

PIANO DELLE ATTIVITÀ: Quantificazione di microrganismi e determinazione del loro contributo funzionale in matrici organiche (ad esempio suolo)

INTRODUZIONE: Il monitoraggio, la quantificazione e la comprensione funzionale dei microrganismi (batteri, virus e funghi) nelle matrici biologiche sono fondamentali per garantire la gestione e la salute ambientale e agricola. La presenza di specifici microrganismi può influire sia positivamente che negativamente sulla qualità delle matrici come suolo e piante, determinando effetti su ecosistemi, produzioni agricole e salute degli impollinatori. Un'analisi combinata che includa la quantificazione assoluta e la valutazione dell'espressione genica e della funzionalità di questi microrganismi permette di comprendere non solo il loro numero ma anche il loro ruolo attivo e l'impatto ecologico. Tali informazioni, raccolte tramite tecniche molecolari avanzate, forniscono una base scientifica per interventi mirati volti a favorire la biodiversità microbica benefica e a limitare la diffusione di agenti patogeni mediante l'impiego di prodotti biostimolanti.

OBIETTIVO: Il progetto si propone di sviluppare, ottimizzare e convalidare metodi innovativi per la quantificazione assoluta e l'analisi funzionale di microrganismi target principalmente nel suolo anche a seguito dell'aggiunta di prodotto biostimolanti. Gli obiettivi specifici includono non solo la standardizzazione delle tecniche di raccolta e preparazione del campione e l'ottimizzazione delle condizioni per la quantificazione molecolare, ma anche l'analisi dell'espressione genica per caratterizzare la funzionalità microbica. Attraverso la valutazione dei profili di espressione genica e la comprensione delle funzioni biologiche, si mira a identificare le dinamiche microbiche che influenzano la salute delle matrici e a promuovere un approccio sostenibile alla gestione di ecosistemi agricoli e ambientali.

ATTIVITÀ PRINCIPALI

Ottimizzazione del processo di raccolta e preparazione dei campioni per la quantificazione

Microbica

- **Obiettivo Specifico:** Sviluppare protocolli standardizzati per la raccolta e la preparazione di campioni biologici per analisi di quantificazione microbica.
- **Metodi:** I campioni di suolo saranno raccolti e processati secondo protocolli standardizzati per minimizzare la perdita di integrità microbica. Verranno testati differenti metodi di estrazione del DNA/RNA per garantire il recupero ottimale del materiale genetico target.
- **Risultati attesi:** Protocollo ottimizzato per la raccolta e preparazione dei campioni, con elevata efficienza di recupero del materiale genetico da tutte le matrici.

Sviluppo e ottimizzazione di metodi di quantificazione assoluta tramite pcr quantitativa (qPCR) per target batterici, virali e fungini

- **Obiettivo Specifico:** Ottimizzare le condizioni di reazione qPCR per l'accurata quantificazione dei target microbici selezionati.
- **Metodi:** Progettazione e validazione di primer specifici per microrganismi target, ottimizzazione delle condizioni di reazione (temperature, concentrazioni di primer, cicli di amplificazione), e valutazione della specificità e sensibilità del metodo.
- **Risultati attesi:** Protocolli di qPCR ottimizzati per quantificazione relativa e assoluta di microrganismi target in matrici biologiche con elevata specificità e sensibilità.

Validazione in campo delle tecniche di quantificazione in differenti matrici biologiche

- **Obiettivo Specifico:** Validare i protocolli di quantificazione sviluppati in condizioni di campo su campioni raccolti da matrici diverse.

- **Metodi:** Applicazione dei protocolli ottimizzati a campioni di suolo, api e piante raccolti in vari siti di prova. I risultati ottenuti saranno confrontati con metodi convenzionali per determinare l'accuratezza, la ripetibilità e la sensibilità delle tecniche sviluppate.
- **Risultati attesi:** Validazione dei protocolli in campo e valutazione dell'affidabilità dei risultati, con parametri di precisione e ripetibilità definiti.

Analisi dell'Espressione Genica e Funzionalità dei Microorganismi Target

- **Obiettivo Specifico:** Valutare i profili di espressione genica dei microorganismi target nelle diverse matrici biologiche e correlare i dati di espressione con la loro funzionalità microbica (es. capacità patogenica, effetti benefici).
- **Metodi:**
 - Isolamento di RNA dai campioni di suolo, in cui i microorganismi target sono stati quantificati.
 - Utilizzo di tecniche di RT-qPCR e RNA-seq per analizzare l'espressione genica dei target microbici in risposta a specifiche condizioni ambientali o stimoli biotici/abiotici.
 - Identificazione e quantificazione di geni associati a funzioni rilevanti (come produzione di metaboliti secondari, resistenza a stress ambientali o virulenza) per comprendere il ruolo ecologico e funzionale dei microorganismi nelle matrici analizzate.
- **Risultati attesi:** Profilo di espressione genica dettagliato dei microorganismi target che permetta di caratterizzare la loro funzionalità nelle matrici biologiche. I dati di espressione genica aiuteranno a identificare potenziali marker molecolari per la diagnosi precoce di infezioni o per il monitoraggio della salute delle matrici ambientali e agricole.

IMPATTO ATTESO

Questo progetto mira a fornire metodi robusti e replicabili per la quantificazione assoluta di microorganismi, ma anche per la quantificazione del loro apporto funzionale, in matrici biologiche, fornendo strumenti essenziali per la gestione della salute e la sicurezza ambientale. I risultati ottenuti permetteranno di migliorare il monitoraggio microbiologico e di supportare strategie di intervento in contesti agricoli e ambientali