e la risposta nutrizionale (Fe, Zn, Cu);
2. validazione funzionale di mutanti TILLING selezionati per geni coinvolti nella risposta al cadmio, attraverso esperimenti molecolari (trascrittomica) e fenotipici;
3. sperimentazioni in campo in mesocosmi, con l'utilizzo di suoli contaminati e trattamenti ammendanti (biochar e PGPR), per validare le interazioni tra genotipo, suolo e tecniche agronomiche.

IMPATTO ATTESO E POSSIBILI APPLICAZIONI

Il progetto mira a produrre risultati concreti e trasferibili a livello agricolo e industriale:

- identificazione di genotipi di frumento duro a basso accumulo di cadmio, con buon profilo nutrizionale;
- definizione di biomarcatori fenotipici e molecolari per la selezione assistita;
- sviluppo di protocolli per l'impiego di ammendanti (biochar, PGPR) in suoli contaminati;
- raccomandazioni per politiche agronomiche e selezione varietale orientate alla sicurezza alimentare.

RISULTATI

Una delle attività centrali del progetto CADMIDUR ha riguardato la valutazione preliminare di numerosi genotipi di frumento duro per identificare varietà a basso accumulo di cadmio nelle cariossidi. Le coltivazioni sono state condotte in condizioni idroponiche controllate, sia in assenza che in presenza del metallo pesante ($10 \mu\text{M CdCl}_2$), al fine di monitorare l'assorbimento e la traslocazione del Cd e il suo impatto su parametri fisiologici come il contenuto in clorofilla (indice SPAD) e la biomassa vegetale.

Tra i genotipi testati, Iride si è confermato come uno dei materiali genetici più promettenti per la sua capacità di limitare l'accumulo di Cd nelle cariossidi, mentre Kronos ha mostrato un livello di accumulo medio-alto.

Questa informazione ha guidato la selezione e lo studio di mutanti TILLING derivati proprio da Kronos, focalizzandosi su geni candidati coinvolti nel trasporto e nella detossificazione dei metalli.

Un asse portante del progetto, infatti, ha riguardato la selezione mirata di linee TILLING (*Targeting Induced Local Lesions IN Genomes*) di *Triticum turgidum* cv. Kronos, scelte come modello genetico per l'elevata disponibilità di risorse genomiche e per il suo

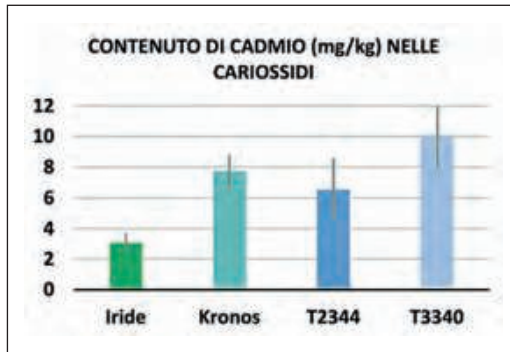


Figura 1 | Contenuto di cadmio nelle cariossidi dei genotipi Irìde e Kronos e di due mutanti di Kronos.

comportamento di accumulo medio-alto di cadmio. Questa caratteristica ha reso Kronos particolarmente adatto allo studio dei geni coinvolti nei meccanismi di accumulo e alla valutazione dell'effetto di mutazioni specifiche.

La selezione delle linee TILLING si è basata sull'identificazione di mutazioni di tipo *loss-of-function*, come la presenza di codoni di stop prematuri o eventi di *splicing* alternativo, in geni noti o candidati per il loro ruolo nell'omeostasi, nel trasporto e nella detossificazione dei metalli pesanti. Tra i geni analizzati figurano fattori di trascrizione (*bHLH39*), trasportatori di membrana e proteine di sequestro (*HMT1*, *ABCF3*, *ZIFL*, *IREG2*), trasportatori coinvolti nella mobilizzazione dei metalli a lunga distanza (*YSL1*, *YSL2*), enzimi della biosintesi dei chelanti metallici (*NAS1-4*, *NAAT*), pompe di efflusso (*HMA2*), oltre ad acquaporine e trasportatori di zinco (*zinc transporter 7-like*), potenzialmente coinvolti anche nel movimento del Cd.

Attraverso questa strategia sono state selezionate 29 linee mutanti, ciascuna caratterizzata da una specifica alterazione genetica e affiancata dai rispettivi controlli *wild-type*. Tra queste, i mutanti T2344 e T3340 hanno mostrato un particolare interesse e sono stati moltiplicati per consentire una valutazione approfondita dell'impatto delle singole mutazioni sul comportamento della pianta in condizioni agronomiche reali, nonché per la validazione funzionale dei geni coinvolti.

I mutanti selezionati, insieme alla linea *wild-type* Kronos, sono stati quindi coltivati e sottoposti ad analisi morfofisiologiche, ionomiche e trascrittomiche, al fine di integrare le risposte fenotipiche con i dati molecolari.

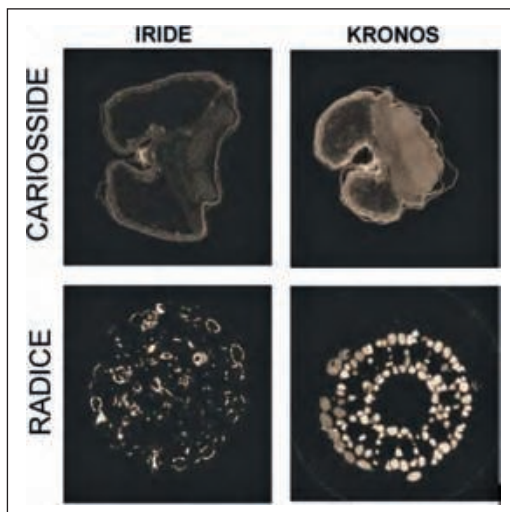


Figura 2 | Microtomografia di fluorescenza di raggi X con luce di sincrotrone (SR-XRF- μ CT) di campioni di cariossidi e radici delle cultivar Irìde e Kronos.

Le analisi molecolari condotte su piante cresciute in condizioni di stress da Cd hanno rivelato una generale down-regolazione dei geni associati al trasporto e alla compartimentalizzazione del metallo, con risposte differenziate tra i genotipi testati. In particolare, nei mutanti per IREG2 e ZIF1 si sono osservate alterazioni significative nella distribuzione del Cd nei tessuti radicali e nei semi, suggerendo un ruolo diretto di questi geni nella regolazione della detossificazione intracellulare.

Un importante avanzamento è stato ottenuto anche grazie all'impiego della microtomografia a fluorescenza di raggi X (SR-XRF- μ CT) presso la *beamline* P06 del sincrotrone PETRA III (DESY, Amburgo), che ha permesso di visualizzare in alta risoluzione la localizzazione del cadmio nei tessuti di Kronos e Iride. I risultati ottenuti indicano una possibile differenza tra le due varietà nel meccanismo di traslocazione del metallo: in Kronos, il Cd sembrerebbe seguire preferenzialmente la via simplastica, raggiungendo più facilmente i semi, mentre in Iride potrebbe prevalere un meccanismo di esclusione a livello radicale, forse associato a trasportatori di membrana e compartimentalizzazione extracellulare e verosimilmente nelle pareti.

Queste osservazioni supportano l'ipotesi che la diversità genotipica nella via di traslocazione del Cd (simplastica *vs.* apoplastica) possa costituire una chiave per lo sviluppo di varietà a basso rischio di contaminazione alimentare.

TRASFERIMENTO DELLE INNOVAZIONI DI CADMIDUR ALLA FILIERA PRODUTTIVA

Le conoscenze e le soluzioni sviluppate nell'ambito del progetto CADMIDUR costituiscono un contributo diretto al trasferimento delle innovazioni verso la filiera produttiva del grano duro, con particolare riferimento al miglioramento genetico e al settore sementiero. L'identificazione di genotipi e linee mutanti a basso accumulo di cadmio, insieme alla definizione di biomarcatori molecolari e fisiologici associati ai meccanismi di trasporto e detossificazione dei metalli, fornisce strumenti concreti per la selezione assistita di nuove varietà più sicure dal punto di vista alimentare. Le informazioni generate sui geni chiave e sulle vie di traslocazione del Cd sono immediatamente utilizzabili nei programmi di *breeding*, consentendo di accelerare l'introduzione di caratteri di resilienza senza penalizzare le prestazioni agronomiche. Parallelamente, i risultati relativi all'interazione tra genotipo, suolo e pratiche agronomiche (uso di ammendanti come biochar e PGPR) permettono di definire linee guida operative per la coltivazione del grano duro in aree a rischio di contaminazione, favorendo l'adozione di pratiche sostenibili da parte degli agricoltori. In questo modo, CADMIDUR si pone come ponte tra ricerca e applicazione, facilitando l'integrazione delle innovazioni genetiche e agronomiche lungo l'intera filiera, dal seme al prodotto finale, a beneficio della sicurezza alimentare, della competitività del settore e della tutela del consumatore.

TRASFERIMENTO ALLA FILIERA DELLA QUALITÀ (SEMOLA E PASTA)

I risultati del progetto CADMIDUR rappresentano un importante passo avanti per il trasferimento dell'innovazione alla filiera della qualità della semola e della pasta, settori strategici del sistema agroalimentare italiano. L'individuazione di genotipi di frumento duro caratterizzati da ridotto accumulo di cadmio nelle cariossidi consente di intervenire in modo preventivo sulla qualità della materia prima, riducendo il rischio di contaminazione nei prodotti trasformati e rafforzando la conformità ai limiti normativi europei. Oltre alla fase di produzione primaria, le conoscenze generate dal progetto offrono benefici concreti anche nelle fasi di stoccaggio, molitura e trasformazione, permettendo una

gestione più consapevole delle partite di grano in funzione del loro profilo di sicurezza. La possibilità di disporre di materie prime geneticamente predisposte a limitare l'accumulo di Cd contribuisce a migliorare la stabilità qualitativa della semola e a ridurre la variabilità del prodotto finale, facilitando il rispetto degli standard richiesti dall'industria pastaria e dai mercati internazionali.

In questo contesto, l'integrazione delle innovazioni sviluppate favorisce una filiera più trasparente e orientata alla qualità, in cui sicurezza alimentare, sostenibilità e valore del prodotto si rafforzano reciprocamente. L'adozione di varietà e pratiche validate dal progetto CADMIDUR contribuisce così a consolidare il posizionamento della pasta italiana come prodotto di eccellenza, sicuro per il consumatore e coerente con le aspettative di una filiera moderna e responsabile.

TRASFERIMENTO ALLE PRATICHE AGRONOMICHE

Il progetto CADMIDUR fornisce indicazioni operative concrete per il trasferimento dell'innovazione alle pratiche agronomiche, contribuendo a una gestione più sostenibile e sicura della coltivazione del frumento duro in aree a rischio di contaminazione da cadmio. I risultati ottenuti evidenziano come l'accumulo di Cd non dipenda esclusivamente dalla genetica varietale, ma sia fortemente influenzato dall'interazione tra genotipo, caratteristiche del suolo e strategie di gestione agronomica.

Le sperimentazioni condotte in mesocosmi con suoli naturalmente e antropicamente contaminati hanno permesso di valutare l'efficacia di ammendanti innovativi, come il biochar e i microrganismi promotori della crescita delle piante, nel ridurre la biodisponibilità del cadmio nel suolo e la sua traslocazione verso le parti edibili della pianta. Questi approcci, integrati con la scelta di varietà a basso accumulo, rappresentano strumenti applicabili direttamente in campo, senza modificare in modo sostanziale i sistemi colturali esistenti.

In prospettiva, le conoscenze generate consentono di definire linee guida agronomiche mirate per la coltivazione del grano duro in ambienti pedologicamente complessi, supportando gli agricoltori nelle decisioni relative alla gestione del suolo, alla fertilizzazione e all'impiego di ammendanti. Il trasferimento di tali pratiche contribuisce a ridurre il rischio di contaminazione della filiera, migliorare la sostenibilità ambientale delle produzioni e garantire una maggiore sicurezza del prodotto finale, rafforzando il legame tra innovazione scientifica e agricoltura di qualità.

CONCLUSIONI

Il progetto CADMIDUR ha dimostrato come un approccio integrato, che combina genetica, fisiologia e pratiche agronomiche innovative, possa offrire soluzioni concrete per ridurre l'accumulo di cadmio nel frumento duro. I risultati ottenuti evidenziano il valore della variabilità genetica e della gestione sostenibile del suolo come strumenti complementari per migliorare la sicurezza alimentare e la qualità delle produzioni. Le conoscenze generate sono immediatamente trasferibili lungo l'intera filiera, dal miglioramento varietale alla trasformazione industriale, contribuendo a rafforzare la competitività del settore cerealicolo e a tutelare il consumatore finale in un'ottica di sostenibilità e innovazione.

Polyploidbreeding 4.0

Expanding the toolbox for cereal breeding: high-throughput genomics, 2D-3D phenomics and artificial intelligence for breeding with increasing genome complexity, from barley to durum and bread wheat

Titolo del Progetto (in italiano): Nuovi strumenti per il miglioramento genetico dei cereali: genomica ad alta produttività, fenomica 2D-3D e intelligenza artificiale per il breeding con crescente complessità genomica, dall'orzo ai frumenti duro e tenero

Coordinatore: Filippo Biscarini, Consiglio Nazionale delle Ricerche (Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria)

Unità Operative

- Consiglio Nazionale delle Ricerche (Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria): Filippo Biscarini, Giulia Moscatelli
- *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari): Elisabetta Frascaroli, Roshan Paudel, Matteo Bozzoli

Collaborazioni

- CREA: Agostino Fricano, Nelson Nazzicari, Roberta Rossi
- S.I.S. Società Italiana Sementi S.p.A.: Stefano Ravaglia, Eder Liceri Grolì, Paolo De Franceschi
- Forschungszentrum Jülich GmbH (Germany): Kerstin Nagel, Fabio Fiorani

GENOMICA, FENOTIPIZZAZIONE AVANZATA E INTELLIGENZA ARTIFICIALE PER IL MIGLIORAMENTO DEL FRUMENTO DURO

All'interno del quadro generale delineato nei capitoli introduttivi di questo volume, il progetto Polyploidbreeding 4.0 fornisce un contributo specifico alla modernizzazione delle metodologie di fenotipizzazione, genotipizzazione e *breeding* applicate ai cereali, con particolare attenzione al frumento duro e alle ricadute lungo l'intera filiera. Negli ultimi anni, l'agricoltura e il miglioramento genetico hanno beneficiato di una convergenza di innovazioni tecnologiche che comprendono l'agricoltura di precisione, l'uso di sensori e piattaforme di fenotipizzazione ad alta efficienza, le tecnologie di sequenziamento di nuova generazione e i metodi di intelligenza artificiale. L'integrazione di questi strumenti ha dato origine al paradigma del cosiddetto *breeding 4.0*, che mira a rendere i processi di selezione più rapidi, accurati ed efficienti attraverso l'uso coordinato di dati genomici, fenotipici e ambientali (Wallace *et al.*, 2018). Tuttavia, l'adozione di tali approcci, per quanto riguarda le tecnologie genomiche, è stata finora più rapida nelle specie diploidi, mentre nelle specie poliploidi – come i frumenti – persistono lacune metodologiche che ne limitano la piena applicazione nei programmi di *breeding*.

LA SFIDA DELLA POLIPLOIDIA E IL RUOLO DEL FRUMENTO DURO

La poliploidia, cioè la presenza di più copie del genoma, è una caratteristica biologica fondamentale dei frumenti, che ha contribuito alla loro adattabilità e plasticità, ma che introduce una notevole complessità nell'analisi genetica e nella predizione delle prestazioni agronomiche. Nel frumento duro (tetraploide) e nel frumento tenero (esaploide), la gestione dei dati di genotipizzazione richiede pipeline bioinformatiche dedicate, una maggiore profondità di sequenziamento e modelli statistici in grado di trattare corret-

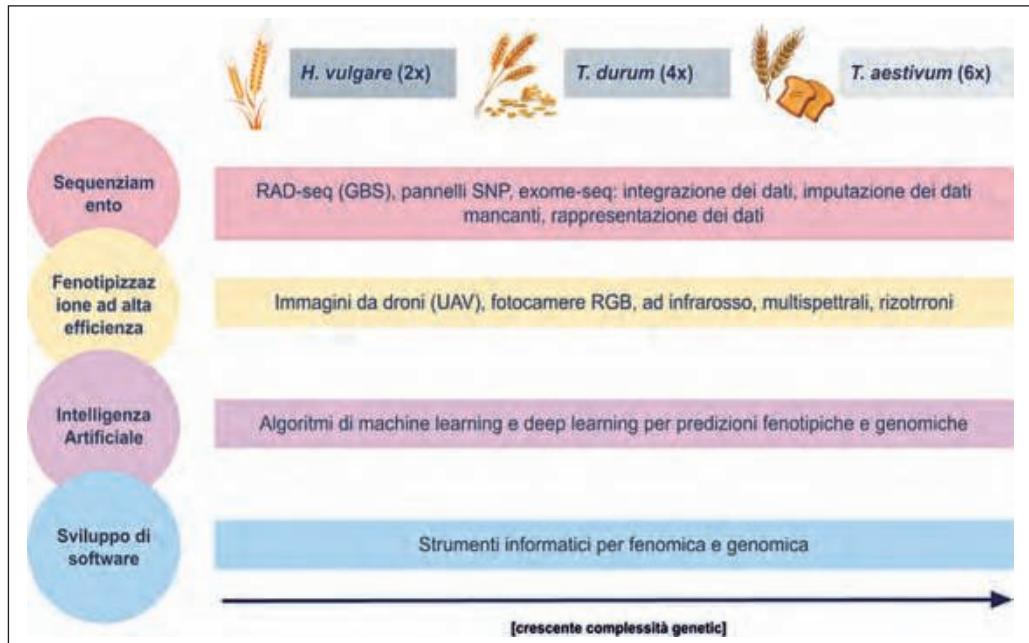


Figura 1 | Panoramica del progetto. Tre specie cerealicole sono state selezionate in base alla loro crescente complessità genomica: orzo (*Hordeum vulgare*, diploide), frumento duro (*Triticum durum*, tetraploide) e frumento tenero (*Triticum aestivum*, esaploide). Il progetto si concentra su tre tecnologie chiave: i) sequenziamento genomico, ii) fenotipizzazione ad alta efficienza, iii) intelligenza artificiale, e sullo sviluppo di strumenti a supporto di programmi di breeding più efficienti. [Immagini di orzo e frumento tratte da www.clipartmax.com e www.dreamstime.com].

tamente la presenza di più copie genomiche. Molti strumenti standard per il controllo di qualità dei dati, l'identificazione delle varianti e l'imputazione dei genotipi mancanti sono stati sviluppati principalmente per specie diploidi e non risultano sempre direttamente trasferibili alle specie poliploidi. Analogamente, la modellistica della selezione genomica (ad esempio le matrici di parentela e le rappresentazioni dei dati) può risentire di assunzioni e semplificazioni originate nell'ambito delle specie diploidi.

Il progetto Polyploidbreeding 4.0 affronta esplicitamente questa sfida adottando un'impostazione comparativa che coinvolge orzo (diploide), frumento duro (tetraploide) e frumento tenero (esaploide). Questo approccio consente di analizzare in modo sistematico l'effetto della crescente complessità genomica sull'accuratezza dei modelli predittivi e sull'efficacia delle strategie di selezione, utilizzando tecnologie e pipeline comparabili tra specie (Fig. 1). In tale contesto, il frumento duro occupa una posizione chiave: sufficientemente complesso da richiedere innovazioni metodologiche mirate, e allo stesso tempo centrale per le ricadute applicative sulla filiera agroalimentare italiana.

CONTINUITÀ DELLA RICERCA E VALORIZZAZIONE DEGLI INVESTIMENTI PREGRESSI

Un elemento qualificante del progetto è la capacità di capitalizzare materiali genetici, dati e conoscenze sviluppati nell'ambito di precedenti progetti di ricerca nazionali ed europei. Polyploidbreeding 4.0 si fonda su un ampio patrimonio sperimentale (e.g. i progetti Barista, Whealbi, InnoVar, Gendibar, CerealMed) che mette a disposizione collezioni di orzo e frumenti già caratterizzati dal punto di vista agronomico e genomico, spesso in prove multi-ambiente e pluriennali.

Tabella 1 - Sintesi dei dati del progetto Polyploidbreeding 4.0: dati generati dagli esperimenti di questo progetto, e dati messi a disposizione da progetti precedenti a cui hanno partecipato partner del progetto stesso (CREA-GB, Università di Bologna).

Fonte	Specie	N. accessioni	Genotipizzazione	Fenotipizzazione		
				droni	rizotrone	tradizionali
SIS (sementiera)	<i>T. durum</i>	~220	nuovi	nuovi	nuovi	nuovi + messi a disposizione
SIS (sementiera)	<i>T. aestivum</i>	~200	nuovi	nuovi	nuovi	nuovi + messi a disposizione
dati storici	<i>H. vulgare</i> , <i>T. durum</i> , <i>T. aestivum</i>	~3750	messi a disposizione	nuovi	nuovi	nuovi + messi a disposizione

L'utilizzo di questi materiali consente di evitare duplicazioni e di massimizzare il ritorno degli investimenti pubblici già effettuati, integrando nuovi livelli informativi su una base di conoscenza consolidata. La Tabella 1 illustra l'insieme dei dati disponibili per Polyploidbreeding 4.0: quelli generati ex-novo dagli esperimenti del progetto (fenotipizzazione con droni e rizotrone, genotipizzazione, sequenziamento), e quelli messi a disposizione da progetti precedenti. Un elemento distintivo del progetto è la costruzione di un ecosistema di dati e competenze che integra accademia, enti di ricerca e impresa, combinando collezioni storiche, reti sperimentali e dati di "breeding reale". Il progetto, infatti, non si limita a un esercizio metodologico: mira a creare strumenti effettivamente utilizzabili nei programmi di selezione, valorizzando dati derivanti da prove multi-ambiente e da popolazioni in cui la selezione avviene in contesti operativi e con vincoli concreti (tempi, costi, organizzazione della fenotipizzazione). La partecipazione di un'azienda sementiera italiana come contributore *in-kind* rafforza ulteriormente il legame tra ricerca e applicazione, garantendo che gli strumenti sviluppati siano coerenti con le esigenze operative dei programmi di *breeding* e siano orientati ad un trasferimento realistico verso l'innovazione varietale.

FENOTIPIZZAZIONE AD ALTA EFFICIENZA: DRONI E APPARATO RADICALE

Uno dei principali colli di bottiglia del miglioramento genetico è storicamente rappresentato dalla fenotipizzazione, ossia dalla misurazione dei caratteri di interesse in modo accurato, ripetibile e su larga scala. L'introduzione di droni (UAV) dotati di camere multispettrali ha profondamente ampliato le possibilità di osservazione della parte aerea delle colture, consentendo l'acquisizione rapida e non distruttiva di informazioni su crescita, vigoria, stato fisiologico, architettura della chioma e risposta agli stress (Puri *et al.*, 2017). Nel progetto Polyploidbreeding 4.0, i dati acquisiti mediante UAV rappresentano una componente centrale della fenotipizzazione ad alta efficienza. Le immagini multispettrali (visibile, infrarosso) permettono di derivare indicatori quantitativi legati all'efficienza fotosintetica, allo sviluppo della vegetazione e alla produttività, offrendo nuove opportunità per la selezione precoce e per l'analisi delle interazioni Genotipo × Ambiente. Infatti, combinando le immagini con i dati genomici si possono stimare i valori genetici delle varietà cerealicole e predire i fenotipi futuri (selezione genomica). L'uso ripetuto dei droni nel corso della stagione vegetativa consente inoltre di costruire serie temporali di immagini, fondamentali per l'estrazione di fenotipi dinamici e per la predizione anticipata delle prestazioni varietali (Fig. 2).

All'interno di Polyploidbreeding 4.0 è stato inoltre sviluppato DRONE2REPORT (<https://github.com/ne1s0n/drone2report>), un software in Python dedicato all'elaborazione automatica di immagini da droni. Una delle funzionalità presenti è la calibrazione della

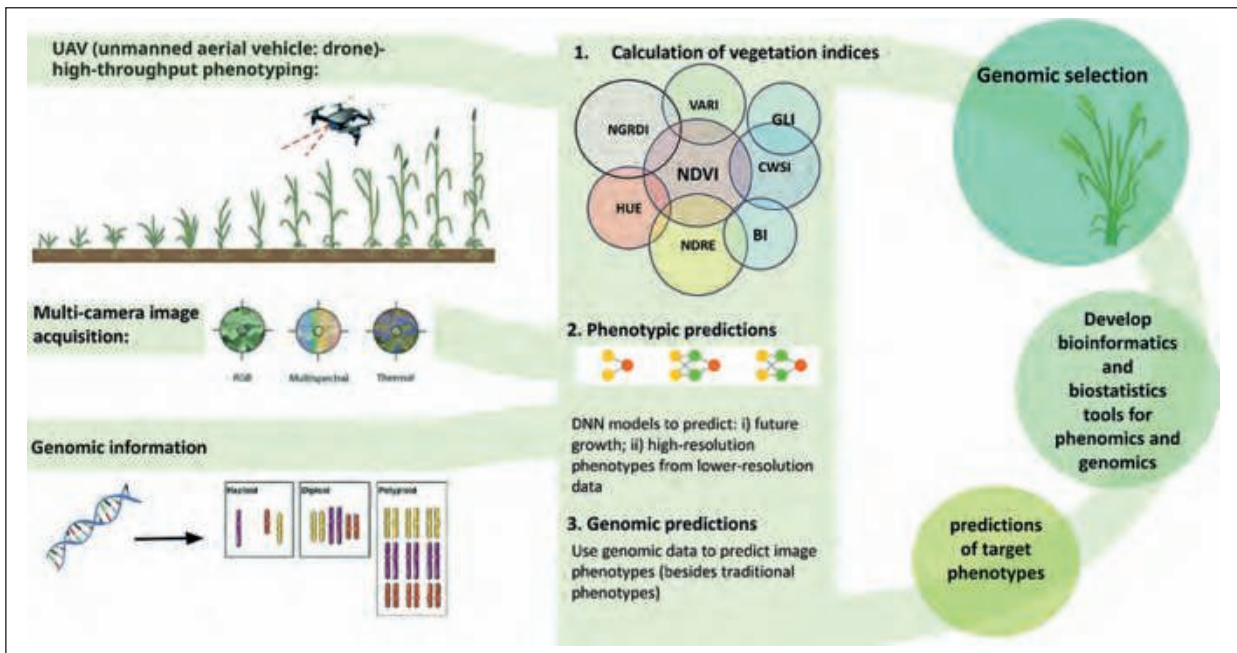


Figura 2 | Illustrazione dell'esperimento di fenotipizzazione con droni nell'ambito del progetto Polyploidbreeding 4.0. Le immagini sono state raccolte durante tutta la stagione di crescita (febbraio - giugno) di orzo, grano duro e grano tenero. Dalle immagini si ricavano: i) gli indici vegetativi (indicatori sintetici di vari aspetti dello stato di evoluzione del campo cerealicolo); ii) le predizioni su base fenotipica di resa e qualità della produzione, tramite algoritmi di intelligenza artificiale; iii) le predizioni su base genomica dei fenotipi futuri attesi (selezione genomica), combinando informazioni fenotipiche e genotipiche.

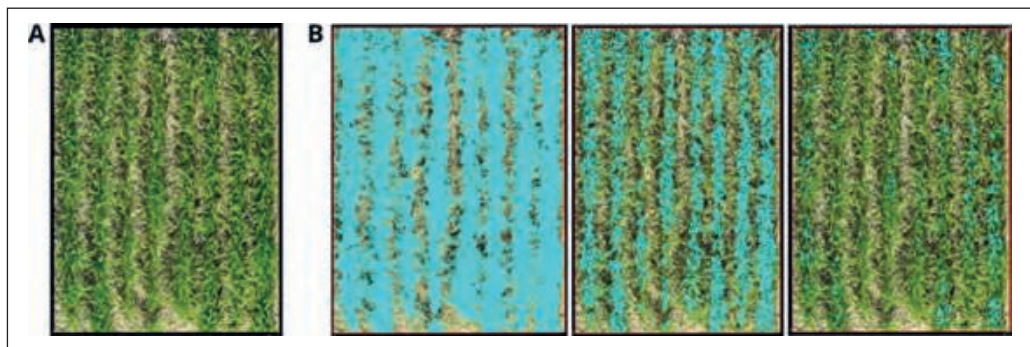


Figura 3 | Ottimizzazione della sogliatura di un indice vegetativo. Il pannello A) riporta un estratto da un'immagine originale del campo d'orzo: tutti i pixel verrebbero utilizzati per i calcoli degli indici. Il pannello B) mostra la stessa immagine sogliata a diversi valori sull'indice vegetativo GLI. All'aumentare della soglia, vengono utilizzati sempre meno pixel per il calcolo dell'indice (indicati in turchese).

soglia di definizione (sogliatura) per l'estrazione di informazioni sullo stato di sviluppo della pianta. In Figura 3 è riportato un esempio di ottimizzazione della sogliatura di un indice vegetativo effettuata tramite DRONE2REPORT.

Accanto alla parte aerea, Polyploidbreeding 4.0 dedica un'attenzione specifica all'apparato radicale, un insieme di caratteri di importanza cruciale per l'adattamento delle piante, a lungo trascurati nei programmi di *breeding* a causa delle difficoltà tecniche di osservazione. Le radici determinano la capacità della pianta di esplorare il suolo, acquisire



Figura 4 | Esempio della variabilità fenotipica riscontrata in radici adulte di frumento duro in esperimenti di shovelomica in campo in due ambienti.

acqua e nutrienti e mantenere una produttività stabile in condizioni di stress idrico e nutrizionale, aspetti particolarmente rilevanti per il frumento duro in ambienti mediterranei (Tracy *et al.*, 2020).

Grazie all'impiego di rizotroni su piattaforme ad alta efficienza (esperimento effettuato in collaborazione con i partner scientifici del Forschungszentrum Jülich GmbH, Germania), il progetto ha acquisito scansioni radicali bidimensionali che consentono di descrivere quantitativamente l'architettura dell'apparato radicale (densità, ramificazione, angoli di crescita, distribuzione spaziale). Le misure vengono raccolte in modo longitudinale nelle fasi iniziali di sviluppo, permettendo di esplorare le relazioni tra sviluppo radicale precoce, uso delle risorse, crescita vegetativa e resa finale. L'integrazione di questi dati con quelli acquisiti dai droni consente una visione più completa del fenotipo, sopra e sotto il suolo. I genotipi di frumento duro valutati nei rizotroni sono stati inoltre analizzati in campo in due località (Fiorenzuola e Bologna), su piante adulte estratte dal suolo (shovelomica), per verificare la relazione tra i due metodi di indagine. Un esempio della variabilità riscontrata in campo è riportato in Figura 4.

BIG DATA E INTELLIGENZA ARTIFICIALE PER LA PREDIZIONE: DALLA SELEZIONE ASSISTITA DA MARCATORI ALLA SELEZIONE GENOMICA

L'integrazione di dati genomici, fenotipi tradizionali, immagini UAV e scansioni radicali genera dataset caratterizzati da elevato volume, varietà ed eterogeneità, tipici dei *big data* (Sun *et al.*, 2018). Queste caratteristiche rendono particolarmente strategici i metodi di *machine learning* e *deep learning*, capaci di estrarre informazione predittiva da dati complessi e strutturati. In anni recenti, lo sviluppo di modelli di intelligenza artificiale basati su reti neurali ha cambiato i paradigmi di tutti i campi della ricerca. L'intero settore della biologia (*life sciences*) si sta adattando a queste sfide, aggiornando procedure, conoscenze e modelli statistici (Biscarini e Nazzicari, 2026).

La selezione assistita da marcatori (MAS) ha storicamente migliorato l'efficacia dei programmi di *breeding*, collegando specifici marcatori genetici a geni o regioni genomiche

associate a caratteri rilevanti (resa, adattamento, resistenze). Tuttavia, la MAS tradizionale si basava spesso su un numero limitato di marcatori.

La diffusione del Sequenziamento di Nuova Generazione (NGS) ha cambiato radicalmente il quadro: oggi è possibile ottenere decine o centinaia di migliaia di marcatori distribuiti su tutto il genoma a costi decrescenti, permettendo l'affermazione della Selezione Genomica (GS), che predice il valore genetico di un individuo usando l'informazione genomica complessiva (Meuwissen *et al.*, 2001; Bhat *et al.*, 2016). Nei modelli GS, i marcatori (spesso SNP) sono usati come variabili predittive in modelli di regressione genomica, spesso sotto forma di modelli misti (ad es. G-BLUP) e sue variazioni (Gianola 2013). Negli ultimi anni si sono affermate innovazioni che migliorano la capacità predittiva in casi complessi, come approcci non lineari per catturare componenti non additive, e modelli che incorporano l'interazione Genotipo \times Ambiente (G \times E) per aumentare l'accuratezza in prove multi-ambiente.

In Polyploidbreeding 4.0, i modelli di selezione genomica costituiscono la base metodologica per la predizione dei valori di *breeding* in orzo e frumento, e vengono estesi e confrontati con approcci più avanzati, inclusi modelli non lineari e reti neurali profonde (Washburn *et al.*, 2022; Nazzicari e Biscarini, 2022). In parallelo, il *deep learning* viene applicato all'analisi delle immagini UAV e delle scansioni radicali per predire i valori dei caratteri agronomici tradizionali e per identificare fenotipi derivati difficilmente misurabili con approcci convenzionali. Un aspetto di particolare interesse è la possibilità di predire lo sviluppo futuro delle radici e della biomassa a partire da osservazioni precoci, riducendo tempi e costi della fenotipizzazione e rendendo questi caratteri più facilmente integrabili nei programmi di selezione.

VALIDAZIONE E TRASFERIBILITÀ DEI RISULTATI

Affinché l'innovazione metodologica si traduca in impatto reale, il progetto delinea la successiva fase di validazione. I modelli predittivi dovranno essere valutati mediante procedure di validazione incrociata e simulazioni in silico, ma anche attraverso confronti in campo che coinvolgano materiali selezionati con approcci diversi al fine di stimare l'accuratezza e la robustezza in relazione a diversi caratteri, livelli di ereditabilità e contesti ambientali. La disponibilità di popolazioni e dati attuali e storici provenienti da programmi di *breeding* operativi consente di confrontare le linee selezionate mediante modelli avanzati con quelle ottenute tramite metodi tradizionali, aumentando la credibilità e la trasferibilità dei risultati. Questo confronto diretto tra strategie di selezione costituisce un passaggio cruciale per valutare l'effettivo valore aggiunto degli approcci basati su big data e intelligenza artificiale in contesti di *breeding* reale.

SVILUPPO FUTURO: COLLEGARE GENETICA, AMBIENTE E IDEOTIPI

Un importante livello di integrazione dei risultati di Polyploidbreeding 4.0 è rappresentato dal collegamento tra predizione genetica e modellistica colturale in grado di simulare giornalmente crescita e dinamiche suolo-pianta in funzione di meteo, suolo e gestione agronomica, permettendo calibrazioni su dati sperimentali e valutazioni comparative tra genotipi in scenari differenti (Perego *et al.*, 2013). Questo approccio consentirà di valutare in modo quantitativo come specifiche combinazioni di caratteri si traducono in prestazioni agronomiche differenziate al variare degli scenari ambientali. In prospettiva, l'integrazione tra modelli predittivi (GS e IA) e modelli colturali può aiutare a selezionare caratteri "robusti" rispetto alla variabilità climatica, orientare la selezione verso stabilità e riduzione del rischio, suggerire combinazioni ottimali tra genetica e pratiche

BOX 1**Il contributo di POLYPLOIDBREEDING 4.0 al frumento duro**

- Estensione concreta del paradigma *breeding 4.0* alle specie poliploidi, con focus sul frumento duro.
- Integrazione strutturata di genomica, fenotipizzazione da droni e caratteri radicali.
- Valorizzazione di collezioni e reti sperimentali già finanziate a livello nazionale ed europeo.
- Sviluppo di modelli predittivi più robusti per ambienti mediterranei ad elevata variabilità climatica.
- Sviluppo di strumenti informatici utilizzabili dagli operatori tecnici della filiera del frumento duro.
- Rafforzamento del trasferimento tecnologico verso il settore sementiero e la filiera del frumento duro.

agronomiche. In questo senso, l'obiettivo diventa identificare ideotipi per la selezione coerenti con specifici scenari ambientali e climatici, piuttosto che la semplice massimizzazione della resa in condizioni ottimali. Questi aspetti sono particolarmente rilevanti per il frumento duro, coltivato in aree spesso sensibili a stress idrici e termici. Questo approccio permetterà di spostare l'attenzione dalla sola massimizzazione della resa alla stabilità produttiva e alla riduzione del rischio, aspetti centrali per la sostenibilità dei sistemi cerealicoli mediterranei.

RICADUTE POTENZIALI PER LA FILIERA DEL FRUMENTO DURO

Nel loro insieme, le attività di Polyploidbreeding 4.0 contribuiscono a rafforzare la capacità nazionale di innovazione nel miglioramento genetico del frumento duro (Box 1). L'estensione degli strumenti di *breeding 4.0* alle specie poliploidi, l'integrazione di fenotipi ad alta complessità come quelli radicali e l'uso sistematico di droni, big data e intelligenza artificiale possono tradursi in programmi di selezione più rapidi, mirati e robusti. In prospettiva, ciò può sostenere lo sviluppo di varietà più stabili e adattate agli ambienti italiani, migliorare l'efficienza nell'uso delle risorse e contribuire alla competitività dell'intera filiera. L'attenzione alla trasferibilità degli strumenti sviluppati verso il settore sementiero rappresenta un elemento chiave per garantire che l'innovazione scientifica si traduca in benefici concreti lungo la catena del valore. I progressi nella comprensione genetica e nella modellistica predittiva possono inoltre dialogare, nel medio periodo, con tecnologie di *breeding* di precisione, incluso l'editing genetico, qualora il contesto regolatorio ne consenta un utilizzo più ampio. In questo quadro, Polyploidbreeding 4.0 contribuisce a costruire una base metodologica e conoscitiva solida su cui innestare future strategie di innovazione nel miglioramento genetico dei cereali.

BIBLIOGRAFIA

Bhat J.A., Ali S., Salgotra R.K., *et al.* (2016). Genomic selection in the era of next generation sequencing for complex traits in plant breeding. *Frontiers in Genetics*, 7, 221.

Biscarini F., Nazzicari N. (2026). *Deep Learning for Life Sciences: with Python Notebooks for Examples and Exercises*. Springer Nature.

Gianola D. (2013). Priors in whole-genome regression: the Bayesian alphabet returns. *Genetics*, 194(3), 573-596.

Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., Goddard M.E. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 157(4), 1819-1829.

- Nazzicari N., Biscarini F. (2022). Stacked kinship CNN *vs.* GBLUP for genomic predictions of additive and complex continuous phenotypes. *Scientific Reports*, 12, 19889.
- Perego A., Confalonieri R., Cammarano D., *et al.* (2013). The ARMOSA simulation crop model: overall features, calibration and validation results. *Italian Journal of Agrometeorology*, 3, 23-38.
- Puri V., Nayyar A., Raja L. (2017). Agriculture drones: a modern breakthrough in precision agriculture. *Journal of Statistics and Management Systems*, 20(4), 507-518.
- Sun Z., Sun L., Strang K. (2018). Big data with ten big characteristics. In *Proceedings of the 2nd International Conference on Big Data Research*, 56-61.
- Tracy S.R., Nagel K.A., Postma J.A., *et al.* (2020). Crop improvement from phenotyping roots: highlights reveal expanding opportunities. *Trends in Plant Science*, 25(1), 105-118.
- Wallace J.G., Rodgers-Melnick E., Buckler E.S. (2018). On the road to *breeding* 4.0: unraveling the good, the bad, and the boring of crop quantitative genomics. *Annual Review of Genetics*, 52, 421-444.
- Washburn J.D., Burch M.B., Franco J.A., *et al.* (2022). Machine learning and deep learning in plant *breeding*. *Trends in Plant Science*, 27(6), 556-570.

DISTINCT

Deciphering early signals in wheatmycorrhizal fungi communication and their role in mycorrhiza-induced resistance

Titolo del Progetto (in italiano): Svelare i segnali precoci nella comunicazione del frumento duro con i funghi micorrizici arbuscolari e il loro ruolo nella resistenza indotta dalla micorrizzazione

Coordinatore: Daniel Savatin, Università degli Studi della Tuscia (Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali)

Unità Operative

- Consiglio Nazionale delle Ricerche (Istituto di Bioscienze e Biorisorse): Raffaella Maria Balestrini
- Università degli Studi della Tuscia (Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali): Daniel Savatin, Francesco Sestili

Lo sviluppo di cultivar resistenti agli stress (a)biotici è fondamentale per affrontare le sfide imposte dal cambiamento climatico. DISTINCT ha studiato come la segnalazione immunitaria venga modulata nell'interazione frumenti tetraploidi-funghi micorrizici arbuscolari, per integrare segnali multipli e attivare programmi molecolari e cellulari di immunità o di simbiosi.

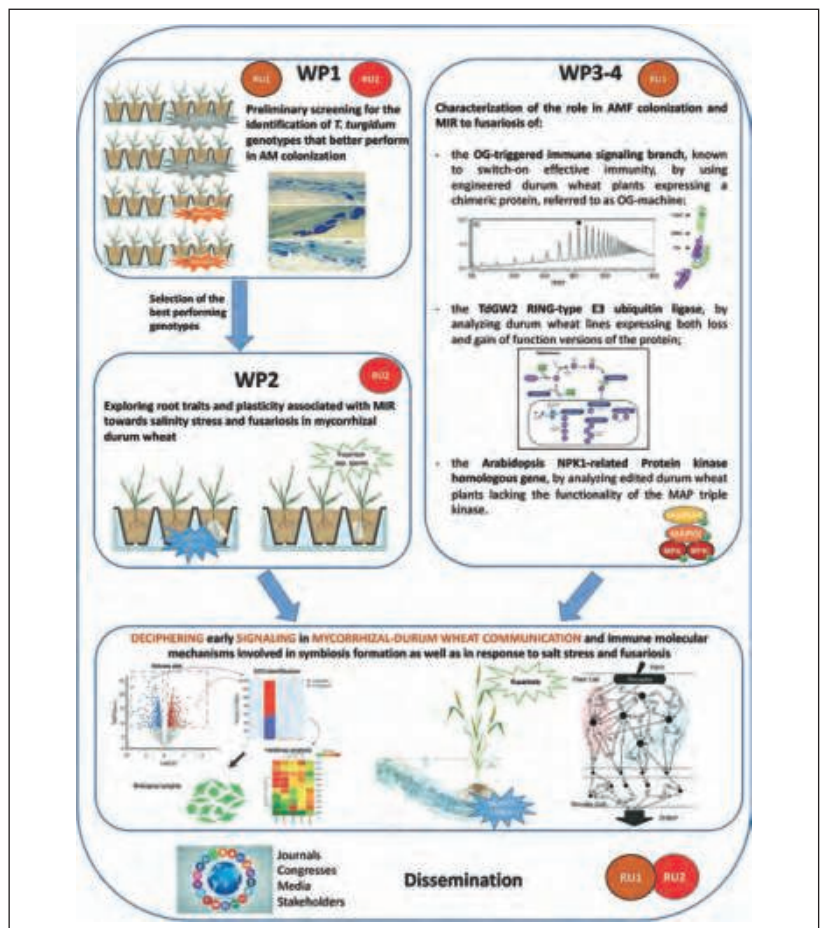


Figura di sintesi del progetto DISTINCT.

NEXTPLORA

*A gene expression atlas on the role of polyphenol oxidases in *Triticum* adaptation to environmental change*

Titolo del Progetto (in italiano): Atlante dell'espressione genica sul ruolo delle polifenoloossidasi nell'adattamento del *Triticum* ai cambiamenti ambientali

Coordinatore: Francesca Taranto, Consiglio Nazionale delle Ricerche (Istituto di Bioscienze e Biorisorse)

Unità Operative

- Consiglio Nazionale delle Ricerche (Istituto di Bioscienze e Biorisorse): Francesca Taranto, Giacomo Mangini, Domenico De Paola, Carmelina Bianco
- Università degli Studi della Basilicata (Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali): Tania Gioia, Giuseppina Logozzo, Stefania Marzario
- Università degli Studi di Napoli Federico II (Dipartimento di Agraria): Nunzio D'Agostino

NEXTPLORA mira a generare nuovi estratti di PGPB non coltivabili, derivati da varietà di frumento duro, insieme a un atlante di espressione genica delle PPO (in diversi tessuti, stadi fenologici e trattamenti con consorzi di PGPR), e generare un catalogo di varianti alleliche in una collezione di germoplasma di frumento.

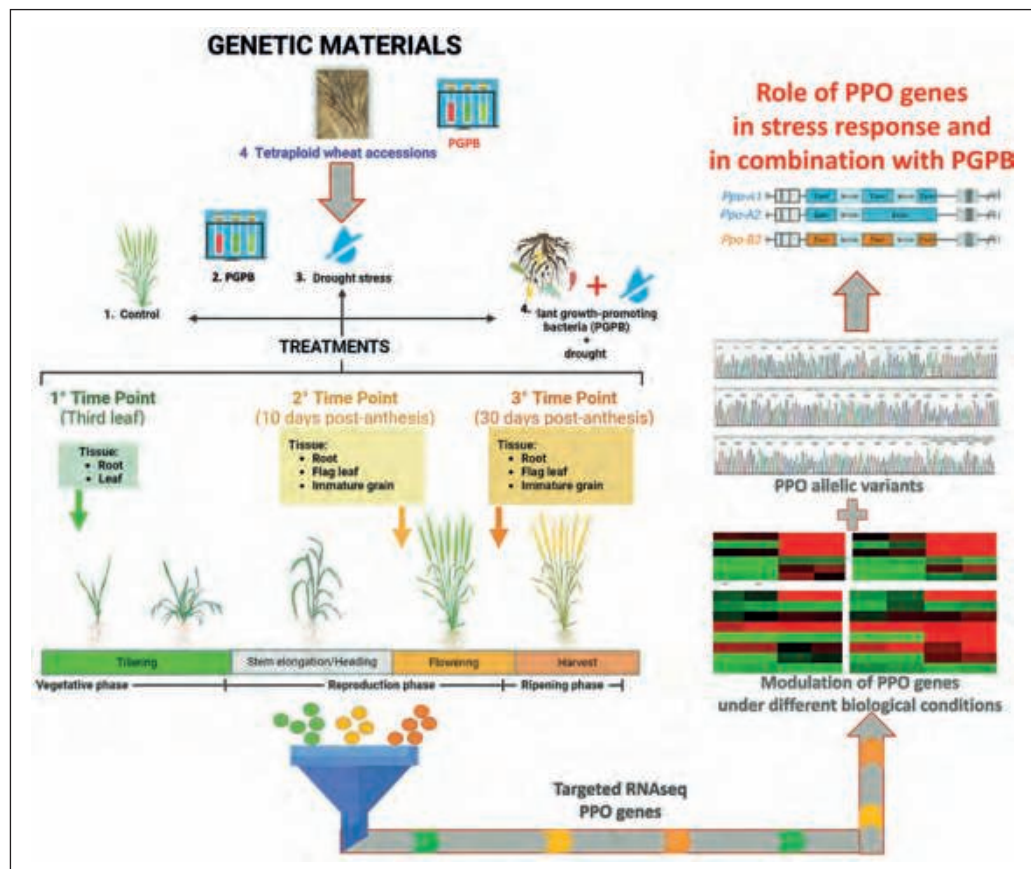


Figura di sintesi del progetto NEXTPLORA.

2

SISTEMI INTEGRATI PER LA GESTIONE AGRONOMICA DIGITALE DI PRECISIONE

- Università degli Studi di Bari Aldo Moro: Ilaria Marcotuli
- Università degli Studi del Salento: Alessio Aprile
- Università degli Studi di Foggia: Zina Flagella, Angela Libutti, Michele Andrea De Santis
- Università degli Studi di Firenze: Simone Orlandini, Marco Napoli, Antonio Pescatore, Yidenekachew Beshah, Roberto Vivoli
- Università degli Studi di Salerno: Enrica De Falco, Domenico Ronga, Annamaria Di Serio, Tommaso Nappo, Subrahmanyam Thotakura
- Università degli Studi di Teramo: Michele Pisante, Fabio Stagnari, Giancarlo Pagnani, Alfredo Lorenzo

Stato dell'arte e necessità emergenti

INTRODUZIONE

DALL'INTENSIFICAZIONE DELL'AGRICOLTURA AD UNA PRODUZIONE SOSTENIBILE

Nel corso del Novecento, l'agricoltura ha attraversato una profonda trasformazione, guidata dall'esigenza di aumentare rapidamente la produzione alimentare per rispondere alla crescita demografica globale. Questo processo, noto come intensificazione agricola, ha trovato la sua massima espressione nella cosiddetta *Rivoluzione Verde*, basata sull'impiego di varietà ad alta resa, fertilizzanti minerali, agrofarmaci di sintesi, irrigazione intensiva e meccanizzazione spinta. I risultati, in termini di incremento delle produzioni, sono stati indubbi e storicamente rilevanti. Tuttavia, questo modello produttivo ha progressivamente mostrato i propri limiti. L'uso intensivo e non consapevole degli input di sintesi ha contribuito al degrado della fertilità dei suoli, alla contaminazione delle acque superficiali e profonde, alla perdita di biodiversità e all'aumento delle emissioni di gas a effetto serra. Parallelamente, l'agricoltura intensiva ha reso molti sistemi colturali più vulnerabili agli stress climatici e biologici, riducendone la resilienza nel medio-lungo periodo. L'assunto implicito secondo cui l'aumento delle rese fosse sempre sinonimo di progresso si è quindi rivelato parziale e, in alcuni contesti, fuorviante. Negli ultimi decenni è maturata una crescente consapevolezza della necessità di un cambio di paradigma, ovvero, produrre di più non può più avvenire a scapito delle risorse naturali. Da questa esigenza nasce il concetto di produzione agricola sostenibile, che mira a coniugare produttività, tutela della salute umana e dell'ambiente, redditività economica e responsabilità sociale. La sostenibilità non implica un ritorno a pratiche agricole pre-industriali, ma richiede un uso più razionale e conoscitivo delle tecnologie disponibili, integrate con i processi ecologici che regolano gli agroecosistemi (Fig. 2.1). In questo nuovo approccio, il suolo torna a essere considerato una risorsa viva e non un semplice supporto inerte per le colture. La gestione sostenibile punta a preservarne la struttura, il contenuto di sostanza organica e la biodiversità microbica, riconoscendo il ruolo centrale di questi fattori nel ciclo dei nutrienti, nella ritenzione idrica e nella salute delle piante. Pratiche come la riduzione delle lavorazioni, le rotazioni colturali, le colture di copertura e l'integrazione tra colture e allevamenti rappresentano strumenti chiave per migliorare l'efficienza dei sistemi produttivi senza incrementare la pressione ambientale. Un contributo decisivo alla transizione verso la sostenibilità proviene anche dall'innovazione tecnologica, in particolare dall'agricoltura di precisione e dalla digitalizzazione. L'uso di sensori, immagini satellitari, modelli previsionali e sistemi di supporto alle decisioni consente di adattare gli interventi agronomici alla reale variabilità spaziale e temporale dei campi, riducendo sprechi e ottimizzando gli input. In questo senso, la sostenibilità non è in contrapposizione con l'intensificazione, ma ne rappresenta una evoluzione qualitativa, spesso definita come *intensificazione sostenibile*. Il passaggio dall'intensificazione tradizionale a una produzione sostenibile non è stato

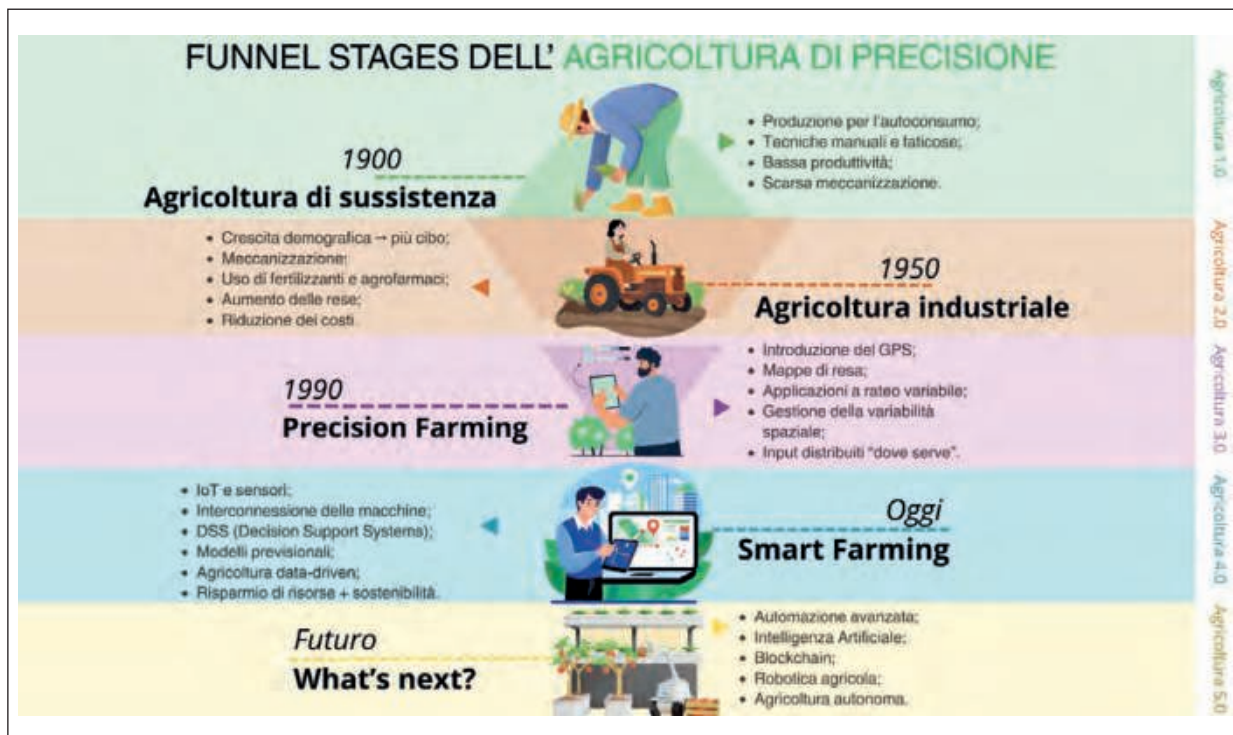


Figura 2.1 | Le 5 tappe della rivoluzione agricola. Un viaggio tecnologico che parte dal lavoro manuale (1.0) per arrivare alla *Smart Farming* (4.0) e all'automazione robotica del futuro (5.0).

né immediato né uniforme. Questo cambiamento richiede investimenti significativi in ricerca, nella formazione degli agricoltori e in politiche di sostegno adeguate, oltre a una revisione dei criteri di successo produttivo che includa indicatori ambientali e sociali oltre a quelli economici.

CONTESTO AGRONOMICO E LIMITI DEI MODELLI GESTIONALI TRADIZIONALI

Negli ultimi decenni, il frumento duro (*Triticum turgidum* var. *durum* Desf.) ha beneficiato di incrementi produttivi grazie alla diffusione dei fertilizzanti minerali di sintesi, ma tale crescita ha comportato una crescente dipendenza dall'azoto (N), con impatti agronomici ed ambientali evidenti. Le perdite per lisciviazione e le emissioni di N_2O , particolarmente significative negli ambienti mediterranei a disponibilità idrica variabile, rendono poco efficaci strategie uniformi basate su dosi fisse e tempistiche standardizzate. Questo scenario evidenzia la necessità di approcci più adattivi, capaci di leggere la variabilità spazio-temporale del sistema suolo-pianta.

In Italia e nel bacino mediterraneo, il modello di fertilizzazione uniforme ha dominato per decenni, basandosi su dosi predefinite ($150-200 \text{ kg N ha}^{-1}$) applicate indipendentemente da pedologia, disponibilità idrica o potenziale produttivo dei campi (Basso *et al.*, 2013). Tale impostazione nasce da logiche di semplificazione gestionale e riduzione del rischio percepito, ma non tiene conto della variabilità intrinseca dei sistemi colturali mediterranei, caratterizzati da stagionalità irregolare, forte eterogeneità del suolo e alternanza di fasi di stress idrico e surplus di umidità.

Oltre agli impatti ambientali, esistono ricadute economiche e gestionali. L'incertezza climatica può ridurre l'efficacia dell'azoto distribuito nei momenti non idonei del ciclo colturale, soprattutto se la pioggia non segue l'applicazione, impedendo l'assorbimento

radicale (Campbell *et al.*, 1995). L'eccesso di N residuo genera costi inutili per l'azienda e aumenta il rischio di lisciviazione nel periodo autunno-invernale, quando la coltura è fisiologicamente meno attiva.

A livello agronomico, si osserva come rese elevate o contenuti proteici soddisfacenti possano coesistere con inefficienze strutturali, ovvero bassi livelli di *Nitrogen Use Efficiency* (NUE) e *Nitrogen fertilizer Use Efficiency* (NfUE) (Subbarao *et al.*, 2017). In questi casi, la produttività apparente maschera perdite di azoto nel sistema, con effetti cumulativi sulle annate successive che compromettono sia la sostenibilità ambientale sia la stabilità economica del sistema produttivo.

L'aumento dei costi dei fertilizzanti – accentuato dalle recenti tensioni geopolitiche e dalle interruzioni delle filiere di approvvigionamento (Chojnacka *et al.*, 2023) – e la pressione normativa verso la riduzione degli input (COM/2018/392, 2018; EU CAP 2023-2027, 2023) rende necessario un cambio di paradigma: piuttosto che fornire la dose che massimizza la produzione, occorre individuare la quantità minima di fertilizzante capace di massimizzare l'efficienza, la stabilità e il ritorno economico del sistema (Khakbazan *et al.*, 2021).

In sintesi, le criticità che definiscono il contesto attuale sono:

- forte variabilità climatica che riduce l'efficacia della concimazione azotata;
- discrepanza tra resa/proteina e reale efficienza di assorbimento;
- incremento dei costi di produzione e rischio di perdite economiche;
- pressione normativa e ambientale verso riduzione degli input;
- pressione normativa sulla sicurezza alimentare;
- assenza di strumenti operativi per aziende medio-piccole che permettano la personalizzazione delle dosi (Basso *et al.*, 2019; Nutini *et al.*, 2021).

Questi elementi rendono necessario il passaggio da modelli prescrittivi a modelli predittivi e adattivi, capaci di integrare clima, suolo, fabbisogno culturale e risposta nutrizionale in tempo reale.

DALL'AGRICOLTURA CONSERVATIVA ALL'AGRICOLTURA CONSERVATIVA DI PRECISIONE (PCA)

La transizione dai modelli agronomici tradizionali verso sistemi più resilienti e ad alta efficienza ha favorito l'integrazione tra Agricoltura Conservativa (CA) e Agricoltura di Precisione (PA), due approcci nati con obiettivi distinti ma oggi riconosciuti come complementari. La CA agisce principalmente sulla base ecologica del sistema culturale, migliorando la funzionalità del suolo e la stabilità idrica attraverso la riduzione o eliminazione delle lavorazioni, il mantenimento di residui culturali e l'introduzione di rotazioni e/o colture di copertura (Shelton *et al.*, 2019). In condizioni mediterranee, questi principi risultano particolarmente rilevanti poiché favoriscono l'aumento del contenuto di sostanza organica, la riduzione dell'evaporazione dalla superficie del suolo e una maggiore resilienza agli eventi di stress idrico stagionale.

Parallelamente introduce strumenti operativi per adattare scelte gestionali alla variabilità intra-aziendale, basandosi su sensoristica da remoto e prossimale, sistemi informativi georeferenziati, mappatura della produttività e applicazioni a rateo variabile. Tali tecnologie consentono di ottimizzare input e lavorazioni secondo logiche di gestione sito-specifica, riducendo sprechi e migliorando l'efficienza di utilizzo di nutrienti, acqua ed energia. In questo senso, la PA non sostituisce la CA, ma ne abilita l'applicazione operativa, trasformandola da approccio concettuale a modello gestionale quantificabile e misurabile.

L'integrazione dei due ambiti conduce al paradigma dell'Agricoltura Conservativa di Precisione (PCA), definito come un sistema che combina riduzione degli impatti ambien-

tali e digitalizzazione dei processi decisionali (Jat *et al.*, 2018;). La PCA si fonda su tre pilastri funzionali:

- conservazione delle risorse (suolo, acqua, fertilità biologica);
- supporto decisionale basato su dati (monitoraggio continuo, indicatori di stato colturale);
- interventi adattivi e differenziati (applicazioni variabili, lavorazioni mirate, fertilizzazione dinamica).

In sistemi cerealicoli mediterranei, l'adozione della PCA permette di rispondere a criticità strutturali quali disomogeneità pedologica, irregolarità delle precipitazioni, costi crescenti dei fertilizzanti e nuove restrizioni normative sulla gestione dell'azoto. L'approccio integrato consente quindi di superare il modello prescrittivo basato su calendari e dosi standardizzate, orientando la gestione verso un modello predittivo, adattivo e contestualizzato, maggiormente allineato agli obiettivi di sostenibilità agronomica ed economica delle aziende.

La PCA non rappresenta una semplice evoluzione tecnica della CA o della PA, ma la loro sintesi operativa, in cui la conservazione delle risorse fornisce la base ecologica e la digitalizzazione degli strumenti fornisce la base gestionale. Questa convergenza definisce una strategia coerente con l'evoluzione attesa della cerealicoltura mediterranea e con gli orientamenti di policy europee finalizzate all'efficienza d'uso dei nutrienti, alla riduzione delle perdite di N e alla modernizzazione dei sistemi decisionali aziendali.

TELERILEVAMENTO E NNI PER LA GESTIONE DELL'AZOTO

Il telerilevamento sta assumendo un ruolo centrale nella gestione dell'azoto nei sistemi cerealicoli mediterranei, grazie alla possibilità di monitorare in continuo lo stato vegetativo del frumento duro e di adattare gli interventi fertilizzanti alla variabilità intraparcellare. L'impiego di immagini satellitari ad alta risoluzione, come quelle fornite dalla missione Sentinel-2 dell'Agenzia Spaziale Europea (ESA), consente di ottenere serie temporali di dati sullo sviluppo colturale con una frequenza sufficiente a supportare decisioni operative durante le fasi critiche di assorbimento dell'azoto (Nutini *et al.*, 2021). Integrando tali informazioni con sistemi di prossimità (*proximal sensing*) e piattaforme digitali georeferenziate, è possibile individuare zone a risposta differenziata e modulare le dosi di fertilizzante tramite applicazioni a rateo variabile (VR), superando la logica della somministrazione uniforme (Fabbri *et al.*, 2023).

Lo strumento più tradizionalmente impiegato in questo ambito è l'NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*), utilizzato come indicatore indiretto di vigore, biomassa e copertura fogliare. Tuttavia, in condizioni mediterranee caratterizzate da stress idrico intermittente e forte eterogeneità dei suoli, l'NDVI mostra limiti interpretativi. Le variazioni di colore e riflettanza, difatti, non sempre corrispondono a differenze reali di nutrizione azotata, portando talvolta a sovrastimare o sottostimare il fabbisogno (Nutini *et al.*, 2021). Questo limite ha favorito la transizione verso indicatori più funzionali alla diagnosi nutrizionale.

Tra questi, il *Nitrogen Nutrition Index* (NNI) rappresenta ad oggi uno degli strumenti più promettenti. L'NNI stima il livello di nutrizione azotata della coltura confrontando l'azoto effettivamente contenuto nei tessuti con l'azoto considerato ottimale in relazione alla biomassa, permettendo di distinguere condizioni di deficit ($NNI < 0,8$), adeguatezza ($NNI \approx 1,0$) e consumo di lusso ($NNI > 1,2$) (Tao *et al.*, 2018). Questa caratteristica rende l'indice particolarmente utile nella definizione dinamica delle dosi di concime, soprattutto in scenari gestionali che richiedono precisione decisionale e riduzione delle incertezze operative.

L'integrazione tra NNI e fertilizzazione a rateo variabile (NNI-VR) consente di adattare

le applicazioni non solo allo stato attuale della coltura, ma anche alla sua traiettoria di crescita, migliorando l'efficienza d'uso dell'azoto e limitando il rischio di surplus non assorbito. Studi recenti hanno mostrato come questa combinazione possa ridurre l'impiego di N mantenendo rese e qualità tecnologica comparabili a quelle dei regimi uniformi, con benefici economici e ambientali misurabili (Fabbri *et al.*, 2020). In tale contesto, il telerilevamento non è più uno strumento di sola osservazione, ma diventa una componente integrante dei sistemi di supporto alle decisioni (DSS) per la gestione agronomica digitale, ponendo le basi operative per l'adozione di modelli predittivi e strategie PCA orientate alla sostenibilità.

CONCIANTI BIOLOGICI E BIO-FERTILIZZAZIONE IN SISTEMI PCA

Accanto alla gestione minerale dell'azoto, negli ultimi anni sta crescendo l'interesse verso l'impiego di concianti biologici e biofertilizzanti basati su microrganismi promotori della crescita (PGPB/PGPR), come strumenti capaci di migliorare l'efficienza nutrizionale e la resilienza fisiologica del frumento duro in ambienti mediterranei. Tali prodotti possono agire come inoculo radicale o concia del seme, favorendo un'interazione diretta con la rizosfera nelle prime fasi di sviluppo colturale, momento critico per l'assorbimento di nutrienti e l'attività radicale (Pagnani *et al.*, 2020).

Tra i microrganismi maggiormente utilizzati, gli *Arbuscular Mycorrhizal Fungi* (AMF) risultano particolarmente efficaci in contesti pedologici poveri di sostanza organica o caratterizzati da disponibilità idrica limitata. Mediante la creazione di un'estesa rete di ife nel suolo, gli AMF incrementano la superficie esplorata dalle radici, migliorano l'assorbimento di fosforo e microelementi e contribuiscono alla regolazione idrica in condizioni di stress. Nei contesti in cui invece la presenza di residui colturali o rotazioni discontinue con cereali aumenta il rischio di patogeni tellurici, l'impiego di *Trichoderma* spp. come conciante biologico offre un duplice vantaggio: (i) competizione diretta con patogeni della rizosfera ed (ii) miglioramento dello sviluppo radicale, con effetti positivi sull'efficienza di assorbimento dell'azoto nei primi stadi vegetativi (Pagnani *et al.*, 2020).

Nei sistemi a basso input di fertilizzanti, microrganismi come *Azotobacter* spp. e *Azospirillum* spp. possono contribuire alla fissazione biologica dell'azoto (BNF), agendo come supporto complementare alle strategie minerali e potenzialmente riducendo le dosi di concime richieste, senza penalizzare i livelli produttivi. In presenza di lavorazioni conservative (minimum tillage o semina diretta), combinazioni integrate di AMF e *Trichoderma* spp. possono favorire una struttura microbica del suolo più stabile e resiliente, con implicazioni positive sulla risposta colturale sotto variabilità climatica o nutrizionale.

L'impiego di questi microrganismi diventa particolarmente interessante quando è integrato in strategie di Agricoltura Conservativa di Precisione (PCA). L'individuazione delle

Tabella 2.1 - Sinossi delle interazioni tra tipologia di microrganismo (AMF, *Trichoderma* spp., PGPR), condizioni del suolo e benefici funzionali per le colture.

Microrganismo / Approccio	Contesto pedologico consigliato	Funzione principale
AMF (<i>Arbuscular Mycorrhizal Fungi</i>)	Suoli poveri di S.O., aree sub-aride	Assorbimento P, stabilità idrica, radicazione
<i>Trichoderma</i> spp.	Suoli ricchi di residui, rischio patogeni tellurici	Competizione biologica, vigore iniziale, risposta all'N
PGPR (<i>Azotobacter</i> , <i>Azospirillum</i>)	Sistemi a basso input di N minerale	Fissazione biologica, modulazione assorbimento N
AMF + <i>Trichoderma</i>	Sistemi CA e no-tillage	Resilienza biotica/abiotica, miglioramento precoce della rizosfera

aree a maggiore risposta potenziale, delle finestre applicative e delle necessità nutrizionali può essere guidata dall'uso combinato di NDVI, NNI e modelli previsionali, consentendo di collocare gli inoculi biologici come interventi mirati e non uniformi (Nutini *et al.*, 2021). Ciò apre alla possibilità di armonizzare componenti chimiche (fertilizzazione minerale) e biologiche (inoculi microbici) in logiche di gestione a rateo variabile, mantenendo elevata l'efficienza d'uso dell'azoto.

Nonostante il potenziale evidenziato, nel frumento duro mediterraneo persistono alcune criticità operative:

- scarsa standardizzazione dei protocolli di applicazione;
- assenza di interfacce con i principali sistemi decisionali digitali;
- assenza di indicatori funzionali semplici che colleghino i loci dei tratti quantitativi (*Quantitative Trait Loci*, QTL) alla risposta microbica;
- limitata validazione di lungo periodo in condizioni di eterogeneità pedoclimatica;
- difficoltà di misurare gli effetti dei microrganismi su larga scala senza strumenti di monitoraggio integrati.

Per questo motivo, la bio-fertilizzazione rappresenta oggi un settore in rapida evoluzione, che non sostituisce i fertilizzanti di sintesi, ma è ancora in transizione da pratica sperimentale a tecnologia gestionale, il cui pieno potenziale potrebbe emergere solo con l'integrazione strutturata all'interno dei sistemi di agricoltura di precisione e/o di analisi quantitative di precisione (es. Tomografia ad Emissioni di Positroni per Piante) che ne quantificano il beneficio a livello fisiologico.

VALUTAZIONE OLTRE LA RESA: QUALITÀ, EFFICIENZA E RITORNO ECONOMICO

La valutazione delle strategie di gestione dell'azoto nel frumento duro non può essere limitata ai soli parametri produttivi (resa) o merceologici (tenore proteico). In ambienti mediterranei, rese elevate possono coesistere con bassi livelli di efficienza di assorbimento, accumulo di azoto residuo nel profilo del suolo e incremento delle perdite per lisciviazione e denitrificazione, con conseguenze ambientali ed economiche rilevanti (Khakbazan *et al.*, 2021). Questo scollamento tra prestazione agronomica apparente e funzionalità del sistema richiede indicatori capaci di misurare come viene ottenuto il risultato, e non solo quanto si produce.

Per questo motivo, l'adozione di indici di efficienza d'uso dell'azoto (NUE) e efficienza del fertilizzante azotato (NfUE) sta assumendo un ruolo centrale nella valutazione delle tecniche innovative. Questi indicatori integrano resa, input applicati e risposta colturale, consentendo di discriminare tra produzioni ottenute con un uso virtuoso delle risorse e produzioni basate su surplus non assorbiti (Subbarao *et al.*, 2017). Nel contesto della filiera del frumento duro, tale valutazione deve essere estesa anche agli aspetti qualitativi: non è sufficiente raggiungere un certo livello di proteina, ma occorre verificarne la destinazione nella frazione proteica (gliadine/glutenine) e il risultato nei parametri tecnologici come forza del glutine (W), rapporto P/L e indice di qualità per la pastificazione, che determinano il valore commerciale del prodotto.

Accanto all'efficienza tecnica si colloca la dimensione economica e gestionale, dove la redditività non è più funzione lineare della resa, ma del rapporto tra input impiegati e valore generato. In quest'ottica, indicatori come il Margine Netto Rettificato o il *Nitrogen Net Adjusted Margin* (NNAM) permettono di integrare resa, qualità, costi di fertilizzazione e premi di filiera legati alla qualità proteica, fornendo una valutazione più aderente alla realtà aziendale. Tale approccio è coerente con l'impianto della PAC 2023-2027, che lega l'accesso agli strumenti di sostegno alla capacità di dimostrare efficienza nell'uso dei nutrienti e riduzione degli impatti (COM/2018/392, 2018; Paris *et al.*, 2022; Chojnacka *et al.*, 2023).

Nel complesso, la transizione verso modelli di valutazione integrata impone un cambio di prospettiva, non più “massimizzare la produzione”, ma massimizzare l'efficienza con produzione sostenibile.

Questo implica che sistemi come PCA, VR e telerilevamento non vadano misurati solo in termini di resa finale, ma in termini di:

- resa per unità di azoto disponibile (NUE e NfUE);
- qualità tecnologica e destinazione della frazione proteica;
- stabilità del risultato tra annualità con diversa disponibilità idrica;
- bilancio economico netto a parità di resa.

In sintesi, la valutazione oltre la resa rappresenta una condizione necessaria per distinguere innovazione reale da incremento produttivo apparente, e costituisce il passaggio fondamentale per l'adozione matura di strategie PCA nei sistemi a frumento duro.

NECESSITÀ EMERGENTI E PROSPETTIVE OPERATIVE

L'evoluzione verso sistemi di gestione dell'azoto più efficienti, adattivi e sostenibili nei sistemi cerealicoli mediterranei richiede un passaggio da soluzioni tecniche isolate a strutture operative integrate. Dai contributi analizzati e dalle evidenze in letteratura emergono tre direttrici prioritarie che definiscono le condizioni per una reale adozione della Agricoltura Conservativa di Precisione (PCA) nei sistemi a frumento duro.

SVILUPPO DI SISTEMI INFORMATIVI USER-ORIENTED

Una delle principali barriere all'adozione dell'agricoltura di precisione è di natura operativa e non tecnologica, in particolare l'eccesso di complessità dei dati e la difficoltà di trasformare indicatori come NDVI, NNI o indici di efficienza in scelte gestionali concrete. È quindi necessario sviluppare interfacce decisionali semplificate e strumenti di supporto (DSS) che traducano le informazioni in raccomandazioni applicabili, calibrate su mezzi tecnici e capacità organizzativa delle aziende agricole. Questo implica non solo fornire mappe e valutazioni spaziali, ma anche indicazioni operative quali dosi, finestre applicative e priorità d'intervento. Senza questa componente “*user-oriented*”, la maturità tecnologica dei sistemi PCA non si traduce in maturità gestionale sul campo.

INTEGRAZIONE TRA NNI, TELERILEVAMENTO E MODELLI PREVISIONALI

Per superare la logica prescrittiva basata su calendari e dosi standard, la gestione dell'azoto deve evolvere verso un modello predittivo-adattivo, in cui il fabbisogno viene definito considerando non solo lo stato attuale della coltura, ma anche la risposta potenziale nelle settimane successive. L'integrazione tra NNI, telerilevamento satellitare (es. Sentinel-2) e modelli previsionali idrico-nutrizionali permettono di stimare l'efficacia attesa delle applicazioni, riducendo i rischi decisionali associati a piogge mancanti, stress termici o variazioni rapide della biomassa. Questo approccio consente di individuare scenari “rischio/beneficio” per ciascun intervento (applicare/ritardare/rinunciare), aprendo alla possibilità di una concimazione azotata realmente dinamica.

PROTOCOLLI COORDINATI BIOFERTILIZZAZIONE-PCA-VR

La biofertilizzazione ed i concianti microbiologici rappresentano un'opportunità concreta per aumentare l'efficienza del sistema suolo-pianta, ma la loro efficacia risulta massima solo quando inserita in protocolli coordinati che tengano conto delle condizioni pedologiche locali, della disponibilità idrica e delle finestre applicative più favorevoli. L'integrazione con applicazioni a rateo variabile (VR), mappe di gestione e indicatori satellitari permette di orientare l'uso di microrganismi verso le porzioni di campo con maggiore

probabilità di risposta, evitando applicazioni uniformi poco giustificate. In tale quadro, la priorità non è introdurre nuovi prodotti, ma definire processi operativi replicabili, adattabili e supportati da strumenti digitali interoperabili.

VERSO UN MODELLO OPERATIVO INTEGRATO

Le tre necessità identificate convergono verso un obiettivo comune: passare da un'agricoltura "reattiva", basata su correzioni successive, a un'agricoltura proattiva e informata, in cui l'intervento è definito sulla base di evidenze previsionali, risposta attesa e sostenibilità economica. Ciò definisce un cambio di paradigma: dal "quanto azoto devo applicare?" al "quando, dove e perché applicarlo, e con quale ritorno tecnico ed economico?"

SICUREZZA ALIMENTARE E GESTIONE DEGLI ELEMENTI POTENZIALMENTE TOSSICI: LA SFIDA DEL CADMIO

Accanto alle sfide della sostenibilità ambientale ed economica, emerge anche la necessità di garantire la sicurezza alimentare (*Food Safety*) attraverso il controllo dei contaminanti inorganici, con particolare riferimento al Cadmio (Cd). Questo metallo pesante, classificato come nefrotossico e cancerogeno, tende ad accumularsi selettivamente nella granella di frumento duro, rappresentando una criticità sia per la salute pubblica sia per la conformità commerciale. Lo stato dell'arte attuale, mostra come la gestione di questo rischio non possa più basarsi su interventi isolati, ma richieda un approccio multi-livello integrato.

- **Leva Genetica:** l'impiego di cultivar "Cd-smart" (come la varietà Iride) che possiedono l'allele funzionale del gene *Cdu1*, capace di bloccare la traslocazione del metallo dalle radici alla parte aerea.
- **Leva Agronomica e Biochimica:** l'uso di ammendanti come il biochar per immobilizzare il Cd nel suolo e la strategia della biofortificazione con Zinco, che sfrutta la competizione biochimica tra i due elementi per ridurre l'assorbimento del contaminante e contemporaneamente arricchire il valore nutrizionale della semola.
- **Leva Microbiologica:** l'applicazione di consorzi microbici benefici (PGPR) che agiscono tramite meccanismi di "bioremediation dolce", sequestrando il metallo nella rizosfera o modulando la risposta fisiologica della pianta.

PRIN – Progetti di Ricerca di rilevante Interesse Nazionale

Risultati della ricerca finanziata

CadMiDur

Strategies to Reduce Cadmium Accumulation in Durum Wheat through Genetic and Agronomic Approaches

Titolo del Progetto (in italiano): Strategie per la riduzione dell'accumulo di cadmio nel frumento duro tramite approcci genetici e agronomici

Coordinatore: Alessio Aprile, Università degli Studi del Salento (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali)

Unità Operative

- Università degli Studi di Bari Aldo Moro (Dipartimento di Scienze del suolo, della pianta e degli alimenti): Ilaria Marcotuli (resp. UR), Giuseppe Ferrara
- Università degli Studi di Foggia (Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimenti, Risorse Naturali e Ingegneria): Zina Flagella (resp. UR), Angela Libutti
- Università degli Studi di Napoli Federico II (Dipartimento di Agraria): Nunzio Fiorentino
- Università degli Studi del Salento (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali): Alessio Aprile, Eliana Nutricati

INTRODUZIONE

ELEMENTI IN TRACCIA NEL FRUMENTO DURO: SICUREZZA ALIMENTARE E BIOFORTIFICAZIONE

Il cadmio (Cd) è un elemento potenzialmente tossico presente nelle matrici ambientali sia per cause naturali che antropiche, e tende ad accumularsi nella catena alimentare che per la popolazione generale non fumatrice, rappresenta la principale fonte di esposizione al Cd (EFSA, 2009). Il frumento duro (*Triticum turgidum* var. *durum* Desf.) – utilizzato per pasta e semole – può accumulare Cd nella granella a livelli preoccupanti se coltivato su suoli ricchi di questo elemento (IARC, 1993; Zhou *et al.*, 2020). Pertanto, questa specie assieme ad altri cereali fondamentali per l'alimentazione umana contribuisce in misura significativa all'assunzione di Cd attraverso la dieta (EFSA, 2009). L'esposizione cronica al Cd attraverso gli alimenti è associata a gravi rischi per la salute: questo metallo si accumula nell'organismo, è nefrotossico (provoca danni renali e demineralizzazione ossea) ed è classificato dallo IARC come cancerogeno per l'uomo (Gruppo 1) (IARC, 1993). Secondo l'EFSA, l'esposizione media al Cd nella popolazione europea è prossima alla dose settimanale tollerabile (TWI = 2,5 µg kg⁻¹ peso corporeo), e alcuni sottogruppi (ad es. vegetariani, bambini, fumatori o residenti in aree contaminate) possono superarla fino a circa il doppio (EFSA, 2009). In un'ottica di tutela della salute pubblica, l'Unione Europea ha progressivamente inasprito i limiti normativi: dal 2021 il tenore

massimo ammesso nella granella di frumento duro è stato abbassato da 0,20 a 0,18 mg kg⁻¹ (European Commission, 2021). Sono stati introdotti limiti specifici anche per altri prodotti cerealicoli (es. 0,15 mg kg⁻¹ per la crusca, 0,20 mg kg⁻¹ per il germe di grano), con particolare attenzione alle filiere integrali e agli alimenti per l'infanzia. Parallelamente, la Commissione Europea ha emanato linee guida per incentivare misure di mitigazione lungo la filiera cerealicola (European Commission, 2014). In questo contesto si inserisce il progetto CADMIDUR, volto a gestire la problematica della contaminazione da Cd nel frumento duro attraverso strategie integrate per garantire la sicurezza alimentare della granella senza penalizzare la produttività della filiera. Oltre al profilo di sicurezza alimentare, gli elementi in traccia come i metalli pesanti nei cereali possono influenzare la qualità tecnologica della granella. Metalli essenziali come lo zinco (Zn) e il ferro (Fe), se adeguatamente assorbiti, possono avere effetti positivi sul rendimento e sulla composizione nutrizionale del frumento. Ad esempio, si è osservato che un maggiore accumulo di Zn nel grano è spesso associato a un più elevato contenuto proteico, a dimostrazione che un'adeguata nutrizione in Zn supporta la sintesi proteica (glutine) e quindi la qualità tecnologica della semola (Khan *et al.*, 2023). Viceversa, la contaminazione da metalli potenzialmente tossici come il Cd può indurre stress fisiologici nella pianta (stress ossidativo, interferenze nutrizionali) e, in caso di esposizione elevata, compromettere la crescita, ridurre la resa e peggiorare la qualità delle cariossidi (Zhou *et al.*, 2020). In genere, nelle comuni condizioni agronomiche il frumento duro non mostra sintomi visibili per concentrazioni moderate di Cd nel suolo, riuscendo a limitare parzialmente l'accumulo di Cd nei tessuti edibili. È comunque importante considerare la distribuzione del Cd tra le frazioni di molitura: nello studio di Tittlemier *et al.* (2023) le concentrazioni di Cd risultano più elevate nelle frazioni esterne (crusca e shorts), mentre sono più basse nelle frazioni dell'endosperma; in termini di massa totale, circa il 23-25% del Cd è associato alla crusca. Ne consegue che la molitura/rimozione delle frazioni esterne riduce solo parzialmente il Cd: nello stesso studio la concentrazione di Cd diminuisce di circa 29% passando da granella a semola. Pertanto, l'utilizzo di farine integrali – pur nutrizionalmente vantaggioso – può comportare un contenuto di Cd leggermente superiore rispetto alle semole raffinate, aspetto cruciale per prodotti come la pasta integrale o alimenti per l'infanzia. In definitiva, sicurezza alimentare e qualità tecnologica nel frumento duro risultano interconnesse: mantenere basse le concentrazioni di Cd nella granella tutela il consumatore e al contempo consente di valorizzare appieno le proprietà tecnologiche (es. tenore proteico, qualità del glutine) senza incorrere in rischi normativi.

Lo Zn è un micronutriente essenziale per piante e uomo, spesso carente nei suoli e nelle diete. A livello globale si stima che circa il 17% della popolazione sia a rischio di carenza di Zn, specialmente dove la dieta è basata su cereali poveri di Zn (Hui *et al.*, 2025). Per affrontare questa problematica, sono state sviluppate strategie di biofortificazione del frumento con Zn, sia genetiche (selezione di varietà ad alto accumulo di Zn) sia agronomiche (concimazioni con Zn). Nel frumento, la biofortificazione agronomica viene attuata tipicamente mediante applicazioni di solfato di zinco al suolo e/o trattamenti fogliari durante il ciclo colturale. Una recente meta-analisi ha evidenziato che la sola concimazione al suolo con Zn aumenta in media del 30% il contenuto di Zn nel grano, mentre combinando applicazioni fogliari l'incremento può superare il 50% (Hui *et al.*, 2025). In prove su frumento, l'applicazione congiunta di Zn al suolo e sulla foglia ha portato ad aumenti di Zn nella granella tali da superare la soglia nutrizionale target di 40 mg kg⁻¹ richiesta per migliorare l'apporto dietetico umano di Zn (Hui *et al.*, 2025). Oltre al valore nutrizionale, la biofortificazione con Zn può contribuire a limitare l'accumulo di Cd: poiché Zn e Cd competono per gli stessi sistemi di assorbimento radicale, una buona disponibilità di Zn nel suolo tende a ridurre l'ingresso e la traslocazione del Cd nella pianta e, di conseguenza, nella granella (Zhou *et al.*, 2020). Diversi studi hanno dimostrato che l'apporto supplementare di Zn può attenuare significativamente l'accumulo di Cd nei frumenti

suscettibili. Ad esempio, in una varietà di frumento duro ad alto assorbimento di Cd, concimazioni sia fogliari sia al suolo con Zn hanno ridotto la concentrazione di Cd nella granella fino al 25-50% (Zhou *et al.*, 2020), con effetti positivi anche sulle rese. Questo effetto potrebbe essere associato a meccanismi di compartimentalizzazione e omeostasi dei metalli regolati a livello cellulare: l'ATPasi di membrana vacuolare HMA3 può favorire il sequestro del Cd nei vacuoli delle cellule radicali, riducendone la traslocazione verso la parte aerea, mentre trasportatori della famiglia NRAMP (es. Nramp5) sono implicati nell'ingresso del Cd. La gestione nutrizionale con Zn può contribuire a modulare tali processi e a limitare l'accumulo di Cd nei tessuti aerei in specifiche condizioni (Jiang *et al.*, 2023; Zhou *et al.*, 2020; Sasaki *et al.*, 2012). In sintesi, la biofortificazione con Zn del frumento duro offre un duplice vantaggio: da un lato arricchisce la granella di un micronutriente essenziale per la salute umana (riducendo la cosiddetta “fame nascosta” di Zn), dall'altro contribuisce a mitigare il rischio di contaminazione da Cd grazie all'interazione favorevole tra i due elementi.

TECNICHE AGRONOMICHE PER MITIGARE L'ACCUMULO DI CADMIO NELLE CARIOSSIDI DI FRUMENTO DURO

VARIETÀ A BASSO ACCUMULO DI CADMIO

Una leva cruciale per ridurre il Cd nei prodotti cerealicoli è l'uso di cultivar “Cd-smart” a basso accumulo. È noto da tempo che differenti varietà di frumento duro presentano una diversa attitudine ad assorbire e traslocare il Cd dal suolo alla granella (Maccaferri *et al.*, 2019). Tali differenze hanno base genetica: in *Triticum durum* l'accumulo di Cd è controllato principalmente dal locus Cdu-B1 sul cromosoma 5B, che codifica per una proteina trasportatrice (TdHMA3-B1) coinvolta nel confinamento del Cd nelle radici (Maccaferri *et al.*, 2019). Sono noti alleli funzionali e non-funzionali di questo gene: ad esempio, la moderna varietà italiana ‘Svevo’ possiede un allele non funzionale (TdHMA3-B1b), risultando meno efficiente nel trattenere il Cd nelle radici e quindi alto-accumulatrice di Cd nella granella (Maccaferri *et al.*, 2019). Al contrario, esistono fonti genetiche di basso accumulo: l'allele funzionale TdHMA3-B1a (Cdu-B1 efficiente), presente in alcuni grani selvatici e antiche linee, conferisce alla pianta la capacità di limitare fortemente la traslocazione del Cd verso la granella (Maccaferri *et al.*, 2019). Numerosi programmi internazionali di *breeding* hanno sfruttato questa variabilità genetica per sviluppare linee di frumento duro a basso tenore di Cd. In Canada, ad esempio, il problema del Cd nel grano duro è stato affrontato introducendo cultivar con allele Cdu1 funzionale, rendendo ormai standard la coltivazione di varietà *low-Cd* al posto di quelle suscettibili.

In Italia, studi sperimentali confermano marcate differenze varietali nell'accumulo di Cd. La cultivar Iride, ad esempio, mostra un comportamento “escludente” nei confronti del Cd, riuscendo a bloccare il metallo a livello radicale e impedendone quasi totalmente la migrazione alle cariossidi rispetto a varietà come Svevo o Simeto (Pucci, 2021; Vergine *et al.*, 2017). In prove su terreni contaminati, Iride (per es. insieme alla cv. Antalis) ha mantenuto concentrazioni di Cd nel grano notevolmente inferiori rispetto a varietà più predisposte all'accumulo (Pucci, 2021; Pucci, 2022). Nello studio di Tittlemier *et al.* (2023) precedentemente menzionato, la cultivar ad alto accumulo AC Navigator mostra concentrazioni di Cd circa tre volte superiori rispetto alla *low-Cd* Transcend lungo l'intera filiera (granella, frazioni di molitura e derivati). In particolare, nella pasta cotta (valori riportati su base peso secco) dopo 15 min si osservano circa 0,178 mg kg⁻¹ per AC Navigator e circa 0,057-0,060 mg kg⁻¹ per Transcend, confermando un forte margine di riduzione dell'esposizione ottenibile tramite scelta varietale. Pur rientrando formalmente nei limiti di legge in entrambi i casi, l'uso di varietà a basso *uptake* consente di ridurre di oltre due terzi il contributo dietetico di Cd, offrendo un importante margine

di sicurezza aggiuntivo (AgroNotizie, 2024). In virtù di ciò, l'impiego di cultivar a basso accumulo è indicato come misura primaria di mitigazione del rischio Cd. Anche gli operatori di settore lo riconoscono: associazioni molitorie come Italmopa hanno sottolineato che adottare varietà caratterizzate da basso tenore in Cd, unitamente alla riduzione di fertilizzanti contaminati da Cd, rappresenta una strategia chiave per abbassare i livelli di Cd nei cereali (Italmopa, 2021). Nell'ambito del progetto CADMIDUR si è quindi posto a confronto il comportamento di varietà a diverso profilo di accumulo – in primis Svevo (alto accumulo) vs Iride (basso accumulo) – in suoli con diversi livelli di biodisponibilità di Cd e in combinazione con pratiche agronomiche innovative di mitigazione.

APPLICAZIONE DI BIOCHAR PER LA RIDUZIONE DELLA BIODISPONIBILITÀ DEI METALLI IN TRACCIA

Il biochar è un carbone vegetale ottenuto per pirolisi di biomasse, oggetto di crescente interesse come ammendante del suolo per i suoi benefici agronomici e ambientali. In contesti di suoli contaminati, il biochar agisce principalmente da immobilizzante dei metalli pesanti: grazie all'elevata superficie specifica e alla carica superficiale, il biochar adsorbe cationi metallici riducendone la frazione biodisponibile nel terreno (Beesley *et al.*, 2011). In altre parole, l'aggiunta di biochar al suolo sequestra parte del Cd e di altri elementi potenzialmente tossici, rendendoli meno accessibili alle radici delle piante. In termini agronomici, il biochar migliora anche le proprietà fisico-chimiche del suolo: incrementa il contenuto di carbonio stabile e lo scambio cationico, innalza il pH nei suoli acidi (precipitando i metalli in forme meno solubili), migliora la porosità e di conseguenza la ritenzione idrica. Tali modifiche si traducono spesso in benefici per la crescita delle colture. In prove sperimentali condotte in Italia, l'ammendamento con biochar ha mostrato un effetto positivo sulla produzione di frumento duro: ad esempio, in un campo sperimentale in Toscana una dose di 10 t ha⁻¹ di biochar ha aumentato la resa in granella di circa il 10-15% rispetto al controllo non trattato (Baronti *et al.*, 2010). Anche in condizioni controllate (vaso/serra), l'aggiunta di biochar entro dosaggi moderati ha stimolato la biomassa vegetale e l'attività delle simbiosi radicali (es. micorrize). È importante notare che gli effetti del biochar dipendono dalla qualità (matrice di origine, temperatura di pirolisi) e dal dosaggio impiegato: dosi moderate tendono a apportare benefici, mentre applicazioni eccessive possono talora immobilizzare anche nutrienti essenziali o alterare la struttura del suolo al punto da ridurre le rese. Nel complesso, il biochar da un lato riduce la fitodisponibilità dei contaminanti (in primis Cd), dall'altro contribuisce a migliorare la fertilità del suolo, con frequenti incrementi di resa. Per queste ragioni, il progetto CADMIDUR ha valutato l'efficacia del biochar come pratica di mitigazione in coltivazioni di frumento duro su terreni con differenti livelli di contaminazione da metalli pesanti.

CONSORZI MICROBICI

Accanto agli interventi sul suolo e sul germoplasma, un ulteriore approccio innovativo è l'impiego di microrganismi benefici – in particolare batteri promotori della crescita (PGPR) ed endofiti – per influenzare positivamente l'interazione suolo-pianta in presenza di metalli. Consorzi microbici selezionati possono agire attraverso vari meccanismi complementari: alcuni ceppi batterici sono capaci di immobilizzare o precipitare il Cd nella rizosfera (ad es. producendo biofilm o solfuri che intrappolano il metallo), altri modulano la fisiologia della pianta aumentando la tolleranza allo stress da Cd (tramite sintesi di fitormoni ed antiossidanti), altri ancora competono con la pianta per l'assorbimento dei metalli o li adsorbono sulle proprie cellule. Un caso notevole è il batterio *Pseudomonas taiwanensis* ceppo WRS8 isolato dal frumento: l'inoculo di questo microrganismo ha ridotto drasticamente l'accumulo di Cd nei tessuti del grano, poiché il ceppo promuove

l'adsorbimento del Cd sulla superficie radicale e al contempo sopprime l'espressione dei geni del frumento coinvolti nel trasporto del Cd dalle radici verso la parte aerea (Cheng *et al.*, 2021). In pratica, in presenza di WRS8 il Cd tende a rimanere legato all'esterno delle radici (grazie anche a sostanze extracellulari prodotte dal batterio) invece di essere internalizzato e traslocato, con il risultato finale di concentrazioni nei tessuti della pianta inferiori fino al 80-90% rispetto al controllo (Cheng *et al.*, 2021). Altri studi confermano che consorzi batterici accuratamente selezionati possono ridurre significativamente il Cd nei raccolti quando combinati con ammendanti. Ad esempio, l'applicazione congiunta di biochar e batteri endofiti isolati dal frumento ha portato a una diminuzione del Cd nella granella di oltre il 50% rispetto al solo suolo contaminato. Inoltre, batteri in grado di solubilizzare il fosforo possono limitare l'assorbimento di Cd formando precipitati insolubili con i fosfati nel suolo, limitando così la frazione biodisponibile per la pianta (Kan *et al.*, 2024). Anche l'inoculo di ceppi batterici produttori di ureasi e sostanze alcalinizzanti del suolo ha mostrato effetti benefici, innalzando il pH rizosferico e precipitando il Cd in forme meno assimilabili. In parallelo, l'associazione con batteri tolleranti ai metalli può stimolare nella pianta risposte difensive (es. sintesi di glutatione e fitochelatine) che confinano il Cd in compartimenti cellulari meno pericolosi. In definitiva, l'utilizzo di formulati microbici (biofertilizzanti/biostimolanti) rappresenta un approccio di "mild bioremediation": agendo sul microbioma associato alla coltura si possono creare condizioni che limitano l'accumulo di Cd nel raccolto e contemporaneamente migliorano le performance agronomiche (nutrizione, accrescimento, resa). Nell'ambito di CADMIDUR, questa linea d'azione è stata esplorata mediante l'applicazione di consorzi batterici selezionati (contenenti ceppi noti per la tolleranza ai metalli, es. *Bacillus* spp., *Azospirillum* spp.) al fine di valutare se essi possano ridurre il Cd nella granella di frumento duro e potenziare i parametri agronomici (crescita, assorbimento di nutrienti, resa) in sinergia con le altre tecniche adottate.

ATTIVITÀ SPERIMENTALI

SCREENING TERRITORIALE DELLE AREE CEREALICOLE CAMPANE E PUGLIESI

In una prima fase del progetto è stato condotto uno screening a scala regionale per mappare la presenza di Cd e Zn nei suoli agricoli destinati al frumento duro in due regioni chiave: Campania e Puglia. Si è inizialmente proceduto con l'analisi di database costruiti con precedenti attività di indagine territoriale e con il supporto del gruppo esteso di ricercatori impegnati in attività pregresse su siti contaminati (in particolare il Prof. Stefano Albanese afferente al Dipartimento di Scienze della Terra, dell'Ambiente e Risorse dell'Università di Napoli, Federico II precedentemente coinvolto nei progetti PRIN RIZOBIOREM e LIFE ECOREMED). Sovrapponendo questi strati informativi con le mappe dell'Atlante Geochimico regionale è stato possibile individuare nei principali areali cerealicoli le eventuali aree con suoli a tenore potenzialmente elevato di Cd. Sulla base di questa ricognizione preliminare sono stati selezionati alcuni siti rappresentativi in ciascuna regione per il campionamento diretto del terreno. In Campania, ad esempio, sono state individuate aree nell'Irpinia e nella Piana del Sele, caratterizzate da suoli argillosi-calcarei dove dati pregressi indicavano accumuli moderati di Cd. In Puglia l'attenzione si è concentrata nell'area del Tavoliere (provincia di Foggia, Fig. 1), in cui indagini passate segnalavano suoli con livelli relativamente più alti di Cd (spesso associati a elevati tenori di Zn per la natura geochimica locale). In ciascun sito selezionato sono stati effettuati campionamenti di suolo superficiale (0-30 cm), ottenendo campioni compositi mediante la miscelazione di cinque sub-campioni prelevati in modo da garantire la massima rappresentatività. I campioni, opportunamente etichettati, sono stati essiccati all'aria, setacciati a 2 mm e sottoposti ad analisi chimiche per determinarne il contenuto totale



Figura 1 | Campo di frumento duro in agro di Manfredonia (Tavoliere delle Puglie).

di Cd e Zn (metodo ICP-MS dopo digestione acida). Sono stati inoltre misurati parametri chimico-fisici del terreno (pH, carbonati, sostanza organica) utili a interpretare la mobilità dei metalli. Parallelamente, ove possibile, nei medesimi siti è stata raccolta granella di frumento duro al momento della mietitura (estate 2024) per analizzarne il contenuto di Cd e Zn e valutare il trasferimento suolo-pianta.

PROVE IN MESOCOSMI

I risultati dello screening territoriale hanno guidato la scelta di due suoli a diversa dotazione di cadmio, da utilizzare in prove sperimentali controllate (vaso, Fig. 2). In particolare, sono stati selezionati: (i) un suolo con potenziale contaminazione da Cd di origine antropica proveniente dalla località San Giuseppeello nel comune di Giugliano, NA (SGS) e (ii) un suolo prelevato nel comune di Castello del di Castello del Matese, CE (CDM), con elevati tenori di Zn di origine geogenica e concentrazioni moderate di Cd. Questi due suoli sono stati utilizzati per le prove in vaso di seguito descritte in modo da simulare due scenari differenti di biodisponibilità potenziale di Cadmio (alta *vs* moderata) su cui testare delle strategie di mitigazione dell'accumulo di questo metallo nella granella.

Sulla base dei due suoli selezionati sono state allestite prove sperimentali parallele in mesocosmi da 15 L: presso le strutture di UNINA è stato utilizzato il suolo SGS, mentre presso UNIFG il suolo CDM.

Il disegno sperimentale adottato è stato analogo in entrambi i casi, seguendo uno schema fattoriale con blocchi randomizzati. In ciascuna prova si sono confrontate due varietà di frumento duro (Svevo e Iride) \times due livelli di concimazione azotata (0 N *vs* 120 N) \times cinque trattamenti agronomici del suolo, per un totale di $2 \times 2 \times 5 = 20$ tesi, ognuna replicata su 3 vasi (60 vasi per sito, 120 vasi in totale).

I trattamenti agronomici testati comprendevano: Biochar (ammendamento al 2% p/p sul suolo, applicato pre-semina), Applicazione di Zn (2 mg Zn kg^{-1} suolo come ZnSO_4 interra-



Figura 2 | Prova sperimentale condotta in serra presso l'Università di Foggia nell'ambito del Progetto PRIN PNRR 2022 CADMI-DUR.

to + irrorazione fogliare al 0,5% di $ZnSO_4$ a levata), PGPB1 (inoculo del formulato microbico commerciale a base di *Bacillus subtilis* applicato al suolo e in vegetazione), PGPB2 (inoculo di consorzio microbico contenente *Azospirillum* applicato al suolo e in vegetazione), e NoT (controllo non trattato). Il fertilizzante azotato, per le tesi 120 N, è stato fornito come nitrato ammonico (120 kg N ha^{-1} equivalente, suddiviso in 2 applicazioni durante l'accestimento e ad inizio levata). Tutti i vasi sono stati gestiti in serra tunnel, in modo da evitare dilavamenti di Cd/Zn a causa della pioggia. Trattandosi di un esperimento in condizioni controllate si è reso necessario provvedere a delle irrigazioni con cadenza settimanale. I rilievi sono stati effettuati a maturazione, ogni vaso è stato raccolto separando la biomassa in culmi, foglie+pula e granella. Su ciascuna frazione sono stati misurati i pesi secchi per valutare la produzione (granella per vaso, biomassa residua) e parametri di qualità (peso ettolitrico, peso mille semi). I campioni di tessuto (granella, culmi, foglie/pula) sono stati essiccati, macinati e sottoposti ad analisi chimiche per determinarne il contenuto di Cd e Zn totale (ICP-MS dopo digestione).

RISULTATI

SCREENING TERRITORIALE

I dati raccolti nello screening territoriale condotto nei suoli campani e pugliesi hanno mostrato, un contenuto totale di Cd nel suolo compreso tra circa 0,6 e 0,9 mg kg^{-1} (peso secco) – valori moderati, nettamente inferiori alla soglia di contaminazione per suoli agricoli (5 mg kg^{-1} secondo normativa italiana). I tenori di Zn totali in questi suoli variavano tra 80 e 110 mg kg^{-1} , anch'essi ben al di sotto del limite di legge (300 mg kg^{-1}) e indicativi di un fondo geochimico naturale relativamente basso. Un'eccezione locale nei terreni campani è emersa per alcuni suoli di Giugliano che presentavano concentrazioni di Cd significativamente più elevate, attorno a 2,8 – 5,4 mg kg^{-1} , pertanto in taluni casi prossime o leggermente superiori alla soglia di contaminazione (5 mg kg^{-1}). Anche lo Zn in questi suoli risultava eccezionalmente alto (da 290 fino a >700 mg kg^{-1} in un sito), indicando una possibile componente antropica associata anche alla presenza di Cd (ad es. passati utilizzi di fosfati industriali contaminati o sversamento di sottoprodotti industriali), in aggiunta alla naturale fertilità del suolo. È stato inoltre riscontrato un moderato valore il cadmio nel suolo di Castello del Matese (comunque pari o inferiore al 20% delle concentrazioni soglia di rischio imposte dal DM49/2019) probabilmente associato alla matrice litologica ed all'utilizzo di concimi fosfatici. Dal confronto suolo-granella nei

siti monitorati, è emerso che la totalità dei campioni di frumento duro raccolti presentava livelli di Cd nel grano inferiori al limite imposto dal Regolamento (UE) 2023/915 (che ha sostituito/abrogato il Reg. (CE) 1881/2006). In particolare, le granelle provenienti dall'area campana e dal tavoliere hanno mostrato Cd < 0,10 mg kg⁻¹ e tenori di Zn compresi fra 40 e 90 mg kg⁻¹.

PROVE IN MESOCOSMI

Per il suolo SGS, con valori di Cd prossimi alla CSC, le analisi dei tessuti (culmi, foglie e granella) hanno confermato differenze rilevanti tra varietà e l'effetto di alcuni trattamenti sull'accumulo di Cd e Zn. In media, la varietà Svevo ha accumulato concentrazioni di Cd più elevate di Iride in tutti i compartimenti: si sono riscontrati 1,2 mg kg⁻¹ di Cd nei culmi di Svevo vs 0,9 mg kg⁻¹ in Iride, 0,96 vs 0,70 mg kg⁻¹ nelle foglie+pula e 0,44 vs 0,32 mg kg⁻¹ nella granella, rispettivamente. Questi dati ribadiscono la maggior tendenza di Svevo a traslocare il Cd alle parti aeree, mentre Iride riesce a limitarne il trasferimento nella granella. Nonostante ciò, va segnalato che su suolo altamente contaminato anche Iride ha mostrato valori assoluti di Cd in granella non trascurabili (nell'ordine di 0,2-0,3 mg kg⁻¹, quindi appena sopra il limite normativo di 0,18 mg kg⁻¹), mentre Svevo ha ampiamente superato tale soglia (fino a 0,5 mg kg⁻¹). Ciò evidenzia che in scenari di prossimità dei livelli di Cd nel suolo prossime alla CSC per i siti agricoli, l'impiego di varietà *low-Cd* è necessario ma potrebbe non essere sempre sufficiente a garantire il rispetto dei limiti, rendendo opportuna la combinazione con altre tecniche mitigative. Per quanto riguarda lo Zn, la varietà Iride ha mostrato capacità leggermente superiori di accumulo nella granella rispetto a Svevo (98 vs 84 mg kg⁻¹), coerentemente con una possibile maggiore efficienza di assimilazione di micronutrienti. L'effetto più marcato è derivato però dal trattamento di biofortificazione con Zn: nei vasi trattati con Zn, il contenuto di Zn nella granella è aumentato in entrambe le varietà di circa il 30% rispetto ai non trattati (raggiungendo 100-110 mg kg⁻¹ vs 80 mg kg⁻¹ del controllo). Tale incremento, pur se inferiore a quanto atteso in condizioni ideali, indica un arricchimento nutrizionale significativo. Contestualmente, il trattamento con Zn non ha comportato una riduzione drastica del Cd nella granella: si è osservato un lieve calo della concentrazione di Cd in Svevo (es. 0,43 mg kg⁻¹ con Zn vs 0,46 mg kg⁻¹ nel controllo) e valori pressoché invariati in Iride (già bassi). Nei vasi con biochar il Cd nella granella si è ridotto mediamente del 15% rispetto al controllo, effetto più pronunciato in Svevo, mentre in Iride l'effetto relativo è stato mascherato dai già bassi livelli. I trattamenti con batteri hanno mostrato pattern differenti: l'inoculo C1 (*Bacillus*) ha leggermente ridotto il Cd nel grano di Svevo (-10%) ma non in Iride; l'inoculo C2 (consorzio con *Azospirillum*) ha portato a un calo più evidente di Cd in entrambe le varietà (fino a -20% in Svevo). Inoltre, entrambi i trattamenti microbici hanno contribuito ad aumentare leggermente lo Zn nei tessuti (forse migliorando l'assorbimento di nutrienti): si è notato ad esempio un +5-10% di Zn nella granella con C1 e C2 rispetto al controllo.

Per la prova gestita su suoli con basso livello di Cd (CDM), il contenuto di questo elemento risulta trascurabile: <0,05 mg kg⁻¹ in foglie e granella; nei culmi è basso (0,2-0,3 mg kg⁻¹) senza effetti chiari dei trattamenti. Lo Zn aumenta nettamente solo con il trattamento Zn, soprattutto in foglie (oltre 1.000 mg kg⁻¹) e culmi (da 50 a 300 mg kg⁻¹), mentre in granella l'aumento è più contenuto, dell'ordine del 30%. Le differenze tra Iride e Svevo sono risultate minime, come gli effetti di ammendamento e consorzi microbici.

Oltre agli effetti sull'accumulo di Cd e Zn, alcune tesi hanno evidenziato risposte interessanti in termini di qualità biochimica e tecnologica della granella. In particolare, il trattamento con PGPB1 ha comportato un incremento del contenuto fenolico totale nell'intervallo del 10-20%, nella prova condotta su suoli SGS su Svevo e per entrambi i livelli di azoto.

In termini di parametri tecnologici, il contenuto in glutine e il rapporto gliadine/glutene (Glia/Glu) sono risultati complessivamente più elevati nei campioni della prova su suolo SGS rispetto a quelli ottenuti nel suolo a basso Cd (CDM).

Infine, entrambi i biostimolanti microbici impiegati hanno mostrato un effetto qualitativo coerente: in entrambe le varietà (Iride e Svevo) e in entrambi i terreni, è stato osservato un incremento del contenuto di proteine del glutine nell'ordine del 10%, accompagnato da un incremento del rapporto Glia/Glu. In altri termini, i biostimolanti non si sono limitati ad influenzare i flussi di elementi minerali, ma sono risultati in grado di modulare anche la composizione proteica della granella, con implicazioni potenzialmente rilevanti per la filiera (qualità tecnologica, standard merceologici e valorizzazione del prodotto).

CONCLUSIONI

Dai risultati di questo studio emergono indicazioni pratiche rilevanti per gli stakeholder della filiera cerealicola operanti in aree in cui i contenuti di Cd nel suolo sono prossimi alle concentrazioni soglia di contaminazione secondo il DM49/2019.

In primo luogo, la scelta varietale si conferma un fattore chiave: l'impiego di cultivar a basso accumulo di Cd (come Iride o equivalenti moderne) è fortemente raccomandato, poiché consente di ottenere granella con livelli di contaminante significativamente inferiori, riducendo il rischio di superare i limiti normativi.

In secondo luogo, le buone pratiche agronomiche possono mitigare ulteriormente il problema: l'ammendamento con biochar si è dimostrato una tecnica promettente per immobilizzare parte del Cd nel suolo e migliorare la fertilità, con benefici indiretti sia sulla produzione (soprattutto se abbinato a una corretta concimazione) sia sulla riduzione del Cd nei raccolti. Anche l'impiego di consorzi microbici benefici appare una strategia innovativa incoraggiante: specifici biofertilizzanti a base di batteri PGPR possono creare condizioni rizosferiche più favorevoli (adsorbimento/precipitazione di Cd, miglioramento nutrizionale) tali da ridurre l'accumulo di contaminanti nella pianta senza penalizzare la crescita e determinando contestualmente anche un miglioramento qualitativo della granella. In particolare, combinare biochar e microrganismi come approccio integrato di biorisanamento potrebbe offrire sinergie (ad es. il biochar migliora l'habitat microbico amplificando l'effetto immobilizzante dei batteri).

Infine, la concimazione con zinco, pur non riducendo drasticamente il Cd nel breve termine, svolge una duplice funzione: migliora la qualità nutrizionale del prodotto (arricchendo la granella in Zn) e, mantenendo elevata la disponibilità di Zn nel suolo, nel lungo periodo può contrastare l'assorbimento competitivo del Cd. In conclusione, nei contesti a rischio è consigliabile un approccio integrato: scelta varietale, impiego di ammendanti/biostimolanti (biochar e consorzi microbici) e gestione mirata della fertilizzazione (in particolare Zn e N) per ottenere granella a ridotto contenuto di Cd senza compromettere resa e qualità. Le evidenze del progetto CADMIDUR possono supportare il trasferimento di queste pratiche in azienda e nelle linee guida di filiera.

SMABIODUR

SMart Agriculture: to assess BIOstimulants solutions on DURum wheat to overcome abiotic stresses in Southern Italy

Titolo del Progetto (in italiano): SMart Agriculture: valutazione di soluzioni biostimolanti per il superamento di stress abiotici su frumento duro nell'Italia meridionale

Coordinatore: Michele Pisante, Università degli Studi di Teramo (Dipartimento di Bioscienze e tecnologie agroalimentari ed ambientali)

Unità Operative

- Università degli Studi di Salerno (Dipartimento di Farmacia): Enrica De Falco, Domenico Ronga, Annamaria Di Serio, Tommaso Nappo, Subrahmanyam Thotakura
- Università degli Studi di Teramo (Dipartimento di Bioscienze e tecnologie agroalimentari ed ambientali): Michele Pisante, Fabio Stagnari, Giancarlo Pagnani

INTRODUZIONE

Il frumento è una delle principali colture cerealicole a livello mondiale e riveste un ruolo strategico per la sicurezza alimentare, in particolare nelle aree mediterranee dove rappresenta una risorsa economica e nutrizionale di primaria importanza (Pole *et al.*, 2021). Tuttavia, la produttività del frumento è fortemente influenzata da fattori ambientali e gestionali, tra cui la disponibilità idrica, la fertilità del suolo e l'intensificarsi degli stress abiotici legati al cambiamento climatico, come siccità e temperature elevate (Duma *et al.*, 2022). In tale contesto, risulta sempre più necessario individuare strategie agronomiche sostenibili in grado di migliorare l'efficienza d'uso delle risorse e la resilienza delle colture, riducendo al contempo la dipendenza da input chimici di sintesi. Parallelamente, l'evoluzione delle tecniche di agricoltura di precisione ha reso disponibili indicatori spettrali in grado di supportare il monitoraggio dello stato fisiologico delle colture in modo non distruttivo e su scala spaziale ampia. Tra questi, l'indice NDRE (*Normalized Difference Red Edge*) si è dimostrato particolarmente efficace nel frumento per la sua capacità di intercettare variazioni precoci nel contenuto di clorofilla e nello stato nutrizionale azotato, anche in fasi fenologiche avanzate, quando indici più tradizionali come l'NDVI tendono a saturare. L'NDRE consente quindi una valutazione più sensibile dello stato di vigore vegetativo, dello stress nutrizionale e della risposta della coltura alle pratiche agronomiche, inclusa l'applicazione di biostimolanti, offrendo un supporto oggettivo alle decisioni di gestione e alla modulazione degli input. Negli ultimi anni, i biostimolanti hanno suscitato un crescente interesse per il loro potenziale nel migliorare la crescita, la resa e la qualità del frumento. Secondo la definizione del Regolamento (UE) 2019/1009, i biostimolanti sono prodotti che stimolano i processi nutrizionali delle piante senza apportare direttamente nutrienti, migliorando l'efficienza d'uso degli elementi minerali, la tolleranza agli stress abiotici e le caratteristiche qualitative delle colture (du Jardin, 2015). Essi comprendono sia formulazioni microbiche, come rizobatteri promotori della crescita (PGPR) e funghi micorrizici arbuscolari (AMF), sia prodotti non microbici, tra cui acidi umici e fulvici, estratti di alghe, amminoacidi e idrolizzati proteici (Li *et al.*, 2022). Numerosi studi hanno dimostrato che l'applicazione di biostimolanti nel frumento può favorire lo sviluppo dell'apparato radicale, migliorare l'assorbimento e l'utilizzazione dei nutrienti, stimolare l'attività fotosintetica e aumentare la tolleranza a condizioni di stress idrico e nutrizionale (Silletti *et al.*, 2022). In particolare, i biostimolanti microbici si sono rivelati efficaci nel promuovere la fissazione biologica dell'azoto, la solubilizzazione del fosforo e la biofortificazione della granella con micronutrienti essenziali quali zinco e ferro, eviden-

ziando effetti positivi sia sulla resa sia sulla qualità del prodotto finale. Allo stesso tempo, biostimolanti non microbici, come acidi umici ed estratti di alghe, hanno mostrato la capacità di migliorare l'efficienza fisiologica delle piante e la risposta agli stress ambientali. Alla luce di queste considerazioni, la presente ricerca ha avuto l'obiettivo di valutare gli effetti dell'applicazione di biostimolanti su frumento duro attraverso prove condotte sia in vaso che in pieno campo, analizzandone l'impatto sulla crescita vegetativa, sulla resa e su alcuni parametri agronomici e qualitativi. Lo studio si inserisce nel contesto di una gestione agronomica sostenibile, finalizzata all'ottimizzazione delle risorse e al miglioramento della produttività del frumento in condizioni ambientali variabili.

SCOPO DEL LAVORO

Il presente lavoro ha avuto lo scopo di valutare l'efficacia dell'impiego di diversi biostimolanti nel migliorare le performance agronomiche e fisiologiche del frumento duro (*Triticum turgidum* var. *durum* Desf.), varietà *Antalis*, attraverso due approcci sperimentali complementari: (i) una prova in vaso condotta in condizioni controllate e (ii) una prova in pieno campo realizzata in condizioni agronomiche reali. In particolare, lo studio condotto dall'Università di Teramo e dall'Università di Salerno, si è proposto di analizzare gli effetti dei trattamenti biostimolanti sullo sviluppo vegetativo, sullo stato fisiologico delle piante, sulla produzione e sulla qualità della granella. La prova in vaso è stata finalizzata a valutare la risposta del frumento ai biostimolanti in condizioni di stress idrico controllato, confrontando due strategie di gestione dell'irrigazione (piena irrigazione e irrigazione ridotta), al fine di approfondire il potenziale ruolo di tali prodotti nel mitigare gli effetti della carenza idrica. Parallelamente, le prove sperimentali in pieno campo hanno consentito di verificare l'efficacia dei biostimolanti in condizioni operative reali, valutandone l'impatto sulla coltura in due areali caratterizzati da gestione agronomica ordinaria ed una diversa variabilità ambientale.

ATTIVITÀ SPERIMENTALI

Le prove in vaso sono state condotte presso la serra dell'Università di Salerno nell'anno 2024 (aprile-luglio) e presso la camera di crescita dell'Università degli Studi di Teramo nell'anno 2024 (aprile-luglio), in condizioni controllate mediante l'uso di lampade (Indium art. 1158 Sap-T 400 Cnr-L Graphite Disano, 250 W, 230 V, 50 Hz), impostando un fotoperiodo di 16 ore di luce e 8 ore di buio.

La temperatura (18-22 °C) e l'umidità relativa (55-60%) all'interno della serra sono state monitorate mediante una stazione meteorologica mobile (PCE Instruments PCE-FWS 20N), posizionata all'interno della struttura a un'altezza di 130 cm dal suolo. Il genotipo di frumento duro *Antalis* è stato seminato alla densità di 12 semi vaso⁻¹ in un suolo franco argilloso limoso con le seguenti caratteristiche chimico-fisiche: pH 7,9; conducibilità elettrica 0,09 dS m⁻¹; azoto totale 1,3 g kg⁻¹; fosforo 42 mg kg⁻¹; potassio 1,10 meq 100 g⁻¹; sostanza organica 31 g kg⁻¹, con un rapporto carbonio/azoto pari a 13,8. La prova è stata impostata secondo un disegno completamente randomizzato con 6 repliche per ciascun trattamento biostimolante, includendo anche il controllo. Complessivamente sono stati utilizzati 84 vasi, ciascuno con un volume di 12 L e una circonferenza di 26 cm.

L'esperimento è stato condotto al fine di valutare gli effetti di sei trattamenti biostimolanti sul frumento duro in condizioni di stress idrico, considerando due strategie di gestione dell'irrigazione: una a piena irrigazione (100%) e una a irrigazione ridotta (50%). Per tutta la durata della prova sperimentale, i vasi sono stati irrigati tre volte a settimana. L'acqua utilizzata per l'irrigazione presentava un pH di 6,8 e una conducibilità

elettrica pari a $0,562 \text{ dS m}^{-1}$. I biostimolanti sono stati valutati come trattamenti fogliari sulla coltura in esame, in combinazione con le due strategie di gestione dell'irrigazione (100% e 50%), e confrontati con il controllo trattato esclusivamente con acqua.

Il piano sperimentale ha previsto i seguenti trattamenti: (i) controllo senza applicazione di biostimolante, e (ii) applicazione di 6 diverse strategie suggerite da aziende produttrici di biostimolanti. I trattamenti fogliari sono stati effettuati mediante spruzzatore manuale in corrispondenza degli stadi fenologici del grano duro, rispettando le dosi e le modalità operative riportate in etichetta.

Le sperimentazioni in pieno campo sono state condotte sempre sulla varietà *Antalis*, investigando i migliori biostimolanti riscontrati nella prova in vaso, con l'obiettivo di valutare gli effetti dell'applicazione di biostimolanti sullo sviluppo vegetativo, sulla produzione e sulla qualità della granella, con particolare attenzione al potenziale ruolo di tali prodotti nel mitigare gli effetti dello stress idrico. Le prove sono state condotte:

1. nel comune di Aquilonia (AV), in Campania per l'Università di Salerno, adottando una gestione agronomica basata su fertilizzazione di tipo organico. L'areale si caratterizza per suoli argillosi e scarsità di precipitazioni nel mese di gennaio, febbraio e marzo;
2. nel comune di Sant'Omero (TE), in Abruzzo per l'università di Teramo, adottando una gestione agronomica convenzionale. L'areale si caratterizza per suoli di medio impasto, con componente limo-argillosa variabile, e per un regime pluviometrico più regolare nei mesi invernali, con precipitazioni generalmente distribuite tra gennaio, febbraio e marzo.

Il disegno sperimentale ha previsto una prova comparativa in campo su parcelle con cinque tesi: quattro trattamenti biostimolanti, corrispondenti alle quattro migliori strategie emerse dalla prova in vaso e proposte dalle aziende produttrici, e un testimone non trattato (senza applicazione di biostimolanti). I biostimolanti sono stati applicati seguendo le modalità operative e i dosaggi raccomandati dalle rispettive aziende produttrici, in corrispondenza degli stadi fenologici chiave per la coltura (accestimento, levata, riempimento della granella).

Tutte le parcelle sperimentali, costituite da una superficie di circa un ettaro cadauna, sono state gestite in modo uniforme per quanto riguarda le pratiche agronomiche nei due siti sperimentali, al fine di limitare l'influenza di fattori ambientali e gestionali esterni e consentire una valutazione affidabile degli effetti dei diversi biostimolanti sulle performance agronomiche del frumento duro.

Durante il ciclo colturale e alla raccolta sono stati eseguiti diversi rilievi fisiologici e agronomici utilizzando anche strumenti digitali quali:

- altezza (H) delle piante mediante l'uso di un metro;



Figura 1 | Semina frumento duro var. *Antalis* prova in campo ad Aquilonia (AV).

- contenuto idrico volumetrico del suolo tramite l'utilizzo del sensore TDR (*Time Domain Reflectometry*) della Fieldscout;
- temperatura delle foglie utilizzando la termocamera Flir Ex-Series;
- parametri del metabolismo primario e secondario tramite lo strumento MPM100 (Opti-sciences) che utilizza la fluorescenza per misurare il contenuto di antociani (AnthM) e il contenuto di flavonoli (FlvM) e la trasmissione fogliare nel lontano rosso e nel vicino infrarosso per misurare il contenuto di clorofilla (ChlM) e l'indice NFI (ChlM/FlvM);
- biomassa epigea.

Per la prova in campo sono stati monitorati anche i seguenti parametri:

- contenuto proteico (%);
- umidità (%);
- glutine (%);
- peso ettolitrico (TW, kg/hl⁻¹).

Tutti i dati rilevati sono stati informatizzati, sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) e le medie sono state separate mediante il test di Duncan $p < 0,05$ utilizzando il programma GenStat 12th.

Per entrambi i siti sperimentali, sono state identificate delle Unità di Gestione Omogenee (MUZ) della vegetazione attraverso l'indice NDRE (*Normalized Difference Red Edge Index*). È un indice spettrale che misura il contenuto di clorofilla nelle foglie, sensibile allo stress da azoto e alle fasi di maturazione, utilizzando la banda del "bordo rosso" (vicino al rosso, ~715 nm) e il vicino infrarosso (NIR), distinguendosi dall'NDVI per una maggiore accuratezza nelle fasi avanzate di crescita delle colture e per la rilevazione precoce dello stress, usando una mappa dei colori dove il rosso indica bassa vigoria, il giallo indica una vigoria intermedia, mentre il verde un'alta vigoria. L'analisi delle MUZ dinamiche è stata realizzata utilizzando l'ambiente Google Earth Engine (GEE) e dati Sentinel-2 SR (*Surface Reflectance*) in quattro diverse fasi fenologiche. Le mappe di vigoria derivate dalle quattro date di acquisizione Sentinel-2, quando disponibili, sono state combinate per generare una mappa di vigoria stabile (MUZ stabile), rappresentativa della distribuzione spaziale persistente della vigoria vegetativa nel tempo (Fig. 2).

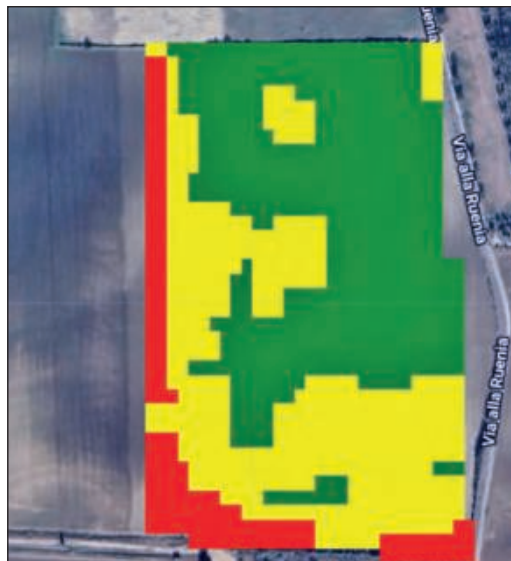


Figura 2 | Mappa NDRE del campo sperimentale di Sant'Omero. Rosso-bassa vigoria; Giallo-vigoria intermedia; Verde-alta vigoria.

RISULTATI

PROVA IN VASO

I rilievi fisiologici effettuati nelle prove in vaso hanno evidenziato differenze significative tra i trattamenti biostimolanti e tra le due strategie di gestione dell'irrigazione (100% e 50%), confermando l'influenza combinata della disponibilità idrica e dell'applicazione dei biostimolanti sullo stato fisiologico del frumento duro (Figg. 3 e 4).

Per quanto riguarda il contenuto di clorofilla (ChlM), i valori più elevati sono stati osservati nei trattamenti irrigati al 100% con applicazione di biostimolanti. Al contrario, i trattamenti sottoposti a irrigazione ridotta (50%) hanno generalmente mostrato una diminuzione del contenuto di clorofilla, con valori minimi osservati nel controllo stressato. Il contenuto di flavonoli (FlvM), associato ai meccanismi di difesa e risposta allo stress, ha mostrato un incremento nei trattamenti sottoposti a irrigazione ridotta, in particolare nelle tesi biostimolante. Nei trattamenti al 50% di irrigazione, l'aumento dei flavonoli suggerisce un'attivazione dei sistemi di protezione antiossidante in risposta allo stress idrico, come già riportato in letteratura per il frumento in condizioni di carenza idrica. Per quanto concerne il contenuto di antociani (AnthM), in generale, i trattamenti sottoposti a irrigazione ridotta hanno mostrato un incremento relativo degli antociani rispetto ai corrispondenti trattamenti irrigati al 100%, confermando il ruolo di questi composti come indicatori di stress abiotico. L'indice NFI (rapporto clorofilla/flavonoli), utilizzato come indicatore dello stato fisiologico complessivo della pianta, ha evidenziato valori significativamente più elevati nei trattamenti biostimolanti rispetto al controllo. Ciò suggerisce che l'applicazione dei biostimolanti abbia contribuito a mantenere un migliore equilibrio fisiologico anche in condizioni di ridotta disponibilità idrica, mitigando parzialmente gli effetti negativi dello stress. La temperatura fogliare ha mostrato differenze significative tra i trattamenti, risultando generalmente più elevata nei controlli, soprattutto nel controllo irrigato al 100% e nel controllo al 50%. Al contrario, i trattamenti con biostimolanti hanno evidenziato temperature fogliari inferiori suggerendo un miglior controllo della traspirazione e una maggiore efficienza dell'apparato stomatico. La riduzione della temperatura fogliare nei trattamenti biostimolanti è indicativa di una migliore capacità delle piante di mantenere l'attività fisiologica anche in condizioni di stress idrico. Nel complesso, i risultati dei rilievi fisiologici indicano che l'applicazione dei biostimolanti ha avuto un effetto positivo sullo stato fisiologico del frumento duro, sia in condizioni di piena

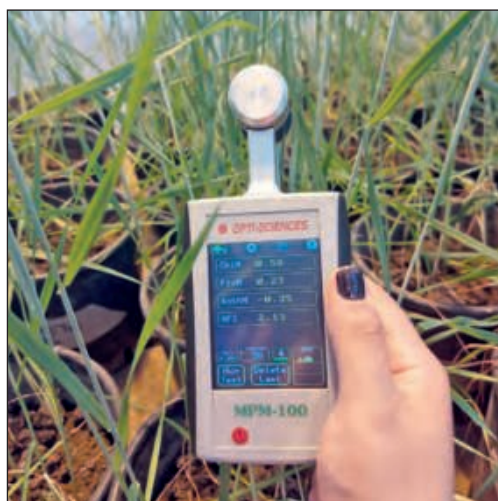


Figura 3 | MPM-100.



Figura 4 | Termocamera digitale.

irrigazione sia, in misura ancora più evidente, in condizioni di irrigazione ridotta. Questi risultati confermano il potenziale dei biostimolanti come strumenti agronomici utili per migliorare la resilienza del frumento duro in condizioni di limitata disponibilità idrica.

I rilievi agronomici effettuati nelle prove in vaso hanno evidenziato differenze significative tra i trattamenti biostimolanti e tra le due strategie di gestione dell'irrigazione, confermando l'influenza della disponibilità idrica e dei biostimolanti sullo sviluppo vegetativo del frumento duro. I valori di umidità del suolo, misurati mediante sensore TDR, hanno mostrato differenze statisticamente significative tra i trattamenti. In generale, i trattamenti irrigati al 100% hanno presentato valori di umidità del suolo superiori rispetto a quelli sottoposti a irrigazione ridotta (50%). L'altezza delle piante ha evidenziato variazioni significative tra i trattamenti, sebbene l'effetto dell'irrigazione sia risultato meno marcato rispetto ad altri parametri. In generale, l'applicazione dei biostimolanti ha consentito di mantenere valori di altezza comparabili, e in alcuni casi superiori, rispetto al controllo, anche in condizioni di irrigazione ridotta, suggerendo un effetto positivo sullo sviluppo vegetativo. Il numero di culmi per vaso ha mostrato differenze significative tra i trattamenti, risultando particolarmente sensibile sia alla gestione dell'irrigazione sia all'applicazione dei biostimolanti. Le tesi con biostimolante hanno mostrato un elevato numero di culmi, indicando una stimolazione dell'accestimento indotta dai biostimolanti, particolarmente rilevante in condizioni di stress idrico. Il numero di foglie per vaso ha evidenziato un marcato incremento nei trattamenti biostimolanti rispetto ai controlli, soprattutto in condizioni di irrigazione ridotta. Nel complesso, i risultati dei rilievi agronomici indicano che l'applicazione dei biostimolanti ha contribuito a migliorare lo sviluppo vegetativo del frumento duro, sia in condizioni di piena irrigazione sia, in modo più evidente, in condizioni di irrigazione ridotta. Tali risultati sono coerenti con quanto osservato nei rilievi fisiologici, suggerendo un effetto sinergico dei biostimolanti nel migliorare la resilienza del frumento duro allo stress idrico.

Il peso secco della cariosside è significativamente maggiore nelle tesi biostimolate con piena irrigazione (100%). Il peso totale delle spighe segue un andamento simile, confermando l'aumento della produttività grazie all'applicazione dei biostimolanti. La riduzione dell'irrigazione (50%) ha ridotto in maniera marcata la biomassa e il peso delle spighe nel controllo non trattato, che mostra i valori più bassi per tutti i parametri produttivi. Tuttavia, alcuni biostimolanti applicati a irrigazione ridotta hanno parzialmente compensato gli effetti negativi dello stress idrico, evidenziando la capacità di mitigare la carenza d'acqua.

PROVA IN PIENO CAMPO

I risultati fisiologici delle prove in pieno campo (Fig. 5) evidenziano come l'impiego dei biostimolanti abbia influenzato lo stato nutrizionale e fisiologico delle piante di frumento duro. In particolare, le parcelle biostimolate hanno mostrato i valori più elevati di clorofilla, suggerendo una maggiore capacità fotosintetica rispetto al controllo non trattato all'interno delle due MUZ selezionate. Questo effetto indica che le piante trattate hanno mantenuto un apparato fotosintetico più attivo e efficiente, essenziale per supportare crescita e sviluppo. Anche i livelli di antociani risultano maggiori, a indicare che queste piante hanno potenziato i meccanismi di difesa naturale contro lo stress ambientale. In parallelo, l'indice di nutrizione fogliare (NFI), che riflette l'equilibrio tra clorofilla e flavonoli, risulta più alto confermando come i biostimolanti contribuiscano a un migliore stato fisiologico complessivo. Nel complesso, questi risultati indicano che i biostimolanti hanno esercitato un effetto positivo sullo stato fisiologico del frumento, migliorando la fotosintesi, la nutrizione e le difese naturali delle piante, fattori che possono tradursi in una maggiore produttività e qualità della coltura.

I risultati produttivi della prova in pieno campo mostrano come i biostimolanti abbiano influenzato significativamente la crescita e la produzione del frumento duro all'interno



Figura 5 | Frumento duro Aquilonia (AV), frumento duro a Sant'Omero (TE).

delle MUZ nelle diverse condizioni. Per il campo sperimentale di Aquilonia (AV), l'effetto dei biostimolanti sull'altezza delle piante è complessivamente moderato. Analizzando la biomassa totale delle piante, si osserva che le tesi biostimolate hanno prodotto il peso totale più elevato, con valori superiori a 17 t ha^{-1} . Anche il peso delle spighe segue lo stesso andamento con i valori più alti che si attestano sui $11,7 \text{ t ha}^{-1}$. Per quanto riguarda la granella, le tesi biostimolate hanno registrato in media un aumento di circa $1,7 \text{ t ha}^{-1}$ rispetto al controllo non trattato che ha registrato una resa in granella di $3,5 \text{ t ha}^{-1}$.

Per quanto riguarda la qualità della granella, i valori di proteine sono risultati abbastanza uniformi, oscillando tra $11,7\%$ e $12,1\%$. Alcune tesi biostimolate hanno raggiunto il valore massimo di $12,1\%$, indicando un buon contenuto proteico e potenzialmente migliori proprietà tecnologiche per la trasformazione in pasta. Anche il contenuto di glutine è risultato leggermente più elevato nelle parcelle biostimolate. Il peso ettolitrico, indicatore della qualità fisica della granella, è risultato variare tra $80,8$ e $81,6 \text{ kg hl}^{-1}$, con il valore più alto osservato, in media, per le tesi biostimolate. L'umidità della granella è risultata costante a 13% in tutti i trattamenti, indicando uno stato di maturità alla raccolta uniforme e comparabile tra i trattamenti. In sintesi, i biostimolanti non solo hanno contribuito a migliorare la resa produttiva, ma hanno anche mantenuto o leggermente migliorato alcuni parametri qualitativi fondamentali, come proteine, glutine e peso ettolitrico. Il controllo non trattato ha mostrato le performance peggiori sia in termini di resa che di qualità della granella, confermando il beneficio dell'impiego dei biostimolanti nella coltivazione del frumento duro.

Per il campo sperimentale di Sant'Omero (TE), non risultano differenze tra la tesi di controllo e le tesi biostimolate per quanto riguarda l'altezza delle piante e il peso della biomassa. La resa mostrava come le tesi biostimolate hanno registrato in media un aumento di circa $0,7 \text{ t ha}^{-1}$ rispetto al controllo non trattato, registrando una resa media di $4,9 \text{ t ha}^{-1}$. Le analisi sulla qualità della granella riportano un aumento significativo del contenuto proteico nelle tesi biostimolate all'interno delle MUZ rispetto al controllo, con un valore massimo del $16,30\%$. Il peso ettolitrico non ha visto differenze tra le tesi, mostrando un valore medio di 85 kg hl^{-1} .

Questi dati evidenziano che l'impiego dei biostimolanti può incrementare sia la produzione di biomassa vegetativa sia la resa in granella in entrambe le gestioni agronomiche, raggiungendo i migliori risultati nella gestione biologica. Tuttavia, ulteriori studi sono necessari per validare i risultati ottenuti sia in altri areali che su altre varietà.



Figura 6 | Raccolta frumento duro campo di Aquilonia (AV).

CONCLUSIONI

L'insieme dei risultati ottenuti suggerisce che l'applicazione dei biostimolanti rappresenta un approccio efficace e sostenibile per aumentare la resilienza del frumento duro agli stress abiotici, in particolare alla carenza idrica, migliorando contemporaneamente la crescita vegetativa, la produttività e la qualità della granella. I dati evidenziano un effetto sinergico tra l'uso dei biostimolanti e strategie di gestione dell'irrigazione, che può essere sfruttato per ottimizzare l'efficienza delle risorse e incrementare la produttività in condizioni ambientali variabili. In conclusione, i biostimolanti si sono rivelati strumenti agronomici promettenti per una gestione integrata e sostenibile del frumento duro, offrendo la possibilità di migliorare le performance produttive e qualitative della coltura, mitigando gli effetti negativi dello stress idrico e contribuendo a una maggiore sicurezza alimentare nelle regioni mediterranee soggette a limitata disponibilità di risorse idriche. L'Indice di Vegetazione del Bordo Rosso (*Red Edge Vegetation Index*) ha consentito di individuare precocemente condizioni di stress idrico nel frumento duro, grazie alla sua elevata sensibilità alle variazioni di contenuto clorofilliano e allo stato fisiologico della pianta. In situazioni di deficit idrico, l'indice può evidenziare riduzioni localizzate della vigoria, permettendo di mappare la variabilità intra-appezzamento con maggiore accuratezza rispetto agli indici tradizionali. Questo supporta una gestione di precisione, orientando futuri interventi irrigui mirati, la modulazione delle dosi di azoto o scelte agronomiche differenziate, con l'obiettivo di contenere le perdite produttive. Questi risultati forniscono quindi una solida base per ulteriori studi volti a definire protocolli ottimali di applicazione dei biostimolanti e strategie di irrigazione di soccorso mirate a massimizzare resa e qualità del frumento duro in contesti agricoli reali.

NAMASTE-PCA

Novel Agroecosystem Management Strategies and Tools Evaluation: biofertilization and relay cropping under Precision Conservation Agriculture

Titolo del Progetto (in italiano): Valutazione di strategie e strumenti innovativi per la gestione degli Agroecosistemi: biofertilizzazione e relay cropping in agricoltura conservativa di precisione

Coordinatore: Simone Orlandini, Università degli Studi di Firenze (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali)

Unità Operative

- Università degli Studi di Firenze (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari, Ambientali e Forestali): Simone Orlandini, Marco Napoli, Antonio Pescatore, Yidenekachew Beshah, Roberto Vivoli
- Università degli Studi di Teramo (Dipartimento di Bioscienze e tecnologie agroalimentari ed ambientali): Michele Pisante, Giancarlo Pagnani, Alfredo Lorenzo

INTRODUZIONE

Negli ultimi decenni, l'espansione della cerealicoltura intensiva ha determinato un significativo aumento della produttività del frumento duro (*Triticum turgidum* var. *durum* Desf.), specie strategica per l'agricoltura mediterranea e per la filiera agroalimentare italiana. Tale incremento produttivo è stato reso possibile principalmente dall'impiego sistematico di fertilizzanti minerali di sintesi, in particolare azotati, che hanno consentito di sostenere elevate rese anche in contesti pedoclimatici limitanti. Tuttavia, questo modello produttivo ha progressivamente evidenziato limiti strutturali, legati a una crescente dipendenza dall'azoto (N) e a una ridotta efficienza del suo utilizzo da parte delle colture. L'azoto rappresenta infatti uno degli input più critici nei sistemi cerealicoli, sia per il suo ruolo determinante nella definizione della resa e della qualità proteica della granella, sia per le rilevanti esternalità negative associate al suo uso inefficiente. Le perdite di N per volatilizzazione ammoniacale, lisciviazione dei nitrati e denitrificazione possono raggiungere valori compresi tra il 5 e il 50% del fertilizzante distribuito, a seconda delle condizioni pedologiche, climatiche e gestionali. Queste inefficienze si traducono non solo in un aumento dei costi di produzione, ma anche in un impatto ambientale rilevante, legato all'inquinamento delle acque e all'emissione di protossido di azoto (N₂O), un potente gas serra con un GWP quasi 300 volte superiore alla CO₂ (Song *et al.*, 2018). Tali criticità risultano particolarmente accentuate negli ambienti mediterranei, dove la marcata variabilità intra- e interannuale delle precipitazioni, la frequente alternanza di periodi siccitosi e piogge concentrate, e la forte eterogeneità dei suoli rendono complessa la sincronizzazione tra l'apporto di azoto e la reale domanda culturale (. In questi contesti, l'adozione di strategie agronomiche rigide e uniformi risulta spesso inefficiente, poiché non tiene conto delle dinamiche spaziali e temporali che governano l'assorbimento dei nutrienti.

Alla luce di queste problematiche, risulta evidente la necessità di un'evoluzione dei modelli di gestione, orientata all'efficienza, alla sostenibilità e alla resilienza. Due approcci complementari emergono come strumenti chiave di questa transizione: l'agricoltura conservativa (CA) e l'agricoltura di precisione (PA). La CA, tramite la semina su sodo, la copertura permanente del suolo e la rotazione culturale, contribuisce alla rigenerazione della fertilità del suolo, alla riduzione dell'erosione e al miglioramento della capacità di ritenzione idrica (Shelton *et al.*, 2019). Tuttavia, la semplificazione delle lavorazioni può

ostacolare la mineralizzazione della sostanza organica e limitare la disponibilità di nutrienti, in particolare nelle prime fasi del ciclo colturale. L'agricoltura di precisione offre soluzioni per gestire in modo differenziato gli input, grazie a sistemi di monitoraggio e supporto decisionale basati su sensori, immagini satellitari e modelli previsionali, che consentono la messa a punto di strategie a rateo variabile (Jat *et al.*, 2018).

Accanto a queste due direttrici, un ulteriore ambito di innovazione è rappresentato dall'impiego di biofertilizzanti e microrganismi promotori della crescita (PGPM), applicati in particolare sotto forma di concianti biologici del seme. Questi prodotti, spesso a base di *Trichoderma* spp. e funghi micorrizici arbuscolari (AMF), promuovono lo sviluppo radicale, migliorano l'assorbimento dei nutrienti e aumentano la resilienza delle piante a stress biotici e abiotici (Pagnani *et al.*, 2020). Il loro utilizzo è particolarmente promettente nei sistemi a bassa lavorazione, come la semina su sodo, dove lo sviluppo dell'apparato radicale è cruciale per l'efficienza nutrizionale. L'impiego di concianti biologici, come alternativa alle tradizionali concia chimiche, consente inoltre di ridurre l'uso di fitofarmaci di sintesi, contribuendo alla riduzione dell'impatto ecotossicologico e alla salvaguardia della biodiversità microbica del suolo.

Infine, la pratica dell'*intercropping* con leguminose, nel caso specifico *Trifolium pratense* (trifoglio rosso), rappresenta una strategia agroecologica con potenzialità ancora poco esplorate nei cereali autunno-vernini. L'introduzione di leguminose nell'interfila del frumento, soprattutto nella fase di accestimento, può favorire l'arricchimento della rizosfera, migliorare la struttura del suolo e, nel medio termine, aumentare il contenuto di azoto organico tramite fissazione biologica. Inoltre, questa tecnica può contribuire al contenimento delle infestanti e alla stabilizzazione delle rese nei sistemi a basso input.

Questa convergenza tra CA, PA, biofertilizzanti e *intercropping* apre nuove prospettive per la definizione di modelli agronomici integrati, in grado di combinare sostenibilità ambientale, efficienza nutrizionale e competitività economica. Tuttavia, la validazione di queste pratiche richiede studi sperimentali condotti in condizioni operative reali e su scala aziendale, capaci di valutare non solo la produttività, ma anche la qualità, l'efficienza d'uso dell'azoto e la redditività dei diversi trattamenti.

Alla luce di queste premesse, il presente studio ha valutato l'efficacia di tecniche agronomiche integrate per una gestione sostenibile dell'azoto nel frumento duro, coltivato in semina su sodo. In particolare, sono stati testati tre approcci innovativi: (i) la fertilizzazione a rateo variabile basata su immagini Sentinel-2 e sul *Nitrogen Nutrition Index* (NNI), (ii) il *relay intercropping* con trifoglio rosso seminato all'accestimento, e (iii) l'impiego di concianti biologici a base di micorrize e *Trichoderma atroviride*. La sperimentazione in pieno campo, condotta su due stagioni colturali e in due ambienti pedoclimaticamente distinti, ha permesso di analizzare l'impatto di queste strategie su produzione, qualità tecnologica, efficienza nutrizionale e margini economici, in un'ottica di transizione agroecologica e digitalizzazione della gestione aziendale.

SCOPO DEL LAVORO

Il presente lavoro ha avuto l'obiettivo di valutare l'efficacia combinata di pratiche innovative per la coltivazione del frumento duro (*Triticum turgidum* var. *durum* Desf.), varietà Matusalem, all'interno di sistemi di agricoltura conservativa, in particolare con semina su sodo (*no tillage*). La sperimentazione, condotta in pieno campo per due stagioni colturali consecutive in due areali cerealicoli distinti, ha integrato l'uso di tecniche di agricoltura di precisione, come la fertilizzazione a rateo variabile basata su dati da tele-rilevamento, con l'impiego di biofertilizzanti applicati sotto forma di concia biologica del seme (micorrize e *Trichoderma*). Inoltre, è stato valutato l'effetto del *relay intercropping* con trifoglio rosso, pratica che si inserisce nell'ottica di diversificazione e miglioramento

della fertilità del suolo. Lo studio ha mirato a verificare come queste strategie, anche in combinazione tra loro, possano influenzare le performance agronomiche, qualitative ed economiche della coltura, fornendo indicazioni operative per migliorare sostenibilità ed efficienza nei sistemi cerealicoli a basso impatto.

ATTIVITÀ SPERIMENTALI

La sperimentazione è stata condotta in pieno campo nel corso di due stagioni colturali consecutive (2023-2024 e 2024-2025), nell'ambito del progetto PRIN2022 NAMASTE-PCA, presso due aziende agricole rappresentative dell'areale cerealicolo del Centro-Nord Italia, localizzate rispettivamente ad Asciano (SI, Toscana) e Jolanda di Savoia (FE, Emilia-Romagna). In entrambi i siti le prove sono state realizzate in sistemi di agricoltura conservativa, adottando la tecnica della semina su sodo (*no tillage*), al fine di valutare l'efficacia di strategie di agricoltura di precisione e bio-input in contesti a ridotta lavorazione del suolo. In tutte le annate e località, la coltura precedente era una leguminosa da granella, scelta per favorire una buona dotazione iniziale di azoto e migliorare la fertilità del suolo.

La coltura oggetto di studio è stata il frumento duro, varietà *Matusalem* (Società Italiana Sementi), seminata nel mese di gennaio a una densità di 270 kg ha⁻¹. Prima della semina è stato effettuato un diserbo chimico di presemina per il controllo della flora infestante, mentre la concimazione fosfatica è stata eseguita contestualmente alla semina mediante



Figura 1 | Semina su sodo del frumento duro in agricoltura conservativa. In alto: semina meccanica mediante seminatrice da sodo combinata, trainata da trattore cingolato per limitare la compattazione del suolo. In basso da sinistra a destra: campo preparato con residui colturali superficiali, distribuzione del seme nel solco su terreno non lavorato, e sviluppo della coltura in fase di levata. Le immagini illustrano le principali fasi del ciclo colturale in gestione conservativa, evidenziando l'efficacia della semina diretta nella preservazione della struttura del suolo e nella promozione della resilienza agronomica.

la distribuzione uniforme di 50 unità di P_2O_5 ha^{-1} in tutte le parcelle, al fine di evitare limitazioni nutrizionali precoci.

La prova è stata impostata secondo un disegno sperimentale fattoriale in condizioni operative reali, con parcelle di ampia dimensione (circa 1250 m^2 ciascuna), per consentire una gestione meccanizzata e una valutazione affidabile dei trattamenti. Sono stati considerati tre fattori principali: concia del seme, sistema colturale e strategia di fertilizzazione azotata.

Per la concia del seme, sono stati confrontati un trattamento chimico standard, Celest® (Syngenta, a base di Fludioxonil), e una concia biologica, Coveron® (Hello Nature), contenente micorrize e *Trichoderma atroviride* ceppo MUCL45632, con l'obiettivo di valutare il potenziale contributo dei biofertilizzanti in sistemi a ridotto disturbo del suolo.

Il sistema colturale ha previsto la coltivazione del frumento in monocoltura oppure in *relay intercropping* con trifoglio rosso (*Trifolium pratense* L., cv. Apis). Nel trattamento consociato, il trifoglio è stato seminato nell'interfila del frumento durante la fase di accestimento, in concomitanza con la prima concimazione azotata, alla dose di 15 $kg\ ha^{-1}$, al fine di valutare l'effetto della consociazione sulla dinamica dell'azoto, sulla produzione e sulla qualità della coltura principale.

La fertilizzazione azotata è stata frazionata in due interventi. La prima dose, pari al 50% del fabbisogno totale di azoto, è stata distribuita a rateo fisso in tutte le parcelle all'accestimento, sulla base delle asportazioni previste in funzione delle rese potenziali locali. La seconda frazione, applicata all'inizio dell'allungamento del culmo, ha seguito tre differenti strategie: (i) assenza di distribuzione (ZR – *Zero Rate*), (ii) distribuzione a rateo fisso pari al restante 50% del fabbisogno (FR – *Fixed Rate*), (iii) distribuzione a rateo variabile (VR – *Variable Rate*), determinata sulla base dell'Indice di Nutrizione Azotata (NNI) stimato mediante immagini satellitari Sentinel-2 e algoritmi precedentemente validati come riportato in Fabbri *et al.* (2020, 2025).

Durante il ciclo colturale, le parcelle sono state monitorate regolarmente attraverso osservazioni agronomiche dirette, rilievi biometrici e campionamenti di biomassa nelle fasi di accestimento e inizio levata. Alla raccolta sono stati determinati i principali parametri produttivi (resa in granella e paglia), i contenuti e le asportazioni di azoto, nonché un'ampia serie di parametri qualitativi e tecnologici della granella e della semola, tra cui contenuto proteico, frazioni proteiche, glutine, parametri alveografici e indice di pastificazione. Infine, è stata condotta una valutazione economica mediante il calcolo del *Nitrogen Net Adjusted Margin* (NNaM), considerando sia i costi del fertilizzante azotato sia il valore commerciale della granella e della paglia, con particolare attenzione alla valorizzazione della qualità proteica della produzione. Questo approccio ha consentito di integrare gli aspetti agronomici, qualitativi ed economici, fornendo una valutazione complessiva dell'efficacia delle strategie testate in sistemi di agricoltura conservativa.



Figura 2 | Semi di frumento duro conciaati con: trattamento chimico standard (sinistra, Celest® a base di Fludioxonil) e concia biologica (destra, Coveron® contenente *Trichoderma atroviride* MUCL45632 e micorrize).

RISULTATI

La sperimentazione condotta in pieno campo in due areali cerealicoli distinti ha permesso di valutare in condizioni operative reali l'efficacia di strategie di agricoltura di precisione, come la fertilizzazione a rateo variabile, combinate con l'impiego di biofertilizzanti (concia biologica del seme) in un contesto di agricoltura conservativa, caratterizzato dall'assenza di lavorazioni del terreno.

La sperimentazione condotta nel biennio 2023-2025 in due areali cerealicoli di rilievo (Toscana ed Emilia-Romagna), ha rappresentato un caso studio emblematico per valutare la sinergia tra tecniche avanzate di agricoltura di precisione, pratiche di agricoltura conservativa (*no tillage*) e l'impiego di biofertilizzanti, con l'obiettivo di migliorare la sostenibilità, la produttività e la qualità del frumento duro in un contesto reale di coltivazione estensiva.

In particolare, la prova ha analizzato l'effetto combinato di tre fattori: la concia del seme con prodotti chimici o biologici, la coltura pura *vs.* consociazione (*relay intercropping* con trifoglio rosso), e la strategia di fertilizzazione azotata in copertura, confrontando l'approccio convenzionale a dose fissa (FR), quello innovativo a rateo variabile (VR) basato su sensoristica e telerilevamento, e il controllo senza seconda copertura (ZR). Tutto questo è stato valutato su una base agronomica rigorosa e replicata, con parcelle di ampia superficie (1250 m²) e condizioni operative reali.

RISPOSTA PRODUTTIVA

I risultati ottenuti nel biennio di sperimentazione hanno messo in luce in modo netto l'efficacia delle strategie agronomiche innovative testate, con particolare riferimento all'utilizzo dell'agricoltura di precisione e alla concia biologica del seme come strumenti concreti per migliorare la sostenibilità e le performance del frumento duro, anche in contesti colturali estensivi e conservativi.

Il principale fattore che ha determinato variazioni significative nella resa in granella è stata la strategia di fertilizzazione azotata in copertura. In particolare, l'approccio a rateo variabile (VR), basato sull'impiego di dati da telerilevamento (Sentinel-2) per stimare lo stato nutrizionale delle colture e modulare di conseguenza la distribuzione dell'azoto, ha dimostrato di poter eguagliare o addirittura superare la fertilizzazione convenzionale a rateo fisso (FR), utilizzando però quasi il 27% di azoto in meno.

Questo risultato è di grande rilievo: applicare meno azoto, solo dove e quando serve, consente non solo di abbattere i costi colturali, ma anche di ridurre il rischio di perdite ambientali (lisciviazione, emissioni di gas serra) e di migliorare l'efficienza d'uso dell'azoto (NUE). Si tratta, dunque, di una dimostrazione concreta dell'efficacia dell'agricoltura di precisione, che, opportunamente integrata nei percorsi tecnici dell'agricoltura conservativa, rappresenta una leva fondamentale per una transizione agroecologica reale e misurabile.

L'approccio ZR (nessuna seconda concimazione) ha invece confermato le sue limitazioni agronomiche, portando a rese significativamente più basse, in particolare nei siti dove le condizioni pedoclimatiche sono meno favorevoli. Tuttavia, il fatto che anche questa strategia abbia permesso di portare a raccolta la coltura, grazie alla fertilizzazione di base e al contributo residuo della leguminosa dell'anno precedente, suggerisce che interventi a basso input potrebbero essere considerati in contesti a elevata fertilità o in rotazioni ricche di leguminose, nell'ottica di strategie di riduzione selettiva degli input.

Un altro elemento importante emerso dalla sperimentazione riguarda la concia del seme, dove si è confrontata una concia chimica di sintesi (Celest[®], a base di Fludioxonil) con una concia biologica a base di *Trichoderma atroviride* e micorrize (Coveron[®]). I dati raccolti hanno dimostrato che la concia biologica è in grado di garantire livelli produttivi del tutto equivalenti, e in alcuni casi leggermente superiori, rispetto alla concia chimica, con l'ulteriore vantaggio di eliminare l'uso di pesticidi di sintesi nella fase iniziale dello sviluppo.

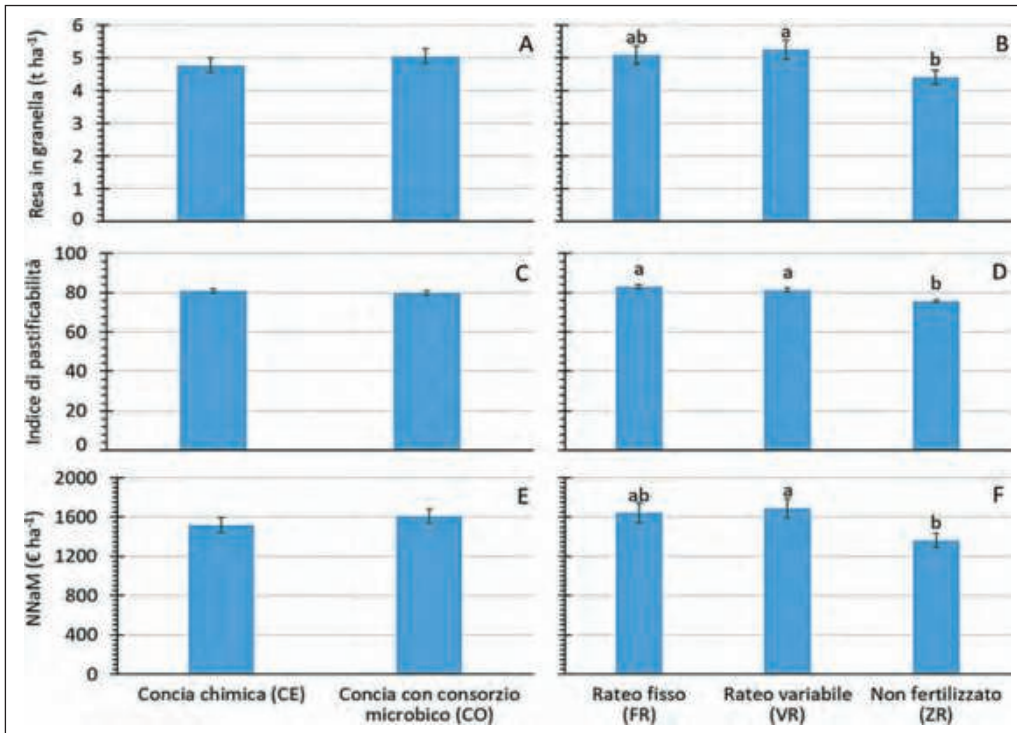


Figura 3 | Effetti della tipologia di concia del seme (sinistra) e della strategia di fertilizzazione azotata (destra) su: resa in granella (A, B), indice di pastificabilità (C, D) ed efficienza economica al netto del costo del fertilizzante azotato (NNaM) (E, F) nel frumento duro in semina su sodo. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative tra i trattamenti secondo il test di Duncan ($p < 0,05$).

Questo risultato ha particolare rilevanza, considerando che i prodotti concianti chimici, seppur efficaci, presentano un'impronta ambientale significativa e sono sempre più soggetti a restrizioni normative. La possibilità di sostituirli con biofertilizzanti dotati di attività biostimolante e protettiva, come nel caso del *Trichoderma*, rappresenta un passo concreto verso la riduzione dell'uso di fitosanitari, rispondendo alle esigenze normative europee e alle aspettative della filiera per produzioni più sostenibili.

Infine, per quanto riguarda il sistema colturale, la tecnica del *relay intercropping* con trifoglio rosso, seminato all'accettamento tra le file di frumento, ha confermato la sua compatibilità agronomica. Non sono stati riscontrati effetti competitivi negativi sulla coltura principale, e in alcuni contesti si è osservata una leggera tendenza a un miglioramento della stabilità produttiva. Sebbene gli effetti non siano stati sempre statisticamente significativi, la presenza della leguminosa può contribuire al miglioramento della struttura del suolo, alla fissazione dell'azoto e alla biodiversità, rafforzando la resilienza del sistema colturale nel medio-lungo periodo.

QUALITÀ DELLA GRANELLA E PARAMETRI TECNOLOGICI

I risultati relativi alla qualità della granella e alla sua idoneità alla trasformazione in semola e pasta hanno evidenziato l'importanza strategica della gestione della fertilizzazione azotata, sia in termini quantitativi che qualitativi. In particolare, è emerso chiaramente come l'impiego di strategie agronomiche più sostenibili, come la fertilizzazione a rateo variabile e l'uso di biofertilizzanti in fase di concia del seme, permetta di mantenere elevati standard qualitativi, riducendo al contempo l'impatto ambientale.

La fertilizzazione azotata si è confermata un fattore determinante per migliorare la qualità tecnologica del grano duro. Le parcelle fertilizzate (sia a rateo fisso che variabile) hanno fatto registrare un aumento significativo del contenuto proteico, della percentuale di glutine e dei parametri alveografici (forza dell'impasto W, tenacità P, estensibilità L). Il valore dell'indice di pastificazione, che sintetizza diversi parametri qualitativi, ha raggiunto e superato la soglia di accettabilità (80 punti) in entrambi i trattamenti fertilizzati, a dimostrazione della buona attitudine alla trasformazione industriale.

Particolarmente interessante è il risultato ottenuto con il trattamento a rateo variabile (VR), che ha garantito valori qualitativi del tutto comparabili a quelli ottenuti con il trattamento a dose fissa (FR), pur utilizzando circa 40 kg/ha in meno di azoto, pari a una riduzione del 27% dell'apporto rispetto alla concimazione convenzionale. Questo evidenzia il potenziale dell'agricoltura di precisione nel migliorare l'efficienza d'uso dell'azoto, ottimizzando gli input sulla base delle reali esigenze della coltura e delle variabilità del campo.

Anche la concia del seme ha mostrato un'influenza positiva, seppur più contenuta, sulla qualità del prodotto finale. Il trattamento con il biofertilizzante Coveron®, a base di micorrize e *Trichoderma atroviride*, ha raggiunto risultati sovrapponibili, e in alcuni casi leggermente superiori, rispetto alla concia chimica convenzionale Celest®. Questo suggerisce che l'impiego di prodotti biologici in fase di concia può rappresentare una valida alternativa per ridurre l'uso di pesticidi di sintesi, contribuendo alla riduzione dell'impronta ambientale della coltivazione, senza penalizzare la qualità tecnologica della granella.

EFFICIENZA ECONOMICA

L'adozione di pratiche agronomiche sostenibili ed efficienti non ha prodotto benefici solo dal punto di vista ambientale e qualitativo, ma ha dimostrato un impatto positivo anche sul piano economico. L'analisi dell'efficienza economica è stata condotta calcolando il Margine Netto Rettificato dell'Azoto (N_{NaM}), ovvero la differenza tra i ricavi derivanti dalla vendita della granella e della paglia e i costi sostenuti per l'acquisto del fertilizzante azotato.

I risultati hanno evidenziato che il trattamento a rateo variabile (VR) ha garantito la redditività più elevata, grazie a una combinazione vantaggiosa di buona resa produttiva, elevata qualità e riduzione significativa dei costi di concimazione. Nonostante l'uso di circa 27% in meno di azoto rispetto alla gestione a dose fissa, il VR ha raggiunto livelli produttivi e qualitativi comparabili, dimostrando una maggiore efficienza nell'uso dell'azoto e una valorizzazione ottimale degli input.

Anche il trattamento a dose fissa (FR) ha mostrato buoni livelli di redditività, sebbene con un costo maggiore legato all'utilizzo più elevato di fertilizzante. Al contrario, il trattamento ZR (nessuna concimazione nella seconda copertura) ha comportato una riduzione sia della produzione sia della qualità, con un impatto negativo sul margine economico finale. È importante sottolineare che il prezzo della granella è stato calcolato non solo in base alla resa, ma anche alla qualità proteica, valorizzando i lotti ad alto contenuto proteico secondo le quotazioni di mercato. Ciò ha permesso di premiare i trattamenti capaci di combinare alta produttività e qualità tecnologica, a ulteriore conferma della validità delle strategie più avanzate.

CONCLUSIONI

La sperimentazione condotta su frumento duro in agricoltura conservativa ha dimostrato come l'integrazione tra agricoltura di precisione e pratiche agronomiche a basso impatto, come l'impiego di biofertilizzanti per la concia del seme, possa rappresentare una strategia concreta per coniugare sostenibilità ambientale, produttività e redditività.

L'applicazione del rateo variabile di azoto, basata sull'uso di immagini satellitari e in-

dicatori agronomici, ha permesso di ridurre sensibilmente l'impiego di fertilizzanti (fino a circa il 27% in meno di azoto distribuito rispetto alla gestione convenzionale), senza compromettere né le rese produttive né la qualità tecnologica della granella. Al contrario, questa tecnica ha garantito margini economici superiori grazie all'ottimizzazione degli input e alla valorizzazione dei lotti di qualità.

Parallelamente, l'impiego di una concia biologica a base di micorrize e *Trichoderma atroviride* ha mostrato risultati del tutto comparabili, se non leggermente superiori, rispetto alla concia chimica convenzionale, con il vantaggio aggiuntivo di ridurre l'utilizzo di prodotti di sintesi, contribuendo così alla diminuzione dell'impronta ambientale complessiva. Nel loro insieme, i risultati suggeriscono che un sistema integrato e innovativo, fondato su tecnologie di supporto decisionale, input biologici e gestione conservativa del suolo, è non solo tecnicamente efficace, ma anche economicamente vantaggioso e ambientalmente sostenibile. Un approccio che guarda al futuro dell'agricoltura mediterranea, capace di affrontare le sfide legate al cambiamento climatico, alla sostenibilità delle risorse e alla competitività del settore cerealicolo.

INNOVAZIONI SOSTANZIALI

Rispetto allo stato dell'arte, le tematiche investigate nei progetti, integrano tre linee progettuali complementari, ciascuna portatrice di un'innovazione specifica, ma raramente considerate in modo congiunto nei sistemi cerealicoli mediterranei. Il valore aggiunto non risiede quindi in una singola soluzione tecnica, bensì nella costruzione di un modello integrato di gestione del frumento duro, capace di coniugare digitalizzazione, bio-input e sostenibilità agronomica in un quadro operativo coerente.

Il primo asse innovativo, sviluppato nell'ambito del progetto CADMIDUR, riguarda la gestione dei potenziali contaminanti e dei micronutrienti attraverso un approccio agronomico avanzato. L'originalità non risiede solo nell'uso di varietà a basso accumulo di Cd o di ammendanti come il biochar, ma nell'aver dimostrato come strategie agronomiche, genetiche e microbiologiche possano essere combinate per ridurre la biodisponibilità del cadmio senza penalizzare resa e qualità tecnologica, introducendo al contempo logiche di biofortificazione con Zn. Questo approccio supera la visione emergenziale della contaminazione e propone una gestione funzionale e preventiva della qualità della granella, integrata nella normale conduzione culturale.

Il secondo asse, sviluppato nel progetto SMABIODUR, introduce un avanzamento sostanziale nella valutazione dei biostimolanti in condizioni reali di stress abiotico, in particolare idrico. L'innovazione non è l'uso dei biostimolanti in sé, ampiamente documentato in letteratura, ma la loro lettura fisiologica e spaziale, ottenuta integrando parametri eco-fisiologici (clorofilla, flavonoli, antociani, NFI, temperatura fogliare) con indici spettrali avanzati come l'NDRE e con l'analisi delle Unità di Gestione Omogenee (MUZ). Questo consente di chiarire non solo se i biostimolanti funzionano, ma come e dove modulano la risposta della coltura allo stress, superando valutazioni medie e aprendo a una gestione di precisione realmente basata sui processi.

Il terzo asse innovativo, sviluppato nel progetto NAMASTE-PCA, riguarda la convergenza tra agricoltura conservativa, fertilizzazione di precisione e biofertilizzazione. In questo caso, l'elemento di discontinuità è rappresentato dalla dimostrazione, in condizioni operative reali e su scala aziendale, che la fertilizzazione azotata a rateo variabile basata su NNI e Sentinel-2 può ridurre significativamente l'input di azoto mantenendo o migliorando resa, qualità e margine economico, soprattutto quando combinata con concia biologica del seme e sistemi colturali diversificati (*relay intercropping*). L'innovazione non è tecnologica in senso stretto, ma gestionale, perché ridefinisce il concetto stesso di efficienza, spostandolo dalla massimizzazione della produzione alla massimizzazione del ritorno tecnico-economico per unità di risorsa impiegata.

Bibliografia

AgroNotizie (2024). *Residui di glifosate e cadmio nella pasta: destini divergenti*. AgroNotizie – Difesa e Diserbo, 4 gennaio 2024.

Baronti S., Alberti G., Delle Vedove G., Di Gennaro F., Fellet G., Genesio L., Miglietta F., Peressotti A., Vaccari F.P. (2010). The biochar option to improve plant yields: first results from some field and pot experiments in Italy. *Italian Journal of Agronomy*, 5(1): 3–11. <https://doi.org/10.4081/ija.2010.3>

Basso B., Cammarano D., Fiorentino C., & Ritchie J.T. (2013). Wheat yield response to spatially variable nitrogen fertilizer in Mediterranean environment. *European Journal of Agronomy*, 51, 65-70.

Basso B., Shuai G., Zhang J. Robertson G.P. (2019). Yield stability analysis reveals sources of large-scale nitrogen loss from the US Midwest. *Sci. Rep.* 9, 5774.

Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J.L. (2011). Effects of biochar on soil bioavailability of heavy metals. *Environmental Pollution* 159(2), 474-480.

Campbell C.A., Myers R.J.K., Curtin D. (1995). Managing nitrogen for sustainable crop production. *Fertil. Res.* 42, 277-296.

Cheng C., Wang Q., Wang Q.X., He L.Y. & Sheng X.F. (2021). Wheat-associated *Pseudomonas taiwanensis* WRS8 reduces cadmium uptake by increasing root surface cadmium adsorption and decreasing Cd transport-related gene expression in wheat. *Environmental Pollution*, 268:115850.

Chojnacka K., Skrzypczak D., Szopa D., Izydorczyk G., Moustakas K., & Witek-Krowiak A. (2023). Management of biological sewage sludge: Fertilizer nitrogen recovery as the solution to fertilizer crisis. *Journal of Environmental Management*, 326, 116602.

COM/2018/392 (2018). Proposal for a regulation of the European Parliament and of the council establishing rules on support for strategic plans to be drawn up by Member States under the CAP Strategic Plans and financed by EAGF and by EAFRD and repealing Regulation (EU) No 1305/2013 of the European Parliament and of the Council and Regulation (EU) No 1307/2013 of the European Parliament and of the Council, 2018. URL <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=COM%3A2018%3A392%3AFIN> (accessed 2.24.24).

du Jardin P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic.*, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>.

Duma S., Shimelis H., & Tsilo T.J. (2022). Response of bread wheat genotypes for drought and low nitrogen stress tolerance. *Agronomy*, 12(6), 1384. <https://doi.org/10.3390/agronomy12061384>.

EFSA (European Food Safety Authority) (2009). Cadmium in food – Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*, 980, 1-139.

EU CAP 2023-2027. (2023) Principali obiettivi strategici della PAC 2023-2027. URL https://agriculture.ec.europa.eu/common-agricultural-policy/cap-overview/cap-glance/key-policy-objectives-cap-2023-27_it (accessed 1.7.25).

- European Commission (2014). Commission Recommendation 2014/193/EU of 4 April 2014 on the reduction of the presence of cadmium in foodstuffs (OJ L 104, 08.04.2014, pp. 80-81).
- European Commission (2021). Commission Regulation (EU) 2021/1323 of 10 August 2021 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of cadmium in certain foodstuffs (OJ L 288, 11.08.2021, pp. 13-18).
- Fabbri C., Basso B., Napoli M., Dalla Marta A., Orlandini S. & Martinez-Feria R.A. (2023). Developing a tactical nitrogen fertilizer management strategy for sustainable wheat production. *European Journal of Agronomy*, 144, 126746.
- Fabbri C., Mancini M., Dalla Marta A., Orlandini S. & Napoli M. (2020). Integrating satellite data with a Nitrogen Nutrition Curve for precision top-dress fertilization of durum wheat. *European Journal of Agronomy*, 120, 126148.
- Hui X., Luo L., Chen Y., Palt, J.A., & Wang Z. (2025). Zinc agronomic biofortification in wheat and its drivers: a global meta-analysis. *Nature Communications*, 16:3913.
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (1993). *Beryllium, Cadmium, Mercury and Exposures in the Glass Manufacturing Industry*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 58. IARC, Lyon.
- Jat R.D., Jat H.S., Nanwal R.K., Yadav A.K., Bana A., Choudhary K.M., Kakraliya S.K., Sutaliya J.M., Sapkota T.B., Jat M.L. (2018). Conservation agriculture and precision nutrient management practices in maize-wheat system: Effects on crop and water productivity and economic profitability. *Field Crops Research*, 222, 111-120.
- Jiang Y., Wei C., Jiao Q. *et al.* (2023). Interactive effect of silicon and zinc on cadmium toxicity alleviation in wheat plants. *Journal of Hazardous Materials*, 458:131933.
- Kan D., Tian M., Ruan Y., Han H. (2024). Phosphorus-Solubilizing Bacteria Enhance Cadmium Immobilization and Gene Expression in Wheat Roots to Reduce Cadmium Uptake. *Plants*, 13(14):1989. <https://doi.org/10.3390/plants13141989>
- Khakbazan M., Moulin A., & Huang J. (2021). Economic evaluation of variable rate nitrogen management of canola for zones based on historical yield maps and soil test recommendations. *Scientific Reports*, 11(1), 4439.
- Khan M.R., Jahiruddin M., Rahman M.M., & Mian M.A.K. (2023). Loading of zinc and iron in grains of different wheat genotypes in the calcareous and floodplain soils of Bangladesh. *Heliyon*, 9(8): e19039.
- Li J., Van Gerrewey T., & Geelen D. (2022). A meta-analysis of biostimulant yield effectiveness in field trials. *Frontiers in Plant Science*, 13, 836702. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.836702>.
- Maccaferri M., Harris N.S., Twardziok S.O., *et al.* (2019). Durum wheat genome highlights past domestication signatures and future improvement targets. *Nature Genetics*, 51(5), 885-895.
- Nutini F., Confalonieri R., Paleari L., Pepe M., Criscuolo L., Porta F., ... & Boschetti M. (2021). Supporting operational site-specific fertilization in rice cropping systems with infield smartphone measurements and Sentinel-2 observations. *Precision Agriculture*, 22(4), 1284-1303.
- Pagnani G., Galieni A., Stagnari F., Pellegrini M., Del Gallo M., & Pisante M. (2020). Open field inoculation with PGPR as a strategy to manage fertilization of ancient *Triticum* genotypes. *Biology and Fertility of Soils*, 56(1), 111-124.

- Paris, B., Vandorou, F., Balafoutis, A. T., Vaiopoulos, K., Kyriakarakos, G., Manolakos, D., & Papadakis, G. (2022). Energy use in open-field agriculture in the EU: A critical review recommending energy efficiency measures and renewable energy sources adoption. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 158, 112098.
- Poole N., Donovan J., & Erenstein O. (2021). Agri-nutrition research: revisiting the contribution of maize and wheat to human nutrition and health. *Food Policy*, 100, 101976. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2020.101976>.
- Pucci E. (2021). *Studio dei meccanismi di trasferimento e dei fattori che intervengono nell'assorbimento di elementi tossici o potenzialmente tossici dal suolo alla pianta: il caso studio del frumento duro e dell'olivo*. Tesi di dottorato, Università degli Studi di Roma La Sapienza.
- Pucci E. (2022). Toxic and potentially toxic element uptake and translocation in durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum) cultivars under real field conditions. Poster presentato a From Seed to Pasta IV – International Conference, Bologna (Italy), 26-29 October 2022.
- Sasaki A., Yamaji N., Yokosho K., Ma J.F. (2012). Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice. *The Plant Cell*, 24(5):2155-2167.
- Shelton R.E., Jacobsen K.L., & McCulley R.L. (2018). Cover crops and fertilization alter nitrogen loss in organic and conventional conservation agriculture systems. *Frontiers in plant science*, 8, 2260.
- Silletti S., Di Stasio E., Van Oosten M.J., Ventorino V., Pepe O., Napolitano M., ... & Maggio A. (2021). Biostimulant activity of *Azotobacter chroococcum* and *Trichoderma harzianum* in durum wheat under water and nitrogen deficiency. *Agronomy*, 11(2), 380. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020380>.
- Subbarao G.V., Arango J., Masahiro K., Hooper A. M., Yoshihashi T., Ando Y., ... & Iwanaga M. (2017). Genetic mitigation strategies to tackle agricultural GHG emissions: The case for biological nitrification inhibition technology. *Plant Science*, 262, 165-168.
- Tao Z., Chang X., Wang D., Wang Y., Ma S., Yang Y., & Zhao G. (2018). Effects of sulfur fertilization and short-term high temperature on wheat grain production and wheat flour proteins. *The Crop Journal*, 6(4), 413-425.
- Tittlemier S.A., Bestvater L., Chan J., Timofeiev V., Richter A., Wang K., Ruan Y., Izydorczyk M., Fu B.X. (2023). Diverging fates of cadmium and glyphosate during pasta cooking. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 40(11):1459-1469. <https://doi.org/10.1080/19440049.2023.2264976>
- Vergine M., Aprile A., Sabella E., Genga A., Siciliano M., Rampino P., Lenucci M.S., Luvisi A., De Bellis L. (2017). Cadmium Concentration in Grains of Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(30):6240–6246. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01946>
- Zhou J., Zhang C., Du B., Cui H., Fan X., Zhou D., Zhou J. (2020). Effects of zinc application on cadmium accumulation and plant growth in low- and high-Cd accumulating wheat cultivars. *Environmental Pollution*, 265:115045. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115045>.

3

INNOVAZIONI NELLA PROTEZIONE INTEGRATA E L'AGRICOLTURA BIOLOGICA

- *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna: Eleonora Cappelletti, Diana Di Gioia, Daniele Alberoni, Antonio Prodi
- Consiglio Nazionale delle Ricerche (ISPA): Barbara Laddomada, Carmela Gerardi, Giovanna Giovinazzo
- Consiglio Nazionale delle Ricerche (ISPA): Antonio Moretti, Daria Carella, Miriam Haidukowski, Mario Masiello, Stefania Somma, Antonia Susca
- Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA-GB-FI): Caterina Morcia, Roberta Ghizzoni, Alessandro Tondelli, Ivana Tagliaferri, Maria Alexandra Cucu
- Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA-CI): Pasquale De Vita, Fabio Fania, Giuseppina Angione, Salvatore Esposito, Patrizio Spadanuda
- Università degli Studi dell'Insubria: Guido Domingo, Candida Vannini, Marcella Bracale, Laura Ciceri
- Università degli Studi di Bari Aldo Moro: Costantino Paciolla, Linda Mastropasqua, Valentina Maria Carmela Pastorini
- Università degli Studi di Foggia: Giacinto Salvatore Germinara, Ilaria D'Isita, Federica Lo Muzio
- Università degli Studi di Perugia: Lorenzo Covarelli, Giovanni Beccari, Francesco Tini, Emilio Balducci
- Università degli Studi di Sassari: Quirico Migheli, Virgilio Balmas, Safa Oufensou, Giampiera Porqueddu
- Università degli Studi di Torino: Alessandra Salvioli di Fossalunga, Mara Novero, Francesco Berruto, Martina Florian

Stato dell'arte e necessità emergenti

Il frumento è una delle colture cerealicole di maggiore rilevanza a livello mondiale, nonché la principale fonte di calorie e proteine di origine vegetale nell'alimentazione umana. Tuttavia, numerosi stress abiotici e biotici rappresentano una costante minaccia alle produzioni, in un contesto globale in cui la domanda di frumento e dei suoi derivati è in costante aumento (Figueroa *et al.*, 2018; FAO, 2025).

Tra gli stress biotici, ingenti perdite quali-quantitative possono essere causate da funghi patogeni e da artropodi fitofagi in campo e in postraccolta.

Tra i funghi fitopatogeni più dannosi per il frumento duro vi sono *Blumeria graminis*, che causa l'oidio, *Zymoseptoria tritici*, agente della septoriosi, *Parastagonospora nodorum*, agente della stagonosporiosi, *Puccinia recondita*, *P. striiformis* e *P. graminis* che causano, rispettivamente, le ruggini bruna, gialla e nera, le quali colpiscono foglie e spighe riducendo la fotosintesi e, di conseguenza, la resa. Inoltre, altre specie di funghi fitopatogeni, come quelli appartenenti al genere *Fusarium* e *Alternaria*, sono tra i principali responsabili della contaminazione del frumento duro, essendo causa di fusariosi del culmo e della spiga (*Fusarium* spp.) o associate alla puntatura (nerume) delle cariossidi (*Alternaria* spp.). Entrambi questi generi fungini includono specie produttrici di micotossine, metaboliti secondari tossici in grado di contaminare anche i prodotti derivati e rappresentano, pertanto, anche un importante problema sanitario ed economico, sia in Italia che a livello globale. Alcune fra le micotossine prodotte dalle specie di *Fusarium* sono regolate a livello di legislazione europea per la loro presenza sia nella materia prima, sia nei derivati del frumento duro. Fra queste, i tricoteceni, potenti inibitori della sintesi proteica, lo zearalenone, causa di sindromi estrogeniche, e le fumonisine (per lo più riscontrate sul mais), associate al tumore esofageo nell'uomo, hanno limiti rigorosi per quanto concerne la contaminazione delle cariossidi dei cereali e loro derivati.

Sebbene le fusariosi del frumento duro siano solitamente causate da un complesso di specie di *Fusarium*, le principali specie che causano la fusariosi del culmo e quella della spiga sono *Fusarium culmorum* e *Fusarium graminearum sensu stricto*, entrambi produttrici di deossinivalenolo, considerato il tricotecene più diffuso a livello mondiale, e di zearalanenone. In Italia, nell'ultimo decennio, è stata rilevata sempre più frequentemente nelle cariossidi di frumento duro anche la specie produttrice di fumonisine *Fusarium proliferatum*, sebbene, fortunatamente, al contrario di quanto rilevato in numerose aree geografiche nel mondo (Argentina, Serbia, Stati Uniti), tali micotossine non siano mai state segnalate in maniera significativa nel nostro Paese. Tuttavia, la crisi climatica in corso impone un continuo monitoraggio, in quanto si potrebbero creare condizioni ideali anche per la produzione in campo di tali micotossine. Da notare, inoltre, che le specie che causano fusariosi della spiga e del colletto possono sopravvivere nelle stoppie per più anni consecutivi (Summerell e Burgess, 1988; Summerell *et al.*, 1989). Pertanto, la crescente adozione di tecniche di agricoltura rigenerativa, la non-lavorazione e la permanenza delle stoppie nel suolo hanno portato ad un aumento dell'incidenza delle fusariosi in molte regioni del mondo (Kazan e Gardiner, 2017; Scherm *et al.*, 2013; Leplat *et al.*, 2013).

Per quanto riguarda gli artropodi fitofagi, esistono oltre 100 specie che attaccano il frumento; tuttavia, la maggior parte di esse è occasionale o limitata a specifiche aree di coltivazione e solo alcune specie rivestono una rilevante importanza economica per la coltura (Hatchett *et al.*, 1987). In generale, le principali specie di insetti dannosi al frumento durante la fase di produzione in pieno campo appartengono all'ordine Coleoptera, famiglie Tenebrionidae ed Elateridae, all'ordine Hemiptera, in particolare alla famiglia Aphididae, e ad alcune famiglie degli ordini Lepidoptera e Diptera (Bajwa *et al.*, 2020). I danni economicamente più rilevanti causati dagli insetti fitofagi al frumento sono spesso registrati in postraccolta, a carico della granella stoccata. Infatti, questi ultimi causano annualmente una perdita del 10-15% circa del frumento prodotto nei Paesi industrializzati, perdita che può raggiungere il 50% nei Paesi in via di sviluppo (Rajendran, 2002). Durante questa fase della filiera, gli insetti causano danni di tipo diretto, espressi come riduzione in peso del prodotto attaccato dovuto all'attività trofica, e indiretto, dovuto all'alterazione delle caratteristiche organolettiche, la contaminazione biologica del prodotto con esuvie ed escrementi, il rapido deterioramento e le alterazioni a carico di proteine, zuccheri e amido. Notevoli perdite sono dovute anche alla capacità degli insetti di veicolare, attraverso la superficie del corpo e gli escrementi, microrganismi patogeni, tra cui alcune specie produttrici di micotossine. La gestione dei fitofagi in postraccolta è resa molto complessa dalla stringente legislazione Comunitaria e Nazionale sull'uso dei prodotti fitosanitari, dalla difficoltà nell'individuare tempestivamente le infestazioni a causa dello sviluppo endofitico di alcune specie e dai sempre più frequenti fenomeni di resistenza verso alcuni dei principi attivi comunemente utilizzati. In questo contesto, in accordo con i principi della protezione integrata, la ricerca è proiettata verso lo studio e la messa a punto di mezzi di controllo sostenibili e a basso impatto, alternativi a quelli chimici di sintesi (Germinara *et al.*, 2015). Inoltre, i cambiamenti climatici in atto influenzano profondamente la pressione dei parassiti, alterandone distribuzione, ciclo vitale e aggressività. In particolare, variazioni di temperatura e precipitazioni favoriscono l'espansione di funghi, batteri, virus e insetti vettori in nuove aree, dove le piante spesso non dispongono di difese adeguate.

Le piante hanno sviluppato sistemi di difesa altamente specializzati contro i parassiti, che si distinguono in resistenze passive e attive. La resistenza passiva costituisce la prima linea di difesa ed è basata sia su barriere strutturali (la cuticola cerosa e la parete cellulare), che proteggono fisicamente la pianta, sia su barriere chimiche (metaboliti secondari costitutivi), che bloccano l'ingresso del patogeno. Se queste difese vengono superate, la pianta attiva risposte inducibili nel sito dell'infezione. La prima è la PTI (*Pattern-Triggered Immunity*), avviata dal riconoscimento di profili molecolari conservati dei patogeni da parte di recettori specifici. La PTI induce una risposta difensiva di base, che comprende il rafforzamento delle pareti cellulari e la sintesi di molecole antimicrobiche (fitoalessine) e di proteine correlate alla patogenesi (PR). Se il patogeno riesce a superare la PTI, la pianta può attivare una risposta difensiva più rapida e intensa, l'ETI (*Effector-Triggered Immunity*) che porta alla reazione di ipersensibilità e alla morte cellulare programmata delle cellule circostanti il sito di infezione. Nell'ambito di questa risposta locale si originano segnali mobili che rendono la risposta sistemica (*Systemic Acquired Resistance*, SAR), conferendo uno stato di allerta generalizzato in tutta la pianta che consente una risposta più rapida ed efficace a futuri attacchi contro un ampio spettro di fitopatogeni.

Nei sistemi agricoli, le colture affrontano simultaneamente stress biotici e abiotici. Siccità, calore o salinità possono indebolire le difese vegetali e aumentare la suscettibilità alle infezioni, mentre le risposte contro i patogeni possono ridurre le risorse disponibili per affrontare lo stress ambientale, con effetti negativi su crescita e produttività. Queste interazioni dipendono dalla specie e dal contesto, rendendo complesse le strategie di gestione. Pertanto, l'obiettivo delle strategie di difesa del frumento duro è quello di pro-

teggere la coltura dalle principali malattie fogliari e della spiga e dagli insetti dannosi, oltre a garantire resa e qualità della granella elevate, in linea con gli standard richiesti dalle filiere.

EXCURSUS STORICO DELLA DIFESA DEL FRUMENTO

Negli anni '50 e '60 del secolo scorso, la “*rivoluzione verde*” ha condotto ad un uso intensivo e spesso irrazionale dei prodotti fitosanitari incentrato su trattamenti preventivi e ripetuti a “calendario” prescindendo dalla valutazione delle dinamiche di popolazione di patogeni e parassiti e dal danno economico da essi causato. In tale contesto, anche la difesa del frumento è stata prevalentemente basata sull'impiego di mezzi chimici di sintesi, in particolare fungicidi ad azione preventiva o curativa e insetticidi fumiganti e di contatto ad ampio spettro.

In breve tempo questo approccio ha portato ad una serie di effetti indesiderati, quali riduzione della biodiversità e di organismi utili negli agroecosistemi, inquinamento ambientale con bioaccumulo lungo le catene trofiche ed elevati rischi per la salute dei consumatori, a causa dei residui di prodotti fitosanitari negli alimenti, e degli operatori del settore, esposti frequentemente all'uso di prodotti chimici di sintesi. È ormai ben noto, infatti, che tali formulati possono causare effetti avversi sulla salute umana, che vanno da impatti acuti a cronici, e sull'ambiente, contaminando suolo e acqua, oltre a danneggiare organismi non bersaglio. Alcuni agrofarmaci, come il bromuro di metile, fumigante ampiamente usato per la difesa dei cereali in postraccolta e per il controllo di patogeni del suolo, sono stati anche associati al degrado dello strato di ozono. L'uso indiscriminato dei mezzi chimici di lotta, inoltre, ha favorito l'emergenza di popolazioni di patogeni e parassiti resistenti ai principi attivi comunemente utilizzati, con una conseguente perdita di efficacia degli stessi. La crescente sensibilità dell'opinione pubblica verso la salvaguardia dell'ambiente e per il consumo di alimenti sani e sicuri sta determinando, da diversi anni, una profonda evoluzione dei mezzi e delle strategie di difesa delle colture, tra cui il frumento, passate dalla lotta chimica “a calendario” a metodi di controllo integrati e biologici che mirano a ridurre l'impatto della chimica di sintesi in agricoltura (Germinara *et al.*, 2021; Migheli e Cravedi, 2025). Entrambi questi metodi si basano sull'esigenza di concepire la gestione dell'agroecosistema con mezzi e tecniche rispettose e conservative dell'ambiente, a supporto di un'agricoltura sostenibile e di uno sviluppo agricolo rurale in sintonia con l'ottimizzazione delle risorse disponibili. La lotta integrata prevede l'impiego prioritario di mezzi a basso impatto (agronomici, microbiologici, semiochimici, fisici, lotta autocida, genetici) e, secondariamente, di agrofarmaci di sintesi selettivi nei confronti degli organismi non bersaglio e utili (es. nemici naturali e impollinatori) (Germinara *et al.*, 2021). La lotta biologica, invece, esclude completamente l'impiego di agrofarmaci di sintesi per la protezione delle colture. In tale contesto, nascono il D.L. n. 150 del 14 agosto 2012 che ha recepito la Direttiva UE 2009/128/CE relativa a “Uso sostenibile degli agrofarmaci” e il Regolamento (UE) 2018/848, che abroga il regolamento (UE) n. 834/2007, relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici. Il primo ha sancito l'obbligo per tutti i produttori degli Stati membri di adottare, dall'1 gennaio 2014, i principi della produzione integrata; il secondo ha introdotto un sistema unico europeo, valido dall'1 gennaio 2022 per tutti gli Stati membri, con regole armonizzate sulla produzione biologica e su controlli, certificazioni, regimi di importazione e utilizzo dell'indicazione “biologico” nell'etichettatura e nella pubblicità. Inoltre, un notevole impulso alle nuove tendenze nel controllo degli organismi dannosi è stato dato dalla revisione europea delle molecole attive (Direttiva CEE 91/414), che ha determinato una drastica riduzione nel numero di molecole ammesse.

Nel 2019, nasce il *Green Deal* europeo, una strategia dell'Unione Europea volta a trasfor-

mare il modello economico e produttivo dell'Europa in un sistema sostenibile, competitivo e "climaticamente neutro". Tale strategia ha riguardato tutti i settori produttivi, compresa l'agricoltura a cui è stata dedicata una sezione specifica, "Farm to Fork". In generale, tale sezione ha previsto l'aumento di pratiche sostenibili, come l'agricoltura biologica, e una riduzione del 50% dell'uso e del rischio dei prodotti fitosanitari di sintesi entro il 2030.

A partire dal 26 febbraio 2025 la Commissione Europea ha adottato un nuovo pacchetto di proposte legislative, il c.d. "Pacchetto Omnibus", con l'obiettivo principale di semplificare e razionalizzare la normativa europea in vari ambiti, tra cui l'agricoltura. In tale Pacchetto, il settore agricolo occupa una posizione di particolare rilievo, in quanto fortemente esposto agli effetti della regolazione europea in materia di sostenibilità ambientale, rendicontazione e politiche climatiche. L'intervento della Commissione mira a tenere conto delle specificità dell'agricoltura, caratterizzata da margini economici ridotti, elevata frammentazione aziendale e forte dipendenza da fattori naturali e di mercato. Rispetto al *Green Deal*, il Pacchetto Omnibus, pur confermando gli obiettivi di tutela ambientale, riduzione delle emissioni e uso sostenibile delle risorse naturali, riconosce la necessità di una maggiore gradualità e flessibilità nell'applicazione delle regole, affinché la transizione ecologica non comprometta la redditività e la competitività delle aziende agricole europee.

Parallelamente all'evoluzione della normativa fitosanitaria si è affermato il ruolo della resistenza genetica quale strumento fondamentale di difesa. La ricerca di fonti di resistenza alle malattie ha costituito uno dei principali obiettivi del miglioramento genetico del frumento. In un primo momento, è stata privilegiata l'introggressione di geni di resistenza efficaci contro specifici patotipi, come nel caso delle ruggini del frumento. Tuttavia, la rapida evoluzione delle popolazioni patogene ha spesso compromesso la durabilità di tali resistenze, evidenziando i limiti di un approccio basato su singoli geni (Johnson, 1984). Ciò ha portato a una crescente attenzione verso forme di resistenza quantitativa o parziale, controllate da più loci genetici e generalmente associate a una maggiore stabilità nel tempo (Poland *et al.*, 2009).

Lo sviluppo di varietà resistenti agli attacchi dei fitofagi durante la conservazione del grano rappresenta una valida alternativa agli agrofarmaci di sintesi, e potrebbe svolgere un ruolo molto importante nelle strategie di difesa integrata. Tuttavia, la ricerca di resistenze agli insetti e ai patogeni che attaccano le derrate stoccate ha ricevuto scarsa attenzione nei programmi di miglioramento genetico (Throne *et al.*, 2000).

In questo contesto, negli ultimi decenni, la difesa del frumento si è evoluta verso un approccio integrato e sostenibile che combina resistenza genetica, pratiche agronomiche appropriate e uso razionale dei mezzi chimici.



Figura 3.1 | Rappresentazione schematica dell'evoluzione della difesa del frumento.

La protezione integrata e l'agricoltura biologica nella coltivazione del frumento duro

DIFESA DEL FRUMENTO DURO ORGANIZZATA SU DIFFERENTI LIVELLI

I sistemi di difesa integrata del frumento (*Integrated Pest Management*, IPM) sono l'insieme coordinato di pratiche che puntano a proteggere la coltura da patogeni, insetti e piante infestanti, riducendo l'uso dei prodotti fitosanitari, privilegiando la difesa integrata (prevenzione + interventi mirati) e salvaguardando resa, qualità e ambiente. Questo nuovo sistema di difesa, complesso e multidisciplinare, è frutto dell'integrazione di conoscenze agronomiche, genetiche, fisiologiche ed ecologiche e risulta fondamentale per garantire la sostenibilità produttiva della coltura in un contesto di crescente pressione ambientale e fitosanitaria.

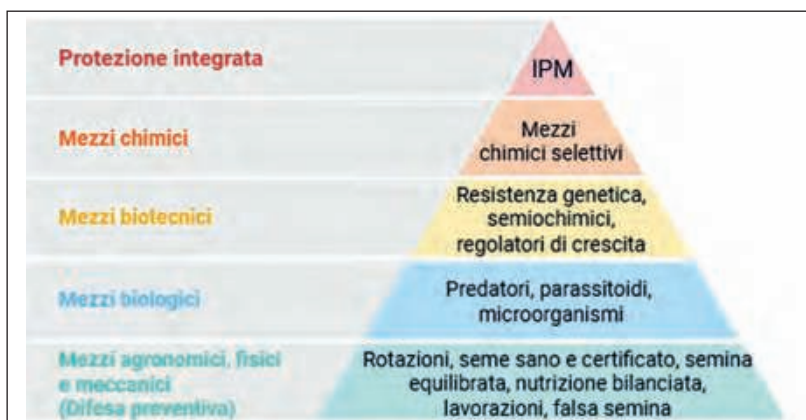


Figura 3.2 | Rappresentazione schematica dei livelli della difesa integrata del frumento.

AVANZAMENTO SCIENTIFICO E TECNOLOGICO E NUOVE OPPORTUNITÀ

L'innovazione nella filiera del frumento duro per il biennio 2025-2026 segna il passaggio definitivo da una difesa "reattiva" a una "predittiva e biologica di precisione". In Italia, questo settore è spinto da nuovi decreti per il biologico (ottobre 2025) e dall'estensione delle sperimentazioni genetiche mediante Tecnologie di Evoluzione Assistita (TEA) fino a tutto il 2026. Di seguito è rappresentato uno schema tecnico aggiornato delle principali direttrici di innovazione.

MONITORAGGIO E DIGITALIZZAZIONE (AGRICOLTURA 4.0)

- **DSS (Sistemi di Supporto alle Decisioni) evoluti:** software che incrociano dati meteo e modelli previsionali per segnalare il rischio di infezioni fungine o di attacchi

di insetti. Sistemi come *Grano.it* ora integrano modelli previsionali specifici per la fusariosi della spiga. In futuro, questi sistemi saranno connessi al Registro di Campagna Digitale obbligatorio.

- **Remote Sensing:** uso di satelliti e droni dotati di sensori multispettrali per individuare precocemente focolai di stress non ancora visibili a occhio nudo.
- **Trappole Intelligenti (Smart Traps):** trappole automatiche per il monitoraggio di parassiti, dotate di fotocamera e applicazioni basate su AI che riconoscono e quantificano automaticamente gli attacchi da patogeni, come ad esempio i sintomi causati da *Z. tritici*, scattando una foto e inviando alert in tempo reale sullo smartphone (*Smart Scouting*).
- **Sentinel-2 e NDVI:** l'uso dei dati satellitari consente di elaborare mappe di prescrizione per la concimazione azotata a rateo variabile. Un eccesso di azoto, infatti, rende il frumento duro più vulnerabile alle ruggini e all'oidio.

PROTEZIONE BIOLOGICA E BIOCONTROLLO

Dal 2026, il Fondo per lo sviluppo della produzione biologica destina il 40% delle risorse a programmi di ricerca e innovazione. Si sta passando dalla chimica di sintesi a organismi viventi e molecole di origine naturale.

- **Microrganismi benefici:** il loro utilizzo come bioinoculi rappresenta una valida alternativa per il contenimento dei patogeni in campo. Essi agiscono attraverso diversi meccanismi, tra cui:
 - parassitismo (o più correttamente iperparassitismo): capacità di instaurare un contatto intimo con il patogeno dal quale traggono nutrimento;
 - antagonismo o antibiosi: capacità di produrre metaboliti secondari, volatili e non, in grado di contenere o inibire la crescita e lo sviluppo del patogeno;
 - competizione: capacità di escludere un patogeno dalla nicchia ecologica attraverso l'occupazione fisica dello spazio, una maggiore velocità ed efficienza nell'assimilare sostanze nutritive essenziali e nel consumo di ossigeno;
 - induzione della Resistenza Sistemica Indotta (ISR): capacità di stimolare un priming immunitario che crea una condizione di pre-allerta e rende la pianta più reattiva e pronta a contrastare eventuali attacchi di patogeni;
 - promozione della crescita: molti di questi microrganismi migliorano anche l'assorbimento dei nutrienti e la crescita generale della pianta, con effetti positivi sulla resa e la qualità della granella.

Attualmente, sebbene i biostimolanti in commercio siano generalmente basati su uno o pochi microrganismi (quali il fungo micorrizico *Rhizophagus irregularis*, il fungo benefico *Trichoderma harzianum*, l'oomicete *Pythium oligandrum* e il batterio *Bacillus subtilis*), numerose evidenze indicano che i consorzi microbici sono più efficienti rispetto ai singoli isolati. Negli ultimi anni la ricerca ha evidenziato come la rizosfera delle piante rappresenti un hotspot di diversità microbica, particolarmente arricchita di microrganismi in grado di promuovere la crescita vegetale e aumentare la tolleranza agli stress ambientali. Secondo l'ipotesi del "cry for help", le piante attaccate da patogeni modificano il profilo di essudazione radicale per reclutare microrganismi benefici in grado di limitare lo sviluppo della malattia. Questo fenomeno è stato osservato anche in condizioni di stress abiotico, come la siccità. Da queste osservazioni è nata la proposta di sviluppare Comunità Microbiche Sintetiche (SynCom) in grado di fornire una protezione più efficace e stabile. Le SynCom, costituite da decine di ceppi microbici coltivabili, mirano a riprodurre le funzioni chiave del microbiota naturale. Tuttavia, la loro progettazione richiede una comprensione approfondita dei meccanismi genetici e biochimici che regolano le interazioni tra pianta e microbiota, in particolare in

condizioni di stress. Un'interessante applicazione dell'antagonismo tra microrganismi è rappresentata dall'uso di ceppi selezionati per produrre composti organici volatili (VOCs), in grado di contenere lo sviluppo di patogeni fungini. Questo approccio appare particolarmente promettente durante le fasi di stoccaggio in postraccolta in silos, container o in ambienti confinati, dove è possibile raggiungere concentrazioni di VOCs sufficienti a limitare la propagazione dei funghi, con effetti benefici sulla qualità del prodotto (Oufensou *et al.*, 2025).

- **Elicitori:** molecole di origine biologica (come estratti algali e idrolizzati proteici) che “vaccinano” la pianta, attivando preventivamente le sue difese naturali verso stress biotici. Un esempio è la laminarina, polisaccaride estratto da alghe brune, che conferisce protezione contro diversi fitopatogeni del frumento. Inoltre, molti elicitori influenzano anche la fisiologia vegetale, riducendo gli effetti degli stress abiotici e migliorando l'efficienza d'uso dell'azoto e di altri nutrienti. I biostimolanti di terza generazione combinano estratti algali e microrganismi benefici e agiscono come veri e propri “booster” naturali, capaci di stimolare i processi fisiologici e di aumentare la resistenza delle piante a condizioni ambientali avverse, come i sempre più frequenti stress termici.
- **Semiochimici:** sostanze chimiche segnale a basso peso molecolare che regolano vari aspetti della vita di relazione degli insetti sia a livello intraspecifico (feromoni) che interspecifico (allomoni). Tali composti naturali, biologicamente attivi a dosi molto basse e altamente specifici, consentono di modificare il comportamento degli insetti e, pertanto, possono essere utilizzati come mezzi indiretti (monitoraggio) e diretti (cattura massale, lotta attratticida, confusione sessuale, disorientamento del maschio) di controllo.
- **RNA Interference (RNAi):** una tecnologia di frontiera (ancora in fase di studio/registrazione) che “spenge” geni specifici del parassita senza intaccare altri organismi utili.

INNOVAZIONE MECCANICA E ROBOTICA

Il controllo delle infestanti del frumento, specie nel biologico, è passato alla meccanica intelligente.

- **Robot Diserbanti Autonomi** (es. Dino o Carbon Robotics): macchine alimentate a batterie o fotovoltaico che utilizzano il laser o lame di precisione guidate da GPS RTK per eliminare le malerbe inter-fila, selettivi verso la coltura e senza l'uso di erbicidi chimici.
- **Strigliatori a Guida Ottica:** attrezzature che identificano otticamente le file di grano e intervengono solo dove necessario, riducendo l'erosione del suolo e rispettando le norme dell'Eco-schema 4 (PAC 2026).

INNOVAZIONE IN AGROECOLOGIA

- **Agroforestry e Biodiversity Strips:** progettazione del campo con fasce di fiori e siepi per favorire gli insetti utili, riducendo la necessità di interventi esterni.

INNOVAZIONE GENETICA

- **Tecnologie di Evoluzione Assistita (TEA):** queste tecniche, mediante l'approccio CRISPR-Cas9, rappresentano la vera frontiera della protezione integrata. Il governo italiano ha esteso le sperimentazioni in campo delle TEA fino al 31 dicembre 2026 con l'obiettivo di creare varietà di frumento duro resistenti alle ruggini e con maggiore tolleranza alla siccità. Queste piante sono geneticamente identiche alle varietà tradizionali ma richiedono fino al 70% di fungicidi in meno.

Tabella 3.1 - Confronto Strategico (2025-2026) tra l'approccio integrato e quello biologico per il frumento duro.

Sfida	Approccio Integrato (IPM)	Approccio Biologico
Fusariosi	DSS + Fungicidi Mirati	Microrganismi antagonisti
Infestanti	Diserbo localizzato (<i>Site-Specific</i>)	Robotica laser o meccanica RTK
Fertilità	Fertilizzanti a lento rilascio	Sovesci e concia con micorrize
Normativa	Rispetto dei principi della difesa integrata obbligatoria Applicazione di Disciplinari Regionali nella difesa integrata volontaria	Nuovi standard UE 2026

In conclusione, la difesa del frumento, dal campo alla fase di postraccolta, si configura come un settore chiave della ricerca, in continua evoluzione per rispondere alle nuove sfide imposte dai cambiamenti climatici e dalle crescenti restrizioni normative all'uso dei prodotti fitosanitari. In questo ambito di innovazioni nella protezione integrata e l'agricoltura biologica del frumento duro si collocano i quattro progetti PRIN 2022 e PRIN 2022 PNRR presentati di seguito.

PRIN - Progetti di Ricerca di rilevante Interesse Nazionale

Risultati della ricerca finanziata

BICONTRARIUM

Filling gaps in the biological control of Fusarium diseases of durum wheat and of related mycotoxins

Titolo del Progetto (in italiano): Miglioramento del controllo biologico delle malattie da *Fusarium* del frumento duro e delle relative micotossine

Coordinatore: Antonio Prodi, *Alma Mater Studiorum* Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari)

Unità di Ricerca

- *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari): Antonio Prodi, Diana Di Gioia, Eleonora Cappelletti
- Università degli Studi di Perugia (Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali): Lorenzo Covarelli, Giovanni Beccari, Francesco Tini, Emilio Balducci

INTRODUZIONE

Il progetto BICONTRARIUM proponeva di sviluppare strategie innovative e sostenibili per il controllo delle principali fitopatie fungine del frumento duro causate da specie del genere *Fusarium*, responsabili del marciume radicale (*Fusarium Root Rot*, FRR), del marciume del culmo (*Fusarium Crown Rot*, FCR) e della fusariosi della spiga (*Fusarium Head Blight*, FHB). Queste malattie, oltre a determinare perdite produttive, causano un peggioramento qualitativo della granella a causa della contaminazione da micotossine associata a FHB. Sulla base di risultati preliminari che hanno individuato microrganismi batterici potenzialmente antagonisti delle specie del genere *Fusarium* patogene per il frumento duro, il progetto intendeva colmare le attuali carenze nel campo del controllo biologico delle suddette fitopatie, approfondendo aspetti legati all'efficacia di ceppi batterici selezionati e alla definizione delle modalità di applicazione, al seme e alla spiga, efficienti ed economicamente sostenibili. L'obiettivo finale era quello di favorire il trasferimento industriale e l'impiego su larga scala di questi microrganismi batterici nella gestione delle fitopatie da *Fusarium*, riducendo l'uso di agrofarmaci di sintesi e contribuendo al miglioramento della qualità delle produzioni, della salute del suolo e della tutela dell'ambiente e del consumatore finale.

Il frumento duro [*Triticum turgidum* subsp. *durum* (Desf.) Husn.] rappresenta una delle principali colture alimentari a livello globale e riveste un ruolo strategico nell'economia di molti paesi, in particolare quelli dell'area mediterranea, primi fra tutti l'Italia. Tuttavia, la coltura risulta fortemente esposta a numerose fitopatie di origine fungina in grado di compromettere la produzione sia a livello quantitativo che qualitativo. Tra queste, la

fusariosi dell'apparato radicale (*Fusarium Root Rot*, FRR), la fusariosi del colletto (*Fusarium Crown Rot*, FCR) e la fusariosi della spiga (*Fusarium Head Blight*, FHB) costituiscono alcune tra le principali minacce fitosanitarie durante l'intero ciclo colturale. FRR e FCR, colpiscono l'apparato radicale, il colletto e i primi internodi del culmo, determinando mancate emergenze, rallentamento dello sviluppo della plantula, imbrunimenti basali e, nei casi più gravi, morte della pianta. Alcune delle specie che causano FRR e FCR possono attaccare la spiga causando FHB, che a sua volta può essere causata anche da altre specie di *Fusarium*. FHB provoca un impatto negativo, sia a livello quantitativo, che a livello qualitativo a causa della capacità degli agenti causali di produrre micotossine, quali deossinivalenolo (DON), zearalenone e tossine T-2 e HT2, che, accumulandosi nella granella, rappresentano una seria minaccia per la salute del consumatore finale. Attualmente, la gestione di FRR, FCR e FHB del frumento duro si basa sull'adozione di corrette pratiche agronomiche (corretta gestione dei residui e rotazioni) ma, soprattutto, sull'impiego di fungicidi di sintesi, in particolare per la concia delle sementi (contro FRR e FCR) e per i trattamenti alla spiga (contro FHB). Sebbene l'utilizzo di molecole di sintesi risulti efficace nella maggioranza dei casi, presenta comunque molteplici criticità legate allo sviluppo di resistenze, agli effetti negativi sul microbioma e ai potenziali rischi ambientali e sanitari. In linea con le politiche comunitarie volte alla riduzione dell'uso degli agrofarmaci di sintesi, emerge la necessità di sviluppare strategie alternative, sostenibili ed efficaci per il controllo di FRR, FCR e FHB. In questo contesto, le strategie di gestione che prevedono l'utilizzo di microrganismi antagonisti rappresentano una promettente alternativa. Numerosi studi hanno dimostrato il potenziale di ceppi batterici appartenenti a diversi generi nel contrastare diverse specie di *Fusarium* attraverso meccanismi di antagonismo diretti e indiretti, inclusa la produzione di metaboliti antimicrobici e la competizione per le nicchie ecologiche. Tuttavia, l'efficacia di tali approcci risulta spesso limitata a saggi *in vitro*, mentre le applicazioni *in vivo* sia in condizioni controllate che di pieno campo rimangono ancora poco esplorate e scarsamente trasferibili alla pratica agricola.

Il presente progetto nasceva quindi con l'obiettivo di colmare queste carenze, sviluppando una strategia di gestione di FRR, FCR e FHB del frumento duro basata sull'impiego di batteri antagonisti. Di conseguenza, il progetto si proponeva di validare l'efficacia nella gestione di FRR, FCR e FHB di ceppi batterici applicati al seme o alla spiga. Un ulteriore elemento di innovazione riguardava l'ottimizzazione della produzione dei microrganismi antagonisti mediante l'utilizzo di sottoprodotti e scarti dell'industria agroalimentare, al fine di migliorare la sostenibilità economica e ambientale delle formulazioni sviluppate. Al fine di rispondere a queste esigenze, il presente progetto era stato organizzato in sei distinti **Working Package (WP)**.

Il **WP1** ha riguardato la selezione e la caratterizzazione di batteri potenzialmente antagonisti nei confronti dei principali agenti causali di FRR, FCR e FHB. Ceppi batterici precedentemente selezionati sono stati saggiati *in vitro* per testare la loro capacità antagonistica verso alcune specie del genere *Fusarium*. I ceppi più promettenti sono stati sottoposti a sequenziamento completo del genoma al fine di valutarne l'identità tassonomica e il potenziale genetico associato alla produzione di metaboliti antimicrobici. Parallelamente, sono stati condotti saggi specifici per la produzione di peptidi antimicrobici, utilizzando mezzi di coltura modificati e approcci di fermentazione solida su substrati derivati da sottoprodotti agro-industriali (siero di latte e scarti della lavorazione del pomodoro), al fine di incrementarne l'attività antagonista.

Il **WP2** è stato dedicato alla valutazione *in vivo* dell'efficacia dei batteri antagonisti nel contenimento di FRR e FCR. Le prove sono state condotte in ambiente controllato mediante *biopriming* delle sementi, seguito da inoculazione artificiale di *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* e *Microdochium nivale* (una specie non appartenente al

genere *Fusarium* ma comunque coinvolta nel determinare marciumi radicali e del colletto in frumento duro). I test hanno incluso una fase preliminare di selezione basata sulla valutazione dei trattamenti di *biopriming* sulla germinazione di frumento duro. Successivamente, sono stati svolti saggi su plantule al fine di valutare la capacità dei batteri antagonisti selezionati di ridurre i sintomi indotti dagli agenti causali di FRR e FCR. I risultati hanno permesso di individuare ceppi batterici in grado di ridurre significativamente l'impatto di FRR e FCR nelle prime fasi di sviluppo della coltura.

Il **WP3** ha riguardato lo studio dell'efficacia dei batteri antagonisti nella gestione di FHB. Nel dettaglio sono stati svolti screening *in vivo* di ceppi batterici al fine di testare la loro abilità nel contrastare le infezioni di *F. culmorum* (uno dei principali agenti di FHB) e l'accumulo di DON ad esse associato sia in ambiente controllato che in pieno di campo, in aree rappresentative dell'Italia centro-settentrionale. I ceppi batterici sono stati applicati alle spighe di frumento duro durante la fase di fioritura e confrontati con strategie chimiche e microbiologiche di riferimento. L'efficacia dei ceppi batterici è stata valutata tramite rilievi dei sintomi, quantificazione del DNA del patogeno (mediante qPCR) e determinazione del contenuto di DON (mediante metodo ELISA) nella granella.

Il **WP4** ha indagato la capacità dei batteri antagonisti di colonizzare le piante di frumento duro e di persistere all'interno dei tessuti vegetali successivamente ad applicazioni al seme. Per alcuni ceppi selezionati sono stati sviluppati *primer* ceppo-specifici utilizzati per monitorarne la presenza a diversi stadi fenologici, dal seme non germinato alla spigatura. Le analisi mediante qPCR hanno consentito di valutare la dinamica di colonizzazione e la persistenza dei batteri nel tempo, fornendo indicazioni sul loro potenziale comportamento endofitico e sulla possibilità di raggiungere i tessuti della spiga.

Il **WP5** è stato dedicato allo sviluppo e alla validazione di mezzi di coltura alternativi e a basso costo per la produzione dei batteri antagonisti. Sono stati testati diversi sottoprodotti dell'industria agroalimentare, in particolare siero di latte e residui della lavorazione del pomodoro, valutandone l'idoneità come substrati di crescita in fermentazione liquida e solida. Le prestazioni dei ceppi batterici cresciuti su tali substrati sono state confrontate con quelle ottenute su terreni convenzionali, dimostrando la possibilità di ridurre i costi di produzione senza comprometterne l'efficacia antagonista.

Il **WP6** ha riguardato il coordinamento scientifico e gestionale del progetto e la diffusione dei risultati. Le attività di disseminazione hanno incluso la partecipazione a congressi scientifici nazionali e internazionali, la preparazione di manoscritti per riviste *peer-reviewed* e iniziative di divulgazione rivolte a tecnici e operatori del settore cerealicolo. Tali azioni hanno contribuito a favorire il trasferimento delle conoscenze acquisite e a promuovere l'adozione di strategie di controllo sostenibili per la gestione di FRR, FCR e FHB del frumento duro.

PRINCIPALI RISULTATI OTTENUTI

EFFICACIA DEI TRATTAMENTI DI *BIOPRIMING* AL SEME DI FRUMENTO DURO NELLA GESTIONE DI FRR E FCR

A seguito di uno screening preliminare, sono stati selezionati quattro ceppi batterici ritenuti i più promettenti: due ceppi appartenenti alla specie *Bacillus amyloliquefaciens* (MA8 e CAAd) e due ceppi di batteri lattici (HB23 e 5H1). L'efficacia di tali trattamenti è stata valutata mediante prove di *seed biopriming in vivo con l'aggiunta di alcool polivinilico 1% in tutte le tesi*, condotte in ambiente controllato, utilizzando come patogeni *F. culmorum* (ceppo Fc1126) e *F. graminearum* (ceppo Fg566), due specie molto diffuse e aggressive nei confronti del frumento duro.

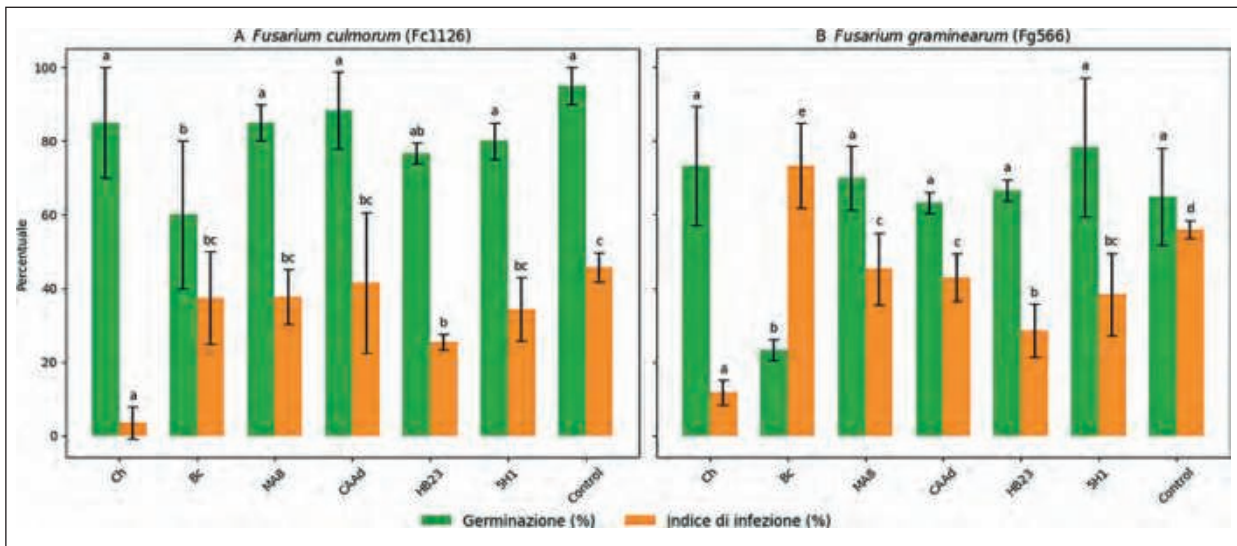


Figura 1 | Germinazione (%) e indice di infezione (%) a 21 giorni post-inoculazione su plantule di frumento duro ottenute da semi sottoposti a *seed biopriming* e inoculati con *F. culmorum* Fc1126 (A) e *F. graminearum* Fg566 (B). I dati si riferiscono esclusivamente alle tesi inoculate (I). Le barre rappresentano la media \pm deviazione standard. Valori seguiti da lettere minuscole diverse indicano differenze statisticamente significative tra i trattamenti ($p \leq 0,05$). Trattamenti: Ch, controllo chimico (Rubin Plus®); Bc, prodotto biologico sperimentale a base di oli essenziali e basso contenuto di rame; MA8 e CAAd, ceppi di *Bacillus amyloliquefaciens*; HB23 e 5H1, ceppi di batteri lattici; Control, acqua sterile + 1% alcool polivinilico.

Ventuno giorni post-inoculazione, la risposta delle piante è stata valutata attraverso la determinazione della percentuale di germinazione e dell'indice di infezione. I risultati ottenuti sono riassunti in Figura 1. Nei controlli inoculati, l'infezione fungina ha determinato sintomi tipici di FRR e FCR, con assottigliamento del fusto, necrosi basale estesa e, nei casi più gravi, collasso delle plantule. Al contrario, nei controlli non inoculati non è stata osservata la presenza di sintomatologia riconducibile a FRR e FCR.

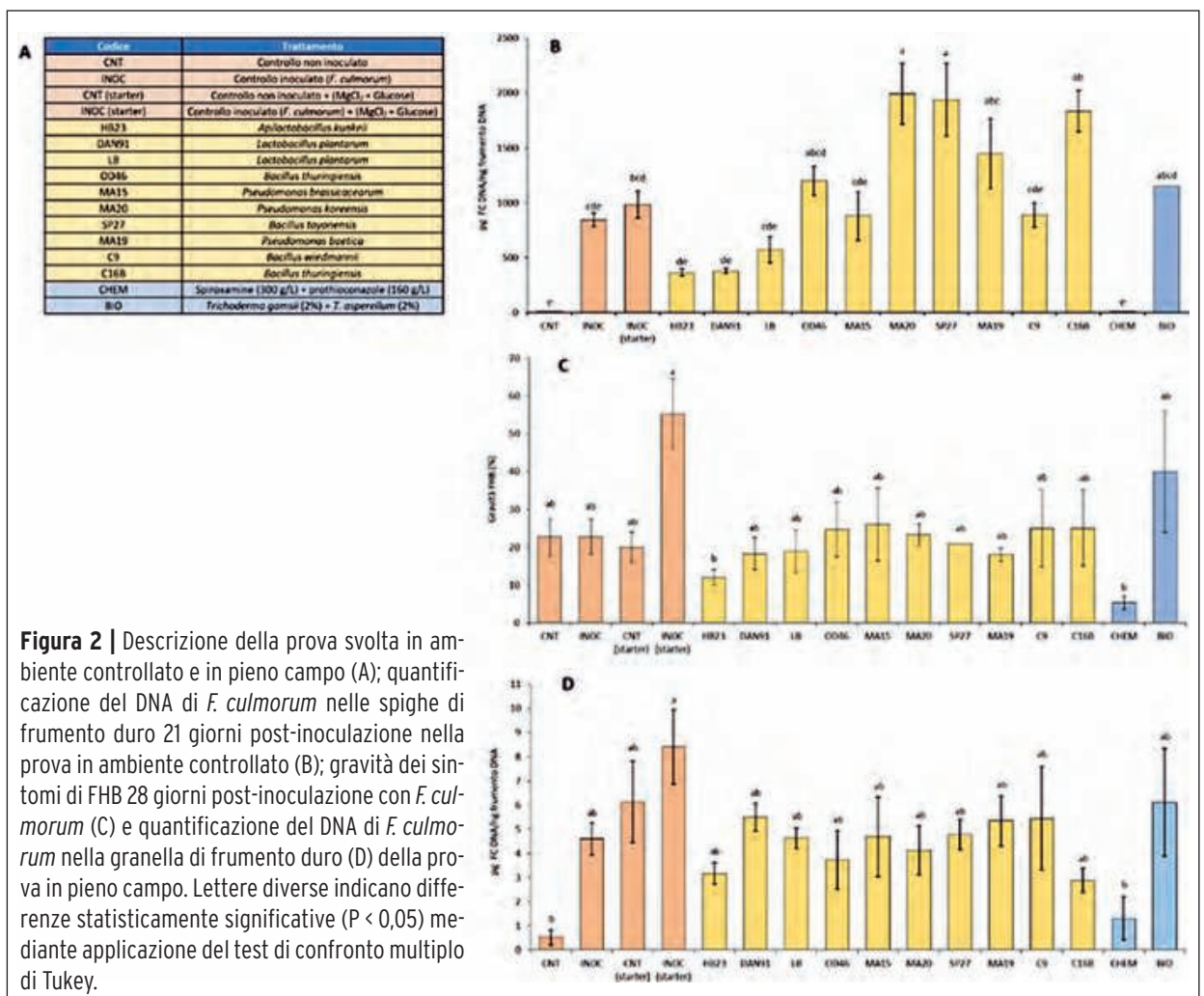
Sia nel caso dell'inoculazione con *F. culmorum* sia con *F. graminearum*, i trattamenti a base di ceppi batterici hanno consentito di mantenere elevate percentuali di germinazione, risultando statisticamente comparabili al controllo chimico a 21 dpi. Al contrario, la minore germinazione è stata osservata nei semi trattati con il prodotto biologico sperimentale a base di oli essenziali (Bc), suggerendo un possibile effetto fitotossico nelle fasi iniziali di sviluppo. Tuttavia, l'analisi dell'indice di infezione ha evidenziato differenze marcate tra i trattamenti (Fig. 1). Il controllo chimico ha mostrato i valori più bassi in entrambi i saggi, mentre i controlli inoculati hanno presentato livelli elevati di infezione. I trattamenti con i due ceppi di *B. amyloliquefaciens* (MA8 e CAAd) hanno mostrato una riduzione limitata della gravità della sintomatologia, con valori di indice di infezione relativamente elevati. Al contrario, i trattamenti con i due ceppi di batteri lattici hanno determinato una riduzione significativa dell'indice di infezione nei confronti di entrambi i patogeni. In particolare, il ceppo HB23 ha ridotto la gravità della malattia del 44,4% nei confronti di *F. culmorum* (Fig. 1A) e del 49,2% nei confronti di *F. graminearum* (Fig. 1B), risultando il trattamento biologico più efficace. Il ceppo 5H1 ha mostrato un'efficacia inferiore ma comunque significativa, con una riduzione dell'infezione pari al 24,7% contro *F. culmorum* (Fig. 1A) e al 31,5% contro *F. graminearum* (Fig. 1B).

Nel complesso, i risultati indicano che specifici ceppi batterici, in particolare il ceppo HB23, sono in grado di ridurre in maniera significativa la gravità di FRR e FCR senza compromettere la germinazione del seme, confermando l'ottimo potenziale del *seed*

biopriming come strategia biologica sostenibile per il contenimento di FRR e FCR del frumento duro.

EFFICACIA DEI TRATTAMENTI ALLA SPIGA DI FRUMENTO DURO CON CEPPI BATTERICI PER LA GESTIONE DI FHB

Screening preliminari in ambiente controllato e in pieno campo (questi ultimi svolti presso la stazione sperimentale dell'Università degli Studi di Perugia, Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Unità di Ricerca di Agronomia e Coltivazioni Erbaee situata in località Papiano, Perugia, Umbria) hanno permesso di selezionare dieci ceppi batterici più efficaci e la soluzione *starter* ottimale (10 mM MgCl₂ + 5 g/L glucosio) per favorire la colonizzazione batterica delle spighe di frumento duro. Successivamente, i ceppi batterici selezionati sono stati confrontati con un prodotto commerciale chimico e uno microbiologico di riferimento in una prova in ambiente controllato su frumento duro (cv. San Carlo). Le sospensioni batteriche (2,5×10⁷ CFU/mL), applicate con la soluzione *starter* allo stadio BBCH65 (piena fioritura), sono state seguite, dopo 24 ore, dall'inoculazione con un ceppo di *F. culmorum* (FC74) produttore di deossinivalenolo (DON) (2,5×10⁵ conidi/mL). L'efficacia dei ceppi batterici nel contrastare il patogeno è stata valutata



mediante la valutazione dei sintomi, e la quantificazione del DNA del patogeno. Lo stesso esperimento è stato condotto in prove parcellari di pieno campo (svolte presso la stazione sperimentale sopra citata), dove, oltre ai parametri precedenti sono stati determinati anche il DON (test ELISA) e la resa in granella. La descrizione della sperimentazione realizzata sia in ambiente controllato che in pieno campo, nonché i risultati di entrambe le prove, sono riassunti in figura 2.

Nell'esperimento in ambiente controllato, il ceppo batterico HB23 è risultato tra i più efficaci nel ritardare la comparsa dei sintomi e nel ridurre il DNA del patogeno anche se in maniera molto meno efficace rispetto al prodotto chimico di riferimento. In campo, tutti e dieci i ceppi batterici hanno mostrato una certa capacità di ridurre la gravità dei sintomi, limitare il DNA del patogeno e l'accumulo di DON, anche se nel complesso il ceppo HB23 è risultato il più efficace. Da sottolineare che la soluzione *starter* applicata per promuovere la colonizzazione della spiga da parte dei batteri provoca un effetto positivo anche per lo sviluppo del patogeno.

In conclusione, i risultati indicano che i ceppi batterici selezionati, in particolare HB23, rappresentano un notevole potenziale utilizzabile per il biocontrollo di FHB nella produzione sostenibile di frumento duro.

CROWN

Fusarium Crown Rot on durum wheat in Southern Italy: epidemiology, evolution and toxigenic potential in a climate change scenario

Titolo del Progetto (in italiano): Fusariosi basale del frumento duro nell'Italia meridionale: epidemiologia, evoluzione e potenziale tossigeno in un contesto di cambiamento climatico

Coordinatore: Quirico Migheli, Università degli Studi di Sassari (Dipartimento di Agraria)

Unità di Ricerca

- Consiglio Nazionale delle Ricerche (Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari): Antonio Moretti (resp.), Daria Carella, Miriam Haidukowski, Mario Masiello, Stefania Somma, Antonia Susca
- Università degli Studi di Sassari (Dipartimento di Agraria): Quirico Migheli (resp.), Virgilio Balmas, Safa Oufensou, Giampiera Porqueddu

INTRODUZIONE

Il progetto CROWN si propone di fornire una visione completa e aggiornata del mal del piede su frumento duro nel Sud Italia, mettendo in relazione dati biologici, genetici, climatici e agronomici. Le conoscenze prodotte permetteranno di individuare le aree più vulnerabili, riconoscere tempestivamente i segnali di diffusione dei patogeni e sviluppare strategie di difesa più efficaci. In un contesto agricolo sempre più esposto agli effetti del cambiamento climatico, la disponibilità di strumenti predittivi e informazioni scientifiche solide rappresenta un passo essenziale per garantire la sostenibilità delle produzioni cerealicole e la qualità degli alimenti destinati ai consumatori.

Il 'mal del piede' da *Fusarium*, noto in letteratura inglese come *Fusarium crown rot*, è una malattia diffusa a livello globale che colpisce numerose specie di cereali, tra cui frumento duro, tenero, orzo, farro, triticale e avena. È particolarmente presente nelle principali aree cerealicole del Mediterraneo, nell'Australia orientale, nelle Americhe e in varie regioni dell'Asia. La malattia è provocata da un complesso eterogeneo di funghi appartenenti al genere *Fusarium*, tra cui *Fusarium culmorum* e *Fusarium pseudograminearum* vengono considerati i principali agenti patogeni, mentre altre specie, come *Fusarium acuminatum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium crookwellense*, *Fusarium graminearum* e *Fusarium tricinctum* possono contribuire in misura variabile all'infezione. La presenza di *F. pseudograminearum* è attualmente sottostimata in Europa, poiché i suoi caratteri morfologici sono molto simili a quelli di *F. graminearum*, e la sua eventuale diffusione rappresenta un tema di crescente interesse fitosanitario.

Il 'mal del piede' da *Fusarium* (nota anche come fusariosi del culmo) provoca ingenti perdite produttive, che in condizioni favorevoli allo sviluppo del patogeno possono superare il 30-40%. I sintomi variano in base al momento in cui ha luogo l'infezione: attacchi precoci determinano morte delle plantule in pre- e/o post-emergenza e necrosi sul coleoptile, sulle radici e sul fusto; mentre infezioni più tardive provocano lesioni brune sugli internodi basali, aborto dei culmi di accostamento e formazione di spighe bianche prive di granella o con cariossidi striminzite. L'umidità elevata può favorire la comparsa di colorazioni rosate sul culmo dovute allo sviluppo del micelio (Fig. 1).

Le specie coinvolte nel 'mal del piede' sono spesso capaci di causare anche la fusariosi della spiga, con la conseguente contaminazione delle cariossidi da micotossine di rilevanza sanitaria, come i tricoteceni di tipo A e B e lo zearalenone. In anni recenti sono stati osservati nuovi tricoteceni, NX-2 e NX-3, la cui distribuzione e capacità di produzione da parte delle

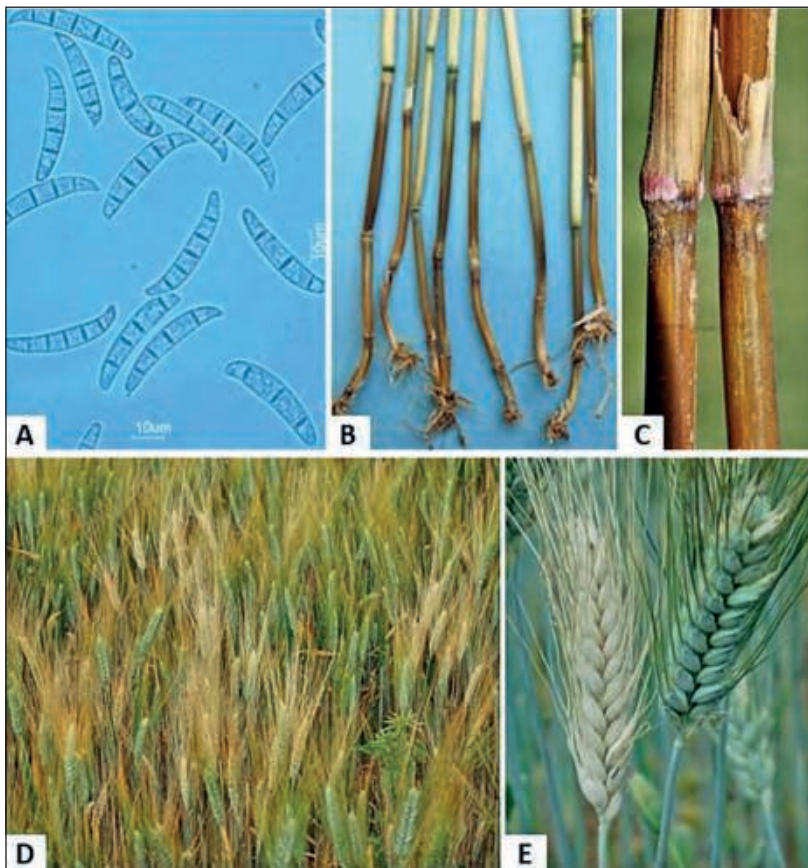


Figura 1 | Sintomi di mal del piede causato da *Fusarium culmorum*: (A) macroconidi; (B) imbrunimento della base del culmo; (C) colorazione rosata sui nodi; (D, E) presenza di spighe bianche.

diverse specie non sono ancora ben definite. Un aspetto particolarmente critico riguarda la possibilità che le micotossine prodotte da infezioni basali possano traslocare fino alle cariossidi, anche in assenza del patogeno nelle spighe: questo fenomeno è stato finora dimostrato solo per alcune specie quali *F. culmorum* e *F. graminearum*, ma risulta ancora poco studiato. La gravità della fusariosi del culmo aumenta in condizioni di stress idrico, sempre più frequenti nelle regioni mediterranee a seguito dei cambiamenti climatici. Ciò contribuisce alla crescente rilevanza della malattia nel Mezzogiorno d'Italia, dove le modifiche apportate alle pratiche agronomiche – come la semina su sodo, la lavorazione superficiale del suolo e l'adozione di tecniche di agricoltura conservativa – possono aver favorito la persistenza e l'evoluzione delle popolazioni di *Fusarium*. In questo contesto nasce il progetto CROWN, che mira a colmare importanti lacune conoscitive riguardanti distribuzione, diversità, fisiologia, potenziale micotossigeno ed evoluzione delle specie responsabili del 'mal del piede' in sei regioni del Sud Italia. Il progetto ha previsto la raccolta sistematica di campioni di piante infette, la creazione di una collezione rappresentativa di isolati di *Fusarium* spp., la loro caratterizzazione tassonomica, fisiologica, genomica e la chemiotipizzazione, nonché il confronto degli isolati recenti con isolati conservati in collezioni storiche per valutare eventuali cambiamenti avvenuti negli ultimi decenni sotto la pressione di fattori climatici e agronomici. Parallelamente, il progetto intende rafforzare le competenze dei giovani ricercatori coinvolti e garantire una diffusione efficace dei risultati, contribuendo a migliorare la sostenibilità e la resilienza della cerealicoltura mediterranea in un contesto di crescente instabilità climatica e geopolitica. Per rispondere a queste esigenze il progetto si è articolato in **quattro pacchetti di lavoro (WP)**.

Il **WP1** ha riguardato la raccolta dei campioni e l'identificazione delle specie presenti nelle coltivazioni di frumento duro.

La strategia ha previsto prelievi ripetuti e il monitoraggio di campi selezionati in Basilicata, Calabria, Campania, Puglia, Sardegna e Sicilia (10 campi per regione, compresi i campi delle Prove Varietali Nazionali; Fig. 2). Ogni campo è stato georeferenziato e in ciascun sito sono stati prelevati campioni da piante che mostravano sintomi di mal del piede. È stato effettuato l'isolamento dei funghi patogeni, la preparazione di colture pure, l'osservazione delle caratteristiche morfologiche e l'identificazione mediante approccio molecolare basato sul sequenziamento di una regione genica (*TEF-1 α*), informativa a livello di specie nell'ambito del genere *Fusarium*. Nei siti di campionamento è stata valutata la gravità della malattia attraverso una scala di sintomi che permette di stimare l'entità dei danni. In laboratorio, tutti gli isolati raccolti sono stati saggiati per valutarne patogenicità e virulenza in condizioni controllate di serra. Inoltre, un set di 10 isolati (3 di *F. culmorum*; 3 di *F. pseudograminearum*; 2 di *F. graminearum* e 1 appartenente al FIESC) è stato impiegato per verificare se e in che misura le tossine prodotte possano trasferirsi dalla base del fusto alle spighe, contribuendo così a contaminare il prodotto destinato alla filiera alimentare.

La raccolta dei dati non si è limitata agli aspetti biologici, ma ha incluso anche il contesto ambientale. Per ogni località sono, infatti, stati registrati i dati climatici a lungo termine, come le medie di temperatura e le precipitazioni. Sono stati, inoltre, analizzati il tipo di suolo e le principali pratiche agronomiche adottate dagli agricoltori (es. sistema di lavorazione, eventuali rotazioni colturali, trattamenti fungicidi, gestione dei residui colturali). Tutte queste informazioni servono a mettere in relazione ambiente, gestione agronomica e presenza del patogeno, individuando i fattori che favoriscono la malattia o che potrebbero limitarla. L'elaborazione statistica dei dati potrà in tal modo consentire di costruire modelli predittivi e mappe di rischio utili per la prevenzione.

Il **WP2** è dedicato alla caratterizzazione genetica e alla ricostruzione delle relazioni evolutive delle specie coinvolte. L'obiettivo è quello di comprendere la variabilità delle popolazioni di *Fusarium* spp. del Sud Italia e come queste siano distribuite geograficamente. Attraverso lo studio di specifici geni, è possibile distinguere varianti genetiche e raggruppare gli isolati in base alla loro affinità. Questa analisi permette di identificare eventuali specie criptiche, cioè difficili da distinguere morfologicamente, ma geneticamente ben separate. Particolare attenzione è rivolta alla determinazione dei chemiotipi, cioè dei



Figura 2 | Siti di campionamento nelle sei regioni. I segnaposto rossi indicano i campi delle Prove Varietali Nazionali.

profili di micotossine potenzialmente prodotti dai funghi, perché tali informazioni sono fondamentali per valutare il rischio per la sicurezza alimentare.

Una parte innovativa del progetto riguarda il sequenziamento dell'intero genoma di alcune specie ritenute particolarmente importanti, tra cui quelle più coinvolte nel 'mal del piede'. L'analisi del genoma, non ancora conclusa, permetterà di individuare geni associati alla patogenicità, alla produzione di tossine e all'adattamento ambientale. A partire da tali dati sarà possibile confrontare i genomi dei ceppi recentemente isolati con quelli di isolati storici, ottenendo così una visione evolutiva su come la popolazione fungina si sia modificata negli ultimi trent'anni.

Il **WP3** mira ad esplorare il comportamento dei funghi in relazione ai cambiamenti climatici. L'obiettivo è comprendere come variabili come temperatura e disponibilità idrica influenzino la crescita dei funghi e la loro capacità di produrre tossine. Questa parte della ricerca potrà fornire informazioni utili a prevedere la futura diffusione della malattia in scenari climatici in rapido mutamento. È stata valutata, inoltre, la sensibilità dei funghi ai principali fungicidi utilizzati in agricoltura contro le fusariosi, allo scopo di evidenziare l'eventuale comparsa di ceppi meno sensibili o resistenti. Anche in questo caso, il confronto di isolati recenti con ceppi conservati nelle collezioni microbiche, risalenti fino a trent'anni fa, potrà aiutarci a capire se, nel tempo, siano sopraggiunti cambiamenti rilevanti nella loro fisiologia o nel loro potenziale tossigeno.

Il **WP4** ha riguardato la gestione complessiva del progetto e la diffusione dei risultati. I risultati sono stati diffusi non solo attraverso pubblicazioni scientifiche o presentazioni a Convegni nazionali e internazionali, ma anche tramite strumenti di comunicazione rivolti ai cittadini, ai tecnici del settore, agli agricoltori e ai decisori politici. L'obiettivo è di aumentare la consapevolezza pubblica sulle problematiche legate al mal del piede dei cereali causato da *Fusarium*, contribuendo alla tutela della sicurezza alimentare, alla salvaguardia della produzione cerealicola e alla prevenzione del rischio micotossine.

PRINCIPALI RISULTATI OTTENUTI

DISTRIBUZIONE DELLE SPECIE DI *FUSARIUM* SU FRUMENTO DURO AFFETTO DA MAL DEL PIEDE

Il 'mal del piede' da *Fusarium* del frumento coltivato in Italia meridionale è causato da una molteplicità di specie, tra cui si conferma predominante (68%) *F. culmorum*. Accanto a questa specie, già nota in letteratura quale agente patogeno prevalente nel bacino del Mediterraneo, emergono altre specie comunemente associate alla malattia: *F. avenaceum* (6%) e *F. pseudograminearum* (5%) e con minor frequenza *F. graminearum* e *F. tricinctum* (Fig. 3). Significativo è stato l'isolamento dei ceppi appartenenti al *Fusarium incarnatum-equiseti* specie complex (*FIESC*; 8%), non patogeni su frumento ma spesso isolati in combinazione con i principali agenti causali, il cui ruolo non è ancora stato approfondito.

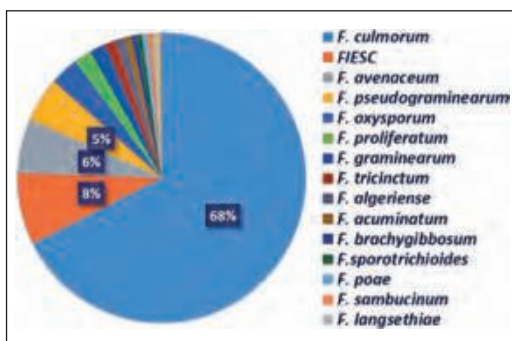


Figura 3 | Frequenza delle specie di *Fusarium* spp. isolate da piante di frumento duro colpite da 'mal del piede' nelle sei regioni prese in esame.

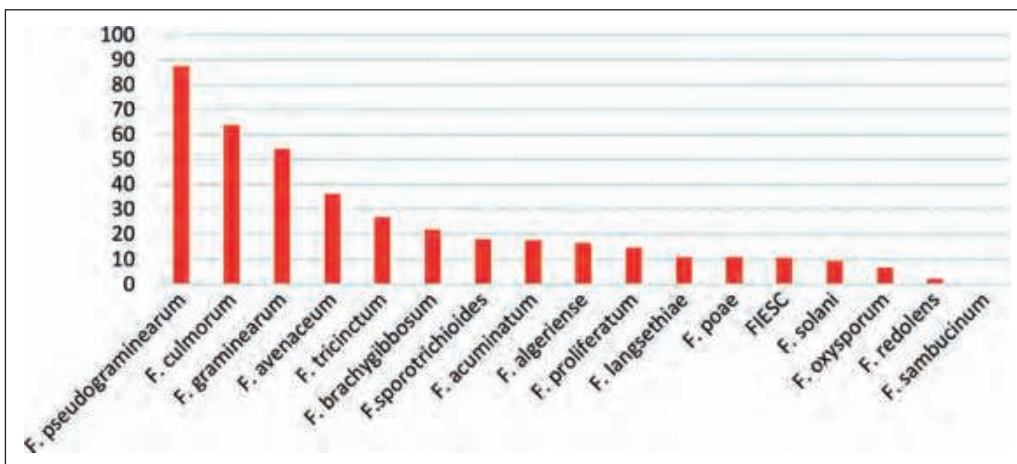


Figura 4 | Indice di malattia medio (0-100) causato da isolati appartenenti a 16 specie e al FIESC su sementi di frumento duro (cv. Iride) allevati in serra.

In particolare, si segnala la presenza di diversi isolati appartenenti alla specie *F. pseudograminearum*. Questo fungo, segnalato finora sporadicamente nel territorio della Unione Europea, è stato oggetto di una recente categorizzazione da parte dell'EFSA, e soddisfa i requisiti per essere considerato un patogeno da quarantena (*EFSA Panel on Plant Health* (PLH), 2022).

Il fatto che, nel corso di prove di patogenicità, in serra in ambiente controllato, tutti gli isolati di *F. pseudograminearum* abbiano dimostrato una elevata aggressività su sementi di frumento duro (Fig. 4), pone la questione che questa specie possa progressivamente divenire prevalente anche nell'area mediterranea, come già avvenuto in Australia, in Cina e in Sud Africa (Kazan & Gardiner, 2017; Deng *et al.*, 2019; Lamprecht *et al.*, 2006). Un altro risultato interessante del progetto ha riguardato la prima segnalazione in Unione Europea della specie *Fusarium algeriense*, rinvenuta in campioni di mal del piede provenienti da Sicilia, Basilicata, Campania e Puglia (Oufensou *et al.*, 2025). Benché la patogenicità degli isolati ottenuti sia relativamente scarsa (Fig. 4), la segnalazione riveste un certo interesse in quanto questa specie era stata finora rinvenuta solo in Algeria (Laraba *et al.*, 2018) e in Azerbaijan e Kirgizstan (Özer *et al.*, 2019; Özer *et al.*, 2022).

SENSIBILITÀ NEI CONFRONTI DEI FUNGICIDI

È stata valutata la sensibilità delle popolazioni di *Fusarium* spp. isolate da mal del piede in Italia nei confronti di due principi attivi contro le fusariosi: il fluazinam, un fungicida multi-sito che agisce come inibitore della respirazione cellulare mitocondriale, e il ciclobutri-fluram, non ancora registrato in Europa, che agisce inibendo la succinato deidrogenasi (Complesso II). Le prove *in vitro*, condotte in un range di concentrazioni comprese tra 0,01 e 300 µg/mL, hanno evidenziato la presenza di diversi isolati di *F. culmorum* per i quali la CMI del fluazinam è risultata > 100 µg/mL, mentre nel caso del ciclobutri-fluram sono stati osservati isolati appartenenti a diverse specie in grado di crescere a concentrazioni superiori a 0,1 µg/mL (esperimenti tutt'ora in corso).

MICOTOSSIGENICITÀ DEGLI ISOLATI DI *FUSARIUM* SPP.

La produzione di micotossine è stata preliminarmente valutata su 31 isolati provenienti da Puglia, Campania e Basilicata per le tossine NX2 M1, NX2, NX3, NIV, 3-AcDON,

15-AcDON, HT-2, T-2, con rilevazione rispettivamente di 10, 11, 11, 4, 16, 11, 5 e 5 produttori. Per DON sono stati analizzati 31 isolati (17 positivi) e per ZEA 55 isolati, di cui 51 positivi (Puglia 15/17, Campania 18/20, Basilicata 18/18).

ZEA è risultata la micotossina più frequentemente riscontrata. In *F. culmorum* sono stati osservati 7 profili distinti di micotossine: solo ZEA (18 isolati), oppure combinazioni DON/3-AcDON/15-AcDON spesso con NX2/NX2 M1/NX3. In *F. graminearum* gli isolati hanno prodotto solo ZEA, oppure 15-AcDON+3-AcDON+DON+ZEA, oppure 3-AcDON+DON; un unico isolato ha prodotto NX2.

In *F. langsethiae* è stata rilevata la produzione di HT-2/T-2 (anche con NX3). I *F. sporotrichioides* hanno prodotto HT-2+T-2+ZEA. *F. clavum* ha prodotto ZEA e alcuni ceppi NIV+NX3 (con o senza ZEA). Gli isolati di *F. poae* hanno prodotto NIV, mentre *F. vorosii* ha prodotto 15-AcDON+DON+ZEA. È stata, inoltre, analizzata la possibile correlazione tra la produzione di NX2 M1/NX2/NX3 e due polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) nel gene *tri1* (posizioni 228 A/C e 234 G/C). Questo gene codifica una citocromo P450 monoossigenasi coinvolta nell'idrossilazione in posizione C-8 dei tricoteceni. L'interesse nasce dal fatto che in letteratura (Liang *et al.*, 2014) è riportato che in *F. graminearum*, varianti amminoacidiche del gene *tri1* siano associate alla produzione di tricoteceni di tipo A appartenenti al gruppo NX. Partendo da queste evidenze, si è voluto verificare se tali polimorfismi fossero presenti anche in altre specie, per comprendere meglio i meccanismi alla base della diversità metabolica all'interno del genere *Fusarium*. L'analisi è stata condotta su un primo set limitato, composto da 16 isolati, appartenenti alle specie *F. langsethiae*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. graminearum* e *F. pseudograminearum*, con dati disponibili sulla produzione di NX e sul genotipo dei due SNP del gene *tri1*. Dall'analisi sono emerse tre combinazioni: 228:A / 234:G: rilevata in 3 isolati, di cui il 66,7% NX-positivi, con produzione esclusivamente di NX3; 228:C / 234:C: presente in 12 isolati, con 50,0% NX-positivi; 228:T / 234:C: osservata in un solo isolato, risultato negativo per la produzione di NX. Analizzando la distribuzione degli SNP per specie, in *F. graminearum* la combinazione C:C, riportata in letteratura come associata a non produttore di NX, è confermata nei non produttori di NX. Tuttavia, nelle altre specie il comportamento è diverso: in *F. culmorum* C:C è associato ai produttori di NX (100%), in *F. langsethiae* A:G è associato ai produttori di NX (100%), coerente con il pattern di *F. graminearum*. L'unico isolato testato di *F. poae* presenta A:G e non produce NX, e similmente l'isolato di *F. pseudograminearum* con T:C non produce NX. Questi dati suggeriscono che la correlazione tra SNP e produzione NX non sia universale, ma specie-dipendente. Pertanto, si intende estendere il set degli isolati a un numero maggiore e a più specie per confermare queste tendenze, chiarire eventuali correlazioni specie-specifiche e comprendere meglio i meccanismi genetici alla base della biosintesi delle tossine NX.

GRANARIUS

Biological, chemical and genetic bases of granary weevil and purple wheat interactions

Titolo del Progetto (in italiano): Basi biologiche, chimiche e genetiche delle interazioni tra il punteruolo del grano e genotipi di frumento a cariosside pigmentata

Coordinatore: Giacinto Salvatore Germinara, Università degli Studi di Foggia (Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimenti, Risorse Naturali e Ingegneria)

Unità Operative

- Consiglio Nazionale delle Ricerche (Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari): Barbara Laddomada, Carmela Gerardi, Giovanna Giovino
- Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria (Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali): Pasquale De Vita, Fabio Fania, Giuseppina Angione, Salvatore Esposito, Patrizio Spadanuda
- Università degli Studi di Foggia (Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimenti, Risorse Naturali e Ingegneria): Giacinto Salvatore Germinara, Ilaria D'Isita, Federica Lo Muzio

INTRODUZIONE

Il punteruolo del grano, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera, Curculionidae), è tra gli infestanti primari cosmopolita più dannosi ai cereali stoccati e loro prodotti di trasformazione. Il controllo degli insetti che attaccano le derrate in postraccolta è molto complesso a causa degli stringenti limiti legislativi all'uso dei fitofarmaci, del rapido sviluppo di resistenze ai principi attivi comunemente utilizzati e alla crescente richiesta di alimenti sani e sicuri da parte dei consumatori. Inoltre, nel caso di alcuni insetti delle derrate, come *S. granarius*, lo sviluppo degli stadi giovanili all'interno delle cariossidi (sviluppo endofitico) rende difficile l'individuazione tempestiva e la gestione delle infestazioni. In questo contesto, c'è un interesse globale nella ricerca e messa a punto di strumenti di controllo a basso impatto utili in strategie di controllo integrato.

L'individuazione di varietà e di genotipi di cereali resistenti o tolleranti agli attacchi di insetti in postraccolta, eventualmente da utilizzare anche come fonti di resistenza in programmi di miglioramento genetico, e lo studio delle interazioni semiochimiche insetto-pianta ospite sono tra i principali ed i più innovativi ambiti di ricerca per lo sviluppo di mezzi di controllo sostenibile. La selezione della pianta ospite da parte di insetti fitofagi consta di due fasi principali: la ricerca dell'alimento o "Host location", e la sua accettazione, nota come "Host acceptance". I Composti Organici Volatili (COV) svolgono un ruolo fondamentale nella fase di individuazione dell'ospite, in quanto rappresentano le prime sostanze chimiche percepite dagli insetti e vengono utilizzate per discriminare tra habitat e substrati idonei e non idonei. L'accettazione della pianta ospite, invece, dipende principalmente dalle risposte comportamentali degli insetti a caratteristiche chimiche non volatili e a fattori fisici della pianta. Lo studio dei meccanismi alla base delle interazioni insetto-pianta ospite e l'identificazione di fonti di resistenza nei confronti di insetti rappresenta il primo passo per i programmi di miglioramento genetico finalizzati allo sviluppo di varietà resistenti. Tuttavia, le interazioni tra frumento e *S. granarius* sono in gran parte sconosciute, anche a causa della scarsa variabilità genetica tra le varietà di grano commerciali.

Il crescente interesse per i benefici dei flavonoidi sulla salute umana ha indirizzato il miglioramento genetico ad aumentare il contenuto di questi composti nelle colture agrarie. In tale contesto, crescente è l'interesse per i genotipi di frumento pigmentato, la cui

colorazione delle cariossidi è correlata alla presenza di polifenoli, in particolare delle antocianine, che si accumulano nel germoplasma in quantità variabile in funzione della colorazione rossa, blu o viola delle cariossidi. Questi composti hanno effetti benefici sulla salute umana e sono implicati in fenomeni di resistenza della pianta a stress abiotici e biotici causati da insetti, funghi e batteri. In studi recenti, genotipi di frumento a cariosside pigmentata originari dell'Etiopia e non ancora in commercio non sono risultati attrattivi per adulti di *S. granarius* e sono risultati meno suscettibili al punteruolo del grano rispetto a varietà di grano commerciali a cariosside gialla.

Il presente progetto ha avuto l'obiettivo di approfondire i meccanismi di interazione pianta-insetto che sono alla base della tolleranza del frumento a cariosside pigmentata nei confronti di *S. granarius* mediante lo studio dei fattori biologici, chimici e genetici coinvolti nei processi di individuazione e accettazione dell'ospite. A tal fine, è stato utilizzato un set di materiali genetici costituito da *Heterogeneous Inbred Families* (HIF-NIL_S) di frumento duro e tenero, derivate da famiglie inbred avanzate e segreganti per il colore del pericarpo, carattere determinato da differenze nella composizione e nel contenuto di antociani. Le HIFs rappresentano un materiale genetico di particolare valore per gli obiettivi del progetto, poiché consentono il confronto diretto tra genotipi contrastanti per il carattere di interesse all'interno di un background genetico sostanzialmente condiviso, pur non essendo assimilabili a vere e proprie linee quasi isogeniche (NILs). Questa caratteristica ha permesso di ridurre l'effetto confondente del background genetico e di focalizzare l'analisi sulle basi genetiche, biochimiche e funzionali associate alla pigmentazione della cariosside e alla risposta agli attacchi di *S. granarius*. Il progetto si è articolato in sei pacchetti di lavoro (WP), comprendenti un WP (WP1) dedicato al coordinamento e al monitoraggio delle attività, un WP (WP6) dedicato alla divulgazione dei risultati, e tre WP di ricerca (WP2-WP5) strutturati in diverse task sperimentali.

WP2. CARATTERIZZAZIONE DEI MATERIALI GENETICI E IDENTIFICAZIONE DI MARCATORI MOLECOLARI ASSOCIATI AI COMPOSTI FENOLICI E AGLI ANTOCIANI

Obiettivo del WP2 è stato quello di caratterizzare dal punto di vista chimico e biochimico un set di linee HIF-NILs di frumento duro e tenero idoneo per lo studio dei possibili meccanismi di resistenza di genotipi a cariosside pigmentata ad attacchi di *S. granarius*. Contestualmente, il WP ha permesso di chiarire la base genetica della colorazione viola del frumento attraverso approcci molecolari e -omici.

In particolare, l'analisi trascrittomica (RNA-Seq) condotta su tessuti di cariosside a 28 giorni dopo la fioritura ha evidenziato una netta e robusta separazione tra linee HIF-NILs a pericarpo pigmentato e non pigmentato, sia in frumento duro sia in frumento tenero, indicando che la pigmentazione è associata a una marcata riprogrammazione trascrizionale del granello. L'analisi dei geni differenzialmente espressi ha mostrato, nelle linee pigmentate, un'ampia sovra-espressione di geni e reti funzionali riconducibili al metabolismo secondario, in particolare alle vie fenilpropanoidi e flavonoidi/antociani, oltre a categorie legate a risposte a stress e gestione dello stato redox. In parallelo, nelle linee pigmentate è stata osservata una repressione di categorie funzionali legate a fotosintesi e trasporto di carboidrati, coerente con una riallocazione delle risorse metaboliche verso la biosintesi e l'accumulo di composti fenolici nel pericarpo. Tra i trascritti candidati di maggiore interesse sono emersi orologi di fattori di trascrizione *MYB* e *bHLH* e geni strutturali chiave della via flavonoidica, tra cui *F3H* (flavanone 3-hydroxylase) e *DFR* (dihydroflavonol 4-reductase), che risultano fortemente differenziali nelle linee pigmentate e rappresentano candidati prioritari per validazioni funzionali e per la costruzione di marcatori diagnostici.

Oltre all'analisi dell'espressione genica, i dati RNA-Seq sono stati utilizzati per l'identificazione di polimorfismi (SNP e piccoli INDEL) informativi per chiarire la base genetica della pigmentazione del pericarpo. In particolare, è stata individuata una variante ad alto impatto costituita da una delezione di una base nel sesto esone del gene TRIT-D2Av1G241610, associata alla produzione di una proteina tronca (357 aa rispetto a 568 aa) e osservata in modo consistente sia nei parentali sia nelle linee HIF-NILs. Tale mutazione rappresenta un forte candidato funzionale per il controllo delle vie flavonoidi/antociani, in accordo con evidenze recenti di letteratura. A partire dall'insieme dei polimorfismi identificati, sono stati inoltre sviluppati e validati marcatori molecolari diagnostici in grado di discriminare in modo affidabile genotipi a pericarpo viola e giallo, confermando la possibilità di tradurre le informazioni genomiche in strumenti operativi per la selezione assistita del carattere.

WP3. PREPARAZIONE DELLE FRAZIONI DI DEBRANNING ED ESTRATTI FENOLICI

Il WP3 è stato finalizzato alla caratterizzazione biochimica di sfarinati integrali di genotipi selezionati di frumento duro e tenero con cariossidi pigmentata e di colore giallo per la composizione quali-quantitativa di polifenoli (antocianine e acidi fenolici) che li contraddistinguono e alla selezione di sfarinati da utilizzare come ingredienti supplementari nella preparazione di dischetti di farina destinati a biosaggi di alimentazione con adulti di *S. granarius*. In particolare, sono state prodotte e caratterizzate 1) diverse frazioni di decorticazione a partire da HIFs-NILs di frumento duro e tenero e delle rispettive linee parentali 2) ed estratti arricchiti in composti fenolici recuperati a partire dalle diverse frazioni di decorticazione.

WP4. HOST LOCALIZATION: STUDIO DELLA RISPOSTA OLFATTIVA DI ADULTI DI *S. GRANARIUS* AI COMPOSTI ORGANICI VOLATILI (COV) DELLE LINEE HIFs-NILs

Obiettivo del WP4 è stato quello di valutare la risposta olfattiva di adulti di *S. granarius* agli odori emessi da cariossidi pigmentate e non, appartenenti al set di linee HIFs-NILs, al fine di chiarire il ruolo dei COV nei processi di ricerca e individuazione dell'ospite. A tal fine, sono stati condotti biosaggi a caduta di doppia scelta che hanno permesso di valutare la risposta comportamentale (attrazione o repellenza) di maschi e femmine di *S. granarius* mediante il calcolo, per ogni genotipo, di un Indice di risposta (IR) che può variare tra 100, in caso di totale attrattività, e -100 in caso di totale repellenza. Inoltre, sono stati preparati estratti in solvente da cariossidi delle HIFs-NILs e la sensibilità antennale di maschi e femmine di *S. granarius* agli estratti e ai loro singoli componenti è stata valutata mediante la tecnica elettroantennografica (EAG).

WP5. HOST ACCEPTANCE: STUDIO DELLA SUSCETTIBILITÀ E DELL'EFFICIENZA NUTRIZIONALE DELLE LINEE HIFs-NILs

Obiettivo del WP5 è stato quello di valutare la suscettibilità ad attacchi di *S. granarius* di genotipi a cariossidi pigmentata appartenenti alle linee HIFs-NILs rispetto a genotipi a cariossidi gialla. Tale aspetto è stato studiato in biosaggi di suscettibilità che hanno permesso di definire, per ogni genotipo, un Indice di Suscettibilità (IS) calcolato sulla base dello sviluppo di prole e il tempo medio di sviluppo della prima generazione.



Figura 1 | Adulti di *S. granarius* alimentati con dischetti di sfarinati integrali ottenuti da cariossidi pigmentate e gialle delle linee HIFs-NILs.

Tabella 1 - Indici nutrizionali impiegati nella valutazione della fitness di adulti di *S. granarius* alimentati con dischetti di farina ottenuti da cariossidi pigmentate e gialle delle linee HIFs-NILs.

Indice	Significato
Indice di rapidità di accrescimento <i>Relative Growth Rate</i> (RGR)	Tale indice considera la variazione di peso dell'insetto tra inizio e fine prova, che è funzione dell'efficienza digestiva
Indice di consumo relativo <i>Relative Consumption Rate</i> (RCR)	Tale indice indica la velocità di consumo dell'alimento
Indice di efficienza di conversione alimentare <i>Efficiency Conversion of Ingested Food</i> (ECI)	Tale indice esprime l'efficienza di conversione dei substrati alimentari ingeriti
Indice di deterrenza alimentare <i>Feeding Deterrence Index</i> (FDI)	Tale indice indica, in percentuale, quanto un determinato alimento risulta essere deterrente rispetto ad un controllo

Sono stati calcolati, inoltre, indici nutrizionali con adulti di *S. granarius* alimentati con dischetti di sfarinati integrali ottenuti da cariossidi pigmentate e gialle (Fig. 1). Tali indici, riportati in Tabella 1, hanno permesso di valutare l'idoneità dei diversi genotipi a sostenere lo sviluppo dell'insetto valutandone la quantità consumata e l'efficienza di conversione del cibo ingerito ed il ritmo di accrescimento. Dopo 5 giorni dall'inizio della prova è stata valutata, inoltre, la mortalità di insetti alimentati con i diversi genotipi.

PRINCIPALI RISULTATI OTTENUTI E CONCLUSIONI

Le analisi per la caratterizzazione qualitativa e quantitativa dei polifenoli nei campioni di frumento hanno evidenziato un profilo polifenolico altamente complesso (Fig. 2), caratterizzato dalla presenza di numerosi composti fenolici a maggiore idrofobicità, quali acidi fenolici esterificati, flavonoidi glicosilati e derivati oligomerici, suggerendo un arricchimento strutturale della frazione fenolica nei genotipi a cariossidi pigmentata. È stata registrata anche la presenza di composti più polari, prevalentemente acidi organici e acidi fenolici liberi.

Nei saggi a caduta di doppia scelta, gli adulti di *S. granarius* sono stati significativamente attratti dagli odori delle cariossidi gialle; mentre, gli odori di cariossidi dei genotipi pigmentati non hanno indotto un orientamento preferenziale negli adulti del punteruolo.

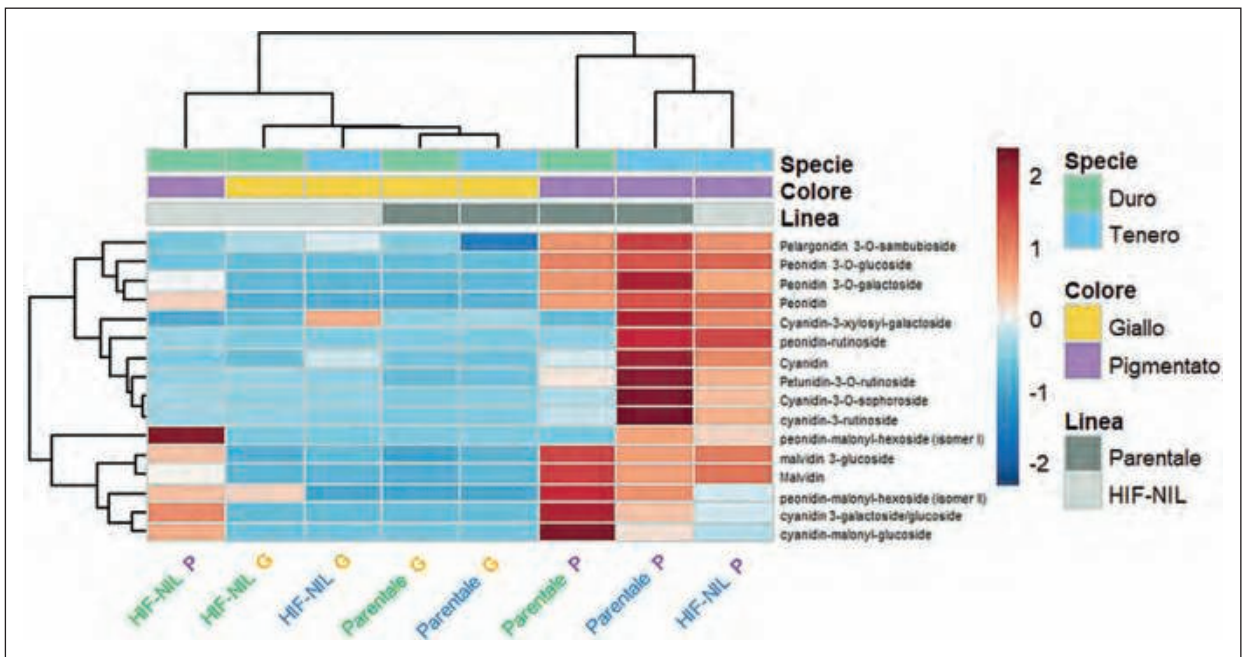
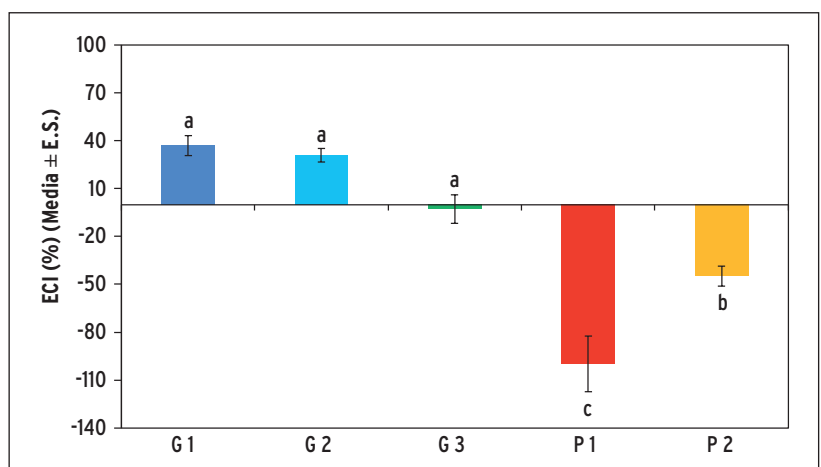


Figura 2 | Heatmap delle concentrazioni delle antocianine negli sfarinati delle linee parentali e HIFs-HIFs di frumento duro e tenero con cariossidi pigmentata (P) e gialla (G), espressi in mg/kg e standardizzati per riga (z-score). Il clustering gerarchico evidenzia le relazioni tra i materiali in funzione della specie, del colore della granella e del tipo di linea genetica.

Le analisi elettroantennografiche hanno confermato che, sia negli estratti di genotipi a cariosside pigmentata che in quelli a cariosside gialla, sono presenti COV in grado di stimolare il sistema olfattivo di entrambi i sessi di *S. granarius*.

Nei biosaggi di suscettibilità, genotipi a cariosside pigmentata sono risultati meno suscettibili o resistenti rispetto a genotipi a cariosside gialla ad attacchi di *S. granarius*. Così come, gli insetti alimentati su dischetti di farina ottenuti da cariossidi pigmentate hanno mostrato una minore efficienza nella conversione del cibo ingerito (Fig. 3) rispetto ad insetti alimentati su dischetti di farina prodotta a partire da cariossidi gialle. Inoltre, i substrati alimentari derivanti da cariossidi pigmentate sono

Figura 3 | Indice dell'efficienza della conversione dei substrati alimentari ingeriti (Efficiency Conversion of Ingested food, ECI) verso adulti di *S. granarius* alimentati con dischetti di farina integrale ottenuta dalla macinazione di diversi genotipi a cariosside gialla (G1, G2, G3) e a cariosside pigmentata (P1, P2) di frumento duro. I valori contrassegnati con lettere diverse indicano differenze significative per $P < 0,05$ (test di Tukey).



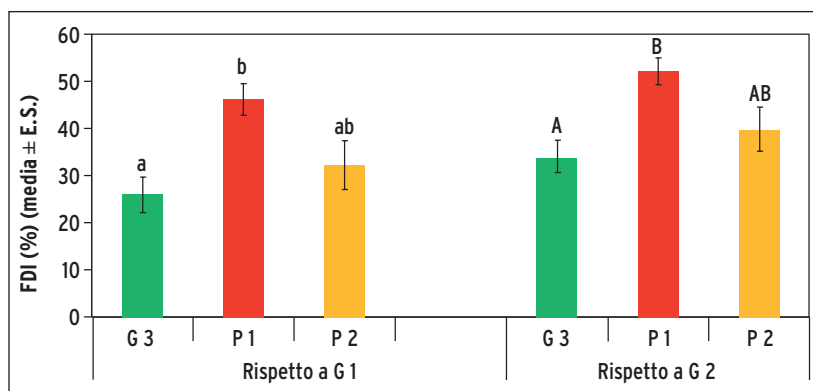


Figura 4 | Indice di deterrenza alimentare (*Food Deterrence Index*, FDI) verso adulti di *S. granarius* alimentati con dischetti di farina integrale ottenuta dalla macinazione di un genotipo a cariosside gialla (G3) e due a cariosside pigmentata (P1, P2) di frumento duro, utilizzando come controllo un genotipo a cariosside gialla di frumento duro (G1) o tenero (G2). I valori contrassegnati con lettere diverse indicano differenze significative per $P < 0,05$ (test di Tukey).

risultati significativamente più deterrenti rispetto a varietà di controllo a cariosside gialla (Fig. 4).

Pertanto, i genotipi di frumento a cariosside pigmentata rappresentano un'interessante fonte di biodiversità per lo studio dei meccanismi di interazione tra insetti delle derrate-frumento e per il potenziale trasferimento di resistenze a varietà commerciali in nuovi programmi di miglioramento genetico.

ROOTEM

Understanding the role of ROOT Exudation in drought stress response of wheat and its associated Microbiota

Titolo del Progetto (in italiano): Comprendere il ruolo dell'essudazione radicale nella risposta allo stress da siccità del grano e del suo microbiota associato

Coordinatore: Alessandra Salvioli di Fossalunga, Università degli Studi di Torino (Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi)

Unità di Ricerca

- Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria (Centro di ricerca Genomica e Bioinformatica): Caterina Morcia (resp. scientifica), Roberta Ghizzoni, Maria Alexandra Cucu, Alessandro Tondelli
- Università degli Studi di Bari Aldo Moro (Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e Ambiente): Costantino Paciolla (resp. scientifico), Linda Mastropasqua, Valentina Maria Carmela Pastorini
- Università degli Studi Insubria Varese-Como (Dipartimento di Biotecnologie e Scienze della Vita): Guido Domingo (resp. scientifico), Marcella Bracale, Laura Ciceri
- Università degli Studi di Torino (Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi): Alessandra Salvioli di Fossalunga, Mara Novero, Martina Florian, Francesco Berruto

INTRODUZIONE

L'obiettivo del progetto ROOTEM è stato quello di comprendere le variazioni nella composizione degli essudati radicali prodotti da due varietà di grano duro in risposta alla siccità e indagare il ruolo nell'assemblaggio delle comunità microbiche della rizosfera. Inoltre, si è esplorata la possibile applicazione di inoculi microbici come strategia per aumentare la tolleranza del frumento alla siccità e contenere la contaminazione da micotossine dovuta alla fusariosi della spiga (*Fusarium Head Blight*). Sono stati intrapresi approcci fisiologici, biochimici, metagenomici, metabolomici e trascrittomici per il conseguimento di questi ambiziosi obiettivi. È stata istituita una rete di ricerca integrata costituita da tre unità di ricerca (*Research Units*, RU) dotate di competenze specifiche e complementari.

Il cambiamento climatico sta determinando profonde alterazioni dei modelli meteorologici globali, con conseguenze rilevanti sulla disponibilità delle risorse idriche e, di conseguenza, sulla produttività agricola a livello mondiale. In tale contesto, la siccità rappresenta uno dei principali fattori di stress abiotico, capace di compromettere in modo significativo la resa e la qualità delle colture. Comprendere i meccanismi di risposta e adattamento delle piante allo stress idrico è pertanto essenziale per garantire la sicurezza alimentare e la sostenibilità dei sistemi agricoli.

Le piante rispondono alla siccità attraverso una complessa riorganizzazione fisiologica e metabolica, che include alterazioni della capacità fotosintetica, squilibri metabolici e l'attivazione di risposte allo stress ossidativo, spesso associate all'accumulo di specie reattive dell'ossigeno (ROS). Parallelamente, un ruolo sempre più rilevante è attribuito alle interazioni tra piante e microrganismi della rizosfera, riconosciute come determinanti chiave per la crescita vegetale e la tolleranza agli stress ambientali. Il microbiota associato alle radici è infatti dinamicamente modulato sia dalle condizioni ambientali sia dalla pianta ospite, che può influenzarne la composizione e la funzionalità.

Un elemento centrale di tale interazione è rappresentato dagli essudati radicali, una miscela complessa di composti a basso e alto peso molecolare – tra cui zuccheri, amminoacidi, acidi organici, enzimi e fitormoni – rilasciati dalle radici nel suolo. Gli essudati costituiscono il principale canale di comunicazione tra la pianta e i microrganismi della rizosfera, re-

golando il reclutamento e il mantenimento di comunità microbiche benefiche. È stato dimostrato che la composizione degli essudati radicali è sensibile agli stress ambientali, inclusa la siccità, sebbene l'entità e la specificità di tali modificazioni risultino ancora parzialmente inesplorate. Evidenze sperimentali indicano, ad esempio, un aumento dell'essudazione di acidi organici e fitormoni in piante sottoposte a stress idrico, con effetti diretti sulla struttura e sulla funzionalità delle comunità microbiche associate alle radici. Numerosi microrganismi del suolo, inclusi funghi micorrizici arbuscolari (AMF) e batteri promotori della crescita delle piante (*Plant Growth-Promoting Bacteria*, PGPB), sono in grado di migliorare la tolleranza delle piante alla siccità attraverso diversi meccanismi, quali il potenziamento delle difese antiossidanti, l'accumulo di osmoliti, la modulazione dell'equilibrio ormonale e il miglioramento dell'efficienza nell'uso dell'acqua e dei nutrienti. L'impiego di inoculi microbici rappresenta pertanto una strategia promettente e sostenibile per incrementare la produttività agricola riducendo al contempo la dipendenza da input agrochimici.

Il frumento (*Triticum aestivum*) riveste un ruolo cruciale nella sicurezza alimentare globale, fornendo circa il 20-35% dell'apporto calorico mondiale ed essendo coltivato su oltre 200 milioni di ettari. Tuttavia, la sua produzione è fortemente vulnerabile alla disponibilità idrica, in particolare durante le fasi di fioritura e sviluppo della cariosside, con conseguenze dirette sulla resa e sulla qualità del raccolto. Le proiezioni indicano che, a fronte di un aumento della domanda globale di frumento, gli stress ambientali legati al cambiamento climatico potrebbero determinare una significativa riduzione della produzione. Oltre agli effetti sulla resa, l'aumento della frequenza di condizioni ambientali favorevoli allo sviluppo di patogeni fungini può esacerbare la contaminazione da micotossine prodotte da specie di *Fusarium*, con gravi implicazioni per la salute, la qualità tecnologica del grano e le prestazioni di trasformazione industriale. In questo contesto, recenti evidenze suggeriscono che l'inoculazione con microrganismi benefici, inclusi AMF e specifici PGPB, possa contribuire non solo a migliorare la tolleranza del frumento alla siccità, ma anche a contenere lo sviluppo dei patogeni e la produzione di micotossine.

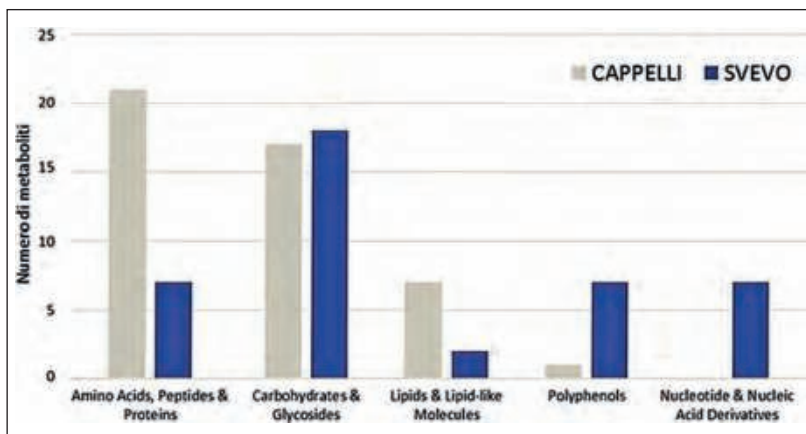
Alla luce di queste considerazioni, il progetto ROOTEM ha proposto un approccio integrato, combinando analisi fisiologiche, biochimiche e multi-omiche per sviluppare strategie innovative e sostenibili volte al miglioramento della resilienza e della sicurezza delle colture cerealicole in uno scenario di cambiamento climatico. La ricerca è stata articolata in tre principali set up sperimentali (*Work Packages*, WP), con finalità diverse e tra loro complementari.

WP1 - CARATTERIZZAZIONE DEGLI ESSUDATI RADICALI PRODOTTI DA DUE DIFFERENTI CULTIVAR DI GRANO IN SICITÀ E VALUTAZIONE DEL LORO EFFETTO SUI MICRORGANISMI DEL SUOLO

Il WP1 del progetto ROOTEM aveva l'obiettivo di fornire nuove conoscenze sui meccanismi di adattamento del frumento alla siccità, con particolare attenzione al ruolo, finora poco esplorato, degli essudati radicali nel reclutamento delle comunità microbiche associate alla radice. Per indagare come le differenze genetiche nella tolleranza allo stress idrico influenzino la composizione degli essudati radicali, sono stati confrontati due genotipi di *Triticum durum*, caratterizzati da diversa risposta alla siccità: la cultivar relativamente tollerante Svevo e la più sensibile Senatore Cappelli.

Poiché i sistemi idroponici comunemente utilizzati per la raccolta degli essudati radicali impiegano polietilenglicole (PEG), incompatibile con le analisi di spettrometria di massa, è stato sviluppato un sistema semi-idroponico che consente la coltivazione sterile delle piante e la raccolta degli essudati radicali rilasciati in condizioni di controllo e di stress idrico, evitando l'uso di PEG. Per caratterizzare le principali classi di molecole rilasciate, sono state effettuate diverse analisi di spettrometria di massa (GC-MS e LC-MS). Infine,

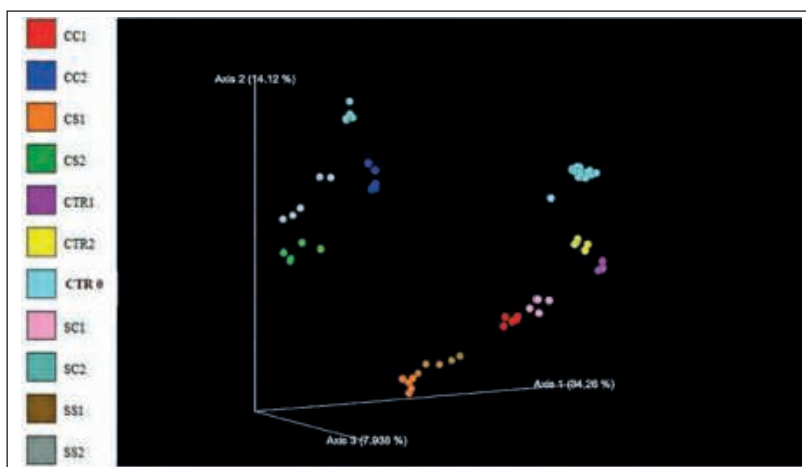
Figura 1 | Classificazione dei metaboliti, identificati e quantificati mediante analisi GC-MS e LC-MS, che risultavano presenti esclusivamente o significativamente più abbondanti negli essudati radicali di piante sottoposte a siccità.



gli essudati raccolti dalle due cultivar di frumento in condizioni di controllo e di stress idrico sono stati applicati a sospensioni di un suolo agrario raccolto presso la stazione sperimentale CREA di Fiorenzuola al fine di valutare tramite DNA *metabarcoding* se e come i composti in essi presenti potessero influenzare l'assemblaggio del microbiota batterico naturalmente presente nel suolo.

L'analisi multi-omica condotta ha messo in evidenza come lo stress idrico modifichi sostanzialmente i profili degli essudati radicali, determinando un rilascio di molecole comune alle due cultivar, che principalmente coinvolge carboidrati, ed uno genotipo-specifico, in cui si assiste ad una variazione significativa di composti quali lipidi, metaboliti secondari (principalmente polifenoli e terpenoidi), amminoacidi e proteine, nucleotidi e derivati (Fig. 1). Le analisi omiche condotte sugli essudati hanno inoltre evidenziato la presenza di peptidi rilasciati da entrambi i genotipi in seguito alla siccità. Questi peptidi condividono una sequenza "core", in grado di interagire con proteine e acidi nucleici. Infine, l'analisi di *metabarcoding* delle comunità batteriche presenti nel suolo ammendato con gli essudati ha mostrato come sia il genotipo della pianta sia lo stato idrico modellino attivamente le strategie di reclutamento microbico, confermando la complessa interazione tra stress abiotici, modulazione dell'essudazione radicale e *assembly* del microbiota rizosferico (Fig. 2). I risultati mostrano una correlazione significativa tra alcune molecole rilasciate in seguito a siccità e specifici taxa microbici, evidenziando differenze nelle strategie di adattamento alla siccità adottate dalle due cultivar.

Figura 2 | Rappresentazione PcoA della Beta diversità calcolata mediante l'indice di Bray-Curtis delle comunità batteriche presenti nei campioni di suolo trattati con differenti tipologie di essudati (CTR: non trattato; CC: Cappelli controllo; CS: Cappelli stressato; SC: Svevo controllo; SS: Svevo stressato) e analizzati a tre diversi time points (0,1,2).



WP2 - VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DI PGPM IN SERRA SULLE RISPOSTE DI GRANO ALLA SICCIÀ

Il secondo set up del progetto ROOTEM si è svolto in serra, con l'ausilio di una piattaforma PlantArray disponibile presso i partner di CREA Fiorenzuola. Lo scopo di questa prova è stato quello di stabilire se e come l'inoculo radicale di microrganismi promotori della crescita vegetale (PGPM) potesse migliorare la performance di piante di grano in condizioni di stress idrico.

Questo esperimento ha visto l'utilizzo della cultivar di frumento duro Svevo, e di due microrganismi con note attività di *Plant Growth Promotion* (PGP), il batterio *Paraburkholderia graminis* e il fungo micorrizico arbuscolare *Rhizophagus irregularis*, utilizzati da soli e in consorzio. I microrganismi sono stati applicati alle radici delle piantine di frumento, e le risposte del grano ai trattamenti applicati sono state valutate in condizioni controllate di serra mediante la piattaforma di fenotipizzazione ad alto rendimento PlantArray, la quale ha consentito il monitoraggio costante e continuo del bilancio idrico e di parametri fenotipici chiave, come indici di stato fisiologico quali tasso di traspirazione, efficienza d'uso dell'acqua e accumulo di biomassa. Inoltre, sono state impiegate tecniche morfologiche e molecolari per tracciare la presenza e la colonizzazione dell'endosfera radicale dei microrganismi inoculati.

Infine, campioni di foglie provenienti da ciascuna tesi sperimentale sono stati analizzati per la capacità di contrastare i processi ossidativi mediante analisi spettrofotometrica dell'attività di diversi enzimi antiossidanti, oltre alla quantificazione di metaboliti antiossidanti e di specifici marker di stress ossidativo.

Il monitoraggio delle piante prima, durante e al termine dell'imposizione dello stress idrico ha permesso di rilevare come il regime idrico si confermi il principale fattore determinante delle risposte fisiologiche del grano. Durante il periodo di stress idrico, la traspirazione e il tasso di crescita giornaliero risultano significativamente ridotti rispetto alle condizioni irrigue, indipendentemente dal trattamento microbico applicato. Analogamente, l'efficienza d'uso dell'acqua (WUE) aumenta significativamente in condizioni di siccità, mentre non emergono effetti statisticamente significativi attribuibili ai trattamenti, né interazioni trattamento × condizione.

I parametri biometrici registrati alla fine dell'esperimento evidenziano un effetto significativo del trattamento sul peso fresco e secco, con il controllo non inoculato che mostra valori superiori rispetto all'inoculo batterico singolo; i trattamenti fungino e consorziale assumono posizioni intermedie senza differenze marcate.

L'analisi della produttività indica che il peso di mille semi (TKW) risponde in modo significativo ai trattamenti solo in condizioni di stress idrico: gli inoculi singoli batterico e fungino determinano un incremento significativo del TKW rispetto al controllo, mentre il consorzio mostra valori intermedi. La produzione totale di semi, invece, non presenta differenze significative né per trattamento né per regime idrico.

L'analisi della colonizzazione micorrizica conferma l'assenza di micorrizzazione nel controllo e nel trattamento batterico. La colonizzazione è osservata esclusivamente nei trattamenti con *Rhizophagus irregularis*, con valori massimi nel consorzio irrigato. La siccità riduce significativamente la frequenza e l'intensità della micorrizzazione, mentre la percentuale di arbuscoli nei frammenti colonizzati rimane elevata e stabile tra i trattamenti. Un dato interessante riguarda l'aumento della frequenza di micorrizzazione (F%) nelle piante in regime idrico normale inoculate con il consorzio microbico: ciò fa supporre che *P. graminis* possa agire come *mycorrhiza-helper bacterium*, incrementando quando co-inoculato il tasso di micorrizzazione (Fig. 3).

Dall'analisi dei markers di attività antiossidante e stress ossidativo ottenuti è emerso come lo stress idrico induca una marcata alterazione dell'omeostasi redox cellulare principalmente attraverso un aumento della produzione di specie reattive dell'ossigeno

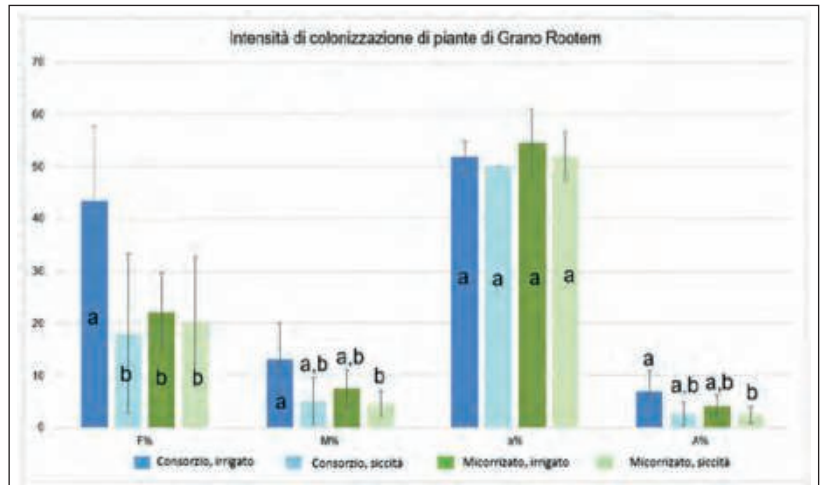


Figura 3 | Valori medi dei 4 indici di colonizzazione delle radici di grano derivanti dal PlantArray.

(ROS) e del conseguente danno ossidativo. In condizioni irrigue, le piante non inoculate mostrano livelli relativamente elevati degli enzimi di rimozione del perossido di idrogeno associato ad un suo maggiore contenuto, suggerendo una regolazione basale del metabolismo ossidativo. Al contrario, le piante sottoposte a inoculazione microbica presentano un contenuto ridotto di H_2O_2 , indicando una più efficiente capacità di controllo delle ROS anche in assenza di stress. L'analisi delle piante inoculate, in particolare quelle trattate con funghi micorrizici evidenziano un ruolo protettivo della simbiosi micorrizica nel limitare la perossidazione lipidica. L'analisi degli enzimi antiossidanti evidenzia una marcata attivazione delle difese enzimatiche in risposta allo stress idrico. Una maggiore capacità di dismutazione dell'anione superossido si riscontra in presenza di siccità, soprattutto nei trattamenti inoculati. I diversi enzimi utilizzatori di H_2O sono influenzati in maniera differente in dipendenza dei diversi trattamenti, suggerendo una riorganizzazione funzionale delle strategie antiossidanti. Per quanto riguarda gli antiossidanti non enzimatici, alcuni di essi non mostrano variazioni significative né in risposta alla siccità né ai trattamenti microbici, indicando il mantenimento di uno stato redox cellulare sostanzialmente stabile. Al contrario, altre molecole antiossidanti evidenziano una modulazione significativa in funzione delle condizioni idriche e del trattamento, confermando il ruolo chiave di alcuni sistemi antiossidanti nella risposta allo stress idrico.

WP3 - VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DI MICRORGANISMI PGPM SULLA PERFORMANCE DI GRANO IN CAMPO E SUI LIVELLI DI MICOTOSSINE NELLE CARIOSSIDI

Per l'ultimo set up sperimentale del progetto ROOTEM l'attività si è spostata in campo, e ha previsto l'impiego di entrambe le cultivar di grano, Svevo e Cappelli, inoculate con i microrganismi già utilizzati in serra (WP2) in un disegno sperimentale fattoriale completo al fine di verificare la performance del frumento in termini di biomassa, granella (compreso il contenuto nutrizionale), peso di mille semi (TKW) e resa, determinazione di micotossine, indice di malattia, stress ossidativo dei tessuti, nonché l'impatto delle diverse cultivar e trattamenti sperimentali sulle comunità microbiche associate alla rizosfera. L'esperimento di pieno campo ha evidenziato un effetto predominante del genotipo sulla maggior parte dei parametri agronomici e fitosanitari analizzati. Come atteso, l'altezza delle piante è risultata significativamente differente tra le due varietà (genotipi) con Cappelli più alta rispetto a Svevo, mentre non sono emersi effetti significativi dei trat-

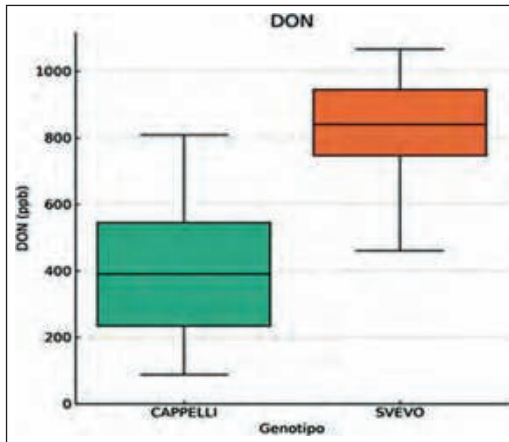


Figura 4 | Valori medi dei valori di deossinivalenolo (DON) nelle due varietà di grano duro, Cappelli e Svevo.

tamenti microbici né interazioni genotipo × trattamento. Il peso dei mille semi (TKW) e la resa hanno mostrato una risposta significativamente influenzata sia dal genotipo sia dai trattamenti, con un'elevata interazione tra i due fattori. Nel corso delle osservazioni visive in campo non sono stati riscontrati sintomi riconducibili a fusariosi della spiga, oidio, take-all (*Gaeumannomyces graminis*), ruggine bruna, ruggine gialla, mal del piede, danni da freddo né fenomeni di ingiallimento fogliare. Anche il contenuto di deossinivalenolo (DON) è risultato fortemente dipendente dal genotipo con valori medi più elevati in Svevo (Fig. 4). I parametri di qualità della granella, sia intera sia macinata, non hanno mostrato differenze significative tra i trattamenti.

Per quanto riguarda lo stato redox cellulare sulle foglie, dalle prime analisi è emerso che entrambe le cultivar rispondono positivamente all'inoculo microbico con un aumento degli enzimi antiossidanti rispetto al controllo non trattato. In Senatore Cappelli, il trattamento con solo batteri attiva maggiormente gli enzimi antiossidanti con un ruolo di segnalazione di H_2O_2 . In Svevo, il trattamento combinato batteri + funghi (B+M) induce la risposta antiossidante più efficace con elevata attività degli enzimi antiossidanti e una riduzione significativa di H_2O_2 , indicando un migliore equilibrio redox.

Il trattamento con funghi da soli (MYC) mostra in entrambe le cultivar una minore attivazione degli enzimi antiossidanti, ma in Svevo è associato a livelli particolarmente bassi di dismutazione dell'anione superossido, suggerendo una ridotta generazione di ROS a monte e uno stress ossidativo contenuto. In entrambe le cultivar, alcuni enzimi antiossidanti non variano significativamente tra i trattamenti, indicando un loro ruolo marginale nella detossificazione dello stress idrico. Altri supportano il mantenimento dell'equilibrio redox in tutti i trattamenti, ma nei trattamenti con elevata domanda antiossidante (batteri o batteri + funghi) sembrano sotto sforzo, segnalando una risposta intensa ma limitata. L'analisi dei dati preliminari delle attività antiossidanti sulla granella evidenzia che gli effetti dello stress idrico e dell'inoculazione microbica non si limitano ai tessuti vegetativi, ma influenzano anche il metabolismo della cariosside. In particolare, la granella proveniente da piante inoculate mostra una migliore capacità di mantenere l'equilibrio redox. Questi risultati indicano che il miglioramento dell'omeostasi redox nei tessuti vegetativi, mediato dall'inoculazione microbica, si riflette positivamente anche sulla qualità biochimica della granella, con potenziali ricadute sulla qualità nutrizionale e tecnologica del prodotto finale.

Innovazioni sostanziali

Nel settore del frumento duro, l'innovazione rappresenta un fattore chiave per rispondere alle sfide poste dal cambiamento climatico, dalla sostenibilità dei sistemi produttivi e dalle crescenti esigenze qualitative della filiera. Pur con finalità e ambiti di intervento differenti, i progetti PRIN 2022 e PRIN 2022 PNRR condividono l'obiettivo comune di valorizzare il frumento duro attraverso soluzioni innovative, capaci di coniugare progresso tecnico, sostenibilità ambientale e qualità del prodotto.

I risultati dei diversi progetti sono stati divulgati attraverso la pubblicazione di lavori su riviste scientifiche e comunicazioni a congressi nazionali ed internazionali; parallelamente sono state promosse attività di disseminazione e trasferimento delle conoscenze attraverso la supervisione di tesi di laurea e dottorato.

In generale, le innovazioni ottenute potranno fornire alla filiera del frumento duro, agli operatori agricoli e agli stakeholder istituzionali, strumenti scientificamente validati per migliorare la sostenibilità produttiva, la gestione del rischio fitosanitario e la sicurezza alimentare.

Di seguito, si riportano le principali innovazioni introdotte da ciascun progetto.

PROGETTO *BICONTRARIUM*

1. Approccio integrato al biocontrollo.

Il progetto ha affrontato in modo innovativo il controllo biologico delle principali fitopatie da *Fusarium* del frumento duro (FRR, FCR e FHB). L'integrazione di strategie di biopriming del seme e trattamenti biologici alla spiga rappresenta un avanzamento sostanziale verso una gestione complessiva e sostenibile della patologia.

2. Validazione *in vivo* e in pieno campo di ceppi batterici antagonisti selezionati.

Il progetto ha condotto una rigorosa validazione dell'efficacia dei ceppi batterici antagonisti in condizioni controllate e di pieno campo, dimostrando la reale applicabilità agronomica delle strategie proposte.

3. Identificazione del potenziale di ceppi di batteri lattici come agenti di biocontrollo.

Il progetto ha evidenziato l'efficacia di specifici ceppi di batteri lattici (in particolare il ceppo HB23) nel contenimento di FRR, FCR e FHB, mostrando un'elevata efficacia nella riduzione della gravità dei sintomi e dell'accumulo di DON. L'impiego di batteri lattici nel biocontrollo di *Fusarium* del frumento duro rappresenta un'innovazione rispetto agli approcci prevalentemente basati su *Bacillus* spp.

4. Dimostrazione dell'efficacia del *seed biopriming* come strategia biologica sostenibile.

Il progetto ha fornito evidenze sperimentali solide sull'efficacia del *biopriming* del seme nel ridurre in modo significativo la gravità di FRR e FCR senza compromettere la germinazione del frumento duro. In particolare, il ceppo di batteri lattici HB23 si è distin-

to come il trattamento biologico più efficace, consentendo una riduzione marcata della severità della malattia nei confronti di *Fusarium culmorum* e *Fusarium graminearum*, con livelli di contenimento comparabili alle strategie chimiche di riferimento nelle fasi iniziali di sviluppo della coltura.

5. Integrazione di approcci genomici per la caratterizzazione dei ceppi antagonisti.

Il sequenziamento completo del genoma dei ceppi batterici più promettenti ha consentito una caratterizzazione tassonomica accurata e l'identificazione del potenziale genetico associato alla produzione di metaboliti antimicrobici, rafforzando la base scientifica per un futuro sviluppo industriale dei formulati.

PROGETTO CROWN

Il progetto CROWN ha generato un impatto scientifico e applicativo rilevante per la gestione del *mal del piede* del frumento duro e per la tutela della sicurezza alimentare nel contesto mediterraneo. Attraverso un approccio integrato che combina dati biologici, genetici, genomici, climatici e agronomici, il progetto ha prodotto evidenze scientifiche solide a supporto delle politiche fitosanitarie e delle attività di valutazione del rischio. In particolare, la caratterizzazione su larga scala delle popolazioni di *Fusarium* nel Sud Italia ha consentito di identificare specie emergenti e sottostimate, tra cui *Fusarium pseudograminearum* – recentemente valutata da EFSA come potenziale patogeno da quarantena – e di documentare la prima segnalazione in Unione Europea di *Fusarium algeriense*, fornendo informazioni di diretto interesse per i sistemi di sorveglianza fitosanitaria. Le analisi di micotossigenicità hanno evidenziato un'elevata diversità di profili tossinici, inclusa la produzione di tricoteceni emergenti del gruppo NX, contribuendo ad ampliare la base conoscitiva necessaria alla valutazione del rischio per la salute umana e animale. L'individuazione di relazioni specie-specifiche tra marcatori genetici e produzione di micotossine rappresenta un avanzamento chiave per lo sviluppo futuro di strumenti diagnostici e predittivi utili ai sistemi di controllo ufficiali. Inoltre, l'integrazione dei dati ambientali e agronomici ha posto le basi per la costruzione di modelli previsionali e mappe di rischio, a supporto di strategie di gestione sostenibili e adattate ai cambiamenti climatici.

Il progetto CROWN ha contribuito in modo concreto al rafforzamento delle politiche di sicurezza alimentare, alla prevenzione del rischio micotossine lungo la filiera cerealicola e al supporto scientifico dei processi decisionali a livello nazionale ed europeo. Tra le **innovazioni sostanziali** del progetto si citano le seguenti.

1. Approccio integrato e multidimensionale allo studio del mal del piede.

Il progetto supera gli studi frammentari precedenti combinando in modo sistematico dati biologici, genetici, genomici, climatici e agronomici, offrendo una visione olistica della malattia nel contesto del Sud Italia.

2. Prima mappatura su larga scala del complesso *Fusarium crown rot* nel Mezzogiorno.

È stata realizzata una caratterizzazione territoriale dettagliata della distribuzione delle specie di *Fusarium* associate al mal del piede in sei regioni meridionali, con campionamenti standardizzati e georeferenziati.

3. Rivalutazione del ruolo di specie sottostimate o emergenti.

Il progetto ha evidenziato la presenza non marginale di *Fusarium pseudograminearum* (specie candidata a patogeno da quarantena) e ha chiarito il contributo di specie considerate secondarie o criptiche, come quelle appartenenti al complesso FIESC.

4. Prima segnalazione di *Fusarium algeriense* in Unione Europea.

L'identificazione di questa specie su frumento duro rappresenta un risultato di assoluta novità a livello europeo, con implicazioni fitosanitarie e biogeografiche rilevanti.

5. Creazione di una collezione rappresentativa e comparabile di isolati recenti e storici.

La possibilità di confrontare ceppi attuali con isolati risalenti fino a 30 anni fa consente un'analisi evolutiva unica degli effetti combinati di cambiamento climatico e pratiche agronomiche sulle popolazioni fungine.

6. Avanzamento nella comprensione del potenziale micotossigeno basale.

Il progetto affronta in modo innovativo il tema della possibile traslocazione delle micotossine dalla base del culmo alle cariossidi, anche in assenza di infezione della spiga, un aspetto finora poco esplorato.

7. Identificazione di profili micotossinici complessi e nuovi tricoteceni (NX).

È stata documentata un'elevata diversità di chemiotipi, inclusa la produzione di tricoteceni emergenti (NX-2, NX-3), ampliando la conoscenza del rischio per la sicurezza alimentare.

8. Evidenze di correlazioni specie-specifiche tra SNP del gene *tril* e produzione di tossine NX.

I risultati mostrano che i meccanismi genetici alla base della produzione di tricoteceni NX non sono universali ma dipendono dalla specie, aprendo nuove prospettive nella genetica funzionale di *Fusarium*.

9. Analisi dell'adattamento fisiologico e della sensibilità ai fungicidi.

L'individuazione di isolati con ridotta sensibilità a fungicidi multisito e SDHI fornisce segnali precoci sui possibili rischi di selezione di ceppi meno controllabili.

10. Integrazione dei dati per lo sviluppo di modelli predittivi e mappe di rischio.

L'incrocio tra presenza del patogeno, condizioni climatiche e pratiche agronomiche pone le basi per strumenti previsionali utili alla gestione preventiva della malattia.

11. Rafforzamento del legame tra ricerca, filiera produttiva e decisori.

La forte attività di disseminazione e formazione rappresenta un'innovazione "di sistema", favorendo il trasferimento delle conoscenze scientifiche verso agricoltori, tecnici e *policy maker*.

PROGETTO GRANARIUS

Il progetto GRANARIUS ha introdotto un insieme coerente di innovazioni sostanziali nello studio delle interazioni tra frumento e insetti delle derrate, superando approcci tradizionali prevalentemente descrittivi e frammentari e proponendo una visione integrata e multidisciplinare dei meccanismi biologici, chimici e genetici che regolano la tolleranza del frumento a cariossidi pigmentata nei confronti di *Sitophilus granarius*. L'elemento di maggiore novità risiede nell'aver affrontato un problema di rilevanza strategica per la sicurezza alimentare e la sostenibilità delle filiere cerealicole, ossia il controllo degli insetti in postraccolta, attraverso un paradigma innovativo che combina genetica, chimica, metabolomica e bioetologia degli insetti.

Di seguito si riportano le innovazioni sostanziali del progetto.

1. Introduzione del colore del pericarpo e della composizione fenolica della cariossidi di frumento come tratti funzionali di resistenza agli insetti delle derrate.

Il progetto ha fornito evidenze sperimentali che la pigmentazione della cariossidi, associata all'accumulo di antociani e di altri polifenoli, non rappresenta soltanto un carattere

nutrizionale, ma è direttamente coinvolta nei meccanismi di resistenza del frumento a *S. granarius*, ridefinendo il concetto di resistenza in postraccolta in chiave biochimica e funzionale.

2. Applicazione innovativa di *Heterogeneous Inbred Families* (HIFs) nello studio delle interazioni insetto - pianta ospite in postraccolta.

L'utilizzo di HIFs segreganti per il colore del pericarpo ha consentito confronti robusti tra genotipi contrastanti in un background genetico condiviso, riducendo l'effetto confondente della variabilità genetica e rappresentando un approccio metodologico originale per la dissezione dei determinanti genetici e metabolici della resistenza verso uno dei principali infestanti dei cereali.

3. Dimostrazione di una profonda riprogrammazione trascrizionale associata alla pigmentazione del pericarpo.

Le analisi RNA-Seq hanno evidenziato, in frumento duro e tenero, una netta separazione trascrittomico tra linee pigmentate e non pigmentate, con sovra-espressione coordinata di geni coinvolti nelle vie fenilpropanoidi e flavonoidi/antociani e nella gestione dello stress ossidativo, accompagnata da una repressione di processi fotosintetici e di trasporto dei carboidrati.

4. Identificazione di geni strutturali e regolatori chiave della via flavonoidica come candidati funzionali.

Il progetto ha individuato ortologhi di fattori di trascrizione MYB e bHLH e geni strutturali quali F3H e DFR come elementi centrali della pigmentazione del pericarpo, fornendo bersagli prioritari per studi di validazione funzionale e per l'integrazione nei programmi di miglioramento genetico.

5. Sviluppo e validazione di marcatori molecolari diagnostici per il pericarpo viola.

La conversione delle informazioni genomiche in marcatori molecolari affidabili per la discriminazione tra genotipi a cariosside viola e gialla costituisce un avanzamento sostanziale verso l'applicazione dei risultati del progetto in programmi di selezione assistita e di *breeding* orientato alla qualità e alla resistenza a *S. granarius*.

6. Caratterizzazione biochimica mirata delle frazioni di decorticazione del frumento pigmentato.

Il progetto ha introdotto un approccio innovativo alla produzione e caratterizzazione di frazioni di *debranning* ed estratti fenolici, collegando la distribuzione dei polifenoli nelle diverse frazioni della cariosside alla risposta biologica di *S. granarius*.

7. Collegamento diretto tra composizione chimica della cariosside ed efficienza nutrizionale dell'insetto.

Attraverso biosaggi di suscettibilità e indici nutrizionali, è stato dimostrato che i genotipi a cariosside pigmentata e le farine derivate determinano una riduzione dell'accrescimento e dell'efficienza nutrizionale di *S. granarius*, fornendo una prova funzionale del ruolo dei composti fenolici.

8. Integrazione tra chimica dei volatili e bioetologia dell'insetto.

L'analisi dei Composti Organici Volatili (COV), combinata con saggi comportamentali ed elettroantennografici, ha permesso di dimostrare che i profili volatili delle cariossidi pigmentate influenzano i processi di "host location", fornendo nuove conoscenze sui meccanismi alla base dell'interazione frumento - *S. granarius*.

9. Proposta di un modello integrato e sostenibile di gestione delle infestazioni in postraccolta.

GRANARIUS introduce un paradigma innovativo che integra genetica del frumento, metabolomica e bioetologia degli insetti per sviluppare strategie di controllo a basso impatto, alternative o complementari all'uso di insetticidi di sintesi, in linea con le politiche europee di riduzione degli input chimici.

10. Innovazione di sistema e trasferibilità verso il miglioramento genetico.

Il progetto pone le basi per l'integrazione dei caratteri di qualità nutrizionale (antociani) e di resistenza agli insetti delle derrate nei programmi di *breeding* del frumento, contribuendo a una visione più ampia di sicurezza alimentare, sostenibilità ambientale e valorizzazione della biodiversità genetica.

PROGETTO ROOTEM

Il progetto ROOTEM ha generato conoscenze utili sia dal punto di vista della ricerca di base che di quella applicata. In particolare, ha contribuito in maniera rilevante a incrementare le conoscenze rispetto alle risposte che il frumento mette in atto in condizioni di stress idrico, e costituisce un'importante testimonianza di come l'utilizzo di microrganismi promotori della crescita vegetale possa contribuire a rendere più sostenibili le pratiche agronomiche per il grano, in un contesto di cambiamento delle condizioni climatiche globali. Le principali innovazioni ottenute si possono così riassumere.

1. Descrizione dettagliata del profilo di essudazione radicale di grano, in funzione dello stato idrico e in due cultivar con diversa tolleranza allo stress.

Tale risultato testimonia come la pianta moduli finemente il profilo degli essudati, e suggerisce come questi possano avere un ruolo nell'adattamento alle condizioni ambientali.

2. Evidenza di come i cambiamenti nella composizione degli essudati radicali influenzino profondamente la struttura del microbiota del suolo.

Per la prima volta è stato messo in evidenza, attraverso un approccio di sequenziamento ad alta profondità, come l'essudazione differenziale di genotipi diversi di grano in differente stato di disponibilità idrica imponga specifiche modifiche nelle comunità batteriche del suolo. Tale risultato rappresenta un importante contributo alla comprensione di come la pianta sia in grado di modificare a suo favore, secondo l'ipotesi del "cry for help", il microbiota ad essa associato in condizioni di stress, e potrà portare all'identificazione di specifici taxa microbici importanti per la tolleranza alla siccità da parte del grano.

3. Evidenza di come l'utilizzo di bioinoculi microbici possano migliorare la fitness del grano duro.

Il progetto ROOTEM ha utilizzato, sia in un set up di serra che di campo, un consorzio microbico costituito da due microrganismi benefici, un batterio e un fungo micorrizico. I dati ottenuti, benché preliminari, costituiscono un risultato incoraggiante verso l'implementazione dell'utilizzo dei biostimolanti microbici nelle pratiche agronomiche per il grano duro. I risultati positivi riguardano diversi aspetti della fisiologia del grano, che vanno dalla crescita della pianta alla produzione di granella e allo stato ossidativo generale. Inoltre, si è evidenziato come l'interazione tra i microrganismi risulti in un aumento della micorrizzazione del frumento, e in un miglioramento spesso sinergico dei parametri culturali.

Bibliografia

- Bajwa A.A., Farooq M., Al-Sadi A.M., Nawaz A., Jabran K., & Siddique K.H. (2020). Impact of climate change on biology and management of wheat pests. *Crop Protection*, 137, 105304.
- Deng Y.Y., Li W., Zhang P., Sun H.Y., Zhang X.X., Zhang A.X. & Chen H.G. (2020). *Fusarium pseudograminearum* as an emerging pathogen of crown rot of wheat in eastern China. *Plant Pathology*, 69(2), 240-248. doi.org/10.1111/ppa.13122
- EFSA Panel on Plant Health (2022). Pest categorisation of *Fusarium pseudograminearum*. *EFSA Journal*, 20(6), p.e07399. doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7399
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2025). *Cereal supply and demand brief – January 2025*. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/>
- Figueroa M., Hammond-Kosack K.E., & Solomon P.S. (2018). A review of wheat diseases – a field perspective. *Molecular Plant Pathology*, 19(6), 1523-1536.
- Gardiner D.M. (2018). Fusarium crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in cereal crops: recent progress and future prospects. *Molecular Plant Pathology*, 19(7), 1547-1562.
- Germinara G.S., De Cristofaro A., & Rotundo G. (2015). Repellents effectively disrupt the olfactory orientation of *Sitophilus granarius* to wheat kernels. *Journal of Pest Science*, 88 (4), 675-684.
- Germinara G.S., Pistillo M., D'Isita I., & Rotundo G. (2021). I Semiochimici nel controllo sostenibile degli insetti. *La Chimica e L'industria*, Anno V, N. 2, 14-18.
- Hatchett, J.H., Starks, K.J., & Webster, J.A. (1987). Insect and mite pests of wheat. *Wheat and wheat improvement*, 13, 625-675.
- Johnson R. (1984). A critical analysis of durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 22, 309-330.
- Kazan K. & Gardiner D.M. (2018). Fusarium crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in cereal crops: recent progress and future prospects. *Molecular Plant Pathology*, 19(7), 1547-1562. doi.org/10.1111/mpp.12639
- Lamprecht S.C., Marasas W.F.O., Hardy M.B. & Calitz F.J. (2006). Effect of crop rotation on crown rot and the incidence of *Fusarium pseudograminearum* in wheat in the Western Cape, South Africa. *Australasian Plant Pathology*, 35(4), 419-426. doi.org/10.1071/AP06040
- Laraba I., Keddad A., Boureghda H., Abdallah N., Vaughan M.M., Proctor R.H., Busman M. & O'Donnell K. (2017). *Fusarium algeriense*, sp. nov., a novel toxigenic crown rot pathogen of durum wheat from Algeria is nested in the *Fusarium burgessii* species complex. *Mycologia*, 109(6), 935-950. doi.org/10.1080/00275514.2018.1425067
- Leplat J., Friberg H., Abid M., & Steinberg C. (2013). Survival of *Fusarium graminearum*, the causal agent of Fusarium head blight. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 33(1), 97-111.

- Liang J.M., Xayamongkhon H., Broz K., Dong Y., McCormick S.P., Abramova S., Ward T.J., Ma Z.H. & Kistler H.C. (2014). Temporal dynamics and population genetic structure of *Fusarium graminearum* in the upper Midwestern United States. *Fungal Genetics and Biology*, 73, 83-92.
- Migheli Q., & Cravedi P. (2025) Recenti sviluppi nelle strategie di protezione delle colture dalle avversità. *I Focus dei Geogofili. Supplemento agli Atti dei Geogofili 2025*, 79-110.
- Oufensou S., Ul-Hassan Z., Badr K., Balmas V., Jaoua S., & Migheli, Q. (2025a). Guns' N Roses: Fungal Volatile Warfare in Postharvest Disease Control. *Annual Review of Phytopathology*, 63.
- Oufensou S., Carella D., Porqueddu G., Anelli P., Cozzi G., Gatto A., Haidukowski M., Masiello M., Somma S., Balmas V., Moretti M., & Migheli Q. (2025b). First report of crown and foot root rot on durum wheat caused by *Fusarium algeriense* in Europe. XXX Convegno della Società Italiana di Patologia Vegetale (SIPaV), Catania, Italia, pp. 15-17 settembre 2025.
- Özer G., Erper I., Imren M., Bozoğlu T., Özdemir F. & Dababat A.A. (2022). First report of crown rot caused by *Fusarium algeriense* on wheat in Kyrgyzstan. *Plant Disease*, 106(11), 2998. doi.org/10.1094/PDIS-08-19-1721-PDN
- Özer G., İmren M., Paulitz T.C., Bayraktar H., Muminjanov H. & Dababat A.A. (2020). First report of crown rot caused by *Fusarium algeriense* on wheat in Azerbaijan. *Plant Disease*, 104(2), 582. doi.org/10.1094/PDIS-01-22-0096-PDN
- Poland J.A. (2009). Quantitative resistance to plant disease. *Annual Review of Phytopathology*, 47, 419-448.
- Rajendran S. (2002). "Postharvest pest losses". In: Pimentel, D. (Ed.), *Encyclopedia of Pest Management*, pp. 654-656, Marcel Dekker, Inc., New York.
- Scherm B., Balmas V., Spanu F., Pani G., Delogu G., Pasquali M., & Migheli Q. (2013). *Fusarium culmorum*: Causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular Plant Pathology*, 14(4), 323-341.
- Summerell B.A., & Burgess L.W. (1988). Stubble management practices and the survival of *Fusarium graminearum* Group 1 in wheat stubble residues. *Australasian Plant Pathology* 17, 88-93.
- Summerell B.A., Burgess L.W., & Klein T.A. (1989). The impact of stubble management on the incidence of crown rot of wheat. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 29, 91-98.
- Throne J.E., Baker J.E., Messina F.J., Karl J.K., & Howard J.A. (2000). "Varietal resistance". In: Subramanyam B., Hagstrum D.W. (Eds), *Alternatives to pesticides in stored-product IPM*, pp. 165-192. Kluwer Academic, Massachusetts.

APPENDICE SCHEDE DI PROGETTO



Finanziato
dall'Unione europea
NextGenerationEU



Ministero
dell'Università
e della Ricerca



Italiadomani
PIANO NAZIONALE
DI RIPRESA E RESILIENZA

BICONTRARIUM – Filling gaps in the biological control of Fusarium diseases of durum wheat and of related mycotoxins

CUP J53D23018320001

Coordinatore: Antonio Prodi

Unità Operative

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna
Dipartimento di Scienze e tecnologie Agro-Alimentari
CUP J53D23018320001
Antonio Prodi, Diana Di Gioia, Eleonora Cappelletti



Università degli Studi di Perugia
Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali
CUP J53D23018330001
Lorenzo Covarelli, Giovanni Beccari, Francesco Tini, Emilio Balducci



CadMiDur – Strategies to Reduce Cadmium Accumulation in Durum Wheat through Genetic and Agronomic Approaches

CUP: F53C22000480006

Coordinatore: Alessio Aprile

Unità Operative

Università degli Studi del Salento
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali (DiSteBA)
CUP F53C22000480006
Alessio Aprile, Eliana Nutricati



Università degli Studi di Bari Aldo Moro
Dipartimento di Scienze del suolo, della pianta e degli alimenti (DiSSPA)
CUP H53D23010730001
Ilaria Marcotuli (resp. UR), Giuseppe Ferrara



Università degli Studi di Foggia
Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimenti, Risorse Naturali e Ingegneria
CUP D53D23022030001
Zina Flagella (resp. UR), Angela Libutti



Università degli Studi di Napoli Federico II
Dipartimento di Agraria
CUP E53D23021000001
Nunzio Fiorentino



CROWN - *Fusarium Crown Rot on durum wheat in Southern Italy: epidemiology, evolution and toxigenic potential in a climate change scenario*

CUP J53D23010140006

Coordinatore: Quirico Migheli

Unità Operative

Università degli Studi di Sassari
Dipartimento di Agraria
CUP J53D23010140006
Quirico Migheli (resp.), Virgilio Balmas, Safa Oufensou,
Giampiera Porqueddu



Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari
CUP B53D23017810006
Antonio Moretti (resp.), Daria Carella, Miriam Haidukowski, Mario Masiello,
Stefania Somma, Antonia Susca



DISTINCT - *Deciphering early signals in wheat-mycorrhizal fungi communication and their role in mycorrhiza-induced resistance*

CUP J53D23019170001

Coordinatore: Daniel Savatin

Unità Operative

Università degli Studi della Tuscia
Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali
CUP J53D23019170001
Daniel Savatin, Francesco Sestili



Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Bioscienze e Biorisorse
CUP B53D23033260001
Raffaella Maria Balestrini



GRANARIUS - *Biological, chemical, and genetic bases of granary weevil and purple wheat interactions*

CUP D53D23011600006

Prot. 202282ZTPL

Coordinatore: Giacinto Salvatore Germinara

Unità Operative

Università degli Studi di Foggia
Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimenti, Risorse Naturali e Ingegneria
CUP D53D23011600006
Giacinto Salvatore Germinara, Federica Lo Muzio, Michele Romanelli,
Ilaria D'Isita, Onofrio Marco Pistillo



CUP D53D23011600006

Prot. 202282ZTPL

Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari
CUP B53D23017320006
Barbara Laddomada, Carmela Gerardi, Giovanna Giovinazzo



Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria
Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali
CUP J53D23010510006
Pasquale De Vita, Fabio Fania, Giuseppina Angione, Salvatore Esposito



InnoWheatRes - Advanced breeding with Innovative strategies to improve biotic stresses resistance in durum wheat

Coordinatore: Agata Gadaleta

Unità Operative

Università degli Studi di Bari Aldo Moro
Dipartimento di Scienze del Suolo della Pianta e degli Alimenti
CUP H53D23005180006
Agata Gadaleta



Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria
Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali (subcontraente)
CUP H53D23005180006
Daniela Marone



Alma Mater Studiorum - Università di Bologna
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL)
CUP J53D23010020006
Marco Maccaferri, Ambra Viviani



NAMASTE-PCA - Novel Agroecosystem Management Strategies and Tools Evaluation: biofertilization and relay cropping under Precision Conservation Agriculture

CUP C53D23005090006

Coordinatore: Simone Orlandini

Unità Operative

Università degli Studi di Firenze
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari,
Ambientali e Forestali
CUP B53D23017330006
Simone Orlandini, Marco Napoli, Antonio Pescatore,
Yidnekachew Beshah, Roberto Vivoli



Università degli Studi di Teramo
Dipartimento di Bioscienze e tecnologie agroalimentari ed ambientali
CUP C53D23005090006
Michele Pisante, Giancarlo Pagnani, Alfredo Lorenzo



NEWRoots - Evaluation and cloning of a major root angle QTL for a sustainable production in durum wheat

CUP J53D23010510006

Coordinatore: Roberto Tuberosa, sostituito da Aldo Ceriotti, sostituito da Raul Pirona

Unità Operative

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari
CUP J53D23010510006
Roberto Tuberosa, Marco Maccaferri, Cristian Forestan, Matteo Bozzoli, Enrico Noli, Chiara Cappucci



Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria
CUP B5 3D23018100006
Aldo Ceriotti, Giovanna Frugis, Raul Pirona, Andrea Tafuri



Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria
Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali (subcontraente)
CUP J53D23010510006
Pasquale De Vita, Fabio Fania, Patrizio Spadanuda, Ivano Pecorella



NEXTPLORA - A gene expression atlas on the role of polyphenol oxidases in Triticum adaptation to environmental change

CUP B53D23024900001

Coordinatore: Francesca Taranto

Unità Operative

Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Bioscienze e Biorisorse
CUP B53D23024900001
Francesca Taranto, Giacomo Mangini, Domenico De Paola, Carmelina Bianco



Università degli Studi di Napoli Federico II
Dipartimento di Agraria
CUP E53D23015330001
Nunzio D'Agostino



Università degli Studi della Basilicata
Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari e Ambientali
CUP C53D23007550001
Tania Gioia, Giuseppina Logozzo, Stefania Marzario



POLYPLOIDBREEDING 4.0 – Expanding the toolbox for cereal breeding: high-throughput genomics, 2D-3D phenomics and artificial intelligence for breeding with increasing genome complexity, from barley to durum and bread wheat

Codice Progetto: 2022BACN8A

Coordinatore: Filippo Biscarini

Unità Operative

Consiglio Nazionale delle Ricerche
Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria
CUP J53D23003090006
Filippo Biscarini



Alma Mater Studiorum – Università di Bologna
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari
CUP B53D23007940006
Elisabetta Frascaroli



Collaboratori

Giulia Moscatelli (CNR); Roshan Paudel (Univ. Bologna), Matteo Bozzoli (Univ. di Bologna), Agostino Fricano, Nelson Nazzicari, Roberta Rossi (CREA); Stefano Ravaglia, Eder Licerì Grolì, Paolo De Franceschi (S.I.S. Società Italiana Sementi S.p.A); Kerstin Nagel, Fabio Fiorani (Forschungszentrum Jülich GmbH, Germany)

ROOTEM – Understanding the role of ROOT Exudation in drought stress response of wheat and its associated Microbiota

CUP H53D23005280006

Codice progetto n. 2022P9YM3A

Coordinatore: Alessandra Salvioli di Fossalunga

Unità Operative

Università degli Studi di Torino
Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi
CUP D53D23011950006
Alessandra Salvioli di Fossalunga, Mara Novero, Martina Florian, Francesco Berruto



Università degli Studi di Bari Aldo Moro
Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e Ambiente
CUP H53D23005280006
Costantino Paciolla (Resp. scientifico), Linda Mastropasqua, Valentina Maria Carmela Pastorini



Università degli Studi dell'Insubria
Dipartimento di Biotecnologie e Scienze della Vita
CUP J53D23010330006
Guido Domingo (Resp. scientifico), Marcella Bracale, Laura Ciceri



Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria –
Centro di ricerca Genomica e Bioinformatica, Fiorenzuola d'Arda (PC)
CUP D53D23011950006

Caterina Morcia (Resp. scientifica), Roberta Ghizzoni,
Maria Alexandra Cucu, Alessandro Tondelli



SMABIODUR – *SMart Agriculture to assess BIOstimulants solutions on DURum wheat to overcome abiotic stresses in southern Italy*

CUP: C53D2300960001

Coordinatore: Michele Pisante

Unità Operative

Università degli Studi di Teramo
Dipartimento di Bioscienze e tecnologie agroalimentari ed ambientali
CUP C53D23009610001
Michele Pisante, Fabio Stagnari, Giancarlo Pagnani, Nausicaa Occhipinti



Università degli Studi di Salerno
Dipartimento di Farmacia
CUP D53D23021870001
Enrica De Falco, Domenico Ronga, Annamaria Di Serio, Tommaso Nappo, Subrahmanyam Thotakura



WHEATSUSTAIN – *Deciphering the adaptive response of wheat for climate change mitigation*

CUP J53D23018480001

Coordinatore: Marco Maccaferri

Unità Operative

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL)
CUP J53D23018480001
Marco Maccaferri, Cristian Forestan



Università degli Studi di Bari Aldo Moro
Dipartimento di Scienze del Suolo della Pianta e degli Alimenti
CUP H53D23010650001
Agata Gadaleta, Sara Muciaccia



Università degli Studi dell'Insubria
Dipartimento di Biotecnologie e Scienze della Vita
CUP J53D23018490001
Candida Vannini, Guido Domingo, Marcella Bracale





L'edizione digitale dell'opera è rilasciata
con licenza Creative Commons Attribution 4.0 - CC-BY,
il cui testo integrale è disponibile all'URL:
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Le edizioni digitali online sono pubblicate in Open
Access con accesso mediante profilazione su:
<https://terraevita.edagricole.it/>

Coltivare frumento duro in Italia è una premessa indispensabile per sostenere la filiera della pasta, emblema preminente del Made in Italy.

Ciò richiede ricerca avanzata basata su un approccio multidisciplinare ed il trasferimento dell'innovazione al sistema agricolo.

