



**Richiesta per borsa di studio da attivare ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021**

Il sottoscritto **Laura Bruno** qualifica **professore associato** afferente al **Dipartimento di Biologia Interno presso la sede dei Casali, nel casale C** e-mail: **[laura.bruno@uniroma2.it](mailto:laura.bruno@uniroma2.it)**

CHIEDE

l'attivazione di una borsa di studio di dottorato ai sensi di quanto disposto dal D.M. n. 1061 del 10/08/2021. A tal fine comunica quanto segue:

La borsa sarà attivata sul seguente corso di dottorato accreditato per il XXXVII ciclo:

**Biologia Evoluzionistica ed Ecologia**

Area per la quale si presenta la richiesta:

Green

Tipologia di cofinanziamento (pari ad euro 8000 una tantum):

Nome dell'Ente finanziatore pubblico o privato: **Universidad de Almeria, Dept. Agronomía (Edafología y Química Agrícola)**

Persona di Riferimento: **Professor Yolanda Canton Castilla**

Telefono +34 950015959

Email [ycanton@ual.es](mailto:ycanton@ual.es)

Fondi di ricerca dipartimentali

Progetto di Ricerca

Acronimo: **CIBUS**

Titolo: ***Caratterizzazione di CIanobatteri isolati dalle BSB (Biological Soil CrUsts) e studio di loro possibili applicazioni per il ripristino di Suoli agricoli degradati***

Descrizione del Progetto:

Negli ultimi anni, molteplici studi hanno evidenziato il ruolo chiave dei cianobatteri come "ingegneri ecologici" nelle zone aride, essendo in grado di migliorare la funzione e la struttura del suolo. Per cui l'applicazione di cianobatteri nel promuovere lo sviluppo della *biocrust* - ovvero la comunità di cianobatteri, muschi e licheni ospitata dal suolo - è stata proposta come una nuova tecnica biotecnologica per il ripristino di aree aride degradate e per combattere i processi di desertificazione.



L'utilizzo dei cianobatteri è stato dunque largamente studiato per il ripristino di suoli degradati in zone aride e semi aride, così come sono già stati condotti alcuni studi finalizzati ad indagare gli effetti di cianobatteri nelle fasi di germinazione e crescita di specie di piante. Pochi sono invece gli studi volti a indagare le potenzialità dell'uso di questi cianobatteri in suoli agricoli. Il presente progetto cercherà quindi di colmare questa carenza, inizialmente caratterizzando cianobatteri presenti in BSB (Biological Soil Crusts) di diverse località e, in una seconda fase, indagando l'effetto dell'inoculo di tali cianobatteri sulla fertilità fisica, chimica e biologica di suoli ad uso agricolo dando il proprio contributo alla ricerca di nuovi strumenti per lo sviluppo di un'agricoltura sostenibile. Il progetto verrà sviluppato in collaborazione con l'Università di Almeria (Spagna) e coinvolgendo anche la divisione FertiGlobal® dell'azienda SCL Italia Spa, da anni impegnata nello sviluppo di tecnologie innovative a sostegno dell'agricoltura, come l'impiego di biostimolanti per le coltivazioni.

Obiettivi formativi:

- Acquisizione di capacità di *problem-solving*
- Acquisizione di metodologie e tecniche di ricerca e di analisi dati utili al campo di studio
- Impegno in attività di comunicazione dei propri risultati mediante partecipazione a convegni e attraverso pubblicazioni in riviste con *impact factor*
- Redazione e discussione della tesi finale

Attività previste:

All'avvio del progetto saranno definite due aree di studio, situate nella regione Lazio e nella provincia di Almeria, e caratterizzate facendo ricorso a dati satellitari e di stazioni meteorologiche.

Step 1 Selezione di ceppi autoctoni dalle due aree di studio con caratteristiche chiave

L'isolamento dei ceppi di cianobatteri sarà effettuato su campioni di suoli raccolti all'interno dell'area di studio. L'identificazione dei ceppi di cianobatteri sarà portata avanti con studi sia morfologici che molecolari. Tale approccio multifasico comprenderà la caratterizzazione morfologica attraverso l'osservazione dei campioni al microscopio ottico e confocale a scansione laser e l'identificazione dei cianobatteri (almeno a livello di genere) seguendo la più recente tassonomia disponibile in letteratura, dati che verranno ulteriormente confermati mediante il sequenziamento del gene della subunità 16S rRNA e della regione spaziatore ITS per l'identificazione della specie e la determinazione delle relazioni filogenetiche tra i ceppi isolati. Questi cianobatteri saranno oggetto di analisi volte a individuare caratteristiche funzionali chiave come la capacità di fissare l'azoto, la secrezione di EPS (sostanze esopolimeriche) e la capacità di crescere e sopravvivere, sia in mezzo liquido che nel suolo. Questi dati permetteranno di selezionare i ceppi migliori per gli scopi prefissati



che saranno fatti crescere a volumi crescenti da 200 mL fino a circa 8L in specifici fotobioreattori in condizioni adeguate di luce, temperatura e nutrienti al fine di generare la biomassa necessaria agli esperimenti successivi.

#### Step 2 Ottimizzazione del metodo di applicazione di cianobatteri nel suolo

In questa seconda fase del progetto, i ceppi di cianobatteri selezionati nella prima fase, saranno testati individualmente con diversi trattamenti in modo da individuare la strategia di inoculazione più efficiente, economica e sostenibile.

L'apparato sperimentale sarà costituito da piastre Petri riempite con suolo generico che saranno mantenute a temperatura e intensità di luce controllate.

Ogni ceppo sarà testato con quattro diversi tipi di trattamento:

- I Inoculo di cianobatteri nel loro terreno di crescita.
- II Inoculo di cianobatteri centrifugati e poi risospesi in acqua distillata.
- III Essudato di cianobatteri, ottenuto mediante centrifugazione della coltura e recupero della fase liquida.
- IV Inoculo di cianobatteri conservati mediante liofilizzazione e risospesi in acqua distillata.

L'esperimento avrà durata di tre mesi nell'arco dei quali saranno fatte misure radiometriche, mediante l'utilizzo di uno spettroradiometro che permetteranno di monitorare l'evoluzione di tratti come l'assorbimento a 680 nm, misura strettamente relazionata con il contenuto in clorofilla del suolo. Una volta ultimato l'esperimento saranno analizzate alcune proprietà chimico-fisiche del suolo relazionate con la sua fertilità, stabilità e qualità. Saranno misurate le seguenti variabili: pH, conduttività elettrica, test di stabilità degli aggregati, contenuto in carbonio organico (CO) con il metodo Walkley e Black modificato da Mingorance, azoto totale (N) con il metodo Kjeldhal, rapporto C/N e contenuto in EPS.

#### Step 3 Valutazione della capacità dei cianobatteri di incrementare la fertilità di suoli agricoli con caratteristiche climatiche e fisico-chimiche distinte

All'interno di ciascuna delle due aree di studio saranno individuati un minimo di due siti a uso agricolo con caratteristiche del suolo diverse da un punto di vista fisico-chimico e/o per livello di degradazione del suolo. Prima dell'avvio dell'esperimento sarà condotta un'analisi fisico-chimica su campioni di suolo prelevati da almeno dieci diversi punti di campionamento per ciascuna area di studio, campioni che saranno mescolati e setacciati e infine utilizzati per l'allestimento di vassoi di alluminio contenenti suolo in cui effettuare le inoculazioni.

Ogni trattamento sarà effettuato in triplicato e una volta allestiti, i vassoi saranno posizionati in uno spazio esterno coperto dove saranno irrigati periodicamente con una quantità di acqua proporzionale



alla piovosità annuale dell'area di studio di provenienza del suolo. Una volta concluso l'esperimento si analizzeranno le stesse proprietà fisico-chimiche misurate nella fase iniziale (pH, conduttività elettrica, test di stabilità degli aggregati, contenuto in carbonio organico (CO) azoto totale (N), rapporto C/N e contenuto in EPS) per effettuare analisi comparative.

Questi risultati permetteranno di selezionare le concentrazioni e le combinazioni di cianobatteri che risultano più efficienti nel miglioramento delle proprietà del suolo, con l'obiettivo di implementare successivamente la strategia in condizioni di campo.

#### Step 4 Valutazione in situ della capacità dei cianobatteri di incrementare la fertilità di suoli agricoli con caratteristiche climatiche e fisico-chimiche distinte

In questa fase l'inoculazione dei ceppi selezionati nelle fasi precedenti sarà effettuata in aree appartenenti a zone climatiche distinte. In ogni sito saranno collocate quattro parcelle e saranno inoculate con la strategia selezionata durante le fasi precedenti. Ognuna delle parcelle si dividerà in due parti: una verrà mantenuta intatta mentre l'altra verrà usata per il prelievo di campioni per le analisi di laboratorio. L'esperimento avrà una durata compresa tra i 6 ed i 9 mesi. In particolare, nella porzione di parcella che si manterrà intatta sarà misurata:

- a) la copertura di cianobatteri
- b) la risposta spettrale, che verrà misurata con uno spettrofotometro portatile ASD, che misura nel rango spettrale tra 400 e 1000 nm. Questo dato ci permetterà di ottenere i picchi di assorbimento dovuti alla presenza di pigmenti fotosintetici come clorofilla *a* e carotenoidi e di relazionarli ai valori predeterminati in laboratorio. Rispetto alle analisi condotte nelle fasi precedenti, in quest'ultima le analisi fisico-chimiche saranno affiancate da misure di fertilità nella sua componente biologica, misurata sia in modo diretto con estrazione e sequenziamento del DNA totale di campioni di terreno, sia indirettamente attraverso indicatori della sua attività come la respirazione del suolo (basale e indotta).

#### Step 5 Attività sperimentale presso l'azienda FertiGlobal® SCL Italia Spa

Il progetto prevede un periodo di permanenza di minimo 6 mesi del dottorando presso l'azienda FertiGlobal® SCL Italia Spa. Durante questo periodo saranno portati avanti esperimenti volti all'affinamento delle metodiche di applicazione dei cianobatteri al suolo. Inoltre, verrà valutata la possibilità di sviluppare un prototipo di biofertilizzante a base di cianobatteri, la cui efficacia verrà valutata in termini di incremento della fertilità del suolo con appositi esperimenti presso l'azienda.

Attinenza del progetto all'area indicata:



La preservazione delle funzioni del suolo è stata inserita tra gli Obiettivi di Sviluppo Sostenibile dell'agenda 2030. Le maggiori responsabilità della degradazione di suoli agricoli sono da attribuire ai cambiamenti climatici e all'intensificazione di pratiche agricole non adeguate. Questa problematica porta a grandi impatti sulla popolazione mondiale, sia diretti che indiretti. Le conoscenze scientifiche sviluppate nel corso del presente progetto metteranno le basi per la commercializzazione di biofertilizzanti a base di cianobatteri, incrementando la sostenibilità della produzione agricola e contribuendo alla riduzione degli impatti del cambiamento climatico favorendo la transizione ecologica.

Risultati attesi:

I principali risultati di questo studio saranno di ampliare le conoscenze tassonomiche e filogenetiche di alcune specie di cianobatteri del suolo e meglio comprendere le loro potenzialità di incrementare la fertilità di suoli agricoli, sfruttando la capacità di questi organismi di sopravvivere in condizioni estreme, la loro abilità di fissare carbonio e azoto ed il loro effetto di riduzione dell'erosione. Il progetto provvederà anche alla validazione di questi dati in esperimenti *ex situ* e *in situ*, apportando un avanzamento delle conoscenze di base sugli effetti dell'applicazione di cianobatteri sul suolo.

Inoltre, l'isolamento di specie di cianobatteri con caratteristiche pioniere apre la strada a futuri impieghi di questi microorganismi in studi di ripristino di cave esaurite, di aree che sono state soggette a incendi boschivi e, visti i nuovi progetti volti a colonizzare Luna e Marte, come candidati per il supporto biologico alla vita nelle missioni spaziali a lungo termine.

Non ultimo, la parte di ricerca svolta in un'azienda permetterà al dottorando di fare un'esperienza lavorativa diversa da quella accademica fornendo utili strumenti per l'inserimento nel futuro nel mondo del lavoro.

Azienda pubblica o privata coinvolta nazionale o straniera in cui si prevede di far svolgere il periodo obbligatorio da 6 a 12 mesi previsto dal Decreto Ministeriale:

**divisione FertiGlobal – Azienda SCL Italia Spa per un periodo di almeno 6 mesi**

Referente Dott.ssa Valentina Ciccolini [ciccolini@fertiglobal.com](mailto:ciccolini@fertiglobal.com) - [www.fertiglobal.com](http://www.fertiglobal.com)

**Firma**