

PIANO DI ATTIVITÀ: Interazioni microorganismi-suolo-pianta e influenza sull'emissione di composti organici volatili (VOC)

INTRODUZIONE: La salute del suolo può essere descritta come capacità del suolo di funzionare come un ecosistema vivente vitale in grado di sostenere in continuazione piante, animali ed esseri umani. I servizi ecosistemici si basano sull'interazione circolare tra suolo, piante, impollinatori e micro e macroorganismi. Gli impollinatori, compresi quelli selvatici oltre alle più diffuse api mellifere allevate, si nutrono direttamente dai fiori delle piante, e sono parte integrante di questo ecosistema. La mancanza di fonti di alimentazione nei loro habitat, cioè fiori poveri di nettare e/o con polline di bassa qualità, è una delle cause che contribuiscono al loro recente declino. Pertanto, il legame tra suolo, piante e impollinatori è molto forte e azioni volte a ripristinare le funzionalità del suolo sono essenziali per mantenere tutte le funzioni ecologiche con un beneficio circolare. Tuttavia, i ricercatori si stanno concentrando solo sull'interazione pianta-impollinatori, senza considerare gli effetti che un'efficiente funzionalità del suolo può avere sullo sviluppo della pianta e sulla sua interazione con gli impollinatori.

OBIETTIVO: testare la combinazione di varietà di girasole (*Helianthus annuus*) disponibili in commercio e di diversi ceppi microbici dotati di attività di promozione della crescita delle piante sul campo al fine di definire la/e combinazione/i più adatta/e in grado di i) aumentare la funzionalità del suolo e la sua biodiversità reclutando un microbiota più efficace, ii) sostenere la crescita delle piante e iii) influenzare l'emissione di composti organici volatili (VOCs) delle piante. Le varietà di girasole verranno selezionate in vaso e poi testate sul campo.

ATTIVITÀ:

1) Screening di varietà ibride e non ibride di piante di girasole

Varietà di girasole disponibili in commercio (scelte per diverse classificazioni di catalogo tra: i) girasoli a impollinazione libera (omozigoti - vecchie varietà); ii) ibrido alto-oleico; iii) linoleico ibrido) saranno vagliati in serra. Le varietà selezionate verranno seminate in vasi da 3 litri di terreno, con un minimo di 6 repliche sperimentali per ciascuna varietà. Il terreno argilloso sarà preparato mescolando diversi terreni (sabbiosi, argillosi e ad alto contenuto organico) provenienti da aree diverse al fine di standardizzare il microbiota endogeno del suolo. I parametri di screening saranno: crescita delle radici, tempo di fioritura, durata della fioritura, produzione di nettare e tolleranza ai principali fattori di stress biotici di *Helianthus annuus* (ad esempio *Peronospora* sp. ed eriofidi). Ciò consentirà di scegliere da 2 a 4 varietà con fasi fenologiche simili (ad esempio stesso tempo di fioritura e diametro delle calatidi simili), al fine di standardizzare le condizioni di studio per la prova sul campo.

2) Screening di diversi ceppi batterici sulla pianta bersaglio *Helianthus annuus*

Le varietà scelte nell'Attività 1 verranno seminate in appezzamenti di pieno campo nella Regione Emilia-Romagna. Questa attività si concentrerà sulla valutazione di diversi inoculi microbici per il loro potenziale come promotori della crescita delle piante e, allo stesso tempo, per migliorare le proprietà del suolo. 10 ceppi microbici, appartenenti a diverse specie di *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Apilactibacillus* e *Lactiplantibacillus*, precedentemente selezionati per le loro caratteristiche PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria) (produzione di peptidi antimicrobici, capacità di crescita di radici e germogli, attività solubilizzante del fosfato, acido indolacetico e verrà utilizzata la produzione di gibberelline). I ceppi microbici verranno somministrati individualmente. Gli inoculi microbici verranno somministrati 3 volte: una settimana dopo la semina, allo stadio fenologico B4 (4a foglia) e allo stadio F1 (fiore in procinto di sbocciare). L'attività consentirà di comprendere le migliori associazioni pianta-microorganismo, considerando la performance della pianta e la risposta dell'impollinatore che sarà correlata con la composizione del microbiota della rizosfera.

3) Analisi del suolo

Il profilo chimico del suolo sarà valutato per struttura del suolo, pH, carbonato di calcio totale, sostanza organica, azoto totale, fosforo assimilabile, potassio assimilabile, macroelementi simili, microelementi assimilabili, conducibilità. Inoltre, i campionamenti del suolo effettuati verranno eseguiti prima della semina del girasole e alla fine del ciclo vegetativo del girasole. Il doppio campionamento aiuterà a valutare i cambiamenti nella fertilità del suolo guidati dalle interazioni pianta-microrganismi del suolo e dalla somministrazione di microrganismi. Infine, sia il microbiota della rizosfera che gli endofiti del girasole saranno analizzati utilizzando la tecnica NGS mirata alla regione V3-V4 del gene 16S rRNA per i batteri e alla regione ITS2 per i funghi. Verranno analizzati almeno 6 campioni per condizione sperimentale.

4) Caratterizzazione delle emissioni di COV di girasoli trattati con microrganismi selezionati

I VOCs rilasciati dai girasoli coltivati nelle diverse condizioni sperimentali (terreni trattati con diverse inoculi microbici) saranno raccolti mediante analisi di stripping a circuito chiuso (CLSA) o provette TD per il campionamento automatizzato di desorbimento termico dello spazio della testa del fiore in campo aperto. I volatili eluiti saranno caratterizzati in GC-MS utilizzando colonne polari e non polari. I profili volatili ottenuti da almeno 6 repliche per ciascuna parcella verranno confrontati al fine di comprendere le potenziali differenze nelle quantità o tipologie di sostanze volatili rilasciate dai girasoli trattati con diversi microrganismi.

5) Valutazione dell'espressione genica dei geni SWEET del girasole in qPCR e determinazione del contenuto in zuccheri dei fiori di girasole

Le calatidi ottenute dai girasoli coltivate nelle diverse condizioni sperimentali (terreni trattati con diverse inoculi microbici) saranno raccolti in un numero non inferiore a 6 repliche per ciascuna parcella, e conservati a -80°C. L'RNA sarà estratto da singoli fiori i diversi stadi di fioritura, e il livello di espressione dei geni SWEET9 sarà saggiato in qPCR insieme a geni endogeni come la beta-tubulina. Infine altrettanti fiori saranno utilizzati per determinare il contenuto totale in zuccheri con tecniche spettrofotometriche.