

PROGETTO SOTTOMISURA 16.2

PSR 2014-2022 della Regione Toscana

Annualità 2022

SOMMARIO DEL PROGETTO

Titolo progetto:

Gestione dei funghi micorrizici e salute del suolo nei vigneti
--

Acronimo progetto

MiSaVi

Tipologia di Progetto:

- Progetto pilota
- Progetto di cooperazione

Tematica di riferimento:

- Agricoltura e selvicoltura di precisione, digitalizzazione dell'agricoltura e del settore forestale, adozione di sistemi di supporto alle decisioni (DSS);
- Bioeconomia ed economia circolare (valorizzazione economica di sottoprodotti agricoli e forestali, materiali di scarto e residui e altre materie grezze non alimentari ai fini della bioeconomia);
- Miglioramento della qualità e sostenibilità dei prodotti agricoli anche in funzione dei nuovi orientamenti di mercato;
- Valorizzazione economica dell'agrobiodiversità e della multifunzionalità dell'impresa agricola

Forma di accordo di partenariato:

- RTI
- ATS
- RETE CONTRATTO

Denominazione del capofila del progetto:

FoodMicroTeam S.r.l.

Obiettivi:

L'obiettivo di questo progetto sarà quello di verificare l'efficacia di una strategia che preveda di inoculare in vigneto funghi micorrizici mediante piante donatrici per incrementare le prestazioni delle viti in termini di qualità dell'uva e del vino da essa ottenuto. Alla fine del progetto le due Aziende partner potranno verificare l'effettiva efficacia dell'innovazione introdotta volta ad arricchire il suolo delle loro vigne, compensando l'impatto negativo che possono aver avuto pratiche agronomiche più o meno invasive utilizzate negli anni, ed a promuovere la proliferazione delle comunità micorriziche naturali favorendo la biodiversità. Inoltre, la possibilità di valutare l'impatto di un suolo arricchito senza l'impiego di concimi chimici sulla qualità tecnologica delle uve e su quella sensoriale del vino da esse ottenuto, consentirà alle Aziende partner di avere una visione globale sul possibile vantaggio della strategia proposta. Infine, i risultati ottenuti saranno di utilità per tutte le Aziende vitivinicole del territorio Toscano che potranno sfruttare le conoscenze acquisite per accrescere le performance dei loro vigneti approcciandosi ad un sistema di gestione della vigna non solo più consapevole, e quindi necessariamente più vantaggioso, ma anche più etico nell'ottica di una agricoltura sostenibile.

Elenco sintetico delle azioni previste:

- Azione 1. Coordinamento
- Azione 2: Preparazione dell'inoculo micorrizico autoctono toscano
- Azione 3. Lavorazione e semina degli interfilari delle vigne del piano sperimentale
- Azione 4. Metagenomica su campioni di suolo
- Azione 5. Analisi delle uve sperimentali
- Azione 6. Microvinificazioni delle uve sperimentali
- Azione 7. Analisi sensoriali sui vini sperimentali
- Azione 8. Divulgazione dei risultati ottenuti

Elenco sintetico dei risultati attesi:

- Azione 1. Coordinamento
- Azione 2: Preparazione dell'inoculo micorrizico autoctono toscano
- Azione 3. Lavorazione e semina degli interfilari delle vigne del piano sperimentale
- Azione 4. Monitoraggio microbiologico su campioni di suolo
- Azione 5. Analisi delle uve sperimentali
- Azione 6. Microvinificazioni delle uve sperimentali
- Azione 7. Analisi sensoriali sui vini sperimentali
- Azione 8. Divulgazione dei risultati ottenuti

Costo complessivo del progetto:

204.722,56 euro

Contributo complessivo richiesto:

200.000,00

TITOLO DEL PROGETTO

Gestione dei funghi micorrizici e salute del suolo nei vigneti

ACRONIMO DEL PROGETTO

MiSalVi

Tipologia progetto

- PROGETTO PILOTA
- PROGETTO DI COOPERAZIONE

Tematica di riferimento del progetto:

- Agricoltura e selvicoltura di precisione, digitalizzazione dell'agricoltura e del settore forestale, adozione di sistemi di supporto alle decisioni (DSS);
- Bioeconomia ed economia circolare (valorizzazione economica di sottoprodotti agricoli e forestali, materiali di scarto e residui e altre materie grezze non alimentari ai fini della bioeconomia);
- Miglioramento della qualità e sostenibilità dei prodotti agricoli anche in funzione dei nuovi orientamenti di mercato;
- Valorizzazione economica dell'agrobiodiversità e della multifunzionalità dell'impresa agricola

Accordo di partenariato

Indicare la forma dell'accordo che il partenariato ha costituito/intende costituire per la realizzazione del progetto:

- | | |
|----------------|-------------------------------------|
| RTI | <input type="checkbox"/> |
| ATS | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Rete Contratto | <input type="checkbox"/> |

Allegato:

- | | |
|--|-------------------------------------|
| Atto costitutivo dell'Accordo di Partenariato | <input type="checkbox"/> |
| Dichiarazione di impegno a sottoscrivere l'Accordo di Partenariato | <input checked="" type="checkbox"/> |

SEZIONE I - ANAGRAFICA

1. Informazioni generali del capofila del progetto sottomisura 16.2

Denominazione del capofila	FoodMicroTeam S.r.l.
Persona fisica referente del progetto	Dr.ssa Simona Guerrini
Via e numero	Sede legale: via Santo Spirito n. 14
Città - Provincia	Firenze
C.A.P.	50125
Telefono	3470801180
Indirizzo E-mail	simona@foodmicroteam.it
Indirizzo PEC	foodmicroteam@legalmail.it
Codice fiscale	06466250484
P. I.V.A.	06466250484

2. Informazioni sui partner di progetto

2.1 Natura e ruolo dei soggetti partecipanti al progetto

		Impresa agricola	Impresa forestale	Soggetti di diritto pubblico operanti nella produzione e trasferimento di ricerca, sviluppo e innovazione tecnologica	Soggetti di diritto privato operanti nella produzione e trasferimento di ricerca, sviluppo e innovazione tecnologica	PMI operanti nel settore rurale	Associazioni	Organizzazioni dei produttori	Organizzazioni di categoria agricole e cooperative	Soggetti operanti nella divulgazione e informazione	Soggetti di diritto pubblico	
n. progressivo	Denominazione del partner/codice fiscale/persona fisica referente del progetto e mail											Ruolo nel progetto
1	FoodMicroTeam S.r.l. PIVA 06466250484 Simona Guerrini simona@foodmicroteam.it				X							Capofila
2	Il Palagio di Panzano Piccini Monia C.F: PCCMNO76A69D612B Piccini Monia monia@palagiodipanzano.com	X										Partner 1
3	Antico Borgo di Sugame di Lorenzo Miceli C.F: MCLLNZ66L25E488E Lorenzo Miceli lorenzo@borgo-di-sugame.com	X										Partner 2
4	DAGRI (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari Ambientali e Forestali Università di Firenze) P.IVA/Cod.Fis. 01279680480 Lisa Granchi lisa.granchi@unifi.it			X								Partner 3

5	Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Agro-ambientali (DISAAA-a) dell'Università di Pisa (UNIFI) Prof.ssa Monica Agnolucci (monica.agnolucci@unifi.it) Prof.ssa Alessandra Turrini (alessandra.turrini@unifi.i) Prof. Luciano Avio (luciano.avio@unifi.it)			X								Partner 4
6	D.R.E.Am. Italia C.F. PIVA 00295260517 Dott. Andrea Triossi (trioffi@dream-italia.net)					X			X	X		Partner 5

2.2 Localizzazione fisica degli investimenti materiali

Nessun investimento materiale

3. Presentazione dei soggetti partecipanti al progetto

3.1 Breve presentazione del capofila

Sintetica descrizione del capofila e delle principali attività e lavori svolti attinenti alla tematica innovativa proposta. Elenco esperienze svolte nel ruolo di capofila di progetti di sviluppo, collaudo e trasferimento dell'innovazione. Descrivere le attività di coordinamento previste nel progetto con particolare riguardo alla modalità interattiva (max 2 pagine)

FoodMicroTeam S.r.l. (FOODMICROTEAM – Resp. Dr.ssa Simona Guerrini)

FoodMicroTeam S.r.l. (FMT-www.foodmicroteam.it) è una PMI innovativa e una spin off dell'Università degli Studi di Firenze (UNIFI) nata nel 2014 che fornisce alle Aziende Agroalimentari, operanti nel settore delle bevande e degli alimenti fermentati (vino, birra, spumanti, lievitati da forno, formaggi, salami, ecc.), sia assistenza tecnico-scientifica per il controllo e la gestione dei loro processi produttivi, sia Ricerca e Sviluppo in outsourcing finalizzata all'innovazione di processo e prodotto. Ad oggi il mercato di FMT è costituito per circa il 90% da aziende vitivinicole e da quelle che producono lievitati da forno (pane, panettoni, colombe ecc.). Il restante 10% è composto, oltre che da gruppi di ricerca universitari per alcuni servizi analitici o sperimentali, da birrifici artigianali, da aziende che producono preparati microbici starter, che commercializzano impianti per la panificazione, che producono semilavorati fermentati, alimenti fermentati innovativi o comunque non appartenenti alla tradizione italiana (kombucha, kefir, ecc.). I servizi offerti trasversalmente a tutte le aziende sono l'ottimizzazione dei processi fermentativi, la risoluzione di problemi di processo o prodotto, la ricerca e sviluppo conto terzi, analisi chimiche e microbiologiche degli alimenti, FoodMicroBank (una bio-banca dove è possibile conservare i ceppi microbici delle aziende clienti dopo accurata selezione), MyYeast® (servizio di selezione di lieviti *Saccharomyces cerevisiae* indigeni di cantina da usare come starter per avviare le fermentazioni vinarie con possibilità di acquistare l'impianto commercializzato da Parsec S.r.l. ideato per la produzione delle biomasse di questi lieviti direttamente in cantina - www.myyeast.it), FoodMicroStart (produzione biomasse). Il team multidisciplinare di FMT è composto da biologi, chimici, tecnologi alimentari e agronomi tutti esperti nella microbiologia e nella chimica degli alimenti e del vino in particolare. Da un punto di vista organizzativo, l'azienda è suddivisa in quattro aree: operativa (settore alimenti fermentati - Responsabile Dr. Manuel Venturi; settore bevande fermentate - Responsabile Dr. Giacomo Buscioni; settore analitico - Responsabile Dr.ssa Silvia Mangani), amministrativa, comunicazione e marketing, Ricerca e Sviluppo (Responsabile - Dr.ssa Simona Guerrini). L'area Ricerca e Sviluppo (R&S) è il cuore di FMT in quanto consente di immettere sul mercato servizi sempre innovativi e al passo con i risultati più recenti della ricerca scientifica in modo da poter compiere un efficace trasferimento tecnologico alle aziende clienti. Per garantire dunque una qualità della ricerca adeguata ad un trasferimento tecnologico efficace, l'area R&S è dotata di un comitato scientifico che è chiamato ad esprimersi sulla qualità scientifica delle linee di ricerca proposte dal CDA di FMT finalizzate alla crescita aziendale. Le linee di ricerca attive sono: Studi sulle caratteristiche nutraceutiche e tecnologiche di lieviti e batteri lattici isolati da impasti acidi; Studi sulla formazione di sostanze bioattive (glutazione, polifenoli, ammine biogene, ecc.) in alimenti fermentati; Studi sulla biodiversità di lieviti *Saccharomyces cerevisiae* e sulla messa a punto di protocolli per la loro produzione in fermentatori industriali; Studi di

ecologia microbica degli alimenti; Influenze meteorologiche sulle variabili di qualità di uve Sangiovese; Utilizzo di scarti alimentari per produrre idrogeno o bioplastiche. L'area R&S di FMT, dal 2014 ad oggi, è riuscita ad aggiudicarsi i finanziamenti (dalla Regione Toscana o altre istituzioni) per un totale di sei progetti di ricerca/trasferimento tecnologico, la maggior parte dei quali portati avanti in collaborazione con il DAGRI dell'Università di Firenze. Sempre nello stesso periodo il settore vanta la pubblicazione di oltre 30 articoli scientifici su riviste internazionali assoggettate a referaggio ed un numero consistente di partecipazioni a convegni scientifici nazionali e internazionali nonché la partecipazione alla realizzazione di tesi sperimentali per le lauree in Tecnologie Alimentari e in Scienze e Tecnologie Alimentari afferenti alla Scuola di Agraria di UNIFI. Infine, nel 2020 è stato realizzato un laboratorio congiunto con il DAGRI chiamato CIBAF (Centro per l'innovazione di bevande e alimenti fermentati). Lo scopo di CIBAF è quello di studiare la biodiversità microbica dei processi fermentativi naturali (in particolare vino, birra, prodotti lievitati da forno) per realizzare alimenti innovativi e nutraceutici. Per quanto riguarda le competenze necessarie per essere il capofila del presente progetto, bisogna innanzi tutto considerare che i soci lavoratori e i dipendenti della società sono esperti nella caratterizzazione tecnologica delle uve da vino e nelle analisi microbiologiche, chimiche e chimico-fisiche necessarie alla descrizione delle cinetiche fermentative e all'affinamento dei vini, come dimostrano il loro curricula universitari e le pubblicazioni scientifiche di cui sono coautori (si veda il paragrafo successivo). Viste dunque le competenze tecnico-scientifiche e di trasferimento tecnologico nel settore vitivinicolo, si ritiene che FMT possa essere il capofila ideale per coordinare il presente progetto.

Pubblicazioni degli ultimi 5 anni su argomenti inerenti il progetto.

1. Guerrini, S., Barbato, D., Guerrini, L., Mari, E., Buscioni, G., Mangani, S., Romboli, Y., Galli, V., Parenti, A., Granchi, L. Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains and exploitation of a pilot-plant to produce fresh yeast starter cultures in a winery (2021) FERMENTATION, 7 (3), art. no. 99.
2. Galli, V., Romboli, Y., Barbato, D., Mari, E., Venturi, M., Guerrini, S., Granchi, L. Indigenous *Aureobasidium pullulans* strains as biocontrol agents of botrytis cinerea on grape berries. (2021) SUSTAINABILITY (Switzerland), 13 (16), art. no. 9389.
3. Guerrini, S., Mangani, S., Fia, G., Granchi, L. (2021). Advances in Analytical Techniques: Determination of Toxic Components, Microelements, Compounds of Aroma and Therapeutic Significance, in "Winemaking, Basics and Applied Aspects" Edited By V. K. Joshi, Ramesh C. Ray Copyright Year 2021 ISBN 9781138490918 Published February 9, 2021 by CRC Press
3. Mangani, S., Buscioni, G., Guerrini, S., Granchi, L. Influence of sequential inoculum of *Starmerella bacillaris* and *Saccharomyces cerevisiae* on flavonoid. (2020) YEAST, 37:549–557.
4. Granchi, L., Ganucci, D., Buscioni, G., Mangani S., Guerrini S. (2019). The Biodiversity of *Saccharomyces cerevisiae* in Spontaneous Wine Fermentation: The Occurrence and Persistence of Winery-Strains. FERMENTATION, 5:1-11.
5. Ganucci, D., Guerrini, S., Mangani, S., Vincenzini, M., Granchi, L. (2018) Quantifying the effects of ethanol and temperature on the fitness advantage of predominant *Saccharomyces cerevisiae* strains occurring in spontaneous wine fermentations. FRONTIERS MICROBIOL. 9, 1563.
6. Guerrini S., Mangani S., Romboli Y., Luti S., Pazzagli L., Granchi L. (2018). Impact of *Saccharomyces cerevisiae* Strains on Health-Promoting Compounds in Wine. FERMENTATION. 4, 1-14

3.2 Breve presentazione del/i soggetto/i scientifico/i partecipante/i

Sintetica descrizione del partner e delle principali attività e lavori svolti attinenti alla tematica innovativa proposta - (max 1 pagina per partner)

DAGRI – UNIFI (Prof. Carlo Viti, Prof.ssa Lisa Granchi)

DAGRI Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agrarie, Alimentari Ambientali e Forestali – UNIFI (Prof. Carlo Viti, Prof.ssa Lisa Granchi)

Il DAGRI, nato il primo gennaio 2019 dalla fusione di due strutture preesistenti, il Dipartimento di Gestione delle risorse agrarie, forestali e alimentari e il Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente, rappresenta l'unico Dipartimento dell'area di agraria dell'Università di Firenze. Al DAGRI afferiscono tutti i 20 SSD di agraria (AGR), oltre ai SSD BIO/03 e IUS/03. Si tratta del secondo Dipartimento dell'Ateneo fiorentino per dimensioni e attività; il personale comprende circa 125 docenti e 60 tecnici/amministrativi, 40 dottorandi di ricerca, 60 assegnisti di ricerca e 50 borsisti. Il DAGRI è articolato in 10 sezioni che rappresentano le competenze presenti: Colture Arboree; Economia, Estimo e Diritto; Foreste Ambiente Legno Paesaggio; Ingegneria Agraria, Forestale e dei Biosistemi; Microbiologia Agraria; Patologia Vegetale ed Entomologia; Scienze Agronomiche, Genetiche E Gestione Del Territorio; Scienze Animali; Scienza Del Suolo e Della Pianta; Scienze e Tecnologie Alimentari. La sezione coinvolta nel progetto MiSalvi è quella di Microbiologia Agraria con i Proff Carlo Viti e Lisa Granchi che sono portatori rispettivamente di competenze nell'ambito dell'ecologia microbica molecolare del suolo e della microbiologia enologica. Complessivamente i docenti sono autori di centinaia di pubblicazioni delle quali oltre 150 su riviste internazionali con Impact Factor. I docenti coinvolti sono PI di diversi progetti nazionali e internazionali ultimi dei quali il progetto ALL-IN ALfalfa for sustainable Livestock farming systems: Improve alfalfa-rhizobia symbiosis and New feeding strategy based on ecological leftovers, finanziamento H2020 ERANET (prof. Carlo Viti), il progetto "Ottimizzazione e valorizzazione della produzione di vini in anfora (Acronimo: VINANFORA - PSR 2014/2020 Metodo Leader - Misura 16.2 "Sostegno a progetti pilota e allo sviluppo di nuovi prodotti, pratiche, processi e tecnologie", resp. Prof.ssa Lisa Granchi) e il progetto "Utilizzo di un sistema innovativo per produrre vini senza l'aggiunta di solfiti" (Acronimo: VINOSO2 - INTERVENTI A SOSTEGNO DEI PROCESSI DI INNOVAZIONE ORGANIZZATIVA E DI PROCESSO PRODUTTIVO NEL SETTORE DELLA COOPERAZIONE AGRICOLA E NEI CONSORZI FORESTALI, resp. Prof.ssa Lisa Granchi).

Pubblicazioni scientifiche

Romano P, Siesto G, Capece A, Pietrafesa R, Lanciotti R, Patrignani F, Granchi L, Galli V, et al. (2022) Validation of a Standard Protocol to Assess the Fermentative and Chemical Properties of *Saccharomyces cerevisiae* Wine Strains. *Front. Microbiol.* 13:830277.

doi:10.3389/fmicb.2022.830277

Corsini, D.; Vigevani, I.; Oggioni, S.D.; Frangi, P.; Brunetti, Mori J.; Viti C.; Ferrini, Ferrini F.; Fini, A. (2022) Effects of Controlled Mycorrhization and Deficit Irrigation in the Nursery on Post-Transplant Growth and Physiology of *Acer campestre* L. and *Tilia cordata* Mill. *Forests* 13: art. 658

Daly, Giulia; Ghini, Veronica; Adessi, Alessandra; Fondi, Marco; Buchan, Alison; Viti, Carlo (2022). Towards a mechanistic understanding of microalgae-bacteria interactions: integration of metabolomic analysis and computational models. *FEMS MICROBIOLOGY REVIEWS*, pp. 0-0, ISSN:0168-6445 DOI

Galli, V., Romboli, Y., Barbato, D., Mari, E., Venturi, M., Guerrini, S., Granchi, L. Indigenous *Aureobasidium pullulans* strains as biocontrol agents of *botrytis cinerea* on grape berries. (2021) *SUSTAINABILITY* (Switzerland), 13 (16), art. no. 9389.

Viti C.; Bellabarba A.; Daghighio M.; Mengoni A.; Mele M.; Buccioni A.; Pacini G.C.; Bekki A.; Azim K.; Hafidi M.; Pini F. (2021). Alfalfa for a sustainable ovine farming system: Proposed research for a new feeding strategy based on alfalfa and ecological leftovers in drought conditions. *SUSTAINABILITY*, 13, ISSN:2071-1050 DOI

Daly G.; Perrin E.; Viti C.; Fondi M.; Adessi A. (2021). Scaling down the microbial loop: data-driven modelling of growth interactions in a diatom–bacterium co-culture. *ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY REPORTS*, 6: 945-954, ISSN:1758-2229 DOI

Bellabarba A.; Bacci G.; Decorosi F.; Aun E.; Azzarello E.; Remm M.; Giovannetti L.; Viti C.; Mengoni A.; Pini F. (2021). Competitiveness for nodule colonization in sinorhizobium meliloti: Combined in vitro-tagged strain competition and genome-wide association analysis. *MSYSTEMS*, 6:e0055021-0, ISSN:2379-5077 DOI

Suproniene S.; Decorosi F.; Pini F.; Bellabarba A.; Calamai L.; Giovannetti L.; Bussotti F.; Kadziuliene Z.; Razbadauskiene K.; Toleikiene M.; Viti C. (2021). Selection of Rhizobium strains for inoculation of Lithuanian Pisum sativum breeding lines. *SYMBIOSIS*, 83:193-208, ISSN:0334-5114 DOI

Mangani, S., Buscioni, G., Guerrini, S., Granchi, L. Influence of sequential inoculum of *Starmerella bacillaris* and *Saccharomyces cerevisiae* on flavonoid. (2020) *YEAST*, 37:549–557.

Bellabarba A.; Fagorzi C.; DiCenzo G.C.; Pini F.; Viti C.; Checcucci A. (2019). Deciphering the symbiotic plant microbiome: Translating the most recent discoveries on rhizobia for the improvement of agricultural practices in metal-contaminated and high saline lands. *AGRONOMY*, 9: ISSN:2073-4395

Granchi, L., Ganucci, D., Buscioni, G., Mangani S., Guerrini S. (2019). The Biodiversity of *Saccharomyces cerevisiae* in Spontaneous Wine Fermentation: The Occurrence and Persistence of Winery-Strains. *FERMENTATION*, 5:1-11.

Ganucci, D., Guerrini, S., Mangani, S., Vincenzini, M., Granchi, L. (2018) Quantifying the effects of ethanol and temperature on the fitness advantage of predominant *Saccharomyces cerevisiae* strains

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Agro-ambientali (DISAAA-a) dell'Università di Pisa (UNUPI) (Proff. Monica Agnolucci, Alessandra Turrini, Luciano Avio)

Il Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Agro-ambientali (DISAAA-a) dell'Università di Pisa (UNUPI) ha competenze nei seguenti principali settori di ricerca: sistemi produttivi vegetali e animali; biochimica e fisiologia delle piante; preparazione, conservazione e valorizzazione degli alimenti di origine vegetale, animale e microbica; biotecnologie vegetali, animali e microbiche. I Laboratori di MICROBIOLOGIA AGRARIA, a cui afferiscono la Prof. Monica Agnolucci, la Prof. Alessandra Turrini e il Prof. Avio, hanno una notevole esperienza nel settore delle interazioni tra microrganismi benefici e piante, in particolare delle simbiosi micorriziche, che costituiscono i fattori essenziali della fertilità biologica del suolo. Le loro competenze riguardano la valutazione dei funghi micorrizici, in relazione al loro ruolo come biofertilizzanti e biostimolanti naturali e la selezione dei ceppi più infettivi ed efficienti per lo sviluppo e il benessere delle piante, tra cui piante arboree, in particolare, melo, olivo e vite. I ricercatori suddetti hanno contribuito alle recenti acquisizioni circa le modificazioni del metabolismo secondario delle piante indotte dalla simbiosi micorrizica, capaci di aumentare la produzione di sostanze bioattive e antiossidanti, quali polifenoli, antocianine e carotenoidi, ad alto valore salutistico e nutraceutico. Tali conoscenze sono completate dagli studi di diversità molecolare e funzionale dei funghi micorrizici e dei batteri benefici ad essi associati, che risultano essenziali per il successo del progetto. La Prof. Monica Agnolucci Associato di Microbiologia Agraria ha partecipato a diversi

progetti nazionali finanziati da MIUR (PRIN2015) e da Enti regionali (INNOVAPANE (DOP), NUTRIFOROIL, PROAPI, STILNOVO) e aziende private. Ha pubblicato oltre 125 lavori, di cui 54 su riviste scientifiche internazionali. La Prof. Alessandra TURRINI, Associato di Microbiologia Agraria ha partecipato al progetto europeo SOLIBAM, a diversi progetti nazionali finanziati da MIUR, quali SIMBIOVEG e SOILSINK, e da Enti regionali e aziende private. Ha pubblicato oltre 120 lavori, di cui 46 su riviste internazionali. Il Prof. Luciano AVIO, Associato di Microbiologia Agraria ha partecipato al progetto europeo SOLIBAM, a diversi progetti nazionali finanziati da MIUR, quali SIMBIOVEG e SOILSINK, e da Enti regionali (IRRIGO) e aziende private. Ha pubblicato oltre 160 lavori, di cui 60 su riviste internazionali.

Publicazioni scientifiche

- 1) Aguilera, P., Ortiz, N., Becerra, N., Turrini, A., Gaínza-Cortés, F., Silva-Flores, P., Aguilar-Paredes, A., Romero JK, Jorquera-Fontena E, de La Luz Mora M & Borie F (2022). Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Vineyards: Water and Biotic Stress Under a Climate Change Scenario: New Challenge for Chilean Grapevine Crop. *Frontiers in Microbiology*, 13, 826571.
- 2) Agnolucci, M., Avio, L., Palla, M., Sbrana, C., Turrini, A., Giovannetti, M. (2020). Health-Promoting Properties of Plant Products: The Role of Mycorrhizal Fungi and Associated Bacteria. *Agronomy*, 10(12), 1864
- 3) Palla M., Turrini A., Cristani C., Caruso G., Avio L., Giovannetti M., Agnolucci M. (2020) Native mycorrhizal communities of olive tree roots as affected by protective green cover and soil tillage. *Applied Soil Ecology*. 149.
- 4) Velásquez A., Vega-Celedón P., Fiaschi G., Agnolucci M., Avio L., Giovannetti M., D'Onofrio C., Michael Seeger M. (2020) Responses of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon roots to the arbuscular mycorrhizal fungus *Funneliformis mosseae* and the plant growth-promoting rhizobacterium *Ensifer meliloti* include changes in volatile organic compounds. *Mycorrhiza* 30(1),161-170.
- 5) Giovannini, L., Palla, M., Agnolucci, M., Avio, L., Sbrana, C., Turrini, A., Giovannetti, M. (2020). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Associated Microbiota as Plant Biostimulants: Research Strategies for the Selection of the Best Performing Inocula. *Agronomy*, 10(1), 106.
- 6) Avio, L., Turrini, A., Giovannetti, M., Sbrana, C. (2018) Designing the ideotype mycorrhizal symbionts for the production of healthy food. *Frontiers in Plant Science* 9,1089
- 7) Turrini A., Caruso G., Avio L., Gennai C., Palla M., Agnolucci M., Tomei P.E., Giovannetti M., Gucci R. (2017) Protective green cover enhances soil respiration and native mycorrhizal potential compared with soil tillage in a high-density olive orchard in a long term study. *Applied Soil Ecology* 116:70-78
- 8) Turrini A., Agnolucci M., Palla M., Tomé E., Tagliavini M., Scandellari F., Giovannetti M. (2017) Species diversity and community composition of native arbuscular mycorrhizal fungi in apple roots are affected by site and orchard management. *Applied Soil Ecology* 116:42-54.

3.3 Breve presentazione degli altri soggetti partecipanti

Sintetica descrizione del partner e dell'eventuale esperienza maturata nel settore oggetto della proposta innovativa (max 1 pagina per partner)

D.R.E.Am. Italia

D.R.E.Am. Italia soc. coop. opera dal 1978 (su scala non solo nazionale) nell'ambito della progettazione, gestione ed erogazione di percorsi formativi ed informativi legati al suo "core business" consistente nel fornire concreto e mirato supporto allo sviluppo sostenibile delle aree rurali.

A tal fine vanta ampia, diffusa e variegata esperienza in termini sia di obiettivi/contenuti/prodotti affrontati, che di rete di rapporti formalmente attivati con partners sia pubblici (governi esteri ed enti locali, università e centri ricerca) che privati (imprese ed associazioni, in primis cooperative).

D.R.E.Am. dispone di sistema gestionale certificato, aggiornato/integrato continuamente per soddisfare esigenze e richieste dei singoli committenti e clienti, e per adeguarsi alle innovazioni normative e/o tecnologiche.

Proprio la continua revisione del suo sistema organizzativo richiede di individuare nelle attività formative ed informative, rivolte tanto ai propri dipendenti quanto a giovani inoccupati e disoccupati, nonché ad operatori di imprese agro-forestali ed Enti gestori del territorio, un elemento strategico che trova proprio nell'adesione a progetti come il presente un prezioso "investimento" oltre che un canale appropriato.

Citiamo in tal senso, a solo titolo di esempio, limitatamente agli ultimi 5 anni, la progettazione, gestione e diffusione di attività formative ed informative realizzate nell'ambito di finanziamenti ex FSE (compresi Progetti di filiera ed IFTS), PSR (compresi PIF e Misura 16.2, misura 1.1 e mura 1.2) nelle regioni Toscana, Umbria e Sicilia, nell'ambito dei Programmi Comunitari LIFE e Interreg Marittimo, oltre attività riguardanti l'evoluzione delle normative in ambito forestale e fitosanitario (PAN).

D.R.E.Am. Italia soc. coop. cura e gestisce per conto della Regione Toscana il Centro di addestramento in materia di antincendio boschivo sito alla Pineta di Tocchi (Siena). Infine D.R.E.Am. Italia ha esperienza pluriennale di costruzione di partenariati, di progettazione e realizzazione (in qualità di consulente o partner) di progetti e attività di respiro internazionale e a carattere innovativo o di R&S, in particolare su programmi di finanziamento come LIFE, HORIZON 2020, Interreg Marittimo, MED, PSR (misura 124 e 16.2), POR ecc.

Azienda agricola il Palagio di Monia Piccini

L'Azienda Agricola Il Palagio di Piccini Monia è localizzata nel Comune di Greve in Chianti in prossimità di Panzano in Chianti.

L'azienda gestisce circa 12 ettari, per lo più di proprietà della titolare, coltivati principalmente a vigneto ed oliveto.

Il riparto colturale è costituito da circa 5 ettari di vigneto e circa 6 ettari di oliveto.

L'attività aziendale è volta alla produzione di vino (IGT, DOC e DOCG, vin santo) ed olio extravergine di oliva, con la trasformazione dei prodotti aziendali del vigneto e dell'oliveto. I prodotti trasformati sono volti al mercato locale, nazionale ed internazionale. L'azienda è interamente gestita con il metodo di conduzione biologico, quindi con pratiche volte alla minimizzazione dell'impatto ambientale.

Azienda Agricola Antico Borgo di Sugame di Lorenzo Miceli

L'Azienda Agricola Antico Borgo di Sugame di Lorenzo Miceli è localizzata nel Comune di Greve in Chianti.

L'azienda gestisce circa 6 ettari, coltivati principalmente a vigneto ed oliveto.

Il riparto colturale è costituito da circa 5 ettari di vigneto e circa 1 ettaro di oliveto. L'attività aziendale è volta alla produzione di vino (IGT, DOC e DOCG, vin santo) ed olio extravergine di

oliva, con la trasformazione dei prodotti aziendali del vigneto e dell'oliveto. I prodotti trasformati sono volti al mercato locale, nazionale ed internazionale. L'azienda è interamente gestita con il metodo di conduzione biologico, quindi con pratiche volte alla minimizzazione dell'impatto ambientale.

3.4 Breve descrizione composizione e pertinenza della partnership per il raggiungimento degli obiettivi del progetto

Descrivere la partnership in riferimento a: complementarità e interdisciplinarietà, coinvolgimento di imprese agricole e forestali singole e associate e la presenza di soggetti esperti in grado di coadiuvare il gruppo di lavoro (max 2 pagine)

La partnership coinvolta nel progetto comprende tutte le competenze necessarie ad inserire, presso due Aziende del territorio Toscano, una innovazione per accrescere le performance dei vigneti e la qualità dei vini da essi ottenuti approcciandosi ad un sistema di gestione del suolo non solo più consapevole, e quindi necessariamente più vantaggioso, ma anche più etico nell'ottica di una agricoltura sostenibile. Tali competenze sono necessariamente interdisciplinari perché spaziano dalla microbiologia del suolo a quella enologica, dalla chimica dell'uva a quella delle fermentazioni, dalle competenze tecnico-scientifiche per la gestione delle fermentazioni vinarie alla metagenomica per lo studio del microbioma del suolo.

Più in dettaglio, le competenze indispensabili a raggiungere gli obiettivi del progetto possono essere così sintetizzate:

- L'approccio metagenomico allo studio del microbioma del suolo;
- La capacità di impiegare simbiosi micorriziche per incrementarne la fertilità del suolo;
- La capacità di descrivere l'ecologia microbica delle vinificazioni partendo dall'uva fino all'affinamento del vino;
- La capacità analitica di valutare la qualità tecnologica delle uve e le caratteristiche chimiche, chimico-fisiche e sensoriali dei vini ottenuti;
- La capacità di tecnico-scientifica di supportare le due aziende partner nella realizzazione del piano sperimentale.

Infine, le due aziende partecipanti al progetto sono localizzate in aree soggette, negli ultimi anni, ad importanti variazioni dell'andamento climatico come del resto l'intera Toscana. I cambiamenti climatici rappresentano un fattore di forte rischio per la viticoltura di qualità: il progetto potrebbe ridurre tali effetti senza la necessità di interventi irrigui.

Le due aziende presentano tipologie di terreno estremamente diverse in modo verificare l'applicabilità in diverse condizioni.

SEZIONE II - PROPOSTA DI PROGETTO

4. Relazione introduttiva sullo stato dell'arte della ricerca e bibliografia relativa alla tematica oggetto dell'innovazione proposta

4.1 Stato dell'arte della ricerca che supporta l'innovazione proposta: fornire un quadro complessivo ed esaustivo (*max 2 pagine*)

I cambiamenti climatici in atto, la necessità di ridurre gli input esterni in agricoltura e il mantenimento delle caratteristiche tipiche dei prodotti hanno portato ad un rinnovato interesse per la salute biologica del suolo dei vigneti. Tale interesse è stimolato e guidato in parte dai progressi nella ricerca legati all'analisi dei microbiomi radicali. Le moderne tecniche di sequenziamento infatti sono in grado di fornire importanti informazioni capaci di rivedere e aggiornare ciò che sappiamo sui principali componenti del microbioma radicale della vite, i funghi micorrizici arbuscolari (AMF) (Massa et al., 2020).

I AMF sono importanti simbionti radicali della vite capaci di migliorare l'assorbimento dei nutrienti dal suolo (in particolare il fosforo e altri ioni meno mobili), lo stoccaggio del carbonio nel suolo, il mantenimento della stabilità degli aggregati e l'aumento della tolleranza alla siccità e agli agenti patogeni (Agnolucci e al., 2020). I AMF sono così chiamati perché formano all'interno delle cellule radicali della pianta una struttura nota come arbuscolo. Queste strutture sono responsabili dello scambio di nutrienti tra la pianta e il fungo. Gli arbuscoli sono collegati a una sottilissima ed estremamente diffusa rete di ife fungine (dette ife extraradicali) le quali colonizzano il suolo raggiungendo anche spazi che, per dimensioni, sono preclusi alle radici. Queste ife assorbono acqua e sostanze nutritive per il fungo e la pianta. Alcuni AMF producono inoltre strutture note come vescicole che hanno un ruolo nella conservazione dei nutrienti.

La vite risponde positivamente all'inoculo con AMF. Già dalla fine degli anni '80 studi in condizioni controllate hanno dimostrato che viti inoculate con AMF avevano una maggiore biomassa aerea e radicale (Shubert et al., 1998; Biricolti et al., 1997), un maggiore contenuto in fosforo (Biricolti et al. 1997), un apparato radicale più compatto e ramificato rispetto alle viti non inoculate (Schellenbaum et al. 1991), una maggiore concentrazione di Fe e clorofilla nelle foglie (Beverasco e et al., 1996), un maggior tasso fotosintetico (Beverasco et al., 2003) ed una più alta quantità di N, P, Mn, e Cu nelle foglie (Biricolti et al., 1997, Nikolaou et al, 2003). In prove di campo, viti inoculate con AMF mostravano una resa significativamente maggiore e una migliore qualità dell'uva (Nicolas et al 2015; Martín et al., 2017), oltre ad un incremento del contenuto in fenoli e quercetina nelle foglie (Eftekhari et al., 2000). D'altro canto pratiche agricole invasive possono alterare fortemente le comunità AMF. In campo è stato dimostrato come viti cresciute in terreno fumigato, quindi privo di inoculi AMF, crescono gravemente rachitiche (Menge et al. 1983) e l'effetto di tali fumigazioni possono persistere producendo una riduzione di diversità dei AMF per diversi anni (Cheng and Baumgartner 2004).

La vite è altamente sensibile alle condizioni locali e alle pratiche agronomiche con conseguente produzione di uva e di vino con specifiche caratteristiche che, utilizzando la definizione data dall'Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino (OIV), corrisponde al "terroir". I AMF, essendo l'interfaccia della vite con il suolo possono contribuire in modo significativo al "terroir" dei vini. Da qui l'importanza per le Aziende vitivinicole di conoscere la struttura delle comunità AMF autoctone che caratterizzano il proprio vigneto e valutare l'effetto dell'applicazione di preparati AMF sulla produttività in termini quali-quantitativa delle uve e sulla trasformazione di queste in vino.

La letteratura scientifica ha dimostrato l'effetto positivo sulla vite di inoculi AMF anche se la maggior parte di questi studi sono stati condotti in condizioni pedoclimatiche controllate, dove le viti sono state inoculate e piantate in vaso. Solo poche ricerche sono state condotte in condizioni di vigna (Camprubi et al., 2008, Nogales et al., 2009, Schreiner 2003) o hanno considerato la composizione chimica delle uve (Karagiannidis et al., 2007, Torres et al., 2016-2018). Nessuna di queste ricerche, a nostra conoscenza, ha ancora valutato gli effetti delle modificazioni dovute all'inoculo con AMF sulla trasformazione dell'uva in vino ad eccezione di unico lavoro in cui è stato dimostrato che i vini ottenuti da vitigni di Sangiovese micorrizati avevano sia una migliore stabilità ossidativa, sia un livello significativamente maggiore di composti bioattivi rispetto a quelli convenzionali (Gabriele et al., 2016). Poche però in questo lavoro sono le informazioni relative all'effettiva composizione polifenolica e antocianinica dei vini sperimentali e sono completamente assenti le valutazioni sugli aspetti sensoriali. Infine, ad oggi non è mai stato indagato l'impatto sulle cinetiche fermentative di uve ottenute da vigne trattate o meno con preparati che consentono di arricchire il suolo con AMF. Per le Aziende vitivinicole però diventa fondamentale verificare non solo l'effettivo impatto di questi preparati sulla qualità dell'uva, ma anche sul vino ottenuto da esse per poter fare scelte consapevoli relativamente all'uso o meno di certe strategie agronomiche. Quest'ultimo aspetto è di fondamentale importanza in Toscana per la qualità dei suoi vini e per ragioni storiche e economiche legate a questa produzione. In conclusione, la realizzazione di questo progetto consentirà di verificare l'impatto sul vino dell'impiego in vigna di preparati AMF contestualizzandolo nella realtà produttiva e negli ambienti pedoclimatici Toscani. Questo aprirà la strada all'introduzione di un'innovazione nel sistema di gestione della vigna nell'ottica non solo del miglioramento della qualità del vino, ma anche della sostenibilità delle produzioni.

Bibliografia

- Agnolucci et al., 2020. Health-promoting properties of plant products: The role of mycorrhizal fungi and associated bacteria. *Agronomy* 10: 1864
- Bavaresco e Fogher 1996. Lime-induced chlorosis of grapevine as affected by rootstock and root infection with arbuscular mycorrhiza and *Pseudomonas fluorescens*. *Vitis*, 35, 119-123.
- Bavaresco et al., grapevine iron-chlorosis occurrence and stilbene root concentration as affected by the rootstock and arbuscular mycorrhizal Infection. *Acta Hort.* 2003, 603, 401-410.
- Biricolti et al., 1997. VAM fungi and soil lime content influence rootstock growth and nutrient content. *Am. J. Enol. Vitic.*, 48, 93-99.
- Camprubi et al., 2008. Response of the grapevine rootstock Richter 110 to inoculation with native and selected arbuscular mycorrhizal fungi and growth performance in a replant vineyard. *Mycorrhiza*, 18, 211-216.
- Cheng, X. e K. Baumgartner. 2004. Survey of arbuscular mycorrhizal fungal communities in Northern California vineyards and mycorrhizal colonization potential of grapevine nursery stock. *HortScience* 39:1702-1703.
- Eftekhari Met al., 2012 Evaluation of the total phenolics and quercetin content of foliage in mycorrhizal grape (*Vitis vinifera* L.) varieties and effect of postharvest drying on quercetin yield. *Ind. Crop. Prod.* 38, 160-165.
- Gabriele, et al., 2016 The impact of mycorrhizal fungi on Sangiovese red wine production: Phenolic compounds and antioxidant properties. *LWT-Food Sci. Technol.*, 72, 310-316.
- Karagiannidis et al., 2007 Effects of different N fertilizers on the activity of *Glomus mosseae* and on grapevine nutrition and berry composition. *Mycorrhiza*, 18, 43-50.
- Martinet al., 2017 Application of arbuscular mycorrhizae *Glomus iranicum* var. *tenuihypharum* var. nova in intensive agriculture: a study case. *J. Agric. Sci. Technol. B*, 7, 221-247.
- Massa et al., (2020). AMF communities associated to *Vitis vinifera* in an Italian vineyard subjected to integrated pest management at two different phenological stages. *Scientific Reports* volume 10: 9197
- Menge et al., 1983. Interactions between mycorrhizal fungi, soil fumigation, and growth of grapes in California. *Am. J. Enol. Vitic.* 34:117-121.
- Nicolas et al., 2015. Effectiveness and persistence of arbuscular mycorrhizal fungi on the physiology, nutrient uptake and yield of Crimson seedless grapevine. *J. Agric. Sci.*, 153, 1084-1096. [
- Nikolaou et al., 2003 Effects of drought stress on mycorrhizal and non-mycorrhizal Cabernet sauvignon grapevine, grafted onto various rootstocks. *Exp. Agric.*, 39, 241-252.
- Nogales et al., 2009. Differential growth of mycorrhizal field-inoculated grapevine rootstocks in two replant soils. *Am. J. Enol. Vitic.*, 60, 484-489.
- Schreiner 2003. Mycorrhizal colonization of grapevine rootstocks under field conditions. *Am. J. Enol. Vitic.*, 54, 143-149.
- Schubert et al., 1988. Growth and root colonization of grapevines inoculated with different mycorrhizal endophytes. *HortScience* 23:302-303.

Schellenbaum et al., 1991. Influence of endomycorrhizal infection on root morphology in a micropropagated woody plantspecies (*Vitis vinifera* L.). *Ann. Bot.* 68:135-141.
 Torres et al., 2018. Arbuscular mycorrhizal symbiosis as a promising resource for improving berry quality in grapevines under changing environments. *Front. Plant Sci.*, 9, 897.
 Torres et al, 2018 Influence of irrigation strategy and mycorrhizal inoculation on fruit quality in different clones of Tempranillo grown under elevated temperatures. *Agric. Water Manag.*, 202, 285–298.
 Torres et al., 2016. Berry quality and antioxidant properties in *Vitis vinifera* cv. Tempranillo as affected by clonal variability, mycorrhizal inoculation and temperature. *Crop Pasture Sci.*, 67, 961–977.

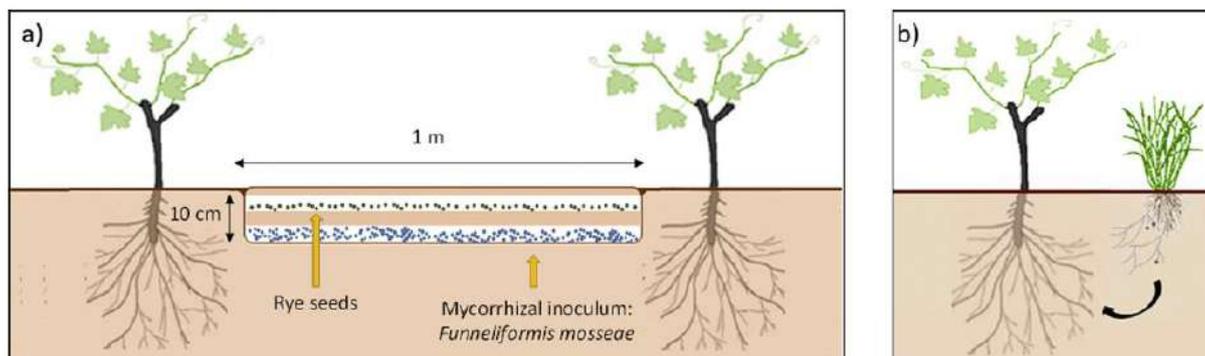
4.2 Illustrazione degli aspetti innovativi della proposta rispetto alla situazione attuale (deve essere chiara la ricaduta sul settore produttivo di riferimento) (max 2 pagine)

La vite è una delle più importanti piante in termini economici e culturali per il nostro paese e soprattutto per la regione Toscana che può essere influenzata dai microrganismi del suolo e in particolare dai AMF per la normale crescita e sviluppo. Tuttavia, i suoli dei vigneti possono avere una bassa abbondanza e diversità di AMF per una gestione convenzionale del suolo che vede l'impiego di concimi minerali o pratiche agronomiche dannose per questi funghi.

Per compensare l'impatto negativo di pratiche agronomiche invasive e ristabilire il potenziale micorrizico nei suoli agricoli, due strategie possono essere utilizzate: 1) inoculazione pianta/soilo con specie AMF selezionate e/o 2) adozione di pratiche sul campo che valorizzino le popolazioni indigene di AMF. L'applicazione di colture di copertura è una pratica sostenibile di gestione del suolo che promuove la proliferazione delle comunità micorriziche naturali. Inoltre, le colture di copertura sono un'alternativa agli erbicidi e alla lavorazione del suolo per il controllo delle erbe infestanti e forniscono una serie di benefici al suolo, prevenendo l'erosione, migliorando la capacità di ritenzione idrica e i tassi di infiltrazione e aumentando il suolo materia organica e biodiversità complessiva. Inoltre, le ife micorriziche provenienti da colture di copertura possono colonizzare le radici delle colture da reddito e formare legami micorrizici tra le due specie, favorendo il trasferimento di nutrienti (Nogales et al., 2021).

Nel presente progetto, combinando entrambe le strategie sopra citate, ci poniamo l'obiettivo di valutare il ruolo di funghi micorrizici sulle performance di vigneti Toscani, in termini di quantità ma soprattutto di qualità tecnologica e microbiologica dell'uva prodotta.

Saranno impiegati un inoculo commerciale e un inoculo costituito da funghi micorrizici selezionati in Toscana in combinazione con la coltivazione di colture di copertura inoculate con AMF. Queste ultime permetteranno l'incremento del potenziale micorrizico del suolo, in quanto combinano i vantaggi di una vigorosa moltiplicazione in situ di inoculo proveniente dalle piante micorriziche donatrici con i benefici dovuti alle colture di coperture sulla qualità dell'uva, diversità microbica e salute del suolo.



Un altro aspetto innovativo del progetto MiSalVI sarà quello di mettere in relazione l'incremento del potenziale micorrizico del vigneto con le caratteristiche chimiche e sensoriali dei vini ottenuti dalle uve da esso prodotte. Per fare ciò saranno vinificate separatamente le uve ottenute dalle viti trattate con le diverse strategie di micorrizzazione e saranno confrontati gli andamenti fermentativi in termini microbiologici e chimici (quantificazione di substrati e prodotti del metabolismo microbico). Gli aspetti microbiologici sono fondamentali in quanto il microbiota delle uve e la capacità del mosto da esse ottenuto di supportare la crescita di *Saccharomyces cerevisiae* fino al termine della fermentazione alcolica possono influenzare in maniera determinante la qualità del vino. Al termine dei processi fermentativi, i vini ottenuti saranno poi confrontati prendendo in esame, oltre alle caratteristiche sensoriali, anche i profili antocianinici e polifenolici. Queste molecole sono particolarmente importanti nei vini di qualità perché hanno un ruolo nella definizione del colore, possono influenzare le caratteristiche sensoriali del vino (amaro e astringenza) ed infine possiedono capacità antiossidanti che sono importanti per proteggere il vino dalle ossidazioni durante l'invecchiamento.

Inoltre, il progetto può ritenersi innovativo e particolarmente attuale per il mercato degli Inoculanti microbici. Tale mercato infatti è in rapida crescita e molte multinazionali continuano ad investire influenzando questo mercato, tra queste ricordiamo Bayer, DuPont, Novozymes, Advanced Biological, GreenMax AgroTech, Monsanto, MBFi, BASF, Becker Underwood, Premier Tech, Compost Junkie, EMNZ, Verdesian Life Sciences. Accanto a queste molti istituti di ricerca e aziende nazionali propongono inoculi microbici utili (esempi di ditte nazionali che producono/commercializzano inoculi micorrizici UMACO, Prime Evolution, CCS, MS Biotech). Pertanto, i risultati ottenibili con MiSalVI non avrà solo una ricaduta sulla viticoltura della nostra regione ma potrà anche fornire le conoscenze necessarie allo sviluppo di nuovi preparati per l'agricoltura sostenibile pensati tenendo conto delle caratteristiche pedoclimatiche Toscane.

Bibliografia

Nogales A., Rottier E., Campos C., Victorino G., Costa J. M., Coito J. L., Pereira H. S., Viegas W., Lopes C. 2021. The effects of field inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi through rye donor plants on grapevine performance and soil properties. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 313 107369

5. Descrizione della proposta progettuale

5.1 Illustrazione del/degli obiettivo/i del progetto: specifici, misurabili, coerenti tra di loro e con la priorità e focus area 2.a (max 1 pagina)

La presenza della simbiosi micorrizica determina nelle piante una maggiore efficienza di assorbimento di acqua e di nutrienti dovuta all'aumentata superficie disponibile garantita dal micelio fungino. In particolare viene favorito l'assorbimento di macroelementi come fosforo, azoto e potassio ma anche di microelementi quali rame, zinco e ferro, che vengono ceduti dal fungo alla pianta in cambio di zuccheri. I benefici che le micorrize apportano alla pianta non si concretizzano solamente nei confronti dell'assorbimento dei nutrienti. Infatti i funghi micorrizici arbuscolari (AMF) sono capaci di aumentare la tolleranza di piante micorrizzate verso stress di natura biotica o abiotica, come ad esempio una maggiore resistenza alla siccità, alla salinità o allo stress da trapianto. Visti i problemi relativi al cambiamento climatico in termini di minor acqua disponibile, e vista l'esigenza di rendere più sostenibili i processi produttivi limitando l'uso

di concimi chimici, la possibilità di facilitare la presenza di micorrize nel suolo dei vigneti sembra essere una soluzione percorribile. Pertanto l'obiettivo di questo progetto sarà quello di verificare l'efficacia di una strategia che preveda di inoculare in vigneto funghi AMF mediante piante donatrici per incrementare le prestazioni delle viti in termini di qualità dell'uva e del vino da essa ottenuto. Alla fine del progetto le due Aziende partner potranno verificare l'effettiva efficacia dell'innovazione introdotta volta ad arricchire il suolo delle loro vigne, compensando l'impatto negativo che possono aver avuto pratiche agronomiche più o meno invasive utilizzate negli anni, ed a promuovere la proliferazione delle comunità micorriziche naturali favorendo la biodiversità. Inoltre, la possibilità di valutare l'impatto di un suolo arricchito senza l'impiego di concimi chimici sulla qualità tecnologica delle uve e su quella sensoriale del vino da esse ottenuto, consentirà alle Aziende partner di avere una visione globale sul possibile vantaggio della strategia proposta. Infine, i risultati ottenuti saranno di utilità per tutte le Aziende vitivinicole del territorio Toscano che potranno sfruttare le conoscenze acquisite per accrescere le performance dei loro vigneti approcciandosi ad un sistema di gestione della vigna non solo più consapevole, e quindi necessariamente più vantaggioso, ma anche più etico nell'ottica di una agricoltura sostenibile.

5.2 Descrizione della coerenza tra problema/opportunità individuata nel progetto e tematiche definite al par.3.2 del bando (max 1 pagina)

La necessità di valorizzare e mantenere competitivi i vini tipici Toscani minacciati dai cambiamenti climatici in atto e la necessità di ridurre in vigna l'impiego di input esterni per rendere le produzioni non solo più sostenibili ma anche più salubri, hanno portato ad un rinnovato interesse verso strategie innovative alla gestione della fertilità del suolo. In questo contesto si inserisce il presente progetto il cui scopo è quello di verificare la possibilità di accrescere la fertilità del vigneto inoculando funghi micorrizici arbuscolari mediante piante donatrici. L'efficacia di questo sistema sarà valutato prendendo in esame la qualità dell'uva e del vino da essa ottenuto. La realizzazione del presente progetto offrirà alle Aziende Toscane l'opportunità di verificare l'efficacia di un approccio innovativo alla gestione della vigna e le sue ricadute in termini di sostenibilità delle produzioni e di qualità dei prodotti ottenuti.

5.3 Azioni progettuali

Descrizione consequenziale delle azioni progettuali. Per ogni azione deve essere inoltre indicato il singolo soggetto attuatore (max 8 pagine)

Le azioni progettuali previste nei due anni di attività saranno le seguenti:

Azione 1. Coordinamento

Azione 2: Preparazione dell'inoculo micorrizico autoctono toscano

Azione 3. Lavorazione e semina degli interfilari delle vigne del piano sperimentale

Azione 4. Monitoraggio microbiologico su campioni di suolo

Azione 5. Analisi delle uve sperimentali

Azione 6. Microvinificazioni delle uve sperimentali

Azione 7. Analisi sensoriali sui vini sperimentali

Azione 8. Divulgazione dei risultati ottenuti

A sua volta ogni azione principale è suddivisa in azioni specifiche (A).

Azione 1. Costituzione ATS, Coordinamento e rendicontazione

A1.1. Costituzione ATS Food Micro team

Nell'ambito del progetto il capofila si occuperà della redazione della bozza di ATS da sottoporre ai partners e successiva stipula di atto notarile.

A.1.2. Coordinamento della sperimentazione (DAGRI UNIFI– Prof.ssa Lisa Granchi)

Il coordinamento delle attività consisterà nella definizione pratica e nel supporto tecnico alle sperimentazioni realizzate nelle due Aziende, nella raccolta dei dati analitici prodotti dai vari partner ed infine nell'organizzazione di incontri per discutere i risultati ottenuti e le eventuali correzioni al piano sperimentale necessari al raggiungimento dello scopo finale.

A1.3 Coordinamento e rendicontazione D.R.E.Am. Italia

Vista l'esperienza maturata in numerosi progetti la Dream Italia si occuperà di:

- Definizione dei gruppi di lavoro e dei responsabili del coordinamento di tali gruppi;
- Pianificazione dei tempi intermedi e finali per il raggiungimento degli obiettivi e lo svolgimento delle attività;
- Organizzazione e animazione delle riunioni, almeno 4 nei due anni di progetto; di coordinamento delle attività e verifica in itinere dei risultati;
- Verifica dell'attuazione dei singoli interventi;
- Gestione della comunicazione all'interno dell'ATS e condivisione delle informazioni relative al progetto, da realizzarsi anche attraverso l'utilizzo di piattaforme web;
- Predisposizione dei rapporti di monitoraggio sullo stato di avanzamento delle attività del progetto;
- Raccolta della documentazione tecnica e predisposizione delle relazioni di progetto;
- Partecipazione ed integrazione con la Rete PEI Europea e attività networking e sviluppo di sinergie con altri progetti finanziati dall'UE.

La D.R.E.Am Italia si occuperà inoltre della presentazione della domanda di aiuto e della rendicontazione del progetto in collaborazione con gli altri partner.

Azione 2. Realizzazione del preparato micorrizico autoctono toscano

A2.1 Preparazione dell'inoculo micorrizico (DISAAA UNIPI - Proff. Monica Agnolucci, Alessandra Turrini, Luciano Avio)

Gli inoculi di funghi micorrizici arbuscolari (AMF) autoctoni toscani che saranno utilizzati nell'ambito del presente progetto sono stati isolati nei laboratori di Microbiologia Agraria del DISAAA-a UNIPI dai suoli della Riserva della Biosfera UNESCO Selve costiere di Toscana, in un sito particolare, tutelato all'interno del CiRAA – Centro di Ricerche Agro-Ambientali "Enrico Avanzi", Università di Pisa, denominato "Riserva della Biodiversità dei Funghi Micorrizici". La Riserva è considerata uno degli "hot spot" mondiali di biodiversità di questi simbionti (Njeru et al., Biol Fertil Soils (2015) 51 :151-166 DOI 10.1007/s00374-014-0958-z). La grande biodiversità di questo sito è dovuta al fatto che è rimasto incolto per molti anni e al particolare ambiente mediterraneo, dove coesistono specie caratteristiche di climi temperati e sub-tropicali.

Il materiale biologico costituito da radici micorrizzate, micelio e spore dei suddetti isolati di funghi micorrizici arbuscolari, sarà moltiplicato in colture in vaso (pot-culture) fino ad ottenere un buon livello di potenziale di inoculo micorrizico. Durante la coltura degli AMF dovrà essere eseguito un monitoraggio dell'attività dell'inoculo tramite la determinazione del potenziale di inoculo micorrizico (MIP) e grado di colonizzazione radicale delle piante utilizzate per la moltiplicazione dell'inoculo. Inoltre, per determinare la qualità dell'inoculo prodotto, ed escludere la presenza di contaminanti, dovrà essere eseguita la caratterizzazione molecolare (DNA) del microbiota fungino micorrizico, tramite primers specifici per i *Glomeromycota* relativi alla regione variabile V3-V4 del gene 18S rRNA. L'utilizzo dell'inoculo AMF autoctono toscano (**Formulazione 2**) sarà effettuato in associazione con le colture di copertura utilizzate come piante donatrici nella prova sperimentale in vigneto.

Azione 3. Allestimento delle vigne in entrambe le aziende vitivinicole.

A.3.1 (Piccini Monia) e A3.2 (Lorenzo Miceli) Lo scopo del presente progetto sarà quello di verificare la possibilità di arricchire il microbiota del suolo di due vigneti combinando due strategie differenti: (1) impiegare appositi preparati contenenti micorrize da distribuire nel suolo, (2) seminare colture di copertura interfilare capaci di promuovere la proliferazione delle comunità micorriziche. Come pianta donatrice sarà utilizzato un mix di sementi. e saranno testati per l'inoculo delle micorrize due preparati differenti, un preparato commerciale (RIZOTECH PLUS GLOMUS + BACILLUS SPP. Of Msbiotech) e un preparato realizzato e fornito dall'Università di Pisa che contiene micorrize dell'areale Toscano.

In occasione del **primo anno** di attività del progetto, la porzione di vigna di ciascuna azienda su cui sarà svolta l'attività dovrà essere suddivisa in due blocchi composti da dodici filari ciascuno, preferibilmente adiacenti. Ogni blocco sarà suddiviso in quattro appezzamenti, costituiti da 3 filari di vigneto (Figura 1). Quindi, le tesi realizzate nei 4 appezzamenti di entrambi i blocchi saranno: il controllo negativo ("C-") cioè i filari senza pianta donatrice, il controllo positivo ("C+") cioè i filari con pianta donatrice non inoculata, i filari con pianta donatrice inoculata con il preparato commerciale RIZOTECH PLUS GLOMUS + BACILLUS SPP. Of Msbiotech (**Formulazione 1**), i filari con pianta donatrice inoculata con un preparato realizzato e fornito dall'Università di Pisa che contiene micorrize dell'areale Toscano (**Formulazione 2**). I simboli indicati in figura 1 rappresentano i punti di campionamento nei quali saranno prelevati i campioni di terreno che saranno analizzati secondo quanto riportato nella "Azione 3".

Il **secondo anno** di progetto invece saranno prese in esame solo due tesi: il controllo negativo ("C-": vite senza pianta donatrice) e il controllo positivo ("C+": vite con pianta donatrice non inoculata). In questo modo sarà possibile verificare se l'uso dei due preparati il primo anno di progetto abbia o meno favorito l'instaurarsi di una popolazione di micorrize stanziale.

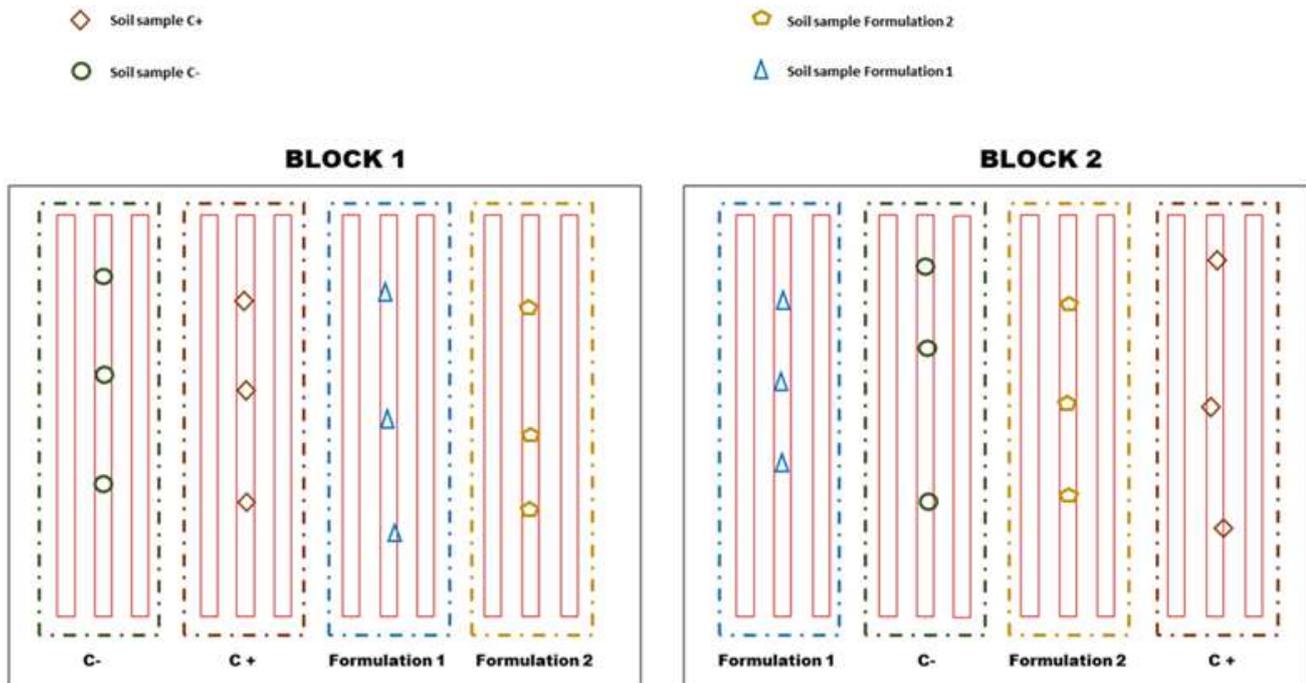


Fig. 1: due porzioni di vigneto che ciascuna Azienda allestirà per il progetto

Azione 4. Monitoraggio microbiologico su campioni di suolo

A4.1 Metagenomica su campioni di suolo. (DAGRI UNIFI- resp. Prof Carlo Viti) *Primo anno.* Al termine del primo anno per ciascuna delle 4 tesi allestite nelle 2 aziende saranno analizzati 3 campioni di suolo (1 campione per ciascun filare) in duplicato per blocchi per un totale di 48 campioni. Saranno

utilizzati metodi di nuova generazione per la valutazione delle comunità fungine nelle differenti tesi utilizzando un approccio di metagenomica targeted. Dai campioni di suolo verrà estratto il DNA usando un apposito kit commerciale. La quantità e la qualità del DNA estratto saranno valutate tramite un saggio spettrofotometrico. Un test preliminare di amplificazione a diverse concentrazioni sarà effettuato per verificare l'assenza di inibizione. L'ITS (Internal Transcribed Spacer) sarà amplificato tramite reazione a catena della polimerasi (PCR) usando dei primers universali e saranno preparate le librerie per il sequenziamento, che sarà effettuato tramite piattaforma Illumina MiSeq. L'elaborazione bioinformatica delle sequenze ottenute sarà effettuata tramite USEARCH (Edgar R.C., (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26(19), 2460-2461) o tramite DADA2 (Callahan B.J., P.J. McMurdie, M.J. Rosen, A.W. Han, A.J.A. Johnson, S.P. Holmes, (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13, 581–583). L'assegnazione tassonomica sarà effettuata confrontando le sequenze rappresentative con le sequenze contenute in un database di riferimento. I dati tassonomici saranno utilizzati per calcolare le abbondanze relative delle popolazioni fungine presenti e saranno calcolati degli indici di biodiversità (es. Dice e Bray Curtis). Saranno inoltre eseguite analisi statistiche multivariate (Hammer O., D.A.T. Harper, P.D. Ryan, (2001). PAST: Paleontological Statistics software packages for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), art4:9pp.) per individuare l'eventuale correlazione di specifiche popolazioni fungine alle condizioni testate.

Secondo anno. La stessa attività sarà svolta il secondo anno, saranno quindi analizzati 48 campioni.

A4.2 Monitoraggio del MIP dei suoli (DISAAA UNIPI - Proff. Monica Agnolucci, Alessandra Turrini, Luciano Avio)

Gli stessi campioni di suolo utilizzati per l'analisi metagenomica saranno analizzati per valutare il potenziale di inoculo micorrizico a seguito dei diversi trattamenti. Questa analisi sarà effettuata anche su campioni di suolo prelevati prima dell'allestimento della prova sperimentale.

Il saggio biologico MIP, eseguito per verificare l'attività dei propaguli degli AMF presenti nei campioni di suolo dei vigneti sottoposti a diversi trattamenti, sarà valutato utilizzando *Cichorium intybus* L. come pianta ospite. Dopo quattro settimane di coltura in cella climatica le radici delle piante test saranno sottoposte a colorazione differenziale per valutare la percentuale di colonizzazione micorrizica mediante il metodo gridline intersect (Giovannetti e Mosse, 1980).

Azione 5. Analisi delle uve

A.5.1. Analisi delle caratteristiche tecnologiche delle uve (FoodMicroTeam S.r.l.)

Primo anno. Per ciascuna delle 4 tesi allestite nelle 2 aziende saranno analizzati 2 campioni di uve prelevate al momento della vendemmia per un totale di 16 campioni. Il campionamento delle uve sarà eseguito in modo da essere rappresentativo delle diverse tesi e precisamente dal filare centrale di ciascuna tesi saranno individuati un numero significativo di grappoli distribuiti su tutta la lunghezza del filare. Da ciascuno di questi grappoli saranno prelevati da 3 a 5 acini avendo cura di sceglierli ad altezze diverse e con esposizioni al sole differenti. Ogni campione dovrà essere costituito da 500- 600g di uva. Le uve saranno poi portate in laboratorio e immediatamente analizzate mediante HPLC per quantificare i seguenti metaboliti: glucosio, fruttosio, acido malico, il profilo fenolico (identificazione e quantificazione di circa 30 composti) e il profilo antocianinico (identificazione e quantificazione di circa 10 composti). La definizione dei profili fenolici e antocianinici richiederà, prima dell'analisi mediante HPLC, un adeguato protocollo di estrazione. Saranno poi presi in esame l'acidità totale (determinata mediante titolazione), l'azoto prontamente assimilabile (azoto amminoacidico totale e l'azoto ammoniacale), che sarà quantificato con metodiche spettrofotometriche, il pH ed infine il peso medio degli acini. Tutte le determinazioni saranno eseguite in doppio e i risultati saranno forniti come media e deviazione standard delle due rilevazioni. Infine, i dati saranno elaborati statisticamente (analisi della varianza) per valutare eventuali differenze tra le diverse tesi.

Le stesse uve saranno poi analizzate microbiologicamente secondo quanto riportato al punto A.4.2.

Secondo anno. La stessa attività sarà svolta il secondo anno anche se le tesi sperimentali passeranno da 4 a 2 per ciascuna azienda secondo quanto riportato nella sezione A.2, riducendo così il numero di campioni di uva a 8.

A.5.2. Analisi microbiologica delle uve (DAGRI UNIFI - resp. Prof.ssa Lisa Granchi)

Primo e secondo anno. I campioni di uva presi in esame al punto 4.1 saranno analizzati microbiologicamente per descrivere il microbiota delle uve al momento della vendemmia. Più in dettaglio, dopo opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica, i campioni saranno seminati su piastre contenenti mezzi selettivi e differenziali per lieviti (WL agar con inibitori per muffe e batteri), batteri lattici (MRS agar in anaerobiosi), lieviti non-*Saccharomyces* (AL agar), muffe (PD Agar), batteri acetici (LF Agar). Tutte le piastre saranno incubate in termostato per 3-7 giorni a 30°C trascorsi i quali le colonie sviluppate saranno contate e sarà fornito il dato in UFC/g di uve. I microrganismi di interesse enologico saranno identificati a livello di specie mediante metodiche molecolari. Più in dettaglio, il metodo impiegato per identificare a livello di specie gli isolati di lievito sarà l'RFLP dell'rITS che prevede l'amplificazione della regione ITS del rDNA utilizzando primer universali, la successiva digestione dei prodotti di amplificazione con enzimi di restrizione e la corsa elettroforetica su gel di agarosio contenente un apposito colorante che si lega al DNA rendendolo visibile quando colpito da raggi UV. Al termine della corsa elettroforetica il gel illuminato con una lampada UV sarà fotografato con l'apposita telecamera e l'immagine sarà acquisita da un software dedicato di immagini. I profili di restrizione ottenuti saranno confrontati con quelli presenti nel Database del DAGRI per attribuire l'appartenenza dell'isolato alla specie. Per gli isolati di lievito i cui profili di restrizione non siano presenti nel Database, saranno amplificate e sequenziate le regioni D1/D2. I batteri invece saranno identificati mediante sequenziamento del gene 16S rDNA. Al termine dell'attività sarà possibile valutare l'impatto che hanno avuto le 4 tesi sulla microbiologia del grappolo. I dati ottenuti saranno messi in relazione con quelli ottenuti dalle precedenti azioni.

Azione 6. Microvinificazioni delle uve sperimentali**A6.1. Allestimento delle microvinificazioni in rosso (DAGRI UNIFI - resp. Prof.ssa Lisa Granchi)**

Primo anno. Con il mosto ottenuto dalle uve di ciascuna tesi saranno allestite microvinificazioni in rosso in appositi contenitori da 10 L. In totale quindi saranno allestite 8 microvinificazioni per ciascuna Azienda, per un totale di 16, che saranno inoculate con un unico ceppo commerciale di *Saccharomyces cerevisiae* in modo da standardizzare il più possibile il processo fermentativo. Lo starter sarà inoculato alla concentrazione prevista dalle istruzioni d'uso del preparato. Da ciascuna microvinificazione saranno prelevati giornalmente i volumi di mosto/vino da sottoporre ad analisi microbiologiche (A5.2) e chimiche (A5.3). Al termine della fermentazione alcolica il vino sarà stabilizzato in condizioni di refrigerazione. Secondo anno. Sarà ripetuta esattamente l'attività del primo anno, ma su 4 microvinificazioni (una per ciascuna delle tesi previste il secondo anno dal progetto) allestite per ciascuna Azienda, per un totale dunque di 8.

A6.2. Analisi microbiologiche e verifica della dominanza del ceppo inoculato (DAGRI UNIFI - resp. Prof.ssa Lisa Granchi)

Primo e secondo anno.

Analisi microbiologiche saranno svolte al fine di descrivere le cinetiche di crescita del ceppo starter di *S. cerevisiae* inoculato al momento dell'allestimento delle varie microvinificazioni. Più in dettaglio, dopo opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica, i campioni di mosto/vino prelevati quasi giornalmente saranno seminati su WL agar. I dati in UFC/mL ottenuti saranno impiegati per costruire le curve di crescita che saranno analizzate con l'equazione di Gompertz (tramite software Graphpad Prism) per ricavare fase lag, massima velocità di crescita e rendimento di crescita. I parametri di crescita così ottenuti per ciascuna microvinificazione saranno confrontati statisticamente tra loro (analisi della varianza) per verificare una eventuale differenza tra i vari mosti nel supportare la crescita di un ceppo di *S. cerevisiae* commerciale. Analisi molecolari saranno eseguite per verificare l'effettiva dominanza del ceppo inoculato. In particolare, un numero significativo di isolati, prelevati quando la fermentazione alcolica avrà raggiunto i $\frac{3}{4}$ degli zuccheri degradati, sarà caratterizzato mediante amplificazione (PCR end point) delle regioni interdelta del DNA. I profili ottenuti dalla corsa elettroforetica degli ampliconi saranno confrontati con quello dello starter inizialmente inoculato. E' importante prendere in esame questo aspetto in quanto se fossero presenti profili diversi da quelli del ceppo inoculato significherebbe

che ceppi indigeni sono riusciti a prendere il sopravvento rendendo più complessa l'interpretazione del risultato finale e in particolare la comprensione del ruolo svolto dalla qualità delle uve nel definire il decorso delle fermentazioni. Infine, sempre per lo stesso motivo, in tre-quattro punti del processo fermentativo saranno quantificati anche batteri lattici (MRS agar in anaerobiosi), lieviti non-*Saccharomyces* (AL agar) e batteri acetici (LF Agar).

A6.3. Analisi chimiche (FoodMicroTeam S.r.l.)

Primo e secondo anno. Gli stessi campioni analizzati microbiologicamente saranno analizzati chimicamente per quantificare substrati e prodotti del metabolismo microbico. I principali parametri presi in esame saranno glucosio, fruttosio, etanolo, acidi organici (acido acetico, lattico, malico), glicerina, acidità volatile, solforosa, azoto prontamente assimilabile (azoto amminoacidico totale e l'azoto ammoniacale). I risultati analitici saranno forniti combinando i risultati analitici ottenuti con l'HPLC e quelli ottenuti invece per via enzimatica allo scopo di incrementare la precisione analitica nella quantificazione di alcuni composti. L'analisi enzimatica sarà condotta utilizzando l'analizzatore *Hyperlab plus*, uno strumento che ottimizza e rende più efficienti queste tipologie di analisi. Tutti i campioni saranno analizzati in doppio e il dato sarà fornito come media e deviazione standard delle due determinazioni. I dati saranno poi utilizzati per costruire cinetiche di produzione o degradazione dei vari composti che saranno messe in relazione con le informazioni ottenute dalle analisi microbiologiche. Tutte le analisi saranno condotte in doppio.

Sugli svinati saranno determinati anche i profili antocianinici e polifenolici mediante analisi HPLC e il colore (intensità e tonalità) mediante analisi spettrofotometriche classiche.

Infine, analisi statistiche (analisi della varianza) saranno svolte per valutare la presenza di eventuali differenze significative tra i dati chimici ottenuti dalle varie tesi sperimentali.

Azione 7. Analisi sensoriali sui vini sperimentali (FoodMicroTeam S.r.l.)

A7.1. Per la caratterizzazione sensoriale dei vini ottenuti il **primo e il secondo anno**, sarà convocata una riunione composta dal personale delle due cantine, del DAGRI e di FoodMicroTeam. Queste persone utilizzeranno una scheda (messa a punto appositamente e ispirata a schede OIV) e ai degustatori sarà fornita la spiegazione dei seguenti descrittori (che possono essere utilizzati in scala da 1 a 5):

Limpidezza: misura della torbidità. Questo descrittore consente di valutare l'intensità della torbidità del vino.

Aspetto: valutazione dell'intero spettro delle proprietà visibili di un prodotto. Questo descrittore valuta l'intensità, il colore principale del prodotto, le sue sfumature (colori secondari), la sua viscosità (non tenendo conto della sua limpidezza).

Franchezza: valutazione del grado di sensazione percepita, al naso o al gusto, di un difetto del prodotto. Questo descrittore consente al degustatore di valutare la pulizia del vino. Nel penalizzare la genuinità, l'assaggiatore dovrà essere in grado di identificare i difetti che percepisce al naso o al gusto. Allo stesso modo si classifica l'intensità del sapore che si percepisce dopo aver messo in bocca il campione.

Intensità aromatica: Grado (magnitudo) della gamma di odori positivi percepiti al naso e al gusto. Questo descrittore permette di valutare l'influenza dello spettro delle percezioni olfattive e gustative che contribuiscono a migliorare la percezione qualitativa percepita al naso e al gusto. Allo stesso modo si classifica l'intensità del sapore che si percepisce dopo aver messo in bocca il campione.

Impressione generale (giudizio generale): corrisponde alla valutazione globale di un prodotto. Questo descrittore consente al degustatore di esprimere l'impressione che il prodotto lascia complessivamente.

Questo dà la possibilità di una classificazione alta o bassa. Secondo le informazioni fornite agli assaggiatori, questo descrittore permette anche l'analisi della difficile questione della tipicità.

I dati ottenuti saranno elaborati statisticamente mediante analisi delle componenti principali.

Azione 8. Divulgazione dei risultati ottenuti

A8.1- *Collegamento permanente tra staff scientifico e le due Aziende – (DREAM)*

Al fine di divulgare i risultati acquisiti durante lo svolgimento del progetto, è prevista la realizzazione di una serie integrata e coordinata di eventi, strumenti e prodotti.

Un ruolo più mirato di diffusione e informazione delle tematiche del progetto sarà ricoperto dalla realizzazione di: 2 Presentazioni pubbliche della durata di 4 ore ciascuna.

Il primo evento, nelle fasi iniziali del progetto, servirà per far conoscere l'iniziativa, il partenariato, gli obiettivi prefissati e le metodologie che si intende impiegare per raggiungerli; il secondo, alla conclusione del percorso, servirà per valutare e illustrare i risultati ottenuti, per presentare l'esito delle sperimentazioni e delle attività condotte su ciascuna delle aree sperimentali con l'obiettivo di informare circa le criticità emerse e le soluzioni individuate e implementate. I relatori saranno le persone coinvolte nel progetto con le rispettive specifiche attività di studio e di ricerca. Per la promozione e diffusione di tali incontri si ricorre alla realizzazione di una locandina che verrà diffusa tramite invito mail e social media.

La sede di entrambi gli eventi è da definire ma potrebbero essere realizzati presso una manifestazione vitivinicola (es. Anteprime o similari).

Campagna social media: verrà creato un profilo Facebook del progetto tramite il quale verranno diffuse informazioni generali e lo stato di avanzamento delle attività in programma, nonché i risultati. La presenza social sarà anche un'occasione per creare una rete tra i possibili stakeholders e diffondere gli inviti agli eventi in programma. Grazie alla rete i post potranno essere condivisi e raggiungere un numero più ampio di persone.

Sito web: l'asse pivotale della divulgazione del progetto sarà il sito web. Appositamente creato in maniera condivisa sin dalle fasi iniziali del progetto nella sua generalità e costantemente aggiornato durante tutto l'arco del suo intero svolgimento, racchiuderà informazioni sui partner, sugli obiettivi prefissati, le strategie adottate, i risultati attesi e raggiunti. Attraverso il sito, inoltre, verranno divulgati gli inviti agli eventi in programma. Il sito fungerà quindi da "piattaforma" nella quale inserire, con la quale promuovere e diffondere, e sulla quale analizzare e "dibattere", tutte le azioni costituenti il Piano ed i loro specifici contenuti e prodotti, non solo attraverso testi, ma anche immagini e filmati.

5.4 Azioni del progetto e relativi costi

Ogni azione è contraddistinta dal numero progressivo attribuito nel paragrafo precedente

Azione N.	Titolo dell'azione	Importo totale azione	Importo azione per tipologia di attività (*)		Importo tipologia di attività per voce di spesa (**)
A1.1	Costituzione ATS	593,21	a	593,21	1 593,21
			b		
			c		
			d		
			e		
			f		
			g		
A1.2	Coordinamento della sperimentazione	2.208	a	2.208	3-1.920 9-288
			b		
			c		
			d		
			e		
			f		
			g		

A1.3	Coordinamento e rendicontazione	10.062,50	a	10.062,50	3 – 8.750,00 9 – 1.312,50
			b		
			c		
			d		
			e		
			f		
			g		
A2.1	Preparazione dell'inoculo micorrizico	6.839,38	a		
			b		
			c		
			d		3 dipendente- 4.944,00 9-741,6 5- 1153,78
			e		
			f		
			g		
A3.1	Lavorazione e semina degli interfilari delle vigne del piano sperimentale nell'Azienda 1	12.496,84	a		
			b		
			c		
			d		
			e		
			f	10.821,98	2-1.500 3-6.053,9 5-2.360,00 9-908,08
			g	1674,86	3-1.456,4 9- 218,46
A3.2	Lavorazione e semina degli interfilari delle vigne del piano sperimentale nell'Azienda 2	14.400,38	a		
			b		
			c		
			d		
			e		
			f	12.275,52	2-1.500 3-7.709,10 5-2.360,00 9-1.156,37
			g	1.674,86	2-1.456,4 9- 218,46
A4.1	Metagenomica su campioni di suolo	58.281,00	a		
			b		
			c		
			d		3 dipendente- 7.884 3-non dipendente 30.000 9-5670 5- 14.727
			e		
			f		
			g		
A4.2		6.574,65	a		
			b		
			c		

	Monitoraggio del MIP dei suoli		d	3 dipendente- 4.752,00 9-712,8 5- 1.109,85
			e	
			f	
			g	
A5.1	Analisi delle caratteristiche tecnologiche delle uve	10.272,30	a	
			b	
			c	
			d	3 dipendente- 8.700,00 9-1.305,00 5- 267,3
			e	
			f	
			g	
A5.2	Analisi microbiologica delle uve	12.784,00	a	
			b	
			c	
			d	3 dipendente- 960 9-144 3-non dipendente 9.300 9-1395 5- 985
			e	
			f	
			g	
A6.1	Allestimento delle microvinificazioni in rosso	3.956,00	a	
			b	
			c	
			d	3 dipendente- 960 9-144 3-non dipendente 2.480 9-372
			e	
			f	
			g	
A6.2	Microvinificazioni: analisi microbiologiche e verifica della dominanza del ceppo inoculato	20.689,22	a	
			b	
			c	
			d	3 dipendente- 960 9-144 3-non dipendente 15.500 9-2325 5- 1760,22
			e	
			f	
			g	
A6.3	Microvinificazioni: analisi chimiche	22.638,70	a	
			b	
			c	
			d	3 dipendente- 17.400,00 9-2.610,00 5- 2.628,7
			e	

			f		
			g		
			b		
			c		
			d		
			e		
			f		
			g		
A7.1	Analisi sensoriali sui vini sperimentali	4.669,00	a		
			b		
			c		
			d		3 dipendente- 4.060 9-609,00
			e		
			f		
			g		
A8.1	Divulgazione dei risultati ottenuti	18.245,50	a		
			b		
			c		
			d		
			e		
			f		
			g	18.245,50	3-14.090,00 4-2.042,00 9-2.113,50
Totali per tipologia di attività		204.722,56	a		
			b		
			c		
			d		
			e		
			f		
			g		
Costi indiretti (costo forfettario pari al 15% calcolato sul totale della voce di spesa n. 3)					22.399,70
TOTALE PROGETTO					204.722,56

(*) tipologie di attività:	<p>a. costituzione, funzionamento, gestione e coordinamento del partenariato di progetto;</p> <p>b. studi preliminari e di contesto che comprendono l'analisi dei fabbisogni, studi di fattibilità, indagini di marketing;</p> <p>c. animazione del partenariato;</p> <p>d. attività specifiche finalizzate all'innovazione, che non possono essere ricondotte alle altre attività previste dal presente bando;</p> <p>e. progettazione per la realizzazione di prototipi, per la realizzazione di test e prove, per la messa a punto di nuovi prodotti, nuovi processi, nuovi servizi;</p> <p>f. realizzazione di test e prove;</p> <p>g. divulgazione dei risultati ottenuti (convegni, seminari, visite in campo, pubblicazioni, sito web progetto, focus groups, newsletter, social media).</p>
(**) voce di spesa:	<p>1. spese generali;</p> <p>2. investimenti immateriali;</p> <p>3. personale dipendente e non dipendente coinvolto nella realizzazione del progetto;</p> <p>4. missioni e trasferte;</p> <p>5. beni di consumo e noleggi;</p> <p>6. attività obbligatorie di informazione e pubblicità;</p>

- | | |
|--|---|
| | <ol style="list-style-type: none">7. prototipi di macchinari e attrezzature (in toto);8. macchinari e attrezzature, software/hardware (solo ammortamento);9. costi indiretti (spese telefoniche, postali, elettriche, di cancelleria, di riscaldamento e di pulizia, spese di personale dipendente impiegato nelle attività di rendicontazione e nelle attività amministrative) pari al 15% delle spese ammissibili per il personale dipendente e non dipendente. |
|--|---|

6. Calendario delle azioni previste

Rappresentazione temporale delle azioni progettuali - Durata massima 24 mesi

Azioni \ Mesi	1	2	3 (marzo)	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15 (marzo)	16	17	18	19	20	21	22	23	24
	A1.1																							
A1.2																								
A1.3																								
A2.1																								
A3.1																								
A3.2																								
A4.1																								
A4.2																								
A5.1																								
A5.2																								
A6.1																								
A6.2																								

Allegato 1_Formulario per la presentazione del progetto 16.2

Azioni \ Mesi	Mesi																								
	1	2	3 (marzo)	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15 (marzo)	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
A6.3																									
A7.1																									
A8.1																									

7. Metodologie impiegate per l'attuazione del progetto

Descrivere le modalità e i metodi con cui si intende conseguire i risultati previsti dal progetto con particolare riferimento alle attività di test, prove, collaudo, costruzione prototipi ecc. (max 3 pagine)

Visto che l'obiettivo di questo progetto sarà quello di verificare se l'inoculo in vigneto di funghi micorrizici arbuscolari mediante piante donatrici sia effettivamente in grado di incrementare le prestazioni delle viti in termini di qualità delle uve e del vino da esse ottenuto, le metodiche impiegate comprenderanno sia pratiche agronomiche, sia approcci analitici diversi per indagarne gli effetti. Per maggior chiarezza riguardo le modalità e i metodi con cui si intende condurre l'attività prevista nel progetto, in figura 2 si riporta lo schema sperimentale del primo e del secondo anno.

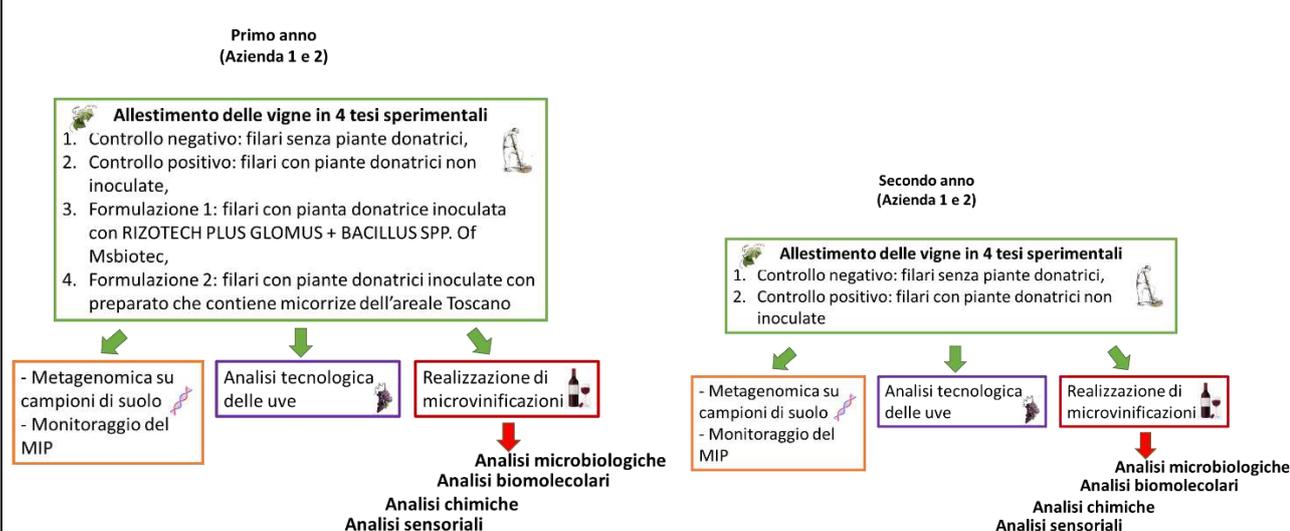


Figura 2. Schema sperimentale del primo e del secondo anno di progetto.

Per quanto riguarda la pratica agronomica (tesi), il terreno interfilare delle vigne sarà trattato o meno con preparati contenenti micorrize. Il terreno sarà poi seminato o meno con piante di copertura capaci di promuovere la proliferazione delle micorrize arbuscolari con lo scopo di favorire la complessità del microbiota della vigna. L'effettivo vantaggio di questa pratica sarà valutato dal suolo alla bottiglia, pertanto sarà previsto un approccio analitico diversificato che prenderà in esame i seguenti aspetti:

1. il metagenoma del suolo;
2. la qualità tecnologica delle uve in termini chimici e microbiologici;
3. la microbiologia e la chimica delle fermentazioni vinarie;
4. la qualità del vino finito da un punto di vista chimico e sensoriale.

Per quanto riguarda l'analisi metagenomica del suolo, bisogna premettere che con il termine "Metagenomica" s'intende l'analisi diretta del DNA microbico totale estratto da un campione ambientale. Ad oggi questo è l'approccio scientificamente più avanzato per conoscere il microbioma del suolo e quindi, nel caso del presente progetto, è indispensabile per valutare in modo esaustivo l'apporto delle pratiche agronomiche scelte sull'effettivo arricchimento specilogico delle comunità microbiche presenti in vigneto.

La qualità tecnologica delle uve, ottenute con le diverse condizioni agronomiche testate nel presente progetto, sarà valutata prendendo in esame le caratteristiche chimiche, chimico-fisiche (zuccheri, acido malico, acidità totale, pH, antociani potenziali estraibili, ricchezza fenolica totale,

tannini dei vinaccioli, peso medio dell'acino) e microbiologiche delle uve. E' importante prendere in esame anche gli aspetti microbiologici delle uve visto che esse rappresentano la prima fonte di inoculo di lieviti e batteri nella vinificazione. Il microbiota naturalmente presente sugli acini, infatti, potrebbe essere influenzato dalla fisiologia della vite in termini di dimensione della bacca (dimensioni diverse possono creare microclimi differenti), di spessore della buccia (spessori minori della buccia possono ad esempio favorire rotture, la fuoriuscita di polpa e quindi influenzare lo sviluppo qualitativo e quantitativo del microbiota delle uve), di quantità di pruina presente sulla superficie degli acini (una sostanza cerosa che sembra essere coinvolta nella colonizzazione microbica). Per valutare l'effettiva qualità tecnologica delle uve dunque è fondamentale prendere in esame tutti i parametri sopra riportati, la conoscenza integrata dei quali offre indicazioni sulle potenzialità e possibili criticità che si potrebbero verificare in vinificazione.

Un altro aspetto da tener presente per comprendere l'impatto che le diverse tesi possono avere sulla qualità delle uve, è quello di verificarne la capacità di supportare la crescita di *Saccharomyces cerevisiae* e quindi di consentire il regolare decorso della fermentazione alcolica. Per verificare ciò saranno allestite microvinificazioni con le uve ottenute dalle diverse tesi che saranno inoculate con lo stesso preparato starter commerciale di *S. cerevisiae* per non introdurre ulteriori fonti di variabilità. I decorsi fermentativi delle diverse microvinificazioni saranno descritti mediante analisi chimiche e microbiologiche eseguite quasi giornalmente in modo da evidenziare eventuali criticità e fare confronti tra le diverse tesi. Al termine delle fermentazioni, analisi molecolari saranno eseguite per verificare se la popolazione dominante dei lieviti che hanno condotto la fermentazione alcolica sia effettivamente quella inoculata all'inizio. Questa informazione è fondamentale per una corretta interpretazione dei dati chimici ottenuti. Per finire, i vini finiti saranno confrontati tra loro sia chimicamente che mediante analisi sensoriale. Le analisi chimiche sui vini saranno volte principalmente a verificare il contenuto antocianinico, in quanto responsabile del colore, e quello polifenolico che è fondamentale per la protezione dalle ossidazioni. Questi aspetti, insieme alle caratteristiche sensoriali, sono chiaramente indispensabili per ottenere vini di qualità.

8. Risultati del progetto

8.1 Indicare i risultati complessivi attesi (quantificabili e controllabili) con particolare riferimento alla loro concretezza e applicabilità al settore produttivo di riferimento (max 2 pagine)

I risultati complessivi attesi dalla realizzazione del progetto MiSalVi saranno di interesse per le Aziende vitivinicole Toscane che mirano ad accrescere le *performance* dei loro vigneti approcciandosi ad un sistema di gestione della vigna più ecosostenibile rispetto a quello che prevede l'uso di concimi chimici. L'esperienza acquisita dall'attività proposta, contestualizzata nella realtà produttiva e negli ambienti pedoclimatici Toscani, fornirà infatti a queste Aziende le informazioni tecnico-scientifiche necessarie per valutare l'effettivo impatto di preparati contenenti micorrize e dell'impiego di colture di copertura sia sulla biodiversità microbica del suolo, e quindi sulla sua fertilità, sia sulla qualità delle uve e del vino da esse ottenuto. Queste informazioni permetteranno scelte più consapevoli riguardo la tipologia di gestione del suolo da adottare in quanto fatte sulla base di un approccio scientifico robusto "dal campo alla bottiglia". Infine, i risultati ottenuti dal progetto consentiranno alle Aziende del territorio di disporre anche di tutte le indicazioni pratiche necessarie all'adozione del sistema di gestione della vigna che al

termine del progetto risulterà più promettenti nell'ottica non solo del miglioramento della qualità del vino, ma anche della sostenibilità delle produzioni.

8.2 Indicare i risultati specifici attesi dall'introduzione dell'innovazione proposta

8.2.1 Ricadute economiche attese dal progetto con particolare riferimento ai produttori primari del settore agricolo e forestale (indicare le ricadute economiche e gli indicatori per la loro valutazione) (max 2 pagine)

Si ritiene che la realizzazione del presente progetto possa avere, sulle Aziende del settore vitivinicolo che decideranno di sfruttarne i risultati, le ricadute economiche di seguito elencate:

1. una gestione della vigna che miri ad arricchire la fertilità del suolo in modo naturale, senza quindi l'impiego di fertilizzanti chimici, porterà ad un risparmio relativo all'impiego di questi prodotti;
2. il miglioramento della qualità tecnologica dell'uva, atteso con la micorrizzazione delle viti, consentirà probabilmente di eseguire meno integrazioni di nutrienti sul mosto al momento della vinificazione con un risparmio sull'acquisto di prodotti enologici;
3. il miglioramento della qualità dell'uva avrà, con molta probabilità, un effetto positivo sulla qualità del vino finito con ricadute economiche legate ad un ipotetico incremento delle vendite;
4. una gestione della vigna ecosostenibile potrà contribuire al marketing aziendale favorendo uno *storytelling* certamente gradito al consumatore con possibili ricadute economiche favorevoli.

8.2.2 Ricadute ambientali attese dal progetto (indicare le ricadute ambientali e gli indicatori per la loro valutazione) (max 2 pagine)

Due questioni ambientali, che interessano direttamente il settore vitivinicolo, sono i cambiamenti climatici, che rischiano di compromettere le caratteristiche di tipicità di certi vini, e la necessità di ridurre gli input esterni per realizzare un'agricoltura più sostenibile. Entrambi questi aspetti possono essere affrontati in vigneto ponendo una maggior attenzione alla fertilità dei suoli in termini di biodiversità microbica e in particolare prendendo in considerazione i funghi micorrizici arbuscolari (AMF). Come detto precedentemente, questi funghi, essendo simbiotici radicali, sono capaci di influenzare positivamente la fisiologia della vite incrementando la sua capacità di assorbire nutrienti dal suolo e la sua tolleranza alla siccità. Purtroppo i suoli dei vigneti molto spesso hanno una bassa abbondanza e diversità di AMF dovuta ad una gestione convenzionale del suolo che prevede l'impiego di concimi minerali o comunque di pratiche agronomiche dannose per questi funghi. Con la realizzazione del progetto MiSalVi sarà verificata la possibilità di ristabilire il potenziale micorrizico delle vigne attuando due strategie in combinazione: inoculando il suolo con AMF selezionate e utilizzando colture di copertura interfilare per promuovere la proliferazione delle comunità micorriziche naturali. Bisogna anche tener presente che l'impiego delle colture di copertura offre un ulteriore vantaggio in termini di ricaduta ambientale in quanto queste colture sono una valida alternativa agli erbicidi e forniscono benefici al suolo che vanno dal miglioramento della capacità di ritenzione idrica fino alla promozione della biodiversità complessiva. Gli indicatori che potranno dimostrare le positive ricadute ambientali del progetto MiSalVi saranno quelli forniti dall'approccio metagenomico allo studio del suolo. Con questo approccio infatti sarà possibile verificare l'impatto della strategia proposta sulla biodiversità del suolo attraverso il calcolo di indici appositamente pensati allo scopo e normalmente impiegati in studi di ecologia.

9. Divulgazione dei risultati acquisiti e diffusione dell'innovazione

Specificare le attività di divulgazione dei risultati e di disseminazione previste dal progetto con riferimento alla pluralità dei mezzi, all'innovatività degli strumenti e alla qualità dei contenuti, indicando inoltre gli utenti del processo di diffusione dei risultati. (max 2 pagine)

I risultati in itinere e finali del progetto saranno esposti sul sito internet del DAGRI, del DISAAA e di FoodMicroTeam nonché sui vari social. Si prevede anche di organizzare, al termine del progetto, un convegno al quale saranno invitate a partecipare le aziende vitivinicole del territorio, gli operatori del settore vitivinicolo (agronomi, enologi, ecc.), docenti, ricercatori e studenti della Scuola di Agraria dell'Università di Firenze e Pisa, aziende Agroindustriali interessate alla produzione di preparati contenenti AMF. L'obiettivo della divulgazione tramite i siti e il convegno è chiaramente quello di creare e diffondere cultura e conoscenza sul territorio. Infine, è prevista la pubblicazione dei risultati del progetto sia su riviste scientifiche internazionali sottoposte a referaggio, sia su riviste divulgative di settore.

I risultati che saranno ottenuti dal progetto MiSalVI non saranno ad esclusivo beneficio delle Aziende partner, ma di tutte le Aziende vitivinicole ed in particolare di quelle del territorio Toscano. Pertanto, si prevede di diffondere i risultati ottenuti attraverso i seguenti canali:

1. Sviluppo di apposito sito web e profilo social
2. siti internet del DAGRI, di FoodMicroTeam e delle Aziende partner
2. vari social (Facebook, Instagram, Linkedn, ecc.)
3. pubblicazione su riviste divulgative di settore (quali ad esempio la rivista Millevigne)
4. Workshop iniziale
5. convegno finale

Mediante questi canali si cercherà di diffondere i risultati alle aziende vitivinicole del territorio, agli operatori del settore vitivinicolo (agronomi, enologi, ecc.), ai docenti, ai ricercatori, agli studenti degli istituti tecnici superiori e dell'Università, alle aziende Agroindustriali interessate alla produzione di preparati contenenti micorrize, ai giornalisti di settore. L'obiettivo primario della divulgazione sarà quello di creare e diffondere cultura e conoscenza sul territorio relativamente alla possibilità e all'importanza di gestire la fertilità dei suoli in modo consapevole.

Infine, vista la rilevanza scientifica dei risultati che si prevede di ottenere con il progetto MiSalVi, sarà prevista anche una pubblicazione su rivista scientifica internazionale sottoposta a referaggio.

10. Costo complessivo del progetto

VOCI DI SPESA		Importo (€)	% sul totale progetto
1. Spese generali		593,21	0,3%
2. Investimenti immateriali		3.000	1,5%
3. Personale	Personale dipendente	92.051,8	45,0%
	Personale non dipendente	57.284	28,0%
4. Missioni e trasferte		2.042	1,0%
5. Beni di consumo e noleggi		27.351,85	13,4%
6. Attività obbligatorie di informazione e pubblicità		0	0,0%
7. Prototipi di macchinari e attrezzature (in toto)		0	0,0%
8. Macchinari e attrezzature, software/hardware (solo ammortamento).		0	0,0%
9. Costi indiretti (pari al 15% delle spese ammissibili per il personale dipendente e non dipendente)		22.399,7	10,9%
Totale		204.722,56	0,3%

10.1 Costo ripartito per ogni singolo partner

PARTNER		VOCI DI SPESA						TOTALE
		Food micro team	Piccini Monia	Lorenzo Miceli	UNIFI	UNIPI	Dream Italia	
1. Spese generali		593,21	0	0	0	0	0	593,21
2. Investimenti immateriali		0	1.500,00	1.500,00	0	0	0	3.000
3. Personale	Personale dipendente	30.160,00	7.510,30	9.165,50	12.680	9.696,00	22.840,00	92.051,8
	Personale non dipendente	0	0	0	57.284	0	0	57.284
4. Missioni e trasferte		0	0	0	0	0	2.042,00	2.042
5. Beni di consumo e noleggi		2.896,00	2.360	2.360	17.472,22	2.263,63	0	27.351,85
6. Attività obbligatorie di informazione e pubblicità		0	0	0	0	0	0	0
7. Prototipi di macchinari e attrezzature (in toto)		0	0	0	0	0	0	0
8. Macchinari e attrezzature, software/hardware (solo ammortamento).		0	0	0	0	0	0	0
9. Costi indiretti (pari al 15% delle spese ammissibili per il personale dipendente e non dipendente)		4.524,00	1.126,50	1.374,8	10.494	1.454,40	3.426	22.399,7
Totale		38.173,21	12.496,8	14.400,3	97.930,22	13.414,03	28.308	204.722,56