Con il patrocinio di

XXXIII
Convegno Nazionale
SOCIETÀ ITALIANA DI CHIMICA AGRARIA

X
Convegno IHSS - Italian Chapter
INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY

**Il contributo della *Chimica Agraria*
per un'agricoltura sostenibile e per la sicurezza alimentare**

Bologna | 16-18 settembre 2015

Dipartimento di Scienze Agrarie, Scuola di Agraria e Medicina Veterinaria | Alma Mater Studiorum Università di Bologna

**XXXIII CONVEGNO NAZIONALE
Società Italiana di Chimica Agraria - SICA**

**X NATIONAL MEETING
Italian Chapter of the International Humic Substances Society - IHSS**

“Il contributo della Chimica Agraria per un'agricoltura sostenibile e per la sicurezza alimentare”

Atti dei Convegni

Bologna, 16-18 Settembre 2015

Dipartimento di Scienze Agrarie – Scuola di Agraria e Medicina Veterinaria

Alma Mater Studiorum Università di Bologna

Viale Fanin, 44 - 40127 Bologna (Italy)

Comitato organizzatore

Claudio Ciavatta (Presidente), Claudio Marzadori (Coordinatore),
Sonia Blasioli, Ilaria Braschi, Luciano Cavani, Valeria d'Orazio, Gloria Falsone, Ornella Francioso, Paola Gioacchini, Marco Grigatti, Teodoro Miano, Daniela Montecchio, Luigi Sciubba, Andrea Simoni, Livia Vittori Antisari

Comitato scientifico

Paola Adamo - Università degli Studi di Napoli Federico II
Luigi Badalucco - Università degli Studi di Palermo
Luciano Cavani - *Alma Mater Studiorum* Università di Bologna
Luisella Celi- Università degli Studi di Torino
Claudio Ciavatta - *Alma Mater Studiorum* Università di Bologna
Liviana Leita – CRA-RPS, Gorizia
Teodoro Miano - Università degli Studi di Bari
Paolo Nannipieri - Università degli Studi di Firenze
Serenella Nardi - Università degli Studi di Padova
Beatrice Pezzarossa – Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, CNR, Pisa
Roberto Pinton - Università degli Studi di Udine
Marco Trevisan - Università Cattolica di Milano, Sede di Piacenza
Zeno Varanini - Università degli Studi di Verona

Segreteria Organizzativa

Symposium Eventi S.r.l. – Via Garibaldi, 7
40124 Bologna – Tel.: [051 6448110](tel:0516448110) – Fax: 051 3396471
segreteria@symposium-eventi.it

Con il patrocinio di:

Comitato Scientifico per Expo del Comune di Milano

Si ringraziano:

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Sommario

PROGRAMMA

Sessione I - Qualità del suolo per un'agricoltura sostenibile

Sessione II – Nutrizione delle piante e qualità delle produzioni vegetali

Sessione III – Il sistema acqua-suolo-pianta e la sicurezza alimentare

*Sessione IV – X NATIONAL MEETING-Italian Chapter of the International
Humic Substances Society - IHSS
Soil organic matter: key role in environmental sustainability*

PROGRAMMA

Mercoledì 16 settembre 2015

10.45 *Registrazione partecipanti*

Parte congiunta SICA e SIA (Società Italiana di Agronomia) che terrà il XLIV Convegno nazionale dal 14 al 16 settembre nella stessa sede.

Moderatore **Alberti Vicari** – Direttore DipSA, *Alma Mater Studiorum* Università di Bologna

11.45 ***Le conoscenze dell'agricoltura tradizionale per lo sviluppo sostenibile degli agroecosistemi***

Stefano Grego, Università della Tuscia – WAHF, *World Agricultural Heritage Foundation*

12.15 ***Applicazione della tomografia a raggi X per lo studio multi-scala della struttura del suolo agrario***

Francesco Morari, Università degli Studi di Padova

12.45 Discussione

13.15 Lunch

APERTURA CONVEGNO

14.30 *Saluti di Benvenuto:*

Alberto Vicari, Direttore DipSA

Dario Braga, Prorettore alla Ricerca dell'Ateneo di Bologna

SESSIONE I - Qualità del suolo per un'agricoltura sostenibile

Moderatori **Fulvia Tambone** - Università degli Studi di Milano

Andrea Baglieri - Università degli Studi di Catania

15.00 *Acque reflue olearie trattate con biochar: impatto sulla fertilità di un suolo agricolo*

Giuseppe Di Rauso Simeone - Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici

15.20 *Mercury mobilization from an agricultural soil: effect of inorganic fertilizers, organic amendments, redox potential*

Giada Zanuttini - Università degli Studi di Udine

15.40 *Valorizzazione ambientale degli effluenti zootecnici mediante l'utilizzo di un sistema di digestione anaerobica allo stato solido con ricircolo del percolato*

Daniela Pezzolla - Università degli Studi di Perugia

16.00 *Suoli contaminati da As: l'importanza di speciazione e biodisponibilità per la valutazione del rischio reale*

Carlo Porfido - Università degli Studi di Bari "Aldo Moro"

16.20 ***Riflessioni sull'evoluzione e le prospettive del ruolo del chimico agrario (Relazione ad invito)***

Carlo Emanuele Gessa

16.50 Coffee break

17.30 **Assemblea ordinaria dei Soci**

Elezione del Vice Presidente e dei Membri del Consiglio Direttivo della Società

Giovedì 17 settembre 2015

SESSIONE II – Nutrizione delle piante e qualità delle produzioni vegetali

Moderatori **Maria Rosaria Abenavoli** - Università Mediterranea di Reggio Calabria
Nicola Tomasi - Università degli Studi di Udine

09.00 *L'analisi del genoma per migliorare la potenzialità e la qualità delle produzioni vegetali (Keynote lecture)*

Michele Antonio Stanca - CRA-GPG Fiorenzuola (PC), Presidente UNASA (Unione Nazionale delle Accademie per le Scienze Applicate allo Sviluppo dell'Agricoltura, alla Sicurezza Alimentare ed alla Tutela Ambientale)

09.40 *Live imaging per lo studio delle risposte metaboliche a carenze nutrizionali nelle piante mediante l'espressione di nanosensori mitocondriali*

Gianpiero Vigani - Università degli Studi di Milano

10.00 *Identificazione del trasportatore ad alta affinità di urea in radici di Zea mays: caratterizzazione biochimica e molecolare di ZmDUR3*

Laura Zanin - Università degli Studi di Udine

10.20 Coffee break

11.00 *Tossicità da boro ed interazione con il nitrato in pomodoro: aspetti morfologici, fisiologici e molecolari*

Maria Polsia Princi - Università Mediterranea di Reggio Calabria

11.20 *Modificazioni della composizione degli essudati radicali di due portinnesti di vite in funzione della disponibilità di Fe*

Anita Zamboni - Università degli Studi di Verona

11.40 *Caratterizzazione di frutti di pesco (Prunus persica [L.] Batsch.) a diverso colore della polpa per le variazioni di attività e livelli di enzimi chiave della via dei fenilpropanoidi (fenilalanina ammonio liasi e cinnamil alcool deidrogenasi) durante lo sviluppo*

Noemi Negrini - Università degli Studi di Milano

12.00 – 13.30 Lunch

13.30 – 15.00 **Visione poster**

13.30 – 15.00 **Assemblea dei Soci GRIFA** (Gruppo di Ricerca Italiano Fitofarmaci e Ambiente) - Aula Seminari, Area Chimica Agraria (Viale Fanin 40, III piano, ala ovest)

SESSIONE III – Il sistema acqua – suolo - pianta e la sicurezza alimentare

Moderatori **Elga Monaci** – Università Politecnica delle Marche
Gian Maria Beone – Università Cattolica del Sacro Cuore di Milano, sede di Piacenza

15.00 *Una visione critica del suolo, al di là dei numeri (Keynote lecture)*

Liviana Leita - CRA-RPS, Gorizia; **Gianniantonio Petruzzelli** – CNR – Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Pisa

15.40 *Effetto dei funghi micorrizici arbuscolari sulla produzione quantitativa e qualitativa di due genotipi di pomodoro coltivati su suolo di Acerra (NA) in condizioni di stress idrico*

Massimo Pigna - Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici (NA)

16.00 *Cation exchange of heavy metals contained in water channel sediments by calcium ion: Metal removal and water stability*

Enrico Buscaroli - University of Bologna, Bologna

- 16.20 *Il farnesene altera il trasporto dell'auxina in plantule di Arabidopsis thaliana Heynh*
Fabrizio Araniti - Università Mediterranea di Reggio Calabria
- 16.40 *Analisi metabolomica comparativa di radici di lattuga sottoposta a stress salino e da zinco*
Luigi Lucini - Università Cattolica del Sacro Cuore di Milano, sede di Piacenza
- 19.00 **Partenza per cena**

Venerdì 18 settembre 2015

SESSIONE IV – IHSS – Italian Chapter – Soil organic matter: key role in environmental sustainability

- 09.00 *Welcome from the Coordinator of the IHSS Italian Chapter, Teodoro Miano*
 Chairman **Claudio Zaccone** – University of Foggia
Iaria Braschi – Alma Mater Studiorum University of Bologna
- 09.10 *Soil Carbon Sequestration: from mechanisms to predictions (Keynote lecture)*
Magdalena Necpalova, Johan Six - Department of Environmental Systems Science, ETH Zurich, Switzerland
- 09.50 *Amount, composition and stabilization of soil organic matter in physical soil fractions in response to typical crop rotations in central Italy*
Carlo Angeletti - Polytechnic University of Marche
- 10.10 *Network analysis of differentially expressed proteins in Arabidopsis roots treated with humic substances*
Giovanni Battista Conselvan - University of Padova
- 10.30 Coffee break
- 11.00 *Soil organic matter, biological and isotopic parameters in macro and microaggregates under different management*
Patrizia Guidi - Alma Mater Studiorum University of Bologna
- 11.20 *DNA occurrence in organic matter fractions isolated from agricultural soils using a physical fractionation method*
Giulia Martino - University of Foggia
- 11.40 *Production of an artificial soil by co-composting of dredged sediments and pruning residues*
Paola Mattei - University of Firenze
- 12.00 *Effects of single and combined applications of biochar and humic acid on the growth of two ligninolytic fungi*
Eren Taskin - University of Bari “Aldo Moro”
- 12.20 *CO₂ isotope ratio infrared spectrometer: A powerful tool to study biosphere-atmosphere exchange*
Magda Mandic - Application Specialist, Thermo Fisher Scientific, Bremen
- 12.40 **Chiusura dei Lavori**

Sessione I

Qualità del suolo per un'agricoltura sostenibile

Le conoscenze dell'agricoltura tradizionale per lo sviluppo sostenibile degli agroecosistemi

Grego S.

World Agricultural Heritage Foundation - WAHF, c/o CREA-RPS, Via della Navicella 4, Roma, Italy

Con la crescita della popolazione del nostro pianeta si sta affermando la consapevolezza della necessità di incrementare la produzione di cibo proteggendo la biodiversità e l'ambiente naturale. L'umanità ha oggi l'opportunità e la responsabilità di valutare il sistema della produzione di cibo in una prospettiva diversa, riconoscendo la necessità di bilanciare il sistema con le risorse disponibili, e accettando l'obbligo morale di equilibrare la produzione in maniera sostenibile.

Quando l'uomo è visto come parte integrale dell'ecosistema, soggetto alle leggi naturali e alle conseguenze di un sistema equilibrato, si comprende meglio la necessità di rendere gli agroecosistemi sostenibili per tempi lunghi. L'umanità è sicuramente capace di disegnare sistemi agricoli che massimizzano i cicli degli elementi nutritivi, dipende sempre di più dalle energie rinnovabili, riduce le inefficienze nel ciclo produttivo e promuove la salute dell'ambiente. Possiamo raggiungere questi traguardi riscoprendo e rivalutando i sistemi agricoli che si sono evoluti nel tempo e che sono stati tramandati fino ad oggi, e che hanno assicurato un risultato economico alle popolazioni, nel mantenimento delle caratteristiche naturali degli ecosistemi.

La World Agricultural Heritage Foundation – WAHF – si interessa di fornire supporto ai paesi e alle istituzioni che sono coinvolte nel programma della FAO Globally Important Agricultural Heritage Systems. Questo programma ha il fine di promuovere i siti e i sistemi agricoli tradizionali importanti a livello globale per le generazioni presenti e future.

La missione della WAHF è quella di appoggiare lo sviluppo sostenibile agricolo e rurale attraverso assistenza tecnica e di governance, favorendo il networking, la ricerca, la formazione e l'educazione per la tutela e la conservazione dinamica di sistemi e siti agricoli del mondo.

Inoltre WAHF ha la funzione di dare impulso alle evidenze scientifiche sulla resilienza, produttività e vitalità dei piccoli produttori, dell'agricoltura familiare e delle comunità indigene e far conoscere le loro capacità nella conservazione dell'ambiente e della biodiversità. Questo sarà possibile promuovendo l'alta formazione sulla scienza della sostenibilità e i sistemi agricoli tradizionali.

Acque reflue olearie trattate con biochar: impatto sulla fertilità di un suolo agricolo

Di Rauso Simeone G., Scarpato M., Scelza R., Rao M.A.

Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici

Le acque reflue dell'industria olearia (OMW) costituiscono un importante fattore di rischio per la qualità dei suoli e delle falde acquifere in caso di sversamento incauto. Esse sono caratterizzate da un colore bruno, da un pH acido e da un elevato carico organico costituito in particolare da composti fenolici, variabili a seconda del tipo di olive, dell'epoca di raccolta e del periodo di conservazione. Negli ultimi anni, sebbene l'uso delle OMW in agricoltura sia ormai regolamentato, grande attenzione è stata comunque rivolta alla ricerca di tecniche di risanamento delle OMW aventi un basso impatto sia ambientale che economico al fine di migliorare la gestione di questi reflui.

Il biochar, materiale carbonioso derivante dalla pirolisi di biomasse vegetali, è attualmente oggetto di studio per il suo possibile uso nella decontaminazione di matrici solide e liquide (sia inquinanti organici che inorganici) grazie alla sua particolare struttura porosa ed elevata area superficiale.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'effetto del biochar, prodotto da pioppo, sulla riduzione della tossicità di OMW e quindi la possibilità di utilizzare le acque così trattate per irrigare suoli agricoli. Ciò permetterebbe una riduzione dell'impatto ambientale di tale reflu sfruttando, da un lato, il ricco contenuto in sostanza organica e elettroliti delle OMW e, dall'altro, le proprietà ammendanti del biochar sulle proprietà fisiche e chimiche del suolo. Le OMW sono state trattate con biochar da pioppo (5 e 10%) e al termine dell'incubazione (60 gg) è stato determinato il contenuto in fenoli totali e valutato l'effetto dello spandimento di tali reflui sulle proprietà chimiche e biochimiche di un suolo agricolo dopo 30 e 90 giorni.

Il trattamento delle OMW con il biochar ha determinato una riduzione del 50% del contenuto in fenoli totali rispetto al controllo dopo 21 giorni di incubazione. La distribuzione al suolo ha determinato un positivo effetto sulla fertilità del suolo in termini di un aumento del C associato alla biomassa microbica e soprattutto della stimolazione delle attività enzimatiche studiate (deidrogenasi, FDA idrolasi, fosfatasi, β -glucosidasi, fenolossidasi), sia dopo 30 giorni che dopo 90 giorni dalla distribuzione al suolo.

Tali risultati confermano, quindi, l'efficienza del biochar anche nel trattamento delle OMW. Pertanto, tale metodologia potrebbe essere un utile strumento per la gestione di questo tipo di reflu agroindustriale ottenendo, nello stesso tempo, un miglioramento della fertilità del suolo, grazie all'apporto di materiale organico e nutrienti minerali.

Mercury mobilization from an agricultural soil: effect of inorganic fertilizers, organic amendments, redox potential

Zanuttini G.¹, De Nobili M.¹, Marchiol L.¹, Khakbaz A.¹, Jaćimović R.², Fajon V.², Horvat M.², Contin M.¹

¹*Department of Agricultural and Environmental Sciences, University of Udine, Udine, Italy.*

²*Department of Environmental Sciences, Jožef Stefan Institute, Ljubljana, Slovenia.*

River bank soils of the Soča-Isonzo (Italy) are largely contaminated by mercury (Hg) due to past mining activities in Idrija (Slovenia). Soils near the river mouth are under the sea level, so are subject to frequent changes in the oxic/anoxic boundary. They are intensively cultivated to arable and horticultural crops. The role of mineral and organic fertilizers on mercury geochemistry has been scarcely investigated.

The aim of this work is to investigate Hg thermal stability, complexation and volatilization as affected by the application of different fertilizers under oxic/anoxic soil conditions. The hypothesis is that the application of fertilizers under certain environmental conditions may change the chemical status of Hg and consequently its bioavailability.

Soil Hg speciation was accomplished by coupling a Sequential Extraction Procedure (SEP) with Thermal Desorption (TD). SEP divided Hg forms in seven operationally defined fractions: soluble plus exchangeable, Mn oxides, organic matter, amorphous Fe oxides, crystalline Fe oxides, non-cinnabar Hg and cinnabar Hg. TD was applied linearly heated from room temperature to 800 °C, at a heating rate of approximately 2.2 °C min⁻¹. Elemental Hg was detected by atomic absorption spectrometry, based on Zeeman correction.

Several common mineral fertilizers were tested, added either as solid or in solution, over an incubation period of 7 days: urea, calcium nitrate, ammonium sulphate, potassium sulphate, potassium chloride, triple superphosphate, diammonium phosphate. As well as two organic amendments: peat and a residue from anaerobic digestion for biogas production (digestate).

To test Hg volatility and solubility, experiments were conducted under different redox conditions. Volatilized Hg was flushed and collected in a permanganate trap.

Coupling SEP with TD permitted the identification of two main Hg forms: cinnabar (40 mg kg⁻¹) and organic bound Hg (7 mg kg⁻¹). Hg thermograms did not change with all mineral fertilizers tested. Hg was solubilized as well as strongly volatilized under anoxic conditions with an organic amendment. It is not clear if Hg reduction/volatilization is principally driven by microbial activity or by abiotic chemical reduction. Further analysis are needed to show the proportion of the solubilized Hg between organic complexation, free Hg²⁺ ion and methylmercury.

Valorizzazione ambientale degli effluenti zootecnici mediante l'utilizzo di un sistema di digestione anaerobica allo stato solido con ricircolo del percolato

Pezzolla D.¹, Zadra C.², Sordi A.¹, Di Maria F.³, Massaccesi L.⁴, Gigliotti G.¹

¹*Dipartimento di Ingegneria Civile ed Ambientale, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia*

²*Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia*

³*Dipartimento di Ingegneria, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia*

⁴*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia*

Gli effluenti zootecnici rappresentano un prodotto di scarto di estrema importanza nell'agroecosistema, dal momento che la loro gestione porta alla produzione di grossi volumi in forma liquida, spesso caratterizzati da componenti inquinanti. La digestione anaerobica (DA) allo stato solido di effluenti zootecnici addizionati a substrati lignocellulosici, potrebbe rappresentare una soluzione sostenibile dal punto di vista ambientale, sebbene questo tipo di trattamento possa andare incontro a fenomeni di inibizione biochimica.

Obiettivo del presente lavoro era testare l'utilizzo di un sistema di DA allo stato solido con ricircolo del percolato, al fine di ridurre i fattori inibenti il processo, fattori che vengono allontanati grazie al ricircolo. La prova di DA allo stato solido prevedeva l'utilizzo di reattori pilota, dotati di un sistema di ricircolo del percolato e di un impianto per la determinazione del potenziale di produzione del biogas. Durante la prova sperimentale venivano confrontate due differenti tecnologie: senza ricircolo del percolato e con ricircolo del percolato. Inoltre, la seconda tecnologia è stata testata per diversi intervalli di ricircolo: un ricircolo/giorno, due ricircoli/giorno (uno ogni 12 ore) e 4 ricircoli/giorno (uno ogni 6 ore), tutti della durata di 45 minuti. Al fine di valutare gli effetti delle tecnologie utilizzate, sono stati effettuati i campionamenti del percolato ad intervalli stabiliti, con successiva analisi chimica del medesimo. Inoltre, è stata effettuata la caratterizzazione chimica del materiale in ingresso (IN) ed in uscita (OUT) dai diversi sistemi di DA e la quantificazione del biogas prodotto giornalmente.

Le prove effettuate con più ricircoli al giorno hanno mostrato una produzione di biogas maggiore, mentre una produzione più bassa e discontinua si evidenziava nella prove senza ricircolo e con un solo ricircolo. Tale fenomeno era dovuto probabilmente all'accumulo di sostanze inibenti il processo di DA allo stato solido, quali acidi grassi volatili. Dal confronto delle analisi chimico-fisiche del materiale IN e OUT, risultava un miglioramento della componente umosimile in tutte le prove, particolarmente in quella con 4 ricircoli giornalieri (HA+FA 14,6% s.s., DH 75,7% s.s.), a testimonianza di una maggiore stabilizzazione del digestato in uscita.

I risultati ottenuti hanno dimostrato che il ricircolo del percolato durante la DA allo stato solido aveva un effetto positivo sulle rese in biogas, ma soprattutto sulla qualità agronomica del digestato finale.

Suoli contaminati da As: l'importanza di speciazione e biodisponibilità per la valutazione del rischio reale

Porfido C., Panzarino O., Allegretta I., Terzano R., Spagnuolo M.

Dipartimento di Scienze del Suolo della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia

Qual è il rischio per la salute umana nell'impiego di suoli contaminati da arsenico (As) in agricoltura o per il pascolo? Come è noto, non è tanto la concentrazione totale del contaminante a costituire di per sé una minaccia, quanto la sua distribuzione nelle diverse forme chimiche (speciazione), che ne influenza la frazione biodisponibile e quindi le sue possibilità di entrare nella filiera alimentare.

E' in questa direzione che si muove il presente lavoro, volto a determinare il rischio reale che deriva dalla presenza di As in suoli campionati in aree pertinenti ad ex attività industriali (Scarlino, GR) e minerarie (Valle Anzasca, VB), con concentrazioni tra le decine ad alcune migliaia di ppm. È così stato adottato un duplice approccio, mirato ad ottenere da un lato una puntuale caratterizzazione chimico-mineralogica dei suoli stessi e quindi informazioni circa la speciazione dell'As, dall'altro a valutarne la biodisponibilità e l'ecotossicità.

Le analisi chimiche e mineralogiche dei suoli sono effettuate mediante tecniche che impiegano radiazione X; in particolare la caratterizzazione chimica *in situ* viene condotta tramite spettrometria di fluorescenza portatile con rivelatore a dispersione di energia (ED-pXRF), e in laboratorio mediante dispersione di lunghezza d'onda (WD-XRF). In via preliminare esse hanno permesso di individuare nei suoli di Valle Anzasca una certa correlazione tra le concentrazioni rispettivamente di As e Fe e di As e S. La caratterizzazione mineralogica è invece condotta con un diffrattometro di raggi X su polvere (XRPD), introducendo corindone (Al_2O_3) come standard interno per la quantitativa. Non sono stati però rivelati minerali dell'As, per via della loro scarsa concentrazione. Anche a questo proposito, sono in atto procedure di estrazione sequenziale (metodo Wenzel), per valutare la maggiore o minore mobilità dell'As, ma pure ottenere informazioni complementari circa i minerali dell'As presenti (ad esempio è stato individuato pentossido di As in un campione di Scarlino). Ulteriori dati circa la distribuzione dell'As nei suoli vengono ottenuti per mezzo di una microfluorescenza di raggi X (ED- μ XRF), effettuando scansioni dei suoli in sezione sottile.

La biodisponibilità viene valutata utilizzando lombrichi epigeici della specie *Eisenia andrei* (Bouché), esposti a microcosmi contaminati e sottoposti ad analisi dei fluidi celomatici mediante TXRF e della distribuzione dell'elemento nel corpo mediante ED- μ XRF.

Effetti del biochar sulla mineralizzazione della sostanza organica del suolo: prove di laboratorio

Cardelli R., Becagli M., Marchini F., Saviozzi A.

Department of Agriculture, Food and Environment, University of Pisa, Pisa, Italy

Una potenziale via di abbattimento dei livelli crescenti di CO₂ nell'atmosfera è l'uso della pirolisi per convertire la biomassa vegetale in una forma più stabile di carbonio (biochar), che può poi essere applicato al suolo.

Allo scopo di valutare l'interazione tra biochar e sostanza organica del suolo e di mettere in evidenza eventuali priming effects indotti dal materiale, è stata effettuata un'incubazione di breve periodo, in laboratorio, trattando un suolo con dosi di applicazione di 0, 2, 4, 6, 8 e 10% in peso, misurando per 21 giorni la respirazione microbica mediante lo sviluppo di CO₂.

Gli effetti del biochar sulla mineralizzazione della sostanza organica nativa (priming effect) sono stati valutati attraverso la comparazione tra il rilascio di CO₂ dal suolo (controllo) e quello misurato nelle miscele di biochar e suolo. A tal fine è stata calcolata una retta di regressione con i dati cumulativi di C-CO₂ emesso dalle miscele biochar-suolo rispetto al C fornito con il materiale, che ha permesso di stimare il C-CO₂ emesso ad una dose di applicazione pari a zero. Il valore ottenuto è stato infine confrontato con il corrispondente dato misurato nel controllo, ottenendo così il priming ratio.

I risultati mostrano che dal suolo ammendato con biochar è stata rilasciata una maggior quantità di carbonio sottoforma di CO₂ rispetto al controllo, con aumenti lineari rispetto alla quantità di C aggiunto.

L'assenza di priming effect, confermato dal valore prossimo a 1 del priming ratio, indica che l'incremento di CO₂ non proviene da un maggior rilascio di carbonio della sostanza organica nativa e quindi che una frazione del carbonio del biochar viene perduta per respirazione microbica. La perdita di C da parte del biochar, pari a circa 0.006%, è tuttavia molto modesta e, vista la netta tendenza alla diminuzione nell'entità della mineralizzazione già durante la breve durata dell'incubazione, è presumibile che le perdite di C del materiale nel lungo periodo siano nettamente inferiori alla quantità dell'elemento aggiunto al suolo con l'ammendamento. Considerato il lunghissimo tempo medio di residenza nel suolo del carbonio del biochar, il modesto rilascio di carbonio per respirazione microbica non pare quindi compromettere la capacità del materiale di contribuire al sequestro di C nell'ecosistema suolo.

Potentiality of extensive green roofs soils in sustaining Mediterranean annual dry grassland of the EU-Habitat 6220*

^{1,2}Catalano C., ³Guarino R., ¹Lo Verde G., ¹Badalucco L., ¹Palazzolo E., ¹Laudicina V.A.

¹Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze – Edificio 4, 90128 Palermo, Italy

²Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften (ZHAW), Institut für Umwelt und Natürliche Ressourcen (IUNR) - Postfach 8820 Wädenswil, CH

³Dipartimento STEBICEF - Sezione Botanica - Università degli Studi di Palermo, Via Archirafi 38 - 90123 Palermo, Italy

Nature-based solutions are defined as *living solutions inspired by, continuously supported by and using nature* (Final Report of the Horizon 2020 Expert Group on 'Nature-Based Solutions and Re-Naturing Cities'). In line with this statement and according to the European research and innovation policy agenda, green roofs (GRs) represent a fundamental requisite for urban sustainable development, being potential stepping stones for plants and animals, including those characterizing habitats of Community interest. In our work, we tested the suitability of green roofs in hosting Mediterranean annual dry grassland of the 92/43 ECC Habitat 6220* (pseudo-steppe with grasses and annuals of the *Thero-Brachypodietea*). The two investigated GRs, respectively of 400 and 500 m², are located 35 m above ground level and were built in the early 90s in Palermo on two different buildings. The growing medium used on the roofs was the typical Mediterranean red soil (Alfisol), common to the neighboring agricultural land. A total of 26 vegetation plots and 15 substrate samples were collected from the two GRs and, for comparison, in one neighboring orange grove and in four Natura 2000 sites of North-West Sicily (Mt. Pellegrino, Mt. Cofano, Cape Gallo and Cape St. Vito). In order to assess the potentiality of the GRs to host the target plant communities and the quality of the roof substrate, chemical and physical properties, as well as, some quality bioindicators (soil macro- and microarthropods, microbial biomass and activity) were measured in all the soil and substrate samples. Differences and similarities of the roof substrate with respect to its original milieu and that of the Habitat 6220* were then assessed by means of a multivariate statistical analysis and generalized linear regression models.

Keywords: Nature-based solutions, Natura 2000, Biological corridors, Soil bioindicators

Valutazione dell'effetto della gestione agronomica sulla qualità del suolo mediante diversi approcci metodologici

Peruzzi E.^{1,2}, Manici L. M.², Caputo F.², Franke-Whittle I. H.³, Insam H.³, Kelderer M.⁴, Cavani L.¹, Ciavatta C.¹

¹ *Dipartimento di Scienze Agrarie, Viale Fanin, 44 40127 - Bologna, Italia*

² *CREA - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria - Centro di ricerca per le colture industriali, via di Corticella 133, 40128 Bologna, Italia*

³ *Institute for Microbiology, University of Innsbruck, Technikerstrasse 25, A-6020, Innsbruck, Austria*

⁴ *Centro per la Sperimentazione agraria e forestale Laimburg, Laimburg, 39040 Ora/Auer, BZ, Italia*

Lo sfruttamento eccessivo dei terreni ad uso agricolo e le caratteristiche del clima mediterraneo hanno portato ad un processo di impoverimento del suolo e quindi a fenomeni di stanchezza, ridotta fertilità e abbandono dei terreni agricoli. Uno dei fattori chiave su cui si può intervenire per contrastare la stanchezza del suolo è la sua componente microbica, in modo particolare potenziandone biomassa e diversità. Lo studio dei suoli in ecosistemi agricoli abbandonati fornisce invece informazioni sui processi ecologici chiave.

La valutazione dell' effetto di differenti tecniche agronomiche sul suolo e sulla fertilità biologica in sistemi culturali intensivi coinvolge lo studio di diverse componenti del sistema suolo. Queste analisi prendono necessariamente in considerazione vari parametri chimici, biologici ed ecofisiologici, per cui si rende necessario l'utilizzo di approcci metodologici diversi.

Approcci e metodi differenti finalizzati sono stati applicati a due casi studio: un sistema agricolo abbandonato e due meleti sottoposti a diverse gestioni.

Nel caso di studio di un vigneto gestito fino agli anni '70 ora in fase di de-antropizzazione (Podere Pantaleone, Bagnacavallo, Ravenna) l'attenzione è stata rivolta allo studio di attività enzimatiche legate ai principali processi ecologici.

Nel caso di studio relativo a due meleti sperimentali al quinto anno di gestione biologica (Laimburg e Latsch, Alto Adige) l'attenzione è stata posta sulla struttura e sulla composizione della componente microbiologica. L'obiettivo è stato quello di, attraverso tecniche molecolari *high throughput*, identificare particolari gruppi di organismi, a diverso livello tassonomico, e correlarli a diverse gestioni agronomiche.

Concludendo, l'analisi dei parametri chimici e biologici, della struttura e composizione delle popolazioni microbiche del terreno (componenti analizzate per entrambi i siti), nonché delle relazioni tra questi due fattori, permettono di poter valutare la qualità del sistema suolo.

Suoli sottoposti ad agricoltura conservativa: studio dei parametri chimico-biologici

Conselvan G.B.¹, Pinto S.², Nardi S.¹, Furlan L.³, Chiarini F.³, Menta C.², Carletti P.¹

¹*Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment, DAFNAE, University of Padova, Padova, Italy*

²*Department of Life Sciences, University of Parma, Parma, Italy*

³*Department of Agricultural Research - Veneto Agricoltura - Legnaro, Italy*

Negli ultimi anni l'adozione di tecniche di agricoltura convenzionale sta portando a una perdita di fertilità dei terreni agricoli, a causa della riduzione di sostanza organica con conseguente aumento delle emissioni di gas serra. L'agricoltura conservativa si presenta come una valida alternativa all'agricoltura convenzionale.

Il Programma di Sviluppo Rurale (PSR) Veneto 2007-2013, attraverso l'Azione 1 (adozione di tecniche di agricoltura conservativa) e l'Azione 2 (copertura continuativa del suolo) della misura 214i, ha favorito ed incentivato le pratiche di agricoltura conservativa. Il progetto MONITAMB 214i, della durata di tre anni, ha perseguito l'obiettivo di confrontare terreni soggetti alle Azioni 1 e 2 con suoli gestiti invece con le pratiche convenzionali, in tre aziende pilota-dimostrative di pianura: Sasse Rami (Ceregnano, RO), Diana (Mogliano Veneto, TV) e Vallevecchia (Caorle, VE). In questo ambito di confronto, il presente lavoro ha avuto come oggetto di studio l'analisi di alcuni parametri chimici (il carbonio e l'azoto organico del suolo, il carbonio umico, le frazioni molecolari dei composti umici) e biologici (il carbonio e l'azoto della biomassa e le attività FDA-idrolasica, β -glucosidasica, la mesofauna attraverso l'applicazione dell'indice di qualità biologica del suolo QBS-ar).

I dati ottenuti hanno evidenziato un miglioramento della fertilità edafica dei terreni gestiti in modo conservativo, che però non risulta significativo in tutte le condizioni studiate. In particolare le attività enzimatiche sono stati i parametri che meglio hanno risposto al cambiamento di gestione agricola. I risultati relativi alla mesofauna sono in linea con i trend osservati generalmente nei campi coltivati, sia in termini di gruppi di microartropodi riscontrati che di valori di QBS-ar. La gestione conservativa sembrerebbe favorire lo sviluppo di una comunità edafica maggiormente diversificata, ma tale differenza risulta significativa solo nell'azienda Sasse Rami. Tra i vari gruppi di organismi osservati, inoltre, quelli che risultano essere maggiormente favoriti dalle pratiche conservative sono stati: acari, isopodi, emitteri, imenotteri e larve di coleotteri e ditteri.

In generale sembra che gli effetti della gestione dipendano da un insieme complesso di variabili agronomiche ed ambientali, indicando che tre anni di cambiamento di gestione non sono sufficienti alla creazione di un nuovo equilibrio dell'agroecosistema.

Forme di arsenico in una toposequenza di suoli contaminati nell'area mineraria della Valle Anzasca

Martin M., Celi L., Balint R., Zanzo E., Caluori F., Barberis E.

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA), Università di Torino, Torino, Italia

Lo sfruttamento storico dei filoni auriferi nell'area della Valle Anzasca (Piemonte Nord-Orientale), benché attualmente cessato, ha lasciato allarmanti concentrazioni di As nel suolo in ampie zone. Tuttavia, la potenziale pericolosità del metalloide non dipende soltanto dalle quantità assolute, ma soprattutto dalle forme in cui esso si trova nel suolo. La ripartizione tra le diverse forme può variare in funzione della tipologia di detriti, del tempo e dell'evoluzione del suolo.

Il presente lavoro ha preso in considerazione una toposequenza nell'area mineraria dismessa di Crocette, in Valle Anzasca, lungo il versante sulla sinistra orografica del torrente e alle spalle dell'ex impianto di lavorazione, a partire dal punto di accumulo dei detriti minerari fino al corso d'acqua.

Il cumulo dei detriti era pressoché privo di vegetazione, senza evidenze di formazione di suolo, pH molto acido (< 3), sostanza organica praticamente assente e concentrazioni di As totale dell'ordine delle decine di g kg^{-1} . Nei punti di campionamento successivi si osservava uno sviluppo progressivo della vegetazione erbacea ed arborea, lo sviluppo di orizzonti del suolo, organici e minerali, la cui potenza era limitata dalla pietrosità e rocciosità del sito. La quantità di sostanza organica aumentava, come il pH, che pure rimaneva acido (< 5). La concentrazione di As scendeva considerevolmente a partire dal terzo profilo, situato ad una ventina di metri dal cumulo dei detriti, stabilizzandosi su valori di $100\text{-}200 \text{ mg kg}^{-1}$. La forma di As largamente dominante, in tutti i profili, era quella legata agli ossi-idrossidi a scarso ordine cristallino. La percentuale del totale rappresentata da questa frazione diminuiva lungo la sequenza, mentre aumentava quella legata agli ossidi cristallini. La frazione scambiabile con fosfato, più disponibile rispetto alle precedenti, era in media intorno al 10% e tendeva ad aumentare con la sostanza organica, anche se i valori assoluti restavano maggiori nei primi due siti.

Le elevatissime concentrazioni di As presenti nei suoli prossimi ai detriti minerari sono principalmente immobilizzate sugli ossi-idrossidi a scarso ordine cristallino; la elevata reattività di tali composti potrebbe renderli pronti a trasformazioni dovute ad eventuali variazioni fisico-chimiche del pedoambiente, con una conseguente variazione della mobilità dell'As attualmente fissato.

Azione ammendante del pannello esausto di *Brassica carinata* ed effetti sui parametri chimici e biochimici del suolo

Monaci E., Toscano G., Foppa Pedretti E., Pizzi A., Romanazzi G., Landi L., Feliziani E., Angeletti C., Casucci C., Vischetti C.

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali-D3A, Università politecnica delle Marche, Ancona, Italia.

L'agricoltura conservativa promuove pratiche colturali utili al ripristino della fertilità dei suoli agricoli. L'uso delle bioenergie, di ammendanti organici e di prodotti per la difesa delle colture a basso profilo eco-tossicologico sono considerate pratiche attraverso le quali perseguire gli obiettivi agronomici riducendo l'uso di input di sintesi. Il sottoprodotto dell'estrazione di biocarburante da semi di crucifera è un pannello ricco di macro e micro elementi della nutrizione vegetale. Il pannello esausto è però caratterizzato anche dalla presenza di iso-tiocianati, molecole a cui viene attribuita un'azione biocida, prodotte per idrolisi enzimatica (mirosinasi) dai glucosinolati presenti nei tessuti e nei semi delle brassicacee.

Al fine di valutare il possibile utilizzo agronomico del pannello esausto di *Brassica carinata* come ammendante organico e l'effetto di contenimento di patogeni fungini, è stato allestito uno studio di laboratorio in cui sono stati misurati gli effetti indotti dal pannello su alcune proprietà chimiche (pH, S.O., HA-C e FA-C), biochimiche (respirazione basale, β -glucosidasi, fosfatasi ed aril-solfatasi) e sullo stato di aggregazione di un suolo agricolo trattato con una quantità di pannello equivalente a 3 (D), 30 (10D) e 300 (100D) t Ha⁻¹. In aggiunta, il potenziale effetto biocida del pannello di *Brassica carinata* è stato valutato in relazione alla composizione della popolazione microbica fungina del suolo.

I risultati mostrano un decremento del pH del suolo ed un incremento del contenuto di S.O. significativo alle dosi 10D e 100D. Anche la frazione umica aumenta in proporzione alla dose aggiunta, sebbene il rapporto percentuale rispetto al contenuto di carbonio organico totale, risulti inferiore alla dose più elevata. Nonostante la presenza di isotiocianati (isotiocianato di allile), tutti i parametri biochimici testati risultano positivamente influenzati dalla presenza del pannello e in modo significativo alle dosi 10D e 100D.

L'analisi della composizione della comunità fungina dei suoli trattati ha evidenziato la presenza dominante di *Rhizopus* spp. il cui sviluppo è risultato proporzionale alla quantità di pannello aggiunta. Sebbene questo microrganismo fungino non sia un patogeno degli apparati radicali, il suo sviluppo sembrerebbe indicare una generale assenza di azione biocida diretta del pannello sul metabolismo di tale genere di funghi.

Parole chiave: brassicacee, frazioni C-organico, proprietà biochimiche, microrganismi fungini

Uso di zolfo elementare pastigliato con bentonite e biomasse agricole di scarto come correttivo-fertilizzante in agricoltura.

Muscolo A.¹, Mallamaci C.¹, Settineri G.¹, Panuccio M.R.¹, Lisciandra L.², Giovenco R.², Calamarà G.²

¹*Agriculture Department, Mediterranean University, Feo di Vito, 89124-Reggio Calabria Italy*

²*SBS Steel Belt Systems s.r.l. – Registered office: Via Roncaglia 14 – 20146 Milan (Italy) – Headquarters and Factory: Via E Mattei, 3 - 21040 Venegono Inf. (VA) Italy*

Lo studio è in collaborazione con la Steel Belt Systems s.r.l. una società specializzata nella progettazione e produzione di sistemi a nastro di acciaio per processi industriali continui, e pioniera nello sviluppo di macchinari e nella produzione di granuli per una vasta gamma di prodotti. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di utilizzare lo zolfo elementare ottenuto dai residui della desolforazione di gas naturale e petrolio, come fertilizzante e correttivo per suoli alcalini, riducendo nello stesso tempo le emissioni di zolfo nell'atmosfera. Lo zolfo, insolubile nella sua forma elementare, è stato legato con bentonite e/o con biomasse agricole di scarto per essere rilasciato lentamente nel suolo, e trasformato dai microrganismi in solfato, forma assimilabile dalle piante. Preliminarmente sono state individuate la forma e la dimensione di zolfo bentonite per un ottimale rilascio e trasformazione nel suolo. La forma migliore è risultata essere la pastiglia con dimensioni comprese tra 2-4 mm. In tale forma e dimensione lo zolfo bentonite è stato poi complessato con biomasse agricole di scarto (pastazzo di arancia e sansa essiccata) e il potere correttivo-fertilizzante delle pastiglie ottenute è stato testato su suolo alcalino in condizioni controllate. Sono stati valutati inoltre gli effetti delle diverse pastiglie sulla crescita e la produttività di piante di interesse agrario (fagiolo, peperoncino e cipolla rossa) allevate in microcosmi in serra, rispetto a controlli allevati su suoli non ammendati. I risultati hanno dimostrato che dopo un ciclo vegetativo stagionale, lo zolfo-bentonite è stato in grado di abbassare il pH dei suoli alcalini e di aumentare la crescita di cipolle, fagioli e peperoncini rispetto ai controlli. Lo zolfo-bentonite pastigliato con biomasse di scarto ha avuto un effetto migliore sia sul suolo che sulle piante. Il miglior effetto sulle proprietà del suolo, è stato ottenuto utilizzando pastiglie di zolfo bentonite con pastazzo di arancia. Per quanto riguarda la produttività delle colture, le cipolle e i peperoncini sono cresciuti meglio con zolfo-bentonite pastigliato con pastazzo d'arancia, al contrario i fagioli con zolfo-bentonite più sansa essiccata. I dati hanno mostrato una specificità tra specie e tipo di fertilizzante utilizzato.

Soil microbial community structure reaction after treatment with plant essential oils showing herbicide potential

Oddo M.

Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Italy

Weed management currently is an unavoidable activity in agriculture, independently from the production typology. Weeds are also undesired in natural, farmed and recreational green areas.

Even if the target of these techniques is usually a grass, every kind of management can effect soil microbiota and consequently soil biologic fertility.

Soil fertility is a very important natural resource whose renewability has a key role in crop production. To survey and enhance it is the most effective way to maintain crop production sustainability. A large number of soil quality or fertility indicators can be used to define and survey soil quality. In this study was considered a set of bioindicators to asset soil microbial community structure.

Chemical herbicides have been preferred by farmers during the last decades for their easy use, large number of weed species controlled and fast and long lasting effect. On the other hand they could affect the ecosystems and pollute groundwater and the environment and also affect human and animal health. The overuse of synthetic herbicides can also promote the apparition of resistant weeds.

The European Union Council, in the aim to protect citizen health, sets rules for the sustainable use of pesticides to reduce the risks and impacts of pesticide use on people's health and the environment.

As alternative to the traditional chemical herbicides, natural herbicides are being developed, based on allelopathic substances (allelochemicals) obtained from plants or microorganisms, and some of them are already available on the market. Natural herbicides are more respectful with the environment, having less persistence and different action modalities, thwarting the apparition of weed resistant biotypes.

This poster focuses on the short and medium-time evolution of soil biochemical quality indexes under the impact of five essential oils extracted from five plants with a well-known herbicide and antimicrobial activity: *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Eriocephalus africanus* L., *Thymus capitatus* L., *Citrus reticulata* Blanco and *Citrus limon* (L.) Osbeck.

Short-term response of soil microorganisms to essential oils with allelopathic potential

Oddo M.¹, Badalucco L.¹, Conte P.¹, Palazzolo E.¹, Verdeguer M.¹, Laudicina V.A.¹

¹*Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italy*

²*Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain*

Weeds are currently managed in agriculture as well as in natural and recreational green areas. Synthetic herbicides are usually preferred to control weeds for their easy use, large number of weed species controlled and fast and long lasting effect. However, they could damage ecosystems and human health, and also select resistant weeds biotypes. As alternative to the traditional synthetic herbicides, natural herbicides, based on allelopathic substances (allelochemicals obtained from plants or microorganisms) are more respectful to the environment, having less persistence and different biochemical modes of action. The aim of this research was to investigate the effects of five essential oils (EOs) with allelochemical potential on soil microbial community structure and activity. The tested EOs have been extracted by hydrodistillation from leaves of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (EUC); *Eriosephalus africanus* L. (ERI); *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link (TCP); *Citrus reticulata* Blanco and *Citrus limon* (L.) Osbeck.

The extracted EOs were emulsified and applied to soil at three concentrations: LOW (0.143 $\mu\text{L EO g}^{-1}$ soil), MED (0.286 $\mu\text{L EO g}^{-1}$ soil) and HIGH (0.571 $\mu\text{L EO g}^{-1}$ soil). EOs-treated soils were incubated in controlled conditions and destructively sampled after 15, 30, 90 and 120 days. Soil samples were analysed to determine soil microbial biomass, community structure (phospholipid fatty acids) and activity (soil respiration).

Microbial biomass, total and specific microbial respirations of EOs-treated soils did not show significant differences, compared to the control treatment. On the contrast, the G+/G- ratio and fungi showed significant differences between EO treatments and control. Specifically, regardless of concentration, the G+/G- ratio was increased by TCP, and at the highest concentration, fungi was decreased by EUC, LEM and ERI, while increased by TAN.

Our results demonstrated that tested essential oils could be sustainable for weed management as they have a small effect on soil microorganisms. In fact, although soil microbial community structure was affected by EOs, total microbial biomass as well as the overall metabolic capacity of soil was not. However, further studies are needed to understand if the observed shift in microbial community structure could alter more specific soil processes such as nitrogen turnover.

Corresponding Author: vitoarmando.laudicina@unipa.it

Volatilizzazione di ammoniaca e nitrificazione in suoli trattati con digestati

Petris R.¹, Khakbaz A.², De Nobili M.², Contin M.²

¹*CRITA S.c.a.r.l. (Centro di Ricerca e Innovazione Tecnologica in Agricoltura), Via Pozzuolo, 324 - 33100 Udine, Italia.*

²*Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali (DISA), Via delle Scienze, 206, 33100 Udine, Italia.*

La presenza di numerosi impianti di Biogas comporta la necessità di gestire grandi quantità di refluo (digestato). Il contenuto di azoto ($2-7 \text{ g kg}^{-1} \text{ t.q.}$) e di altri macro- e micro-nutrienti, e le grandi quantità di refluo prodotte ($15.000 - 18.000 \text{ t anno}^{-1} \text{ MWe}^{-1}$) rendono necessario lo studio di questo materiale e in particolare delle soluzioni atte ad una efficiente gestione dell'azoto, per un corretto utilizzo agronomico nel rispetto della Direttiva Nitrati. Lo strippaggio è una tecnica che contempla l'estrazione dell'ammoniaca in fase gassosa con contestuale recupero mediante acidificazione e produzione di solfato ammonico. Il digestato "strippato" ha un contenuto azotato inferiore e in forma prevalentemente organica.

Obiettivo del presente lavoro è lo studio della dinamica di trasformazione dell'azoto presente in digestati e digestati strippati.

Il digestato è stato raccolto da in un impianto di biogas che utilizza una matrice composta da insilato di mais (54%), liquame suino (13%), insilato di triticale (6%) melasso (1%) e acqua (26%). Lo strippaggio del digestato è stato effettuato con un prototipo di reattore bench top, mediante riscaldamento ($60 \text{ }^{\circ}\text{C}$) e agitazione, ottenendo un abbattimento dell'azoto ammoniacale del 42%. Lo studio è stato condotto in microlisimetri riempiti con due suoli della pianura friulana. I suoli sono stati trattati con urea, digestato tal quale e digestato strippato con una dose equivalente a 300 kg N ha^{-1} . È stata determinata la volatilizzazione dell'azoto in forma ammoniacale, lisciviazione dell'azoto in forma di nitrato nell'acqua di percolazione.

Il comportamento dei fertilizzanti nei due suoli dimostra i medesimi trend: si rilevano infatti perdite di azoto consistenti nel trattamento con urea ($126-182 \text{ kg N ha}^{-1}$ al netto del controllo), mentre più moderate nei trattamenti con i digestati. Nel terreno dell'azienda Zoia il digestato e il digestato strippato non presentano marcate differenze sia in termini di volatilizzazione dell'azoto ammoniacale (10-9% dell'azoto distribuito al netto del controllo) che lisciviazione di nitrati (6-3%). Nel terreno dell'azienda Servadei si rilevano invece delle marcate differenze fra questi due trattamenti dovuti al maggiore tasso mineralizzazione, rilevabile anche nel controllo, e nel trattamento con urea. In questo terreno lo strippaggio del digestato ha diminuito in maniera consistente le perdite di azoto per lisciviazione rispetto il digestato tal quale, passando da una perdita del 41% dell'azoto distribuito al 16%. L'effetto del digestato e del digestato strippato è stato inoltre significativamente positivo sulla biomassa microbica, specialmente nel terreno dell'azienda agricola Zoia (incremento del 27-29%).

Effetto del pre-trattamento anaerobico allo stato solido del liquame nella gestione integrata degli effluenti zootecnici

Pezzolla D., Tacconi C., Gigliotti G.

Dipartimento di Ingegneria Civile ed Ambientale, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

Lo smaltimento degli effluenti zootecnici attraverso la combinazione in serie di due processi biologici, come la digestione anaerobica ed il compostaggio, rappresenta una soluzione sempre più sostenibile dal punto di vista ambientale ed economico. La valorizzazione integrata dei reflui consentirebbe di ottenere una parziale stabilizzazione delle deiezioni e nel contempo di produrre energia da fonte rinnovabile.

L'obiettivo del presente lavoro era quello di valutare l'effetto della digestione anaerobica (DA) allo stato solido sull'andamento della successiva fase di compostaggio e sulla qualità della biomassa in uscita dal sistema integrato. Al tal fine sono stati realizzati 4 cumuli della dimensione di circa 2 m³ ciascuno, costituiti da reflui suinicoli e paglia, in un quantitativo tale da raggiungere all'incirca l'80-85% di umidità nella matrice in ingresso. Le miscele così composte sono state collocate all'interno di 4 big bag e chiuse ermeticamente con un telo in plastica, in maniera tale da assicurare le condizioni di anaerobiosi rispettivamente per la durata di 7, 14, 21 e 28 giorni (DA7, DA14, DA21 e DA28). Al momento dell'apertura di ciascun big bag sono stati prelevati 3 campioni per le determinazioni analitiche. Successivamente ciascun cumulo è stato avviato alla fase aerobica per un periodo di 28 giorni, durante i quali sono stati effettuati dei campionamenti ad intervalli stabiliti (7, 14, 21, 28 giorni dall'apertura dei big bag).

Il carbonio organico presente nei cumuli dopo il trattamento anaerobico si mantiene piuttosto costante durante il compostaggio, probabilmente per la presenza di molecole più stabili che si formano in seguito al processo di DA allo stato solido. Dal confronto dei parametri di umificazione dei digestati e dei rispettivi compost, è evidente come in tutti i cumuli si ha un miglioramento della frazione degli acidi umici e fulvici dopo il trattamento integrato anaerobico/aerobico, in particolare nei cumuli DA21 e DA28 (rispettivamente 11,1 e 11,8% s.s), ovvero nelle prove dove la digestione anaerobica è durata più a lungo. Questo dato è ulteriormente confermato dal grado di umificazione che presenta il valore più elevato proprio in DA28 (71%).

I risultati hanno dimostrato che il pre-trattamento anaerobico allo stato solido del liquame può influire positivamente sul contenuto in sostanze umosimili e dunque sulla qualità agronomica delle biomasse.

Bioaccumulo ed ecotossicità dell'arsenico in lombrichi esposti a suoli contaminati

Panzarino O., Porfido C., Allegretta I., Bari G., Terzano R., de Lillo E., Spagnuolo M.

Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Italia

L'arsenico (As) presente nell'ambiente è estremamente tossico soprattutto nelle sue forme inorganiche per gli uomini, gli animali e le piante. La sua pericolosità può essere valutata attraverso analisi di bioaccumulo ed ecotossicità in organismi bioindicatori. I lombrichi sono potenti bioindicatori di suoli inquinati grazie alla loro capacità di ingerire le particelle del suolo e di avere la superficie corporea continuamente a contatto con il suolo.

Il presente lavoro mostra i risultati di analisi di bioaccumulo ed ecotossicità nei lombrichi *Eisenia andrei* (Bouché) in suoli contaminati da attività minerarie e industriali che presentano differenti e crescenti concentrazioni di As (35, 60, 170, 730, 3000 e 14000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Lombrichi adulti sono stati esposti a microcosmi contaminati e successivamente adoperati per saggi biologici e chimici. Dopo due giorni di esposizione è stato eseguito un *avoidance test* sul suolo contaminato; dopo 14 giorni sono stati misurati il tasso di sopravvivenza, la variazione in peso, il contenuto in metallotioneine, lo stress ossidativo e genotossico; dopo 28 giorni è stata valutata la capacità riproduttiva (OECD Test). La distribuzione e il bioaccumulo dell'As nei lombrichi sono stati determinati mediante spettroscopia di microfluorescenza di raggi X (μXRF) e fluorescenza di raggi X a riflessione totale (TXRF).

I suoli contaminati sono stati evitati dai lombrichi in tutte le tesi tranne che in quella ad alto contenuto di sostanza organica; in nessun caso l'esposizione ai suoli contaminati è stata letale dopo 14 giorni; anche il contenuto di metallotioneine e il danno genotossico non sono risultati differenti dal controllo; al contrario il tasso di riproduzione e l'incremento in peso hanno mostrato una correlazione negativa con la quantità di As e, in tutte le tesi, lo stress ossidativo è risultato maggiore rispetto al controllo. Le analisi effettuate nelle sezioni trasversali dei lombrichi e nei fluidi celomatici mediante μXRF e TXRF hanno evidenziato un notevole accumulo dell'elemento nella cavità celomatica. Per una migliore interpretazione dei risultati sono in corso ulteriori test per valutare altri biomarkers (stabilità lisosomiale, malondialdeide, enzimi antiossidanti come catalasi, superossidodimutasi e glutatione S-transferasi).

Seciazione chimica e spettroscopica dello zinco presente nel sedimento di laguna di stoccaggio di un digestato

Ricci A.¹, Kavashnina K.O.², Massaccesi L.³, Agnelli A.³, Pezzolla D.¹, Gigliotti G.¹

¹*Department of Civil and Environmental Engineering, University of Perugia, Perugia, Italy*

²*European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble, France*

³*Department of Agricultural, Food and Environmental Science, University of Perugia, Perugia, Italy*

Il presente studio è stato condotto presso un impianto di digestione anaerobica consortile per il trattamento di effluenti zootecnici, in funzione dal 1989 al 2008. La frazione liquida del digestato prodotto era stoccata in un bacino di profondità di 4 metri circa per un volume totale di circa 80.000 m³. Nel tempo, a causa di una separazione solido/liquido non pienamente efficace, un sedimento di consistenza fangosa ha riempito la laguna per quasi l'intero spessore. Uno studio preliminare ha messo in evidenza una composizione uniforme del sedimento sia in senso verticale che orizzontale con una elevata concentrazione di zinco (> 4.000 ppm) e rame (circa 1.200 ppm).

Le analisi preliminari mettevano in evidenza come la problematica di maggiore rilevanza riguardasse la concentrazione estremamente elevata di Zn. Per questo motivo obiettivo della ricerca era quello di operare una speciazione del metallo con l'utilizzo di tecniche chimiche e spettroscopiche, anche per escludere la presenza di ZnO, composto ritenuto tossico per l'ambiente acquatico. Oltre alla speciazione chimica, effettuata attraverso tecniche di estrazione sequenziale, è stata eseguita una analisi spettroscopica alla luce di sincrotrone XANES (X-ray Absorption Near Edge Structure) e XES (X-ray emission spectroscopy). Infine è stata effettuata una caratterizzazione granulometrica e mineralogica del sedimento.

La speciazione chimica ha messo in evidenza come lo Zn sia legato principalmente alla sostanza organica ed ai carbonati. Questi risultati sono confermati dalle tecniche spettroscopiche che evidenziano elevate concentrazioni di fosfato di zinco, solfuro di zinco, carbonato di zinco, zinco variamente legato alle frazioni organiche del sedimento ed infine idrossido e ossido di zinco. Quest'ultima forma, ad una prima valutazione quantitativa, non supera la percentuale dell'1% rispetto alle altre forme chimiche del metallo.

Essendo il sedimento di laguna costituito per circa il 70% da sostanza organica, l'elevata percentuale di Zn legata a questa frazione era del tutto attendibile, così come da attendersi era la presenza del solfuro e del carbonato di zinco, visto che il primo si forma in condizioni anerobiche, mentre il secondo può formarsi nel tratto intestinale degli animali. La presenza dell'idrossido di Zn è stata documentata anche da altri autori in studi di speciazione in reflui suini presenti in lagune di stoccaggio.

Infine, l'analisi delle diverse frazioni granulometriche ha evidenziato che lo Zn era presente per circa i tre quarti della sua concentrazione nella frazione con dimensioni comprese tra 2 e 52 µm.

In conclusione, i risultati del monitoraggio effettuato hanno evidenziato l'assenza dell'ossido di Zn in concentrazioni tali da rendere il materiale pericoloso nei confronti degli organismi acquatici ed hanno fornito utili indicazioni per eventuali future operazioni di bonifica.

Biodegradation of persistent organic pollutants by autochthonous microbial strains isolated from a historically polluted soil of industrial site

Sannino F.^{1,2}, Piccolo A.^{1,2}, Ventorino V.¹, Pepe O.¹

¹*Dipartimento di Agraria, Università di Napoli "Federico II", Via Università 100, 80055 Portici (NA)*

²*Centro Interdipartimentale di Ricerca sulla Risonanza Magnetica Nucleare per l'Ambiente, l'Agro-Alimentare ed i Nuovi Materiali (CERMANU), Università di Napoli "Federico II", Via Università 100, 80055 Portici (NA)*

An essential priority in the environment is the remediation of industrial soils contaminated by persistent organic pollutants, since they represent a significant hazard to terrestrial and aquatic ecosystems and food security

The aim of this study was to assess the ability of selected autochthonous microbial strains, previously isolated from a highly contaminated industrial soil, to degrade the different classes of recalcitrant organic contaminants when added to contaminated aqueous extracts obtained from the same soil. The validation of activity of microbial strains of this study may support the development of more efficient bioaugmentation processes during bioremediation of polluted soils.

Two autochthonous microbial strains, *Methylobacterium populi* and *Aspergillus sydowii*, isolated from a soil of a highly contaminated industrial site, were used to degrade the aqueous extract of contaminants (AEC) obtained from the same soil. The AEC incubation with both strains produced a significant removal of most organic pollutants, although the degradation capacity decreased with increasing AEC concentration in the minimal selective liquid medium (MSML). At 30% of AEC, most pollutants signals in GC-MS chromatograms were no more visible after treatment with *Methylobacterium*, whereas new signals appeared due to products of oxidation and enzymatic degradation. Incubation of the same AEC concentration in MSML by *Aspergillus* produced the disappearance of the same signals, but also of the derived degradation products. Our results showed that the strains maintained the capacity to use organic contaminants as metabolic carbon in aqueous extracts from the same soil. The greater biodegradation efficiency of the fungal strain in comparison to *Methylobacterium*, may be accounted to modification of the *Aspergillus* cell surface that favours cell permeability to hydrophobic compounds and enhances the extent of pollutants degradation. This work indicates that these strains isolated from highly contaminated soil may be again used in bioaugmentation practices during remediation of contaminated soils.

Effetto di pratiche agronomiche sui funghi micorrizici arbuscolari e loro ruolo nel ciclo del carbonio in un vigneto

Scandellari F.¹, Aguirre-Ráquira W.², Mescalchin E.³

¹*Facoltà di Scienze e Tecnologie, Libera Università di Bolzano, Piazza Università 5, 39100 12 Bolzano, Italia*

²*Grupo de Investigación "Horticultura", Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia*

³*Unità Agricoltura Biologica, Centro Trasferimento Tecnologico, Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (TN), Italia*

I funghi micorrizici arbuscolari (AMF), naturalmente presenti nel suolo, vivono in simbiosi con molte piante, fra cui alcune specie produttive come la vite. Questi organismi sono noti per il loro coinvolgimento in molti cicli biogeochimici, ma la loro rilevanza nel ciclo del carbonio è relativamente poco nota. Gli AMF ricevono carbonio da parte della pianta ospite: di questo, parte viene rilasciato in atmosfera sotto forma di CO₂, mentre parte viene trasferito al suolo sotto forma di sostanza organica stabile. Questo è di particolare interesse perché gli AMF possono contribuire ad aumentare la capacità di stoccaggio del carbonio, specialmente in sistemi agrari di lunga durata, fornendo uno strumento per mitigare l'aumento di CO₂ in atmosfera.

Lo scopo di questa ricerca è quello di valutare il ruolo degli AMF nel ciclo del carbonio. In particolare, in questo lavoro presentiamo i risultati del primo anno di misure di un progetto biennale eseguito in un vigneto e volto a quantificare l'allocazione di carbonio agli AMF e il loro contributo all'emissione di CO₂ dal suolo in presenza di diverse gestioni agrarie.

Nel vigneto sperimentale, suddiviso in parcelle con diverse gestioni agronomiche (convenzionale, organico e biodinamico), abbiamo misurato la respirazione del suolo mediante l'uso di un analizzatore a infrarosso; inoltre la presenza di funghi micorrizici è stata valutata mediante decolorazione delle radici di vite e seguente colorazione con blu tripano.

I risultati mostrano un effetto della gestione del vigneto sia sulla respirazione del suolo che sulla micorrizzazione che rimane comunque sempre presente (20-50%). La nostra ricerca supporta pertanto l'ipotesi che anche in vigneto la gestione possa favorire o meno lo sviluppo della micorrizzazione ed influenzare il loro effetto sul ciclo del carbonio.

Questi risultati suggeriscono la possibilità di sfruttare al meglio le risorse naturalmente esistenti nei sistemi agrari, come la presenza di inoculi micorrizici, modificando le pratiche agronomiche in modo da agire positivamente non solo sulla fisiologia della pianta, ma anche sull'equilibrio biogeochimico del sistema. I risultati di questo studio possono contribuire a implementare nuove pratiche nella moderna agricoltura allo scopo di mantenere una produzione soddisfacente e una buona qualità dei frutti utilizzando pratiche sostenibili per l'ambiente agendo su meccanismi ancora poco studiati e sfruttati.

Distribuzione, adsorbimento e desorbimento del fosforo in suoli concimati con biosolidi derivanti da fanghi di depurazione

Sciubba L., Cavani L., Marzadori C., Ciavatta C.

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, viale G. Fanin, 40 – 40127 Bologna

L'utilizzo agricolo dei fanghi di depurazione è uno dei metodi più comuni per la valorizzazione di questi sottoprodotti, ricchi di carbonio, azoto e fosforo, per la possibilità di fornire nutrienti ai suoli, in particolare a quelli poveri in sostanza organica [1]. Tuttavia, poiché le dosi di utilizzo dei fanghi sono spesso definite in base al fabbisogno di azoto, la quantità di fosforo (P) applicata al suolo risulta in genere superiore alle necessità delle colture [2], portando ad un accumulo di tale elemento, soprattutto se l'applicazione dei prodotti è protratta nel tempo. Il P è presente nel sistema suolo in differenti pools [3], il cui studio è di fondamentale importanza dal punto di vista sia agronomico che ambientale. Infatti la quantità di P distribuito nei diversi pools del suolo e l'entità dei processi di immobilizzazione, solubilizzazione e adsorbimento sono dipendenti dal tipo di biosolidi utilizzati, dal procedimento impiegato per la loro produzione, dalla dose applicata e dalla durata della somministrazione [4]. In questo lavoro sono stati analizzati dei suoli di tipo franco-limoso, provenienti da un'azienda sperimentale nei pressi di Ravenna, concimati per circa 20 anni con diversi biosolidi derivanti da fanghi di depurazione anaerobici (frazione liquida e fango disidratato) a diverse dosi (5 e 10 t/ha) per determinarne il contenuto in P totale, P disponibile, P labile e descriverne le isoterme di adsorbimento e desorbimento secondo Langmuir e quindi valutare l'effetto residuo dell'applicazione protratta nel tempo di questi prodotto al suolo.

I risultati ottenuti mostrano che i suoli trattati con il fango disidratato, alla dose più elevata, presentano un contenuto maggiore di P totale e P solubile in acqua rispetto al controllo non trattato e alle tesi con dosi più basse, ma anche un minore coefficiente di adsorbimento. Pertanto l'applicazione nel tempo di biosolidi da fanghi sembra aver ridotto la capacità di immobilizzazione del fosfato da parte del suolo.

[1] Laternus et al. (2007). *Env. Sci. Pollut. Res. Special Issue* 1:53-60

[2] Sui and Thompson (2000). *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:164-169

[3] Grigatti et al. (2015). *Waste Biomass Valor* DOI 10.1007/s12649-015-9383-2

[4] Mantovi et al. (2005) *Wat. Res.* 39: 289-296

Effetto del *liming* sui processi rizosferici e l'acquisizione di nutrienti in piante di lupino bianco

Valentinuzzi F.¹, Mimmo T.¹, Cesco S.¹, Al Mamun S.², Santner J.^{3, 4}, Hoefler C.³, Oburger E.³, Robinson B.², Lehto N.²

¹Faculty of Science and Technology, Free University of Bolzano, Bolzano, Italy

²Agriculture and Life Sciences, Lincoln University, Lincoln, Canterbury, New Zealand

³Department of Forest and Soil Sciences, Institute of Soil Research, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna (BOKU), Tulln, Austria

⁴Department of Crop Sciences, Division of Agronomy, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna (BOKU), Tulln, Austria

I suoli acidi rappresentano circa il 30-40% dei terreni coltivabili e costituiscono uno dei principali limiti per le produzioni agrarie. La crescita delle piante in questi suoli è limitata non solo dall'elevata concentrazione di elementi fitotossici quali l'alluminio (Al), ma anche dalla scarsa disponibilità di nutrienti quali il fosforo. L'aggiunta di carbonato di calcio (*liming*) migliora la fertilità riducendo la solubilità di elementi quali l'Al e il cadmio (Cd). Il lupino bianco è coltivato principalmente su terreni acidi a causa delle sue caratteristiche calcifughe. In condizioni di stress abiotici, il lupino rilascia una notevole quantità di essudati radicali (acidi organici e flavonoidi) da particolari strutture radicali dette *cluster roots*, favorendo la mobilitazione di nutrienti e la complessazione di elementi.

Scopo di questo lavoro è stato quello di determinare l'effetto del *liming* sui processi rizosferici di piante di lupino bianco cresciute in due diversi suoli trattati con sette concentrazioni di carbonato di calcio. La disponibilità e l'assorbimento dei nutrienti sono stati valutati con un primo esperimento in vaso. Dai risultati di questo esperimento, sono stati scelti un suolo e tre diversi livelli di carbonato per il successivo esperimento con rizotroni. Al fine di analizzare la mobilitazione dei nutrienti ad elevata risoluzione bidimensionale, sono stati applicati gels di DGT (Diffusive Gradient in Thin layers) in corrispondenza di alcuni *cluster roots* e successivamente analizzati mediante LA ICP-MS (Laser Ablation Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry).

I risultati del presente lavoro hanno mostrato come il carbonato di calcio ha influenzato sia la solubilità degli elementi del suolo sia il loro assorbimento da parte delle piante. Nonostante ciò, nei suoli trattati a diverse concentrazioni di carbonato di calcio, l'assorbimento degli elementi nutritivi è stato sufficiente ad evitare situazioni di carenza nutrizionale. L'analisi dei gels di DGT ha invece mostrato una mobilitazione degli elementi solo intorno ai *cluster roots* allevati in suoli non trattati. In conclusione, questo lavoro indica come il lupino bianco può essere coltivato in suoli con valori di pH fino a 7.50 e con concentrazione di carbonato di calcio fino al 10% senza evidenziare sintomi evidenti di carenze nutrizionali a livello fogliare.

Ricerca eseguita con contributi: Unibz TN5056, MIUR: programma FIRB2012, Lincoln University Research Fund, Austrian Science Fund (FWF): P23798-B16.

Considerazioni sul trasferimento di EPT (As, Ba, Cr, Cu, Pb, Sb, Tl, Zn) da suoli contaminati a colture orticole: il caso del comprensorio di Pietrasanta (Lucca)

Vittori Antisari L., Orlandi E., Simoni A., Vianello G.

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, viale G. Fanin, 40 – 40127 Bologna

Il conoide alluvionale formato dal torrente Baccatoio in comune di Pietrasanta (Lucca) si è originato per apporti di materiali detritici e sedimenti dalla testata del bacino caratterizzata da rocce affette da un metamorfismo polifasico in facies Scisti verdi di età Alpina; queste formazioni litologiche sono ricche in mineralizzazioni a solfuri (es.: Pirite, Calcopirite, Barite, Tetraedrite) con frequenti filoni a solfuri misti (es.: Arsiccioite ($\text{AgHg}_2\text{TlAs}_2\text{S}_6$), Routhierite ($\text{CuAg Hg}_2\text{Tl (AsSb)}_2\text{S}_6$). Le coltivazioni minerarie protratte per secoli, abbandonate solo nella seconda metà del ventesimo secolo, hanno contribuito consistentemente alla formazione dei depositi alluvionali di valle, lasciando in varie parti del territorio discariche a cielo aperto abbandonate. I suoli che si sono formati ed evoluti su tali substrati hanno subito una inevitabile contaminazione di tipo geogenico a causa della rapida degradazione dei solfuri e solfosali contenenti elementi potenzialmente tossici (EPT) in concentrazioni elevate. In nove siti agricoli presi a campione le concentrazioni di As, Pb, Sb, Zn negli orizzonti del profilo del suolo sono sempre superiori ai limiti imposti dal D. lgs. 152/2006 per ambiti ad uso verde pubblico o privato; da considerare inoltre le concentrazioni di Ba sempre superiori ai 900 mg kg^{-1} . Valori medi riferiti ai Fattori di arricchimento superficiali (EF) ed indici di geoaccumulo (Igeo) risultano >2 e >1 solamente per Cu e S a conferma dell'origine geogenica degli EPT considerati nel presente lavoro (As, Ba, Cr, Cu, Pb, Sb, Tl, Zn). In questi suoli vengono coltivate abitualmente diverse varietà di *Brassica oleracea* L. (var. *palmifolia*, cavolo nero; var. *capitata*, cavolo cappuccio; var. *acephala*, cavolo rapa) di cui è nota la capacità di adattamento a condizioni di contaminazione ambientale e tali da potere essere utilizzate per valutare il livello di trasferimento di EPT dal suolo alla piante. L'applicazione del Fattore di Bioaccumulo (BAF) riferito alle piante di cavolo nero e ai suoli dei siti esaminati esprime una certa significatività per Tl ($1,32 \text{ mg kg}^{-1}$), Zn ($0,58 \text{ mg kg}^{-1}$) e Cr ($0,42 \text{ mg kg}^{-1}$); mentre in riferimento alla mobilità degli elementi dalle radici agli apparati fogliari il calcolo dell'indice di traslocazione (TI) mette in evidenza valori medi < 1 . Nonostante l'indice di traslocazione basso, le concentrazioni rilevate nei tessuti fogliari mettono in evidenza alcune criticità legate alla elevata concentrazione totale di EPT nelle parti eduli delle piante orticole.

Sessione II

Nutrizione delle piante e qualità delle produzioni vegetali

L'analisi del genoma per migliorare la potenzialità e la qualità delle produzioni vegetali

Michele Stanca

Unione Nazionale delle Accademie per le Scienze Applicate allo Sviluppo dell'Agricoltura, alla Sicurezza Alimentare ed alla Tutela Ambientale UNASA - CRA GPG Fiorenzuola

Benchè la scienza e la tecnologia abbiano fornito in questi ultimi decenni risultati straordinari, e in considerazione del fatto che non possiamo più applicare la regola della messa a coltura di nuove terre, ma che dobbiamo risparmiare il terreno dalle continue razzie antropiche, nasce l'imperativo di dover chiedere all'unità di superficie l'ulteriore sforzo di ospitare, in perfetto equilibrio, nuove piante capaci di garantire il cibo per 10 miliardi di persone. Alla domanda se ciò sia possibile, la risposta è stata positiva, ma dobbiamo disegnare nuove strategie. Se consideriamo il frumento risulta evidente che le nuove varietà e le nuove tecniche agronomiche, in alcuni Paesi Europei, hanno permesso di raggiungere una media nazionale superiore a 8 t/ha con una potenzialità di 12-14 t/ha, cioè sono stati ottenuti circa 20.000 semi/m² di terreno senza intensificare l'uso di prodotti di sintesi. Oggi si può dire che teoricamente è possibile raggiungere 30.000 semi/m² e superare la barriera delle 15 t/ha. E' interessante osservare come all'aumentare della produzione di prodotti utili, la curva degli input tecnologici non segua lo stesso andamento in parallelo ma si appiattisce. Come già detto, tutti questi sforzi dovranno seguire un percorso di compatibilità ambientale. Per alcuni aspetti della destinazione d'uso della biomassa, si comincia a sperimentare la coltivazione di piante perennanti al fine di ridurre l'input dei prodotti di sintesi. L'analisi dei genomi è stata la maggiore conquista della genetica moderna per lo studio della struttura e funzione dei singoli geni e dell'intero genoma degli esseri viventi, fondamentale anche per comprenderne le dinamiche evolutive e sviluppare ulteriori biotecnologie al fine di migliorare specie vegetali per caratteri utili. Tra i genomi di maggiore complessità si annovera quello del frumento tenero (*Triticum aestivum*, $2n = 6x = 42\text{-AABBDD}$), stimato in 17 miliardi di bp, pari a cinque volte il genoma umano e a circa quaranta volte quello del riso. L'analisi comparativa delle sequenze genomiche ha consentito di delineare i processi evolutivi dei genomi in senso più ampio, non legato a singoli geni, ma all'intero corredo genetico. I genomi vegetali cambiano più rapidamente di quanto non facciano i genomi animali, portando così a una maggior variazione tra specie anche strettamente correlate e anche all'interno di una stessa specie. Il motivo di questa estrema plasticità è da ricercarsi nelle diverse condizioni di vita e di strategie di sopravvivenza delle piante rispetto agli animali, che sembrano dunque richiedere per le prime la presenza di genomi più "flessibili". L'avvento dei marcatori molecolari ha consentito di definire la base genetica dei caratteri qualitativi e quantitativi (QTL), di stabilire le relazioni di sintenia tra i genomi, di verificare i meccanismi genetici che controllano l'eterosi. La conoscenza dei meccanismi che regolano l'architettura della pianta, molto spesso mediata da un controllo ormonale, l'assorbimento, e il trasporto, sono fondamentali per i nuovi ideotipi di pianta per il futuro. In genere gli studi sono stati rivolti principalmente fisiologia, metabolismo e genetica della parte aerea delle piante. Oggi tuttavia una maggiore attenzione viene rivolta alle radici, per migliorare l'efficienza d'uso dell'acqua (WUE), dell'azoto (NUE), del Fosforo (PUE), alla resistenza al freddo (*cor genes*), alle proprietà fisico-chimiche e biologiche del suolo e al loro impatto sulla resistenza alle malattie, in modo da disegnare un moderno sistema integrato (IPM: Integrated Pest Management) per mettere i nuovi genotipi di pianta nella migliore condizione di crescita. Sono in atto in "Open Field" i primi esperimenti di simulazione dell'incremento della CO₂ nell'atmosfera, che passerà dalle 380 ppm attuali a 600 ppm nel 2050 per verificare l'effetto sulla fotosintesi e

qualità dei prodotti. Sulla base di tutto ciò è stata disegnata una nuova pianta di frumento tenero capace di raggiungere una potenzialità produttiva di 20 t/ha nel 2020 partendo dalle attuali 14 t/ha. Non trascurabile è anche il tema che vede il sistema produttivo agrario non più basato sul trinomio Pianta-Atmosfera-Suolo ma piuttosto sul quadrimio Pianta-Atmosfera-Suolo-Microrganismi che vivono intorno o dentro le radici. Questa nuova visione ha stimolato la nascita di network per monitorare l'evoluzione del **metagenoma** al variare dei diversi sistemi colturali e degli ambienti, e come questo possa influenzare la vita delle specie agrarie e selvatiche. Si ipotizza già che la performance di specie di piante e di genotipi entro specie dipenderà anche dagli inoculi microbici. specifici per l'esaltazione di determinati caratteri, che interagiscono con gli elementi chimici-fisico-biochimici del suolo e con il microbioma naturale in specifiche condizioni.

Live imaging per lo studio delle risposte metaboliche a carenze nutrizionali nelle piante mediante l'espressione di nanosensori mitocondriali

Maver M.¹, Luoni L.², Costa A.², Vigani G¹.

¹*Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali – Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano*

²*Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano*

La carenza di ferro (Fe) è una fra le carenze nutrizionali che riducono maggiormente la crescita e la produttività delle piante. Il Fe infatti è un costituente essenziale di proteine appartenenti a processi biochimici responsabili dell'approvvigionamento energetico per la crescita della piante. La caratterizzazione delle risposte metaboliche indotte da una carenza di Fe è perciò cruciale per comprendere il meccanismo di adattamento delle piante a tale condizione di stress. Negli ultimi anni una particolare attenzione è stata rivolta allo studio della funzionalità mitocondriale in piante Fe-carenti mediante analisi *in vitro* basate su approcci biochimici, genetici e di microscopia elettronica. Tuttavia è noto come i mitocondri siano degli organelli altamente dinamici sia nella loro funzionalità che nella loro morfologia. Perciò l'opportunità di osservare *in vivo* e con metodi poco invasivi le risposte fisiologiche dei mitocondri ad uno stress è di fondamentale importanza.

In questo lavoro sono state effettuate analisi di imaging quantitativa mediante l'impiego di nanosensori fluorescenti geneticamente codificati indirizzati al mitocondrio per esplorare alcuni parametri fisiologici dell'organello in piante allevate a diverse concentrazioni di Fe. In particolare sono state utilizzate tre diverse linee transgeniche di Arabidopsis: 1-linee esprimenti il biosensore per il Ca (CaMeleon YC3.6); 2-linee esprimenti il biosensore per lo stato redox mitocondriale (roGFP); 3-linee esprimenti il biosensore per la misura delle variazioni di pH matriciale (pHGFP). Queste linee transgeniche sono state allevate in piastra a diverse concentrazioni di Fe (0 μ M, 0.1 μ M, 50 μ M; 250 μ M) per 7 e 10 giorni. L'analisi eseguita mediante microscopia a fluorescenza dell'apice radicale delle piante soggette ai vari trattamenti ha permesso di determinare, che la diverse disponibilità di Fe alterava i parametri fisiologici considerati. Le maggiori alterazioni si osservavano a carico dello stato redox e del pH matriciale mitocondriale in condizioni di Fe carenza (0 μ M 0.1 μ M), laddove i livelli di Ca non hanno subito variazioni significative. Nonostante siano tuttora in corso analisi più dettagliate, questa indagine preliminare ha permesso di mostrare *in vivo* l'impatto della diversa disponibilità di Fe sulla fisiologia mitocondriale. Lo sviluppo di tecniche di bioimaging e la creazione di nuovi sensori codificanti geneticamente per parametri fisiologici cellulari rappresenta un valido strumento per la comprensione dei meccanismi di adattamento metabolico della pianta ad uno stress nutrizionale

Identificazione del trasportatore ad alta affinità di urea in radici di *Zea mays*: caratterizzazione biochimica e molecolare di ZmDUR3

Zanin L.¹, Tomasi N.¹, Wirdnam C.², Meier S.², Komarova N.Y.², Mimmo T.³, Cesco S.³, Rentsch D.², Pinton R.¹

¹Dip. Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine, Udine, Italy; ²Institute of Plant Sciences, Bern, Switzerland; ³Libera Università di Bolzano, Bolzano, Italy

L'urea rappresenta la forma azotata maggiormente distribuita alle colture. Evidenze sperimentali hanno dimostrato come le piante, almeno in determinate condizioni, possono assorbire dal suolo l'urea tal quale e, in radici di *Arabidopsis* e riso, è stata dimostrata la presenza di un specifico trasportatore della molecola. Ciò rende lo studio di questo aspetto particolarmente interessante per la rilevanza che può avere per un utilizzo sostenibile dei fertilizzanti azotati e per una migliore efficienza d'uso dell'azoto specialmente nei cereali.

Nel presente lavoro si è voluto indagare la capacità di acquisizione dell'urea in una pianta coltivata ad ampia diffusione come il mais. Studi di caratterizzazione cinetica hanno mostrato come le radici di mais siano in grado di acquisire l'urea mediante un sistema di trasporto ad alta affinità inducibile dalla presenza del substrato nella soluzione extra-radiale. Successivamente si è proceduto all'identificazione molecolare di *ZmDUR3*, il putativo trasportatore di urea di mais ortologo ai già noti *OsDUR3* di riso e *AtDUR3* di *Arabidopsis*. La sequenza ORF di *ZmDUR3* è stata quindi clonata in appositi vettori per l'espressione in organismi eterologhi. In particolare la capacità di trasporto di urea di *ZmDUR3* è stata dimostrata mediante saggi di complementazione in mutanti di lievito deficitari dell'endogeno trasportatore DUR3 e mediante saggi di infuso di [14C]-urea in oociti. Inoltre sono stati effettuati esperimenti di localizzazione subcellulare in protoplasti di tabacco mediante tag fluorescente GFP. Il segnale risultante dalla proteina di fusione *ZmDUR3*-GFP è stato prevalentemente rilevato a livello di membrana plasmatica. Al fine di confermare l'effettivo coinvolgimento di *ZmDUR3* come trasportatore di urea dalla soluzione del suolo, piante mutanti di *Arabidopsis* (*atdur3-3*) sono state trasformate. I risultati hanno confermato la funzionalità del trasportatore in quanto la sovraespressione di *ZmDUR3* sotto promotore CaMV35s ripristinava il fenotipo *wild type*, permettendo alle piante trasformate di crescere su terreno a limitato contenuto di urea.

I risultati qui riportati hanno permesso di identificare *ZmDUR3* come trasportatore di urea, componente del sistema di assorbimento ad alta affinità in radici di mais.

Ricerca eseguita con il contributo del dipartimento DISA, Università degli Studi di Udine (Progetto UNICO-2014).

Tossicità da boro ed interazione con il nitrato in pomodoro: aspetti morfologici, fisiologici e molecolari

Princi M.P.¹, Lupini A.¹, Longo C.¹, Miller A.J.², Sunseri F.¹, Abenavoli M.R.¹

¹*Dipartimento AGRARIA, Università Mediterranea di Reggio Calabria, Reggio Calabria, Italia*

²*John Innes Centre, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UH, UK*

Il boro (B) è un elemento essenziale per la nutrizione delle piante, sebbene ad alte concentrazione può accumularsi e dare origine a fenomeni di tossicità. Nonostante il tipico sintomo di tossicità da B si manifesti nelle foglie, anche la radice appare altamente sensibile, svolgendo inoltre un ruolo chiave nella risposta a tale stress. Nel presente lavoro sono state valutate le risposte morfo-fisiologiche e molecolari all'eccesso di B (320, 640 μ M), a breve (48 h) ed a lungo termine (7 g), in due ibridi di pomodoro, Ikram e Losna, caratterizzati da diversa sensibilità a tale elemento. In particolare, lo studio si è focalizzato sulle risposte morfo-funzionali della radice all'eccesso di B, valutandone inoltre l'interazione con il nitrato, nutriente essenziale per la crescita e lo sviluppo delle piante. I risultati hanno evidenziato che Losna era maggiormente tollerante all'eccesso di B, in quanto non modificava la crescita dell'apparato radicale all'aumento di tale elemento, mostrando inoltre un'inibizione dell'assorbimento del nitrato solo alla concentrazione di B più elevata. Simile risposta mostrava anche l'attività dell' H^+ -ATPasi, enzima coinvolto nell'assorbimento del nitrato. Tali dati erano supportati dai risultati dell'espressione dei geni relativi all'assorbimento del nitrato (*NTR2.1*, *NAR2.1*) ed alla pompa protonica (*LHA1*, *LHA8*). I risultati di espressione dei geni codificanti per i trasportatori trans-membrana del B (*BOR4*, *BOR1*, *NIP5;1*) suggerivano che il meccanismo di tolleranza in Losna fosse correlato ad un efflusso dell'anione borato dalle cellule radicali. Recentemente, è stato postulato che l'efflusso attivo di B attraverso i trasportatori BOR-type necessita di un input di energia che guida il gradiente di concentrazione attraverso la membrana. Esperimenti di elettrofisiologia in radici di entrambi gli ibridi hanno evidenziato un maggiore efflusso di protoni, non solo H^+ -ATPasi dipendente (insensibile al vanadato), in risposta all'eccesso di B in Losna. Pertanto è possibile ipotizzare che la tolleranza all'eccesso di B in Losna sia dovuta ad un maggior efflusso di B accompagnato da un efflusso di ioni H^+ , attribuibile sia ad una maggiore attività dell'enzima pm H^+ -ATPasi sia alla funzione di sistemi H^+ -ATPasi indipendenti o sistemi redox a livello di membrana.

Modificazioni della composizione degli essudati radicali di due portinnesti di vite in funzione della disponibilità di Fe

Zamboni A.¹, Lucini L.², Marastoni L.¹, Navacchi O.³, Trevisan M.², Varanini Z.¹

¹*Department of Biotechnology, University of Verona, Verona, Italy*

²*Institute of Agricultural and Environmental Chemistry, Università Cattolica del Sacro Cuore di Milano, Piacenza, Italy*

³*Vitroplant Italia srl Società Agricola, Cesena, Cesena-Forlì, Italy*

Il ferro (Fe) è il micronutriente richiesto in maggiori quantità dalle piante e gioca un ruolo fondamentale in diversi processi metabolici quali la respirazione cellulare, la biosintesi della clorofilla e la fotosintesi. Per far fronte alla bassa solubilità del Fe nei suoli, le piante hanno evoluto due strategie per migliorare la sua biodisponibilità e l'assorbimento. In particolare nell'ambiente rizosferico gli essudati radicali sono considerati responsabili della creazione di condizioni più favorevoli per l'acquisizione del Fe e di altri nutrienti. E' noto che la carenza di Fe causa un aumento del rilascio di composti come acidi organici, carboidrati, aminoacidi, fitosiderofori, composti fenolici ed enzimi. La natura degli essudati radicali è variabile da specie a specie e non sono molte le caratterizzazioni ad ampio spettro dei loro componenti soprattutto in relazione a specifiche carenze nutrizionali.

In questo lavoro sono state studiate le variazioni della composizione degli essudati delle radici di microtalee di due portinnesti di vite, 140 Ruggeri e Ramsey. Le piante sono state allevate in presenza e in assenza di Fe fino alla manifestazione dei primi sintomi di carenza del micronutriente. Gli essudati sono stati raccolti da piante Fe-carenti e Fe-sufficienti utilizzando, in entrambi i casi, sia una soluzione nutritiva contenente Fe che una priva del micronutriente ottenendo 4 diverse combinazioni. La composizione degli essudati è stata caratterizzata dopo 3 e 6 ore attraverso screening un-targeted utilizzando la cromatografia liquida UHPLC accoppiata alla spettrometria di massa ad alta risoluzione (UHPLC-QTOF), ed identificando i composti presenti sulla base di massa monoisotopica e pattern isotopico.

I dati ottenuti dal successivo allineamento utilizzando massa e tempo di ritenzione, ed elaborati attraverso la produzione di modelli PCA e PLS-DA, hanno evidenziato una marcata differenza tra i campioni in funzione del tempo di raccolta (3 e 6 ore). Una produzione differenziale di composti fenolici è stata osservata sia a 3 che 6 ore negli essudati dei due portinnesti raccolti in presenza di Fe da piante Fe-sufficienti. Per quanto riguarda il confronto degli essudati campionati in presenza ed assenza di Fe e prodotti sia da parte di microtalee Fe-sufficienti che Fe-carenti, è stata osservata una variazione nella sintesi di composti fenolici a 3 ore per il portinnesto Ramsey e a 6 ore per il 140R. Nel caso delle microtalee Fe-carenti di Ramsey queste analisi hanno evidenziato anche differenze nell'essudazione di aminoacidi come il glutammato e la lisina.

Caratterizzazione di frutti di pesco (*Prunus persica* [L.] Batsch.) a diverso colore della polpa per le variazioni di attività e livelli di enzimi chiave della via dei fenilpropanoidi (fenilalanina ammonio liasi e cinnamil alcool deidrogenasi) durante lo sviluppo

Negrini N., Morgutti S., Cocucci M.

Department of Agricultural and Environmental Sciences - Production, Landscape, Agroenergy, University of Milan, Milan, Italy

La via dei fenilpropanoidi porta, a partire dalla fenilalanina, alla produzione di numerosi composti fenolici secondari coinvolti, in molti frutti carnosì, come la pesca, nella determinazione delle caratteristiche qualitative e organolettiche (astringenza, colore, livelli di composti antiossidanti, resistenza alle manipolazioni e/o al processamento alimentare).

Importante quindi, anche per identificare eventuali marcatori molecolari/geni utili per il miglioramento mediante Selezione Marker Assistita (MAS), è la comprensione del ruolo di alcuni enzimi chiave di questa via biosintetica. La fenilalanina ammonio liasi (PAL), che catalizza la formazione di acido *trans*-cinnamico, rappresenta il principale punto di controllo del flusso del carbonio dal metabolismo primario a questa via del metabolismo secondario, con due diramazioni che portano rispettivamente alla sintesi di antociani e flavonoidi ed a quella di lignina; la cinnamil alcool deidrogenasi (CAD), posta subito a valle del punto di divergenza delle due diramazioni, riduce le cinnamaldeidi a cinnamil-alcooli, immediati precursori dei monolignoli. Per la CAD è stata dimostrata la presenza di isoforme specifiche ed una diversa attività in frutti di pesco a diversa durezza e colore della polpa, facendo ipotizzare un suo possibile ruolo alternativo nel ridirezionare il flusso dei composti fenolici dalla formazione di lignina a quella di altri composti responsabili del colore e/o dell'aroma del frutto (Gabotti et al., *Physiol. Plant.* 154: 329-348, 2015).

Nel presente lavoro pesche di varietà con diverso colore della polpa (bianca, gialla o rossa) ed in stadi di sviluppo diversi sono state caratterizzate per attività e livelli (Western blot) di PAL nei diversi tessuti del frutto. I risultati ottenuti suggeriscono che lo sviluppo e la maturazione del frutto di pesco siano caratterizzati da una precoce attivazione della via biosintetica dei fenilpropanoidi. Lo stadio S2, dove si rilevano le più alte attività PAL ed i più elevati livelli di polipeptidi PAL-simili, potrebbe rappresentare una fase cruciale, legata non solo alla determinazione tissutale ma forse anche alla produzione di composti implicati nell'evoluzione delle caratteristiche qualitative del prodotto a maturazione. Come in altre specie, anche in pesca isoforme diverse di PAL potrebbero variamente contribuire alle diverse fasi dello sviluppo e della maturazione.

Ulteriori indagini sono previste per meglio chiarire tali aspetti.

Impatto sulla produzione di mais da foraggio e sulla fertilità del suolo dell'impiego in pieno campo di inoculi micorrizici: l'esperienza del progetto MICOM AIS

Agrelli D., Di Meo V., Di Rauso Simeone G., Mennella L., Napolano R., Rao M.A., Sifola M.I., Zangrillo R., Adamo P.

Dipartimento di Agraria, Università di Napoli Federico II, Via Università 100, 80055 Portici (NA)

I funghi micorrizici arbuscolari promuovono la crescita delle piante aumentando la disponibilità dei nutrienti nel suolo e il loro assorbimento. Numerosi studi indagano questi ed altri vantaggi dell'impiego della simbiosi micorrizica nelle realtà produttive; non tutti evidenziano risultati univoci e pochi studi ne sperimentano l'impiego in pieno campo.

Il progetto PSR Misura 124 MICOM AIS nasce nel 2012 con l'intento di verificare attraverso una sperimentazione triennale di pieno campo la fattibilità d'uso e la performance di inoculi commerciali di funghi micorrizici arbuscolari nella coltivazione di mais da foraggio in rotazione con erbai da leguminose in aziende della Piana del Volturno, areale tipico di coltivazione del mais ad uso zootecnico, dove i suoli sono alcalini e argillosi.

Il prodotto commerciale impiegato per la micorrizzazione è stato l'Aegis sym Microgranulo 50 sp della Italtollina, a base di *Glomus intraradices* e *Glomus mosseae*, distribuito nella dose di 18 kg ha⁻¹. L'inoculo micorrizico è stato impiegato in sostituzione della concimazione fosfatica e in presenza di diverse dosi di azoto (250, 125 e 0 kg ha⁻¹). Sono stati monitorati alcuni parametri morfo-biometrici della pianta e le rese produttive nelle diverse condizioni di concimazione. Sul trinciato di mais sono stati determinati i principali parametri di qualità. Sulle radici delle piante di mais e di trifoglio in successione è stata monitorata la colonizzazione fungina. Sul suolo bulk e rizosferico sono state misurate le principali attività enzimatiche correlate all'attività microbica del suolo e al ciclo dei principali nutrienti.

L'inoculo micorrizico non ha determinato incrementi statisticamente significativi della resa e della qualità del foraggio prodotto rispetto alle tesi controllo (senza inoculo micorrizico, con concimazione fosfatica). Vari fattori sembrano aver attenuato l'effetto positivo delle micorrize, in particolare la buona dotazione di nutrienti e di micorrize endogene del suolo. Lo stesso trifoglio in successione ed il suo sovescio, stimolando i processi biochimici legati alla fertilità del suolo, hanno contribuito a mitigare il potenziale effetto benefico dell'inoculo micorrizico.

L'analisi di differenti performance economiche della coltura del mais in relazione all'impiego di micorrize arbuscolari, basata sulla stima del costo di produzione e della redditività del processo di produzione del mais da insilato, ha comunque evidenziato un vantaggio in termini di redditività con l'utilizzo dell'inoculo fungino quando si riduce la somministrazione di azoto alla coltura.

The interplay between sulfur and iron nutrition in tomato

Zuchi S.¹, Watanabe M.², Fernie A.R.², Celletti S.¹, Paolacci A.R.¹, Catarcione G.³, Ciaffi M.³, Hoefgen R.², Astolfi S.¹

¹DAFNE, University of Tuscia, via S. C. de Lellis, 01100 Viterbo, Italy

²Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Wissenschaftspark Golm, 14424 Potsdam, Germany

³DIBAF, University of Tuscia, via S. C. de Lellis, 01100 Viterbo, Italy

Plant response mechanisms to deficiency of a single nutrient, such as sulfur (S) or iron (Fe), have been described at the agronomic, physiological, biochemical, metabolomic and transcriptomic levels. However, agroecosystems are often characterized by different scenarios in which combined nutrient deficiencies are likely to occur. Soils are becoming depleted for S whilst Fe, although being highly abundant in the soil, is poorly available for uptake due to its insolubility in the soil matrix. To this end, earlier reports demonstrated that a limited S availability reduces Fe uptake and that Fe deficiency results in the modulation of sulfate uptake and assimilation. However, the mechanistic basis of this interaction remains largely unknown.

Metabolite profiling of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) shoots and roots from plants exposed to Fe, S and combined Fe and S deficiency, was performed to improve the understanding of the S/Fe interaction via the identification of the main players in the considered pathways. Substantial changes were revealed under the different nutritional conditions. Furthermore, we investigated the development of the Fe deficiency response through the analysis of expression of *SIFROI*, *SIIRT1* and *SIFER* genes, and plant sulfate uptake and mobilization capacity, by analysing the expression of genes encoding sulfate transporters of groups 1, 2 and 4 (*SIST1.1*, *SIST1.2*, *SIST2.1*, *SIST2.2* and *SIST4.1*).

We identified a high degree of common and even synergistic response patterns as well as nutrient specific responses. The combined results are discussed in the context of current models of nutrient deficiency responses in crop plants.

This work has been supported by OECD Fellowship to S. Zuchi and by the Max Planck Society.

Ferro-carenza in piante di orzo: rilascio di fitosiderofori, traslocazione del ferro e metilazione del DNA

Bocchini M.¹, Bartucca M.L.¹, Ciancaleoni S.¹, Mimmo T.², Cesco S.², Pii Y.², Albertini E.¹, Del Buono D.¹.

¹*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia, Italy.*

²*Facoltà di Scienze e Tecnologie, Libera Università di Bolzano, Piazza Università 5, 39100 12 Bolzano, Italy.*

Il ferro (Fe), nutriente essenziale per gli organismi in quanto coinvolto in alcuni processi metabolici fondamentali, è presente nella geosfera in quantità totali elevate; ciononostante la quota bio-disponibile per le piante è talmente limitata da determinare l'insorgenza della clorosi ferrica. Per far fronte a questo, le graminacee hanno evoluto una strategia di risposta che prevede il rilascio di abbondanti quantità di amminoacidi non proteinogenici (fitosiderofori, PSs) nel suolo, a cui segue una mobilizzazione del Fe (via complessazione da parte dei PSs) e quindi l'assorbimento del complesso FePS attraverso un trasportatore specifico.

In questo studio si è voluto valutare se i meccanismi regolativi della risposta adattativa alla carenza nutrizionale, oltre al rilascio di PSs, all'assorbimento e alla traslocazione del ferro, includevano anche il fenomeno della metilazione del DNA. A tale scopo piante di orzo (*Hordeum vulgare* L.) sono state allevate in condizioni di carenza di Fe e lo sviluppo della risposta adattativa è stato valutato monitorando la concentrazione di clorofilla, quella del ferro nelle parti epigee e ipogee, il rilascio di fitosiderofori e lo stato di metilazione del DNA. I risultati di queste analisi hanno evidenziato differenze significative in termini di clorofilla, di rapporto tra la concentrazione di ferro radicale/aereo e delle sequenze emi-metilate e di quelle metilate in piante allevate in Fe-carenza, rispetto ai controlli cresciuti in Fe-sufficienza. Inoltre, nelle piante cresciute in Fe-carenza sono state individuate undici bande di DNA diversamente metilate. Di queste, cinque sequenze hanno evidenziato degli allineamenti significativi con dei geni di orzo codificanti per una glicosiltransferasi, un acil carrier protein (ACP), una perossidasi, una β -glucosidasi ed un fattore di trascrizione. Infine, sono stati condotti degli esperimenti di "Fe-resupply" su piante allevate in Fe-carenza. Tali studi hanno evidenziato che le piante di orzo non riuscivano a recuperare la capacità di assorbire il nutriente dalle radici e traslocarlo alle parti aeree. Gli esperimenti di resupply hanno anche evidenziato che a livello di metilazione del DNA le piante non recuperavano dopo l'aggiunta del nutriente, mantenendo uno stato di metilazione complessivo simile a quello dei campioni allevati in Fe-carenza.

Ricerca eseguita con contributo MIUR, programma FIRB2012

Un rivestimento a base di chitosano rallenta efficacemente la maturazione in post-raccolta di frutti di pomodoro

Castagna A.¹, Santin M.¹, Mensuali-Sodi A.¹, Trivellini A.¹, Pagno C.H.², Hickmann Flôres S.², De Oliveira Rios A.², Ranieri A.¹

¹*Department of Agriculture, Food and Environment, University of Pisa, Pisa, Italy*

²*Laboratório de Compostos Bioativos, Instituto de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil*

Tra i diversi approcci attualmente utilizzabili per prolungare la conservabilità di prodotti alimentari freschi e prevenire la progressiva perdita di qualità nutraceutica, l'utilizzo di rivestimenti commestibili (edible coating, EC) sta suscitando crescente interesse. Gli EC possono essere costituiti da proteine, lipidi, polisaccaridi, in purezza o in combinazione tra loro e con altre molecole. Gli EC agiscono come efficienti barriere di protezione capaci di sigillare piccole ferite, limitando così i potenziali punti di ingresso per i microorganismi, controllano gli scambi gassosi con l'ambiente, riducendo i tassi di respirazione e traspirazione e diminuendo la produzione di etilene. Gli EC possono essere impiegati anche come efficaci vettori di ingredienti bioattivi, quali vitamine, antiossidanti, agenti antimicrobici, capaci di aumentare le proprietà funzionali di questi rivestimenti edibili.

La ricerca è stata condotta allo scopo di verificare l'efficacia di un EC a base di chitosano, arricchito con l'apocarteonoide bixina, nel ritardare la maturazione post-raccolta di frutti di pomodoro. Il chitosano è un polisaccaride atossico, antimicrobico e altamente biodegradabile derivato dalla deacetilazione della chitina, il costituente principale dei gusci dei crostacei e della parete cellulare di alcuni funghi, che possiede una buona capacità di formare pellicole. L'emissione di etilene, alcuni parametri tecnologici e il contenuto e il profilo di carotenoidi e fenilpropanoidi sono stati determinati nel corso di due settimane di conservazione a temperatura ambiente.

I risultati evidenziano una ridotta emissione di etilene e un minore tasso respiratorio durante la conservazione da parte dei pomodori trattati con chitosano. In accordo con il comportamento dell'etilene, il picco di accumulo di licopene e □ □ carotene risulta ritardato di trequattro giorni, confermando una minore velocità di maturazione nei pomodori rivestiti. Analogamente a quanto osservato per i carotenoidi, l'acido caffeico e ferulico e la quercetina mostrano un picco di accumulo posticipato di 3 giorni rispetto al controllo. Inoltre, alcuni composti fenilpropanoidi, dopo una settimana di conservazione, risultano maggiormente concentrati nei frutti trattati.

Questi risultati evidenziano che il rivestimento a base di chitosano potrebbe rappresentare un valido strumento per prolungare la shelf life dei frutti di pomodoro mantenendo le loro proprietà nutraceutiche.

Lavoro svolto nell'ambito del progetto PROGRAMA CIÊNCIA SEM FRONTEIRAS: "Obtenção de Corantes Naturais e Nanocompósitos a partir de Resíduos Agroindustriais do Processamento de Frutos Submetidos à Radiação Ultravioleta"

The effect of excess sulfate supply on iron accumulation in three graminaceous plants

Celletti S.¹, Mimmo T.², Pii Y.², Cesco S.², Ciaffi M.³, Astolfi S.¹

¹ DAFNE, University of Tuscia, via S. C. de Lellis, 01100 Viterbo, Italy

² Faculty of Science and Technology, Free University of Bozen, 39100 Bolzano, Italy

³ DIBAF, University of Tuscia, via S. C. de Lellis, 01100 Viterbo, Italy

In recent years it has been established a significant relationship between sulfur (S) and iron (Fe) nutrition. In particular, it has been demonstrated that S deprivation can hinder Fe acquisition in barley, maize and wheat. This can be explained by assuming that to cope with low Fe availability in the soil grasses have evolved a phytosiderophores (PS)-based Fe chelation system (Strategy II) and PS are synthesized from methionine, through a nicotianamine intermediate.

On the other hand, it has been demonstrated that wheat plants exhibit a higher Fe accumulation when supplied with excess S concentration, this effect being especially beneficial under severely limited Fe supply (Zuchi et al., 2012).

The goal of this study was to explore whether the higher ability to acquire Fe, induced by a higher S supply, might be a general response of graminaceous species.

The response of durum wheat (*Triticum durum* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.), and maize (*Zea mays* L.) to excess S availability (2.4 mM) was studied as a function of Fe availability (limited and sufficient, 20 and 80 μ M, respectively). At the end of the experimental period, which lasted 11 days, growth parameters (shoot and root fresh weight and chlorophyll content), total S and Fe concentrations, and PS release rate were compared among the three species. Furthermore, we evaluated plant sulfate uptake capacity, by analysing the expression of genes coding for high affinity sulfate transporter (*TdST1.1*, *HvST1.1* and *ZmST1.1*) in roots of each graminaceous plant.

Our preliminary findings are largely consistent with the apparent divergence among the three species. In particular, an excess S supply may result in the improvement of Fe-use efficiency in durum wheat plants, but not in both barley and maize.

It is clear that further research is needed to explain the differences in these species in their response to changes in S supply and in their ability to acquire and accumulate Fe. However, the use of higher S supply seems to be a promising approach at least for wheat cultivation, which can both reduce agricultural demand for Fe fertilizer and improve the Fe-use efficiency of plants.

Zuchi S., Cesco S., Astolfi S. (2012) High S supply improves Fe accumulation in durum wheat plants grown under Fe limitation. *Environmental and Experimental Botany* 77, 25-32.

Valutazione degli effetti della biofortificazione con selenio (Se) sulla concentrazione e distribuzione di elementi nutritivi in olive (cv Maurino).

D'Amato R.¹, Petrelli M.², Perugini D.², Proietti P.¹, Nasini L.¹, Businelli D.¹

¹*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali (DSA3), Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia.*

²*Dipartimento di Fisica e Geologia, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia.*

Il selenio (Se) è un elemento naturalmente contenuto nel suolo, in grado di rivestire un ruolo chiave nel metabolismo. Per la popolazione umana, gli alimenti sono una fonte importante di Se. Nonostante essi contengano Se in quantità variabile e dipendente dalla sua disponibilità nel suolo dell'area di provenienza, in generale, possiamo affermare che i cibi più consumati ne possiedono quantità molto basse. Pertanto, in casi di carenza, l'apporto di Se all'organismo può essere incrementato ricorrendo ad integratori o ad alimenti biofortificati. In letteratura, sono presenti molti studi riguardanti la biofortificazione con Se di alimenti di origine vegetale o animale. Nel 2014, D'Amato ed al. hanno verificato la possibilità di incrementare il contenuto di Se in un olio extra vergine di oliva irrorando con una soluzione di selenato di Na (150 mg/L di Se) la chioma di olivi (cv Maurino) e valutando l'effetto dell'arricchimento in Se sulle caratteristiche chimiche e qualitative dell'olio ottenuto. Poiché le stesse olive possono essere tradizionalmente consumate anche come olive da mensa, nel presente studio si è voluto verificare se le olive arricchite in Se possano essere un "alimento funzionale" e se il trattamento con Se modifichi il contenuto di altri elementi. Le analisi di Se, Cu, Ca, Fe, Na, K, Mg sono state condotte in spettrofotometria di AA. I risultati hanno evidenziato, per quanto riguarda tutti gli elementi analizzati, variazioni del loro contenuto nelle diverse componenti della drupa (epicarpo, mesocarpo, endocarpo e seme) a seguito del trattamento con Se. Per quello che concerne la parte edule, costituita da epicarpo e mesocarpo, si evidenziano aumenti significativi di Cu, Ca, K e Na, mentre Fe e Mg diminuiscono significativamente. Il contenuto in Se, nella parte edule delle olive trattate, è risultato essere superiore (0,17 µg di Se per oliva) rispetto al controllo (0,04 µg di Se per oliva). Considerando un consumo medio giornaliero di 10 olive per persona ed un ulteriore apporto di Se da altri alimenti, la dose di Se assunta risulta essere compresa entro i limiti stabiliti dal LARN, che indicano in circa 70 µg al giorno la dose ottimale ed in 400 µg al giorno la dose tossica. Sugli stessi campioni di olive, biofortificate e non con il Se, la concentrazione e la distribuzione spaziale del Se e degli elementi nutritivi considerati sono state determinate nelle diverse componenti della drupa mediante la tecnica della Laser Ablation ICP-MS.

“Biomass-recovery”: nanocristalli di cellulosa da paglia e pula di orzo.

Fortunati E.¹, Del Buono D.², Benincasa P.², Luzi F.¹, Puglia D.¹, Kenny J.M.¹, Torre L.¹

¹*Dipartimento di Ingegneria Civile e Ambientale, Strada di Pentima Bassa 4, 05100 Terni.*

²*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia.*

Negli ultimi decenni, per andare incontro alla domanda dell'industria alimentare, il settore del *packaging* ha visto l'utilizzo di differenti tipi di additivi, mentre i polimeri biodegradabili da fonti rinnovabili rappresentano sicuramente un'alternativa ai polimeri tradizionali. La realizzazione di sistemi nanocompositi con l'utilizzo di fillers capaci di modulare le proprietà intrinseche della matrice utilizzata, rappresenta una valida strategia attualmente di interesse a livello industriale.

In questo contesto, nell'ultimo decennio, si sta considerando la possibilità di utilizzare rinforzi ottenuti da fonti rinnovabili, come i nanocristalli di cellulosa (CNC), per la produzione di sistemi nanocompositi completamente biodegradabili con proprietà migliorate rispetto a quelle della sola matrice polimerica. I nanocristalli di cellulosa vengono estratti solitamente da fonti lignocellulosiche di varia natura (fibre naturali, polpa di legno, cellulosa microcristallina, etc.) attraverso processi di idrolisi chimica e/o enzimatica capaci di eliminare le parti amorfe e creare strutture altamente cristalline.

Nel presente lavoro proponiamo la messa a punto di metodi di purificazione ed estrazione per l'ottenimento di cellulosa nanocristallina da residui colturali o sottoprodotti di trasformazione alimentare di scarso valore, come paglia e pula di orzo. A tal fine, sono stati adottati dapprima due approcci per la purificazione della pula e della paglia, uno chimico ed uno enzimatico con lo scopo di eliminare lignina, pectina ed interferenti di varia natura, ed ottenere un precursore puro da trattare attraverso un processo di idrolisi acida. I precursori così ottenuti sono stati trattati con una soluzione di acido solforico, seguita da centrifuga, dialisi, sonicazione per l'estrazione di nano cristalli di cellulosa.

L'analisi termica (termo gravimetria - TGA), chimica (spettroscopia infrarossa) e morfologica (microscopio elettronico a scansione - FESEM) hanno evidenziato l'efficacia dei trattamenti di purificazione (sia chimica che enzimatica) sia per la pula che per la paglia, mentre l'idrolisi acida ha condotto all'estrazione di nanocristalli di cellulosa dalla classica forma aciculare e con dimensioni variabili da 150-200 nm in lunghezza e 5-10 nm in larghezza e spessore.

Ottimizzazione del processo di estrazione di nanocristalli di amido da farine di frumento e orzo.

Fortunati E.¹, Del Buono D.², Benincasa P.², Luzi F.¹, Puglia D.¹, Torre L.¹, Kenny J.M.¹

¹*Dipartimento di Ingegneria Civile e Ambientale, Strada di Pentima Bassa 4, 05100 Terni.*

²*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia.*

L'amido è un omopolisaccaride formato da molecole di glucosio e costituisce un importante forma di riserva dei carboidrati. Strutturalmente, l'amido è composto da amilosio, un omopolimero costituito da unità di glucosio legate da legami glicosidici α -(1→4), e da amilopectina una struttura ramificata a causa della presenza anche di legami glicosidici α -(1→6). Un tipo di amido particolare è quello detto "waxy", cioè ceroso, che presenta come caratteristica peculiare quella di essere praticamente composto solo da amilopectina. L'amido, oltre alle ovvie destinazioni alimentari, è stato di recente impiegato nella progettazione e realizzazione di *blend* polimeriche e/o sistemi nano compositi, sia come matrice che come fase di rinforzo, per molteplici applicazioni industriali.

L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di mettere a punto delle procedure di purificazione dell'amido in forma nano cristallina, utilizzando come precursori farine con diverse composizioni amidiche, con l'obiettivo di ottenere nanostrutture da impiegare come fasi di rinforzo in matrici polimeriche biodegradabili per applicazioni nel settore degli imballaggi alimentari. Si è scelto pertanto di partire da due farine non-waxy derivanti da frumento e orzo, ed una waxy ottenuta da orzo.

Per purificare l'amido dalle diverse farine sono stati adottati due approcci. Il primo basato su una reazione di riduzione, seguita da una ripartizione liquido-liquido in solvente organico, ultimata da lavaggi in etanolo e acetone. La seconda costituita da una serie di estrazioni alcaline, centrifugazioni e lavaggi finali con etanolo-acetone. L'amido quindi è stato poi sottoposto ad idrolisi acida, per cinque giorni a 40 °C sotto agitazione meccanica, centrifuga, sonicazione e filtraggio al fine di ottenere i nanocristalli.

Le analisi termiche condotte con la bilancia termo gravimetrica (TGA) e morfologiche al microscopio elettronico a scansione (FESEM) dei granuli di amido ottenuti dopo purificazione, non hanno evidenziato alcuna differenza morfologica sostanziale tra le varie tipologie di amido waxy e non-waxy, mentre hanno individuato come più efficace, in termini della purezza del prodotto finale, la purificazione condotta in blanda alcalinità e con lavaggi in acetone. Infine poi, le analisi al FESEM hanno evidenziato l'efficacia del processo di idrolisi acida nell'estrazione dei nanocristalli di amido ottenuti per tutte le tipologie di precursore prese in esame.

Effetto di essudati radicali sulla mobilizzazione del ferro e sulla mineralogia di un suolo calcareo

Gattullo C.E.¹, Allegretta I.¹, Medici L.², Pii Y.³, Mimmo T.³, Cesco S.³, Terzano R.¹

¹*Department of Soil, Plant and Food Sciences, University of Bari "Aldo Moro", Bari, Italy*

²*Institute of Methodologies for Environmental Analysis, C.N.R., Tito Scalco (PZ), Italy*

³*Faculty of Science and Technology, Free University of Bozen/Bolzano, Bolzano, Italy*

Il ferro (Fe) è tra gli elementi più abbondanti nel suolo, ma è scarsamente disponibile per le piante in condizioni di pH neutro e alcalino. In Fe-carezza, le dicotiledoni aumentano la disponibilità di Fe nella rizosfera essudando protoni e composti organici ad azione complessante e/o riducente, come acidi organici (AO), flavonoidi e amino acidi (AA). Sebbene il ruolo degli AO sulla mobilizzazione del Fe dal suolo sia stato accertato, resta da comprendere meglio quello delle altre classi di composti. Inoltre, è opportuno indagare sull'effetto di tali essudati sulla mineralogia del suolo, data la connessione tra i processi di mobilizzazione/assorbimento dei nutrienti e l'alterazione dei minerali.

In questo studio, è stata valutata inizialmente la composizione degli essudati radicali di cetriolo (*Cucumis sativus* L.) allevato in Fe-sufficienza (+Fe) ed in Fe-carezza (-Fe). Il contenuto di AO, sostanze fenoliche e AA negli essudati delle piante -Fe è risultato nettamente superiore a quello delle piante +Fe. Successivamente, è stata studiata, in un sistema chiuso, l'interazione tra un suolo calcareo e alcuni composti determinati negli essudati radicali, quali AO (citrato, malato, ossalato) e flavonoidi (quercetina, rutina, genisteina), sia da soli che in combinazione. Dopo 24 ore, è stata determinata la concentrazione di Fe in soluzione mediante ICP-OES, e la composizione mineralogica del suolo mediante XRD. Inoltre, è stata studiata l'alterazione mineralogica nel suolo rizosferico di piante di cetriolo +Fe e -Fe usando un sistema rhizotest.

Nel sistema chiuso, la rutina, sia sola che combinata con gli AO o con la genisteina, ha estratto una quantità di Fe almeno due volte maggiore di quella estratta dal citrato; inoltre, ha dissolto tra il 12% ed il 41% delle fasi amorfe del suolo, ed ha favorito la neosintesi di illite e smectite. Nel suolo rizosferico, il cetriolo -Fe ha dissolto il 55% di amorfo, senza tuttavia promuovere la formazione dei fillosilicati. Pertanto, si può ipotizzare che, nel sistema chiuso, gli elementi liberati dall'amorfo siano rapidamente precipitati a formare fillosilicati, mentre, nel sistema aperto (suolo rizosferico), tali elementi vengano assorbiti dalla pianta o lisciviati, sottraendosi così alla cristallizzazione. Esperimenti condotti con altre specie vegetali hanno dimostrato che l'alterazione e la neosintesi dei minerali sono influenzate dalla strategia di mobilizzazione del Fe adottata dalla pianta.

Valutazione del fosforo estraibile in acqua da compost

Grigatti M., Cavani L., Marzadori C., Ciavatta C.

Dipartimento di Scienze Agrarie - Alma Mater Studiorum Università di Bologna, viale G. Fanin, 40 – 40127 Bologna

Il fosforo (P) è elemento essenziale alla vita e al mantenimento delle elevate produzioni agricole richieste nella moderna agricoltura. L'approvvigionamento di questo elemento dalle rocce fosfatiche, fino ad oggi alla base della la produzione di concime fosfatico minerale, rivela attualmente delle criticità.

L'impiego di matrici organiche quali i compost per il riciclo del P può assumere una funzione rilevante come alternativa all'uso di concimi fosfatici minerali nonché come reintegro della sostanza organica per la fertilità dei suoli.

La sperimentazione descritta in questo lavoro si è posta lo scopo di determinare, attraverso estrazione con H₂O, la disponibilità del fosforo in 26 campioni di compost derivanti dalla frazione organica di rifiuti solidi urbani (FORSU) in addizione a sfalci di potature, da sole potature del verde, e dall'ossidazione aerobica di digestati anaerobici (dry-batch) della FORSU.

Il fosforo estraibile con H₂O è ritenuto quello maggiormente disponibile per la nutrizione delle piante e il più informativo per una rapida determinazione del potenziale nutrizionale dei diversi prodotti confrontati.

Nei diversi compost sono state determinate le principali caratteristiche (pH, ST, SV, C, N, C/N), la stabilità (OUR) oltre al contenuto in fosforo totale (P_{tot}) e degli elementi potenzialmente influenti la sua disponibilità nell'estratto acquoso (Ca, Fe, Al, Mg, Mn).

Sull'estratto in acqua sono stati determinati il fosforo totale (P_{H₂O}) e le sue forme: inorganico (P_i) e organico (P_o). Le relazioni esistenti tra le variabili oggetto di indagine e determinati i principali fattori di influenza (stabilità, pH, Ca, Fe, Al, Mg, Mn) sono state studiate tramite analisi delle componenti principali (PCA).

I risultati ottenuti hanno posto in evidenza che l'estraibilità del P totale in acqua variava notevolmente in base alle caratteristiche dei compost (P_{H₂O}: 0,07-1,21 mg g⁻¹) e le concentrazioni di P_{H₂O} risultavano solo debolmente correlate con il contenuto in P_{tot} poiché influenzate dall'interazione con molte delle altre variabili studiate.

Memoria transgenerazionale nella risposta alla carenza di azoto in piante di *Arabidopsis*.

Massaro M., Zanin L., Tomasi N., De Paoli E., Morgante M., Pinton R.

Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine, Udine, Italy

Lo stress è uno dei maggiori fattori che determina la distribuzione geografica e ambientale delle specie ed è il principale responsabile della pressione selettiva nell'evoluzione di una determinata specie. Le piante, data la loro natura sessile, sono state obbligate, durante il corso della loro evoluzione, a sviluppare sofisticati meccanismi per ridurre le conseguenze degli stress. Negli ultimi anni l'ipotesi che l'adattamento a particolari condizioni ambientali avverse possa essere trasmesso alle generazioni successive ha trovato riscontro in alcune evidenze scientifiche. Uno dei principali stress ambientali a cui vengono sottoposte normalmente le piante nell'ambiente è rappresentato dalla limitata disponibilità di nutrienti, che può determinare situazioni di carenza. In particolare è stato osservato che la disponibilità di azoto, macronutriente essenziale per la crescita delle piante è soggetta a rapide e consistenti variazioni, che impongono un efficace adattamento per garantire un adeguato rifornimento dell'elemento, lo sviluppo del vegetale e nel caso delle piante coltivate, un'adeguata produzione.

Lo scopo di questo studio è di verificare la presenza di una "memoria transgenerazionale" a livello fisiologico e trascrittomico dello stress da carenza di azoto. Il piano sperimentale prevede l'utilizzo di tre generazioni successive di *Arabidopsis thaliana* sottoposte a carenza e sufficienza di azoto nella sesta settimana di crescita. Attraverso misure della capacità di assorbimento del nitrato e tramite RNA-seq, si è verificato un incremento nella capacità di assorbimento dell'anione in generazioni successive sottoposte a carenza, confermato dai dati ottenuti a livello trascrizionale. Queste osservazioni confermano la capacità del nitrato, forma azotata maggiormente utilizzata dalle piante, di modulare l'espressione genica delle piante. Questa modulazione oltre che da caratteri mendeliani classici, potrebbe dipendere da caratteri non mendeliani, in particolar modo da fattori epigenetici, sui quali si concentrerà l'ultima parte dello studio.

Questi risultati possono delineare nuove linee di ricerca finalizzate al miglioramento degli approcci di breeding e della produzione agricola, e alla riduzione dell'uso di fertilizzanti azotati.

Ricerca eseguita con il contributo del MIUR-FIRB "Futuro in ricerca" RBFR-127WJ9

Efficienza d'uso del nitrato in melanzana (*Solanum melongena* L.): risultati preliminari

Mauceri A.¹, Lupini A.¹, Rotino G.L.², Sunseri F.¹, Abenavoli M.R.¹

¹*Dipartimento AGRARIA, Università Mediterranea di Reggio Calabria, Reggio Calabria, Italy*

²*ENTECRA - Unità di ricerca per l'orticoltura, Montanaso Lombardo (LO), Italy*

Il nitrato (NO_3^-) è un nutriente essenziale per la crescita e lo sviluppo delle piante che ne limita la produttività. Poiché le risposte della pianta alla disponibilità di NO_3^- sono genotipo-dipendenti, lo studio della variabilità genetica nell'ambito di ciascuna specie vegetale può rappresentare un valido strumento per selezionare genotipi con alta efficienza d'uso del NO_3^- . Pertanto, lo scopo della presente ricerca è stato quello di valutare le risposte a differenti livelli di NO_3^- di alcuni genotipi di melanzana (*Solanum melongena* L.) di differente origine geografica: 67-3 e AM069 (Italia), AM022 e AM209 (Cina AM194 e AM199 (Tailandia) e AM148 (India). I semi sono stati sterilizzati e posti a germinare in capsule Petri e, dopo 10 giorni, le piantine sono state trasferite per 20 giorni in soluzione idroponica contenente basso (0,5 mM) o alto (10 mM) livello di NO_3^- . Alla fine dei trattamenti, sono stati valutati la produzione di biomassa totale, la morfologia radicale (WinRHIZO software) ed il contenuto totale di clorofilla nel germoglio (SPAD). In funzione della produzione di biomassa è stato possibile definire 3 clusters: il I° include i genotipi AM022, AM199, 67-3 e AM194 con bassa produzione ad entrambi i livelli di NO_3^- ; il II° i genotipi AM069 e AM209 che mostrano un'elevata produzione solo a 10 mM NO_3^- , infine il III° comprende solo il genotipo AM148 che mostra un'elevata produzione a basso livello di NO_3^- . A livello di morfologia radicale, la lunghezza totale della radice è significativamente differente sia in funzione del genotipo ($p < 0,0001$) sia del NO_3^- ($p < 0,001$). In particolare, a basso livello di NO_3^- , AM148 mostra un'elevata lunghezza radicale pari al 277% rispetto al trattamento con 10 mM, e pari al 284%, rispetto alla media totale della lunghezza radicale degli altri genotipi. Nelle stesse condizioni sperimentali, tale genotipo mostra inoltre una maggiore lunghezza delle radici laterali rispetto agli altri. Differentemente, il contenuto di clorofilla mostra differenze significative in funzione dei genotipi ($p < 0,0001$) ma non del NO_3^- .

In conclusione, i genotipi di melanzana mostrano una notevole variabilità in risposta alla disponibilità di NO_3^- utile per individuare specifici tratti fisiologici, morfologici e molecolari da utilizzare in programmi di selezione per l'alta efficienza d'uso del nitrato.

A possible diagnostic use of the polymorphisms individuated in the *endoPG* gene sequences in different peach genotypes

Morgutti S., Negrini N., Ghiani A., Baldin F., Cocucci M.

Department of Agricultural and Environmental Sciences - Production, Landscape, Agroenergy, University of Milan, Milan, Italy

I frutti di pesco sono caratterizzati dall'ammorbidimento della polpa nelle ultime fasi di maturazione, le cui modalità costituiscono un carattere distintivo di classificazione. Nei frutti Melting (M) si verifica un veloce e drammatico ammorbidimento del frutto, ritardato nei frutti Slow Melting (SM), e meno pronunciato o assente nei frutti Non Melting (NM) e Stony Hard (SH). L'ammorbidimento della polpa è orchestrato da numerosi enzimi e proteine che agiscono sull'architettura della parete, fra i quali un ruolo chiave è giocato dalla endo-poligalatturonasi (endo-PG).

Analisi molecolari da noi condotte in genotipi modello (M 'Bolero', NM 'Oro A', SM 'Big Top', SH 'Yumyeong' e SH 'Ghiaccio') di pesco hanno evidenziato la presenza di varianti geniche di *Pp-endoPG* (*m*, *M*, *BT*, *SH*) con sequenze codificanti simili ma polimorfismi di sequenza caratteristici. In particolare, due delezioni sono peculiari del clone *Pp-endoPG_M* di 'Bolero'; di queste, una risulta conservata anche nei cloni *Pp-endoPG_SH* e *Pp-endoPG_BT* di genotipi SH 'Yumyeong' e 'Ghiaccio' e SM 'Big Top'. 'Big Top' presenta anche uno SNP specifico. Tali difformità di sequenza risultavano utili per discriminare, fra i genotipi studiati, le diverse caratteristiche fenotipiche (Ghiani et al. 2011 JASHS 136: 61-68).

Il presente studio ha utilizzato i marcatori InDel e CAPS sviluppati da tali polimorfismi per ampliare lo screening su 87 accessioni di pesco, allo scopo di confermare ulteriormente la possibilità dell'utilizzo di tali marcatori per studi di genotipizzazione volti anche alla previsione precoce dell'assetto al locus *endo-PG* e del fenotipo della polpa del frutto.

I risultati hanno mostrato una soddisfacente possibilità di utilizzo del polimorfismo InDel del gene *Pp-endoPG* per la previsione, almeno preliminare, del fenotipo del frutto per quanto riguarda la distinzione fra frutti NM e M/SM, pur nella necessità di considerare la complessità del processo biochimico/fisiologico di ammorbidimento del frutto. Infatti tutti i genotipi NM presentavano la singola variante genica *Pp-endoPG m* tipica di 'Oro A', mentre l'80% dei frutti M/SM presentava la variante genica tipica di 'Bolero', con i due cloni *Pp-endoPG_M* e *Pp-endoPG_m*, soli o in associazione con la variante tipica di 'Big Top'.

Le due varianti *Pp-endoPG_m* e *Pp-endoPG_M* co-segregano in tutti i genotipi studiati, confermando che le due sequenze non sono alleliche ma sono due geni diversi; 'Big Top' possiede un allele nullo del gene *Pp-endoPG*.

Studio del profilo ionomico per determinare antagonismi e sinergismi tra nutrienti minerali in colture di interesse agronomico

Pii Y., Marastoni L., Cesco S., Mimmo T.

Facoltà di Scienze e Tecnologie, Libera Università di Bolzano, Bolzano, Italy

La composizione elementare di tessuti e organismi è stata recentemente definita ionoma. Negli ultimi anni lo ionoma di diversi organismi vegetali è stato analizzato, ma gli effetti sulla composizione elementare dovuti alla combinazione di variabili, quali il carattere tassonomico della specie in esame, lo stato nutrizionale e il substrato di crescita, non sono stati ad oggi investigati. L'obiettivo principale di questo lavoro è stato quello di studiare come e se lo stato nutrizionale possa indurre una variazione della firma ionomica nei tessuti epigei in piante mono- e dicotiledoni.

Nell'ambito di questo lavoro, la concentrazione di 18 elementi è stata determinata nei tessuti fogliari di piante di orzo, cetriolo e pomodoro, coltivate su differenti substrati di crescita (soluzione idroponica o suolo) e sottoposti a due regimi nutrizionali diversi (Fe-sufficienza o Fe-carezza). L'analisi multivariata dei dati ionomici ha mostrato una chiara separazione tra le specie considerate. In soluzione idroponica, gli elementi che maggiormente differenziavano le tre specie erano nutrienti non essenziali (Ti, Al, Na e Li), i quali hanno mostrato anche una correlazione positiva con alcuni macro- (P, K) e micronutrienti (Fe, Zn, Mo, B). La differenziazione tra le specie è stata ulteriormente confermata anche per le piante cresciute su suolo, sebbene in questo caso la separazione sia stata determinata da macronutrienti, quali S, P, K, Ca, Mg, e dal micronutriente B.

In conclusione, i risultati di questo lavoro evidenziano che i sinergismi e gli antagonismi esistenti tra macro- e micronutrienti essenziali per la crescita e le attività biochimiche delle piante, unitamente alle interazioni con nutrienti non essenziali (Ti, Al, Si, Na) definiscono il carattere tassonomico delle piante. Questi risultati evidenziano come la ionomica possa essere impiegata non solo per la diagnosi di disordini nutrizionale, ma anche per la definizione di strategie di biofortificazione di colture destinate all'alimentazione.

Questa ricerca è stata finanziata da MIUR FIRB-Programma "Futuro in ricerca" 2012 (RBF127WJ9) e dalla Libera Università di Bolzano (TN5056).

Influenza della specie vegetale, nutrizione ferrica e substrato di crescita nella determinazione della comunità microbica della rizosfera.

Pii Y.¹, Borruso L.¹, Brusetti L.¹, Crecchio C.², Cesco S.¹, Mimmo T.¹

¹Facoltà di Scienze e Tecnologie, Libera Università di Bolzano, Bolzano, Italy

²Dipartimento di Scienze del suolo, della pianta e degli alimenti (Di.S.S.P.A.), Università degli Studi "Aldo Moro" di Bari, Bari, Italy

I microrganismi presenti alla rizosfera possono stimolare la crescita delle piante tramite vari meccanismi, come ad esempio la produzione di molecole bioattive o incrementando la biodisponibilità di elementi nutritivi. Le piante, a loro volta, possono influenzare la composizione quali-quantitativa della comunità microbica della rizosfera, mediante il rilascio di essudati radicali, aventi sia azione antimicrobica che chemoattrattrice e/o fonte di carbonio. Molti differenti fattori, tra cui la specie vegetale, le proprietà del suolo, lo stato nutrizionale della pianta, le condizioni climatiche, possono determinare il profilo quali-quantitativo dell'essudazione radicale.

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di investigare appunto l'influenza della specie vegetale e dello stato nutrizionale sulla comunità microbica della rizosfera, in due diversi suoli calcarei italiani. A tale scopo, piante di orzo e pomodoro, caratterizzate da due diverse strategie per l'acquisizione del Fe, sono state cresciute mediante il sistema RHIZOtest in coltura idroponica, sia in presenza che in assenza di Fe. Successivamente, le stesse piante sono state poste per 7 giorni in contatto con i suoli calcarei oggetto di studio. Al momento del campionamento, il DNA totale è stato estratto dal suolo e soggetto a pirosequenziamento.

L'analisi NMDS condotta sull'intero dataset ottenuto dal sequenziamento ha evidenziato una differenziazione nelle comunità microbiche dei campioni analizzati. La presenza delle due specie vegetali, così come lo stato nutrizionale, si sono dimostrati due fattori decisivi nell'indurre una diversificazione della popolazione microbica della rizosfera.

Alphaproteobacteria, *Actinobacteria*, *Chloracidobacteria*, *Thermoleophilia*, *Betaproteobacteria*, *Saprospirae*, *Gemmatimonadetes*, *Gammaproteobacteria*, *Acidobacteria* sono stati identificati come i gruppi batterici più abbondanti in tutti i campioni analizzati, anche se la loro abbondanza relativa variava in funzione del suolo, della specie e dello stato nutrizionale considerato.

I risultati di questo lavoro mostrano che specie coltivate caratterizzate da diversi meccanismi di acquisizione del Fe, pur rilasciando essudati radicali quali-quantitativamente diversi, sono in grado di selezionare comunità microbiche simili suggerendo il perseguimento delle stesse finalità, seppur con strumenti biochimici diversi.

Questa ricerca è stata finanziata da MIUR FIRB-Programma "Futuro in ricerca" 2012 (RBF127WJ9) e dalla Libera Università di Bolzano (TN5056).

Genome-wide dissection of rice grain ionome and its relationships to field water management

Porrini M.¹, Baldoni E.¹, Lucchini G.¹, Orasen G.¹, Valè G.², Nocito F.F.¹, Greco R.³, Abbruscato P.³, Piffanelli P.³, Sacchi G.A.¹

¹Department of Agricultural and Environmental Sciences - Production, Landscape, Agroenergy, University of Milan, Via Celoria 2, 20133 Milano, Italy

²Rice Research Unit - Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, S.S. 11 to Torino, Km 2,5, 13100 Vercelli, Italy

³Parco Tecnologico Padano, Via Einstein - Loc. Cascina Codazza, 26900 Lodi, Italy

Rice (*Oryza sativa*) is the staple food of about half the world's human population. Enhancement of the rice grain's nutritional value through genetic improvement could include both increasing concentration of desirable elements (*e.g.* Fe, Zn, Ca, Mg or Cu) and decreasing concentrations of undesirable elements (*e.g.* As, Cd or Ni). Knowing the genetic basis of the ion content in rice grains is essential for understanding the mechanisms of nutrient transport and accumulation.

This work aims at revealing how soil water management affects the rice ionome and identifying genes putatively involved in the micronutrients accumulation or in the exclusion of toxic trace elements in rice grain. To this purpose, a germplasm collection of 295 temperate rice genotypes was grown under flooded or unflooded conditions at CRA-RIS (Vercelli). Grain samples were analyzed by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) technique, in order to measure the concentration of 13 elements, including essential nutrients and toxic trace elements. The obtained ionomic maps show that in the majority of the cultivars the content of Cu, Ni and Cd was higher in plants grown under unflooded condition, whereas the content of As was higher in plants grown under flooded condition. Interestingly, a large variability in the grain concentrations of micronutrients and of trace elements was observed among the 295 cultivars grown under both unflooded and flooded conditions. The germplasm collection has been previously genotyped using a Genotyping by Sequencing approach, with a coverage of about 57.000 SNPs. A Genome Wide Association Study (GWAS) was applied to the ionomic data to identify loci putatively involved in nutrient transport and accumulation. A preliminary analysis on data regarding the first year of harvesting highlighted the presence of significant signals in correspondence of, or very close to, loci encoding for metal transporters (ATP-Binding Cassette or Natural Resist-Associate Macrophage Protein - Nramp) or for No Apical Meristem protein involved in the remobilization of nutrients from leaves to grains. Other positive signals were found in correspondence of loci codifying for phenylalanine ammonia-lyase, metallothioneins and several oxidoreductase activities. The GWAS of the second year of harvesting is still in progress.

This work was supported by Progetto AGER, grant n° 2010-2369 (RISINNOVA - Integrated genetic and genomic approaches for new Italian rice breeding strategies).

Relazioni fra l'assimilazione dell'azoto ed il metabolismo degli amminoacidi e dei flavonoidi in radici di mais (*Zea mays* L.)

Prinsi B., Espen L.

Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

Le piante superiori utilizzano l'azoto (N) principalmente sotto forma di nitrato (NO_3^-) ed ammonio (NH_4^+). Il NO_3^- è ridotto ad NH_4^+ dalla Nitrato Reduttasi (NR) e Nitrito Reduttasi, mentre l' NH_4^+ è organicato grazie all'azione di Glutamina Sintetasi e Glutammato Sintasi (GS/GOGAT). Il ciclo GS/GOGAT porta alla sintesi netta di glutammato a partire da NH_4^+ ed α -chetoglutarato, un intermedio del ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA). Gli effetti sul metabolismo di NH_4^+ e NO_3^- sono diversi. Quando la forma di N utilizzata è il NO_3^- vi è una richiesta di potere riducente notevolmente maggiore. In mais (*Zea mays* L.), la capacità di assimilazione dell' NH_4^+ nelle radici, tratto tipico della tolleranza ad alte concentrazioni del nutriente, è associata al richiamo di carboidrati sintetizzati dall'apparato fogliare, probabilmente necessari a sostenere il ciclo del TCA. L'attività del ciclo del TCA è inoltre regolata dal potere riducente della cellula così come questo, unitamente ai livelli di carboidrati, influenza l'accumulo di flavonoidi. L'equilibrio fra assimilazione del NO_3^- e dell' NH_4^+ ha quindi importanti connessioni con il potere riducente cellulare ed il metabolismo degli amminoacidi e dei flavonoidi.

Questo studio si pone l'obiettivo di studiare alcuni aspetti di questa rete di connessioni. Piante di mais, della linea pura T250 caratterizzata da tratti di tolleranza ad elevate nutrizioni ammoniacali, allevate in coltura idroponica in assenza di N per 7 giorni sono state esposte a 4 condizioni nutrizionali per 30 ore: i) NO_3^- 2 mM + NH_4^+ 2 mM; ii) NO_3^- 2 mM + NH_4^+ 2 mM + W (inibitore della NR); iii) NH_4^+ 2 mM; iv) NH_4^+ 4 mM. Per descrivere la situazione metabolica delle radici, si è proceduto all'analisi di metaboliti di interesse con saggi biochimici ed NMR, della speciazione di amminoacidi e flavonoidi mediante LC-ESI-MS, alla valutazione del potere riducente e dell'attività dei principali enzimi coinvolti.

Nel complesso lo studio ha individuato variazioni del quadro metabolico delle radici di mais in funzione della tipologia di nutrizione azotata, evidenziando interessanti relazioni fra la disponibilità di NO_3^- , ciclo del GS/GOGAT, ciclo del TCA e bilanciamento amminoacidico. Nel contempo, lo studio ha messo in luce nuove possibili connessioni fra assimilazione dell' NH_4^+ , contenuto di zuccheri riducenti ed accumulo di flavonoidi nelle radici di mais.

Trattamenti UV-B in post-harvest inducono l'accumulo di antocianine nel mutante antocianico di pomodoro SA206-1-2-2 (*aft* +)

Ranieri A.¹, Catola S.², Castagna A.¹, Mazzucato A.³, Calvenzani V.⁴, Tonelli C.⁴, Petroni K.⁴

¹*Department of Agriculture, Food and Environment, University of Pisa, Pisa, Italy*

²*Institute for Sustainable Plant Protection, National Research Council of Italy (CNR), Firenze, Italy*

³*Department of Agriculture, Forests, Nature and Energy (DAFNE), Tuscia University, Viterbo, Italy*

⁴*Department of Life Sciences, University of Milan, Milan, Italy*

Le antocianine sono composti capaci di apportare importanti benefici alla salute umana. I frutti di pomodoro (*Solanum lycopersicum* L.) non producono antocianine, sebbene questa classe di flavonoidi sia sintetizzata nei tessuti vegetativi di questa specie. Al contrario, alcune specie tassonomicamente vicine, come il *Solanum chilense*, sono in grado di sintetizzare antocianine anche nei frutti. L'incrocio interspecifico con *Solanum chilense* ha consentito il trasferimento del gene dominante *AFT* e l'ottenimento di un pomodoro mutante (denominato SA206-1-2-2), capace di produrre piccole quantità di antocianine nel frutto, che si accumulano nella buccia come macchie viola concentrate in strisce verticali. L'identità del gene *AFT* non è ancora stata chiarita, sebbene sia stato dimostrato che il locus *aft* segrega con due diversi fattori di trascrizione coinvolti nella biosintesi delle antocianine.

La presente ricerca è stata condotta per capire se la produzione di antocianine da parte di questo mutante possa essere ulteriormente stimolata da parte di un trattamento con radiazione UV-B in post-harvest. E' stata inoltre valutata l'influenza della radiazione UV-B sul contenuto totale di composti fenolici e flavonoidi e sui principali flavonoidi del pomodoro. Per chiarire se la risposta sia tessuto-specifica, le analisi sono state condotte separatamente in buccia e polpa dei frutti del mutante e del relativo wild type, cv Roma.

I frutti, raccolti allo stadio verde maturo, sono stati esposti quotidianamente a radiazione UV-B (1 ora al giorno, 6.08 kJ m⁻² d⁻¹) fino a maturazione (stadio rosso maturo).

I risultati evidenziano un effetto diverso da parte del trattamento UV-B a seconda del genotipo, del tessuto e delle molecole in esame. Infatti mentre il contenuto dei composti fenolici e dei flavonoidi subisce un incremento nella buccia della cv Roma, esso diminuisce nella polpa di entrambi i genotipi. Nel mutante SA206-1-2-2, costitutivamente più ricco di flavonoidi rispetto alla cv Roma, la radiazione UV-B ha indotto una diminuzione della concentrazione di fenoli, flavonoidi totali e rutina della buccia, ma ha portato ad un notevole aumento nei livelli delle antocianidine petunidina, delphinidina e malvidina, a suggerire uno shift metabolico verso la sintesi di antocianine in risposta alla radiazione UV-B. Sono attualmente in corso analisi molecolari volte a confermare questa ipotesi.

Lavoro svolto nell'ambito del progetto COST-Action FA0906-UV4growth. I semi dei due genotipi di pomodoro sono stati ottenuti dal prof. Gian Piero Soressi.

Risposte fisiologiche e biochimiche all'alluminio in olivo (*Olea europea* L.)

Liquori E.M.V.¹, Di Foggia M.², Filippini G.¹, Pisi A.¹, Bonora S.², Rombolà A.D.¹

¹*Dipartimento di Scienze Agrarie, Università di Bologna, Viale G. Fanin 44, 40127 Bologna, Italia*

²*Dipartimento Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna, Via Belmeloro 8/2, 40126 Bologna, Italia*

Le specie originarie di suoli alcalino-calcarei (es. orzo) sono sovente coltivate in terreni acidi, nei quali si riscontrano elevati livelli di alluminio (Al) solubile, che possono causare effetti negativi sulla crescita radicale e sulla nutrizione minerale. E' noto che tra i meccanismi di difesa delle piante all'accumulo di Al, vi sia la produzione di agenti chelanti (in particolare mucillagini, fenoli e acidi organici) che impediscono l'attraversamento della parete radicale agli ioni Al oppure un loro immagazzinamento negli organi aerei (ad esempio nelle foglie, come nel caso del tè e dell'ortensia). Nel presente lavoro sono stati studiati i meccanismi di risposta dell'olivo ad elevate concentrazioni di Al nel substrato. Piante micropropagate (cv Leccino) sono state allevate in soluzione idroponica (¼ Hoagland) a pH 5 e sottoposte a 5 diverse concentrazioni di Al (0, 50, 250, 500 1000 µM). Giornalmente sono stati misurati il pH delle soluzioni nutritive, la lunghezza dei fusticini e delle radici e il loro numero. Le soluzioni sono state rinnovate ogni 4 giorni. Durante l'esperimento, sono stati prelevati ed analizzati gli essudati radicali, con particolare attenzione agli acidi organici e composti fenolici e i loro complessi con Al, con tecniche cromatografiche (HPLC) e spettroscopiche (IR e Raman). Al termine dell'esperimento, gli apici radicali sono stati escissi e analizzati al microscopio elettronico a scansione (SEM).

E' stata osservata una crescita delle radici e dei germogli anche alla più alta concentrazione di Al; inoltre le piantine di olivo sono stati in grado di aumentare il pH della soluzione nutritiva, riducendo il contenuto di Al solubile. L'osservazione al SEM, ha evidenziato che lo strato epidermico radicale delle piante esposte alla massima concentrazione Al appariva più compatto, meno definito e con evidenti alterazioni della morfologia cellulare. Al contrario, l'epidermide radicale delle piante esposte a minori concentrazioni di alluminio è risultata più preservata.

I principali acidi organici rilevati negli essudati radicali sono stati l'acido ossalico e l'acido formico, che hanno raggiunto livelli molto elevati alle concentrazioni di Al (500 e 1000 µM). Le misure spettroscopiche condotte sulle soluzioni nutritive esauste hanno mostrato la formazione di complessi di Al con acidi organici, in particolare sotto forma di triossalato di Al.

Sintesi di nanoparticelle di FePO_4 : sviluppo e valutazione del potenziale ruolo come fertilizzante

Sega D., Zamboni A., Speghini A., Varanini Z.

Department of Biotechnology, University of Verona, Verona, Italy

L'atteso aumento della popolazione mondiale (10 miliardi nel 2050) e la limitata disponibilità di nuovi terreni coltivabili suggerisce l'importanza della nutrizione delle piante in un contesto di sviluppo sostenibile. Per incrementare la produzione agraria l'aumento dell'uso di fertilizzanti appare una via obbligata nonostante il possibile impatto negativo sull'ambiente (eutrofizzazione, inquinamento e riscaldamento globale). Le colture agrarie sono in genere caratterizzate da capacità di recupero dei nutrienti somministrati con i fertilizzanti piuttosto basse e una possibile strategia di miglioramento può essere lo sviluppo di nuovi e più efficienti fertilizzanti. Un campo promettente in questo contesto può essere l'applicazione delle nanotecnologie, ampiamente utilizzate nei settori biomedico e farmaceutico, ma agli albori in quello agronomico.

Il presente lavoro si inserisce in un più ampio progetto, sviluppato dal laboratorio di Chimica Agraria dell'Università di Verona e la Fabbrica Cooperativa Cerea Perfosfati, teso alla produzione di nanomateriali, all'analisi del loro effetto sulla crescita e la fisiologia delle piante ed alla valutazione del potenziale ruolo come fertilizzanti. I dati qui presentati sono relativi alla messa a punto di metodologie chimiche idonee a produrre nanoparticelle di FePO_4 per valutarne il comportamento nel sistema suolo-pianta.

Sono stati presi in considerazione metodi di produzione discontinui (in batch) e continui. I due sistemi sono stati saggiati, al fine di individuare il più adatto per dimensioni e quantità delle particelle prodotte ed eventuale applicabilità su scala industriale. Il primo, basato sulla reazione in batch tra FeCl_3 e H_3PO_4 a temperature comprese tra i 40°C e i 80°C , sebbene garantisca omogeneità di forma e una bassa distribuzione di dimensioni, presenta una produttività ridotta e dimensioni dell'ordine dei 200-500 nm. Il secondo metodo invece, basato sulla fine miscelazione in continuo di una soluzione di FeCl_3 acidificata con H_3PO_4 ed una soluzione di K_2HPO_4 , consente di ottenere maggiori produttività e dimensioni inferiori ai 100 nm.

A seguito di questi risultati, è in ottimizzazione il sistema di produzione in continuo in scala di laboratorio, compresi i passaggi di purificazione, caratterizzazione, stabilizzazione e dosaggio delle nanoparticelle.

Lo studio della distribuzione delle nanoparticelle in pianta e degli effetti dei nanomateriali sulla crescita è in corso.

Lavoro finanziato dal "Joint Project" 2014, UniVR – Fabbrica Cooperativa Cerea Perfosfati

Fertilità lungo il profilo del suolo e produttività della barbabietola da zucchero

Stevanato P., Concheri G., Squartini A., Saccomani M.

Dipartimento DAFNAE, Università degli Studi di Padova, Viale Università 16, 35020 Legnaro (PD)

DAFNAE, Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente, Università degli Studi di Padova, viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD)

Nel presente lavoro, si è voluto approfondire gli effetti della fertilità nutrizionale e microbica lungo il profilo di suolo esplorato dalle radici sulla produttività e sul valore tecnologico della barbabietola da zucchero. A tal fine, la disponibilità dei principali macronutrienti, la diversità microbica e la presenza quantitativa di geni coinvolti in funzioni chiave del ciclo dell'azoto sono state messe in relazione ai parametri produttivi e tecnologici della barbabietola. Su campioni di suolo raccolti in due siti sperimentali a Ceneselli (Rovigo), per strati di 0,50 m fino a 2,5 m, sono state determinate le principali caratteristiche fisico-chimiche del suolo. Sugli stessi campioni, sono state effettuate analisi molecolari ARISA (*Amplified Ribosomal Intergenic Spacer Analysis*) e *Real Time PCR* rispettivamente per la stima della diversità microbica e della presenza quantitativa di geni codificanti per ammonio monossigenasi (*amoA* batterici e *amoA Archaea*) e nitrito reduttasi (*nirK*). È stato anche valutato lo sviluppo radicale lungo il profilo del suolo mediante l'impiego di tubi *minirhizotron* dotati di una sonda a fibre ottiche. I due siti differivano per il contenuto di sostanza organica e di azoto minerale tra i 2 e 2,5 m (sito A, sostanza organica: 2%, azoto totale: 5 mg kg⁻¹; sito B, sostanza organica: 18%, azoto totale: 28 mg kg⁻¹) mentre non differivano per la lunghezza e densità delle radici che sono state rinvenute fino alla presenza di 2,5 metri. Le barbabietole raccolte nel sito con il maggiore accumulo di sostanza organica e azoto minerale fra 2 e 2,5 metri hanno evidenziato inferiore grado polarimetrico e coefficiente di purezza in accordo con quanto precedentemente osservato (Stevanato *et al.*, 2010 *Agronomy Journal* 102:17-22). Negli strati del suolo prelevati alle profondità comprese fra 0,50-2,5 m si è riscontrato, rispetto a quello più superficiale, una maggiore omogeneità nella composizione delle comunità microbiche accompagnata da un maggiore numero di specie batteriche. La presenza di geni *amoA* e *nirK* è stata rinvenuta lungo tutti gli strati di suolo fino alla profondità di 2,5 metri. Ciò evidenzia il contributo dato anche dagli strati profondi del suolo a processi chiave del ciclo dell'azoto. Per evitare dannose riduzioni qualitative, si conferma l'utilità del campionamento dei suoli fino alla profondità raggiunta dalle radici e la necessità di determinare le più importanti forme di azoto.

Biodiversità per caratteri dell'apparato radicale legati all'acquisizione dei nutrienti in barbabietola (*Beta vulgaris* L.)

Stevanato P., Saccomani M.

Dipartimento DAFNAE, Università degli Studi di Padova, Viale Università 16, 35020 Legnaro (PD)

DAFNAE, Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente, Università degli Studi di Padova, viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD)

Lo studio della biodiversità nei materiali vegetali selvatici può permettere l'identificazione di nuove fonti di resistenza agli stress abiotici da trasferire alle piante coltivate. L'obiettivo della ricerca è stato quello di identificare varianti genetiche di barbabietola selvatica (*Beta vulgaris* L. spp. *maritima*) che massimizzino lo sviluppo di caratteri ritenuti indici dell'adattabilità allo stress idrico-nutrizionale e della produttività. E' stata esaminata la morfologia radicale di sei accessioni di *Beta maritima* del litorale adriatico utilizzando la workstation WinRHIZO su plantule allevate in soluzione idroponica. E' stato valutato mediante un saggio di discriminazione allelica basato su OpenArray Real Time PCR, il polimorfismo a singolo nucleotide SNP10139 (G>A) associato con la velocità di accrescimento radicale (Stevanato et al. 2015, submitted). L'accessione collezionata a Lastovo (Croazia) ha mostrato, rispetto alle altre accessioni esaminate, superiore ($P<0.05$) velocità di accrescimento della radice primaria, lunghezza radicale totale, lunghezza delle radici fini e numero di apici radicali. Questa accessione ha presentato la maggiore frequenza ($P<0.05$) dell'allele G dello SNP10139 confermando il ruolo di questo polimorfismo come marker predittivo dello sviluppo radicale in barbabietola. Fra gli individui risultati omozigoti per l'allele G, sono stati isolati quelli dotati anche di geni resistenza alla rizomania (*Rz1* e *Rz2*) e ai nematodi (*HsBvm1*) mediante genotipizzazione SNP al fine di selezionare individui che combinino l'elevata velocità di accrescimento radicale alla resistenza alle principali fitopatie della barbabietola. Gli individui selezionati saranno utilizzati in programmi di miglioramento genetico della barbabietola da zucchero per favorire l'adattamento della coltura a condizioni ambientali avverse che penalizzano l'acquisizione dei nutrienti.

Selezione per la tolleranza al secco in accessioni di leguminose alimentari dall'Africa mediterranea: Il contributo dei sistemi antiossidanti

Tellah S.¹, Sorgonà A.², Trifilò P.³, Lo Gullo M.A.³, Ounane G.¹, Ounane S.M.¹, Badiani M.²

¹*Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Algeri, Algeria*

²*Dipartimento di Agraria, Università Mediterranea di Reggio Calabria*

³*Dipartimento di Scienze Biologiche e Ambientali, Università di Messina*

Nell'Africa mediterranea, la coltivazione tradizionale di legumi di tipo alimentare quali vigna [*Vigna unguiculata* subsp. *unguiculata* (L.) Walp.] ed arachide (*Arachis hypogaea* L) si basa spesso sull'utilizzo di varietà, razze o biotipi locali (*landraces*) che rimangono tra loro isolate sia a causa della natura desertica del territorio che della sua vastità. La ricchezza in biodiversità costituita dalle *landraces*, di origine remotissima e sviluppatasi sotto la pressione evolutiva costante di ambienti estremi, può essere valorizzata quale formidabile risorsa genetica per l'isolamento e la caratterizzazione mutidisciplinare di tratti utili per implementare, sia su base locale che in un contesto Mediterraneo più ampio, la tolleranza delle colture allo stress idrico-salino.

Il Progetto "Amélioration des légumineuses alimentaires pour la tolérance au stress hydrique" promosso e condotto dalla Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA) dell'Algeria si prefigge di definire una strategia dinamica di conservazione ed uno sfruttamento ragionato della diversità genetica racchiusa nelle collezioni di *landraces* di legumi alimentari ottenute da una prospezione puntuale del territorio algerino.

In diretta connessione col Progetto suddetto è stato attivato un dottorato di ricerca che si è prefisso di valutare il ruolo della capacità antiossidante come marker utile nella selezione per la tolleranza allo stress idrico in *landraces* di legumi alimentari provenienti da ambienti estremi.

Piante da semi appartenenti a 10 *landraces* di arachide e 10 *landraces* di vigna, forniti dal Partner Algerino insieme con inoculi di rizobio autoctono, erano allevate in vaso in condizioni controllate e quindi esposte ad intensità crescenti di stress idrico, mediante sospensione dell'irrigazione.

Sia su foglia che su radice venivano misurati parametri biometrici (accrescimento, allocazione di fotosintati, fasi fenologiche, capacità di esplorazione del suolo e di acquisizione di risorse idriche e minerali), fisiologici (ricchezza in pigmenti fotosintetici, scambi gassosi, stato idrico), biochimici (attività costitutiva ed inducibile di metaboliti antiossidanti e di enzimi di rimozione delle specie reattive dell'ossigeno molecolare) e molecolari (espressione di geni chiave coinvolti nella sintesi/attività di antiossidanti).

I risultati ottenuti consentivano di individuare tratti morfologici, fisiologici e metabolici che potrebbero essere utilmente impiegati per programmi di miglioramento finalizzati a costituire germoplasma d'elezione da impiegare in contesti agronomici caratterizzati da condizioni endemiche di scarsità idrica.

Fosforo e ferro carenza inducono cambiamenti nel metaboloma di piante di fragola influenzando a livello fisiologico e molecolare il rilascio di essudati radicali

Valentinuzzi F.¹, Pii Y.¹, Vigani G.², Lehmann M.³, Cesco S.¹, Mimmo T.¹

¹*Faculty of Science and Technology, Free University of Bozen-Bolzano, Bolzano, Italy*

²*Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali-Produzione, Territorio, Agroenergia; Università degli Studi di Milano, Milano, Italy*

³*Plant Molecular Biology (Botany), Department Biology I, Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), Germany*

La fragola, frutto molto diffuso e di rilevanza economica nel comparto agricolo, ha effetti benefici per la salute umana, grazie al suo contenuto di composti bioattivi. Tuttavia, il contenuto di queste sostanze è strettamente correlato allo stato nutrizionale della pianta e può essere influenzato dal verificarsi di condizioni di carenza nutrizionale (ad esempio ferro (Fe) o fosforo (P)). Per superare queste due condizioni di stress nutrizionale, le piante hanno evoluto meccanismi differenti, che molto spesso implicano il rilascio di essudati radicali. I meccanismi biochimici e molecolari alla base dell'essudazione radicale e la loro regolazione sono tuttavia ancora poco conosciuti in particolare per quanto riguarda le piante arboree.

Obiettivo di questo lavoro è stato pertanto quello di caratterizzare il pattern di essudazione radicale di piante di *Fragaria x ananassa* cv. Elsanta sottoposte a variabile disponibilità di Fe e P, analizzando i cambiamenti a livello del metaboloma dei tessuti radicali e l'espressione di geni putativamente coinvolti nel rilascio di essudati. A questo scopo, le piante sono state allevate per 9 settimane in soluzione idroponica (controllo, -Fe, -P), procedendo settimanalmente alla raccolta degli essudati radicali. Inoltre sono stati misurati i valori di SPAD e il pH delle soluzioni di rilascio. Gli essudati radicali sono stati analizzati mediante HPLC e il contenuto dei nutrienti nei tessuti vegetali è stato determinato mediante ICP-OES. Infine tessuti radicali sono stati raccolti per l'analisi dei metaboliti e dell'espressione genica mediante Realtime RT-PCR.

I risultati hanno mostrato un rilascio di citrato in tutte le tre condizioni di allevamento; tuttavia, dalla terza settimana dopo la comparsa dei primi sintomi di carenza, tale rilascio aumenta significativamente rispetto alle piante controllo, raggiungendo incrementi del +250% in Fe carenza e del +300% in P carenza. Parallelamente si è osservata una significativa acidificazione del mezzo di crescita in entrambi i trattamenti. L'analisi dei metaboliti ha evidenziato come le due carenze influenzino in modo diverso l'intero metabolismo, nonostante alcuni metaboliti siano similmente accumulati nelle radici in entrambe le condizioni. Infine l'analisi dell'espressione genica ha evidenziato per la prima volta che almeno due membri della famiglia dei trasportatori MATE e un membro della famiglia H⁺-ATPasi della membrana plasmatica sono coinvolti sia nella risposta alla P- che a quella alla Fe-carenza in piante di fragola.

Ricerca eseguita con contributi: Unibz TN2023, MIUR: programma FIRB2012.

Caratterizzazione funzionale del trasportatore di genisteina in radici di lupino bianco

Venuti S.¹, Gottardi S.¹, Zanin L.¹, Valentinuzzi F.², Mimmo T.², Pinton R.¹, Martinoia E.³, Cesco S.², Tomasi N.¹

¹DISA, Università di Udine;

²FaST, Libera Università di Bolzano;

³LMPP, Università di Zurigo

In condizioni di limitata disponibilità di fosforo (P) e ferro (Fe) alcune specie vegetali quali *Lupinus albus* sviluppano particolari radici (proteoidi) capaci di rilasciare nella rizosfera consistenti quantità di essudati. Tra questi composti è stato dimostrato che un flavonoide, la genisteina, partecipa alla mobilizzazione del P e Fe da fonti scarsamente disponibili presenti nel suolo. Tuttavia ad oggi mancano informazioni sui trasportatori di membrana coinvolti nel processo di rilascio. Pertanto, nel presente lavoro sono state condotte analisi molecolari su piante di lupino bianco al fine di caratterizzare il trasporto transmembrana di questo composto.

Analisi differenziale di espressione genica in tessuti che rilasciano quantità molto diverse di genisteina ha permesso di individuare un gene (*LaMATE2*) codificante per un trasportatore della famiglia MATE (Multidrug-And-Toxic-compound-Extrusion), omologo a trasportatori coinvolti nei movimenti trans-membrana di composti fenolici. Al fine di caratterizzare a livello molecolare la funzionalità di questo gene sono state prodotte, mediante tecnica di *RNA silencing*, piante di lupino “silenziate” per il gene *LaMATE2*. L’analisi degli essudati raccolti da radici proteoidi di queste piante ha evidenziato come il silenziamento comprometta la loro capacità di rilascio di genisteina.

La sequenza codificante di tale trasportatore è stata successivamente isolata ed espressa in appositi vettori che consentissero la sua localizzazione a livello subcellulare. In protoplasti di *Arabidopsis*, la proteina di fusione *LaMATE2*-GFP ha mostrato un segnale fluorescente in corrispondenza della plasmalemma. Tale evidenza sperimentale è stata quindi supportata da ulteriori indagini volte a caratterizzare l’attività di trasporto in sistemi isolati, quali espressione eterologa di *LaMATE2* in vescicole di lievito. Mediante tale approccio sperimentale è stata verificata la capacità di *LaMATE2* di trasportare [³H]-genisteina. La caratterizzazione funzionale del trasportatore in lievito ha inoltre dimostrato che questa proteina media il trasporto attraverso la membrana di flavonoidi sfruttando il gradiente elettrochimico trans-membrana di protoni.

In conclusione con questo studio è stato possibile isolare e caratterizzare funzionalmente il primo trasportatore di flavonoidi coinvolto nel rilascio di essudati radicali nella rizosfera.

Ricerca eseguita con il contributo del MIUR – FIRB “Futuro in ricerca” RBFR-127WJ9

Effetto dell'inibitore di ureasi nBTPT sulla capacità di acquisizione di urea in radici di mais

Zanin L.¹, Tomasi N.¹, Monte R.¹, Zamboni A.², Varanini Z.², Pinton R.¹

¹Dip. Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine, Udine, Italia; ²Dip. Biotecnologie, Università di Verona, Verona, Italia

L'urea è attualmente il fertilizzante azotato maggiormente impiegato in agricoltura, rappresentando oltre il 50% del consumo mondiale. Recenti evidenze sperimentali hanno dimostrato come le piante, e in particolare il mais, siano anche in grado di utilizzare direttamente l'urea grazie a specifici trasportatori che mediano il suo assorbimento a livello radicale. Tuttavia la stabilità dell'urea nel terreno è legata alla presenza di ureasi microbiche che liberano ammonio, che a sua volta viene convertito in nitrato. È stato stimato che in seguito all'azione ureasica, l'efficienza della fertilizzazione con urea risenta notevolmente delle perdite di N per volatilizzazione dell'ammoniaca gassosa e/o lisciviazione del nitrato. Pertanto, la strategia più utilizzata per ridurre la velocità di idrolisi dell'urea prevede la somministrazione al terreno di inibitori delle ureasi microbiche, quali nBTPT (N-(n-butil)tiofosforico triammide). Nonostante quest'ultimo venga largamente impiegato, alcuni studi hanno messo in evidenza che l'nBTPT possa venire acquisito dalle piante e determinare effetti negativi sul metabolismo azotato.

Il mais ha una scarsa efficienza d'uso di N (NUE stimata 33% circa) e pertanto l'ottenimento di elevate rese produttive richiede un apporto ingente di fertilizzanti azotati, spesso somministrati in forma di urea in formulazione con nBTPT. Nel presente lavoro si è voluto indagare la risposta fisiologica e trascrizionale delle piante di *Zea mays* quando l'inibitore di ureasi era somministrato nella soluzione extra-radiale.

In confronto a piante trattate con sola urea, la presenza dell'inibitore nBTPT in soluzione nutritiva determinava, già nell'arco di 24 ore, una significativa diminuzione della velocità di assorbimento di urea e un limitato accumulo di [15N]-urea; che si traduceva nel lungo termine (7 giorni di trattamento) in un limitato sviluppo dell'apparato fogliare. Studi di espressione genica condotti mediante *real time* RT-PCR, evidenziavano come il trattamento con urea e nBTPT limitasse l'espressione di geni noti per essere indotti in risposta alla somministrazione della fonte azotata, quali quelli coinvolti nella regolazione trascrizionale e nei processi di assimilazione dell'azoto ureico.

Le evidenze sperimentali suggeriscono quindi l'interferenza dell'inibitore nBTPT sui meccanismi di acquisizione di urea, coinvolgendo sia il meccanismo di trasporto ad alta affinità che i processi della sua assimilazione. I risultati del presente lavoro mirano a far luce sui meccanismi di acquisizione dell'urea e favorire un uso più consapevole e razionale di sostanze di sintesi, quali nBTPT.

Ricerca eseguita con il contributo del dipartimento DISA, Università degli Studi di Udine (Progetto UNICO-2014).

Sessione III

Il sistema suolo-pianta-acqua e la sicurezza alimentare

Una visione critica del suolo, al di là dei numeri

Leita L.¹, Petruzzelli G.²

¹*Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria, centro di ricerca per lo studio delle relazioni tra pianta e suolo (Gorizia)*

²*Consiglio Nazionale delle Ricerche, istituto per lo studio degli ecosistemi (Pisa)*

La biunivocità che intercorre tra una sempre più esasperata percezione del rischio e la comunicazione mediatica volta ad indulgere su scenari allarmistici ha portato a prediligere l'approccio dogmatico piuttosto che tecnico-scientifico in ogni settore che riguarda il suolo e la sua gestione.

L'avvocatura al principio di precauzione e la sua applicazione acritica, giustificata dalla difficoltà di affrontare in dettaglio una matrice così complessa, ha portato ad una visione spesso nebulosa del suolo che pare dissolversi in ambito legislativo nella lettura di valori di concentrazione, ormai del tutto obsoleta in ambito internazionale, che dovrebbe sancire la buona qualità o la contaminazione di un suolo.

Tale approccio appare fuorviante ed a maggior ragione se l'obiettivo è la discriminazione tra un suolo contaminato e non, dal momento che il mantenimento o la perdita della funzionalità ne decretano lo status che soglie numeriche non possono riflettere.

Appare quindi necessario individuare le tracce di quel "continuum" che lega la qualità del suolo alla nutrizione e alla salute in alternativa ad approssimazioni numeriche. Ciò implica l'intraprendere un percorso molto complesso basato sulla interdisciplinarietà che, partendo dalla chimica del suolo, passa per la qualità degli alimenti fino arrivare agli aspetti della salute spesso individuati dagli studi epidemiologici. Si tratta quindi di trovare un denominatore comune tra discipline diverse che spesso parlano linguaggi differenti.

In questa relazione si cerca di riportare l'attenzione su alcuni punti essenziali per un'osservazione critica, scevra da interessi economici e tentazioni mediatiche, volta a definire le cause che incidono sulla qualità del suolo e ad interpretarne gli effetti sulla sua funzionalità, coniugando quegli approcci interdisciplinari indispensabili per una corretta valutazione.

Effetto dei funghi micorrizici arbuscolari sulla produzione quantitativa e qualitativa di due genotipi di pomodoro coltivati su suolo di Acerra (NA) in condizioni di stress idrico

Pigna M., Caporale A.G., Bizzarri M., Sellitto S., Di Matteo A.

Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici (NA)

Lo stress idrico provoca importanti perdite di produzione e riduzioni della qualità dei frutti in pomodoro (*Solanum lycopersicum* L.). Incrementare la tolleranza allo stress idrico è pertanto un obiettivo di grande interesse, anche in considerazione dei cambiamenti climatici globali previsti per il prossimo futuro. Il miglioramento genetico può rappresentare una risposta a questa esigenza mediante, per esempio, l'introggressione di geni che controllano la tolleranza allo stress idrico e la qualità dei frutti. Presso i nostri laboratori di genetica è stato ottenuto il genotipo IL9ADM recante sul cromosoma 9 una introggressione di 9 cM dalla specie selvatica *Solanum pennellii* Correll, capace di tollerare meglio la scarsa disponibilità idrica e con una qualità più alta dei frutti. Inoltre, l'interazione pianta-micorrize, contribuisce ad incrementare la tolleranza delle piante in condizioni di stress idrico. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare l'effetto dell'inoculazione con una combinazione di funghi micorrizici arbuscolari (FMA), *Glomus intraradices* e *Glomus mosseae*, sulla produzione e sulla qualità dei frutti in pomodoro, coltivati su suolo di Acerra (NA). In particolare, il disegno sperimentale ha previsto: i) l'allevamento di un genotipo più sensibile alla ridotta disponibilità di acqua, la varietà M82, ed un genotipo più tollerante, IL9ADM; ii) l'inoculazione con FMA (M), mediante inoculo commerciale della Italtpollina® a confronto con il controllo non inoculato (nM); iii) l'irrigazione con volumi idrici pari al 50% (h.I.) ed al 100% (f.I.) del volume di acqua evapotraspirato dall'allegagione alla raccolta.

I dati produttivi hanno evidenziato un significativo incremento di produzione totale (+19,34%) e commerciabile (+24,24%), di resa totale (+13,86%) e commerciabile (+18,41%) in solidi solubili, il peso specifico (+41,52%), il contenuto in flavonoidi (+22,88%) e carotenoidi (+92,16%) nelle bacche conservate per 53 gg in piante micorrizzate (M) della linea IL-9ADM in condizioni di ridotta restituzione idrica (h.I.). Il contenuto di Na nella polpa, invece, ha mostrato una riduzione significativa in condizioni di stress idrico indipendentemente dal genotipo e dal trattamento micorrizogeno. I risultati ottenuti suggeriscono che la gestione dell'interazione tra genotipo, stress idrico e funghi micorrizici rappresenta un mezzo di controllo della produzione qualitativa e quantitativa in pomodoro.

Parole chiave: FMA; pomodoro; stress idrico; produzione; qualità; inoculazione.

Cation exchange of heavy metals contained in water channel sediments by calcium ion: Metal removal and water stability

Buscaroli E., Sciubba L., Cavani L., Falsone G., Marzadori C., Ciavatta C., Braschi I.

Department of Agricultural Sciences, Alma Mater Studiorum University of Bologna, viale G. Fanin, 40 – 40127 Bologna (Italy)

Sediments dredged from water canals may contain plenty of organic/inorganic contaminants. Heavy metals are of major concern, due to their persistence, accumulation and toxicity. The excavation material obtained from canal reshaping tends to contain heavy metals bound to mineral and/or organic components [1]. Italian D.Lgs. 152/2006 defines the destination of dredged sediments and two contaminants thresholds (A and B) are established: (i) materials containing less contaminants than A limits can be used in agricultural, residential and green areas; (ii) in case at least one contaminant exceeds the A limit but not the B one, applications in industrial areas are allowed; (iii) in case at least one pollutant exceeds the limit B, the sediment must be dumped in a landfill, because considered hazardous. Among the known treatments to remove contaminants from aquatic sediments, washing is one of the most valued in scientific literature due to its quickness and effectiveness. Nevertheless only a few evaluations on the characteristics of treated sediment for agricultural purposes are usually given. In this study, the effectiveness of a mild CaCl_2 treatment on a sediment slightly polluted with Cu and Zn was evaluated.

Sediments were sampled along a Burana Consortium water canal in the Emilia Romagna region (Italy) and characterized for the main physico-chemical parameters and for heavy metals content (total and distributed among different granulometric fractions). The samples were then treated with 1 N CaCl_2 , and compared to those treated with deionized water or 1 N HCl. Metal speciation and bioavailable fractions were also assessed. The sediments exchanged with Ca ion were then tested for structural stability in water, in order to assess their liability as material for embankments.

These results represent the first stage of a systematic study that will evaluate different soil washing treatments on sediments quality and stability for reuse on field.

3 - Sediment Heavy Metal Speciation (ppm)

Control	As	Cd	Cu	Fe	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
Exchangeable	0,28	n.d.	0,62	n.d.	0,01	50,6	0,81	0,56	16,5
-CO ₃	2,74	0,28	11,5	2925	1,64	387	8,57	53,9	140
-Fe(OH)	0,62	0,139	10,2	2445	4,52	36,3	6,08	6,30	153
-Mn(OH)	1,20	0,054	4,59	10279	32,6	40,3	11,9	14,2	67,4
-S, OM bonded	-0,07	0,093	113	3555	2,42	38,7	16,3	20,4	75,3
Residual	0,15	0,16	26,4	9424	71,5	37,1	6,8	6,82	42,3
Sum	4,92	0,73	166	28628	111	590	50,5	102	495
Total (HF)	7,04	0,62	209	28794	132	629	34,5	73,7	552

Treated	As	Cd	Cu	Fe	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
Exchangeable	0,42	0,02	0,91	n.d.	0,01	59,6	0,76	0,76	15,3
-CO ₃	1,88	0,23	14,3	2115	1,33	364	6,91	56,4	103
-Fe(OH)	0,43	0,12	10,5	2595	5,17	40,9	7,95	8,75	155
-Mn(OH)	1,24	0,05	7,75	10426	35,6	44,6	13,6	13,3	70,0
-S, OM bonded	-0,81	0,06	81,8	3105	2,47	44,1	19,1	16,5	67,3
Residual	0,58	0,17	35,4	12555	81	42,9	8,73	6,92	64,2
Sum	3,74	0,64	151	30796	124	596	57,0	103	475
Total (HF)	6,43	0,57	155	32345	147	636	36,1	82,1	496

Residential and Park use limit	As	Cd	Cu	Fe	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
	20	2	120		150		120	100	150

[1] Akcil et al. A review of approaches and techniques used in aquatic contaminated sediments: metal removal and stabilization by chemical and biotechnological processes, *J. Cleaner Production*, 86 (2015) 24-36.

Il farnesene altera il trasporto dell'auxina in plantule di *Arabidopsis thaliana* Heynh.

Araniti F.¹, Bruno L.², Sunseri F.¹, Bitonti M.B.², Abenavoli M.R.¹

¹*Dipartimento AGRARIA, Università Mediterranea di Reggio Calabria, Salita Melissari, Reggio Calabria, Italy*

²*Dipartimento di Biologia, Ecologia e Scienze della Terra, Università della Calabria, cubo 6b via ponte P. Bucci, Arcavacata di Rende (CS), Italy*

I terpenoidi sono la più grande classe di metaboliti secondari presenti in tutte le piante che comprende monoterpeni e sesquiterpeni. In particolare, i sesquiterpeni (C₁₅) che consistono di tre unità isopreniche (C₅), impartiscono la tipica fragranza alle foglie ed ai fiori e sono coinvolti nei meccanismi di difesa delle piante. Il farnesene è un sesquiterpene ad attività semiochimica presente negli oli essenziali di molte gimnosperme e angiosperme, fortemente coinvolto nella comunicazione chimica interspecifica. Questa molecola è già nota per il suo elevato potenziale fitotossico e per i suoi effetti sulla morfologia e sull'anatomia radicale. Essa infatti causa una perdita di gravitropismo, totale assenza di peli radicali e una deformazione significativa della radice definita "*handedness*". Tali effetti fanno ipotizzare un'alterazione nella *pathway* delle auxine in risposta al farnesene. In tale ottica, lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare gli effetti del farnesene: *i*) sull'anatomia del meristema apicale della radice primaria (RAM); *ii*) sulla distribuzione delle proteine PINFORMED (PIN) coinvolte nel trasporto polare dell'auxina; *iii*) sull'espressione dei geni *PIN* che le codificano. Plantule di *Arabidopsis thaliana* sono state trattate per 7 giorni con 250µM di farnesene, concentrazione di cui erano già noti gli effetti sulla morfologia radicale, e sono stati valutati gli effetti sull'organizzazione del meristema apicale, sulla distribuzione e sull'espressione dei trasportatori dell'auxina. A tal fine sono stati utilizzati i seguenti costrutti GFP: *pro:SCR*, *pro:DR5*, *PIN1*, *PIN2*, *PIN3*, *PIN4* e *PIN7*. Nelle plantule trattate con il farnesene è stata osservata una significativa riduzione del RAM rispetto al controllo unitamente ad un blocco della distribuzione dell'auxina nella porzione distale della caliptra. Questo dato è confermato anche dalle analisi relative alla distribuzione delle proteine di trasporto PIN, che hanno evidenziato un'estrema alterazione soprattutto a carico della proteina PIN7, coinvolta nel trasporto basipeto dell'auxina lungo la stele nonché nella cuffia. Il farnesene ha inoltre causato una significativa riduzione dell'espressione dei geni *PIN*, responsabili del trasporto auxinico. I risultati permettono di ipotizzare che il farnesene possa alterare il meristema apicale attraverso un'alterazione nel *signaling* dell'auxina.

Analisi metabolomica comparativa di radici di lattuga sottoposta a stress salino e da zinco

Lucini L., Bernardo L., Pellizzoni M., Trevisan M.

Istituto di Chimica Agraria ed ambientale, Università Cattolica del Sacro Cuore di Milano, Piacenza, Italy

Nel suolo, lo zinco è naturalmente presente a basse concentrazioni, benché le attività antropiche portino a livelli di contaminazione considerevoli. I sali di zinco provocano nella pianta uno stress osmotico, analogo alla salinità, benché specifici effetti a livello metabolomico, legati al metallo pesante, siano ipotizzabili.

Piante di lattuga sono state cresciute in suoli addizionati con solfato di zinco o cloruro di sodio a concentrazioni osmolari. Le radici raccolte dopo 30 giorni dall'induzione dello stress, e i campioni estratti in miscela metanolica analizzati mediante cromatografia UHPLC accoppiata ad uno spettrometro di massa ad alta risoluzione (UHPLC-QTOF). I composti sono stati identificati mediante il database PlantCyc, utilizzando massa accurata e profilo isotopico. I composti sono stati allineati in Mass Profiler Professional e filtrati, quindi sottoposti a recursive analysis per limitare i falsi positivi. I composti filtrati sono stati poi sottoposti ad analisi statistica e chemometria multivariata. La unsupervised cluster analysis e l'analisi delle componenti principali ha evidenziato una chiara separazione fra i 3 trattamenti. L'analisi PLS-DA e la Volcano analysis hanno quindi permesso di identificare i composti differenziali.

Le differenze a livello metabolomico sono sostanzialmente condivise fra stress salino e da zinco, seppure con differenze quantitative. In particolare, relativamente ai carboidrati, l'incremento dei fruttani è maggiormente evidente in seguito a stress salino come pure la degradazione dell'amido. I flavoni sono maggiormente presenti in seguito a stress salino, probabilmente per contrastare lo stress ossidativo in cooperazione con altri metaboliti secondari, mentre terpeni e alcaloidi aumentano significativamente nelle radici sottoposte a stress da zinco. Il metabolismo lipidico è significativamente influenzato da entrambi gli stress, ma maggiormente da quello salino, dove si osserva diminuzione della biosintesi degli acidi grassi e dei fosfolipidi. I prodotti di degradazione dell'ascorbato e i cataboliti delle poliammine aumentano nelle radici sottoposte a stress da zinco, mentre la produzione di omoglutatione (biosintesi delle fitochelatine) è indotta da stress salino.

"Micro X-ray Lab": un nuovo approccio multianalitico per la caratterizzazione di campioni ambientali, alimentari e biologici mediante raggi X.

Allegretta I., Gattullo C.E., Spagnuolo M., Terzano R.

Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Via Giovanni Amendola, 165/A - 70126 Bari, Italy - Micro X-Ray Lab, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italy

La completa caratterizzazione elementare di campioni ambientali e agroalimentari è un punto chiave nella ricerca scientifica e nel controllo di qualità. In questo contesto, l'uso di metodologie analitiche che impiegano raggi X consente di analizzare diverse tipologie di campioni riducendone al minimo la preparazione ed evitando, così, la perdita o la contaminazione dei campioni, come spesso accade a seguito di processi condotti in umido. Inoltre, queste metodologie consentono di ridurre i tempi e i costi di analisi, nonché di limitare l'uso di prodotti chimici.

Presso l'Università di Bari è stato di recente realizzato il "Micro X-ray Lab", un laboratorio all'avanguardia internazionale, dotato di strumenti che impiegano raggi X al fine di caratterizzare campioni ambientali, agroalimentari e biologici.

Il laboratorio, finanziato dalla Regione Puglia (Reti di Laboratori Pubblici di Ricerca), è dotato di quattro diversi spettrometri di fluorescenza di raggi X, un diffrattometro di raggi X per polveri, un microscopio elettronico a scansione a pressione variabile con sorgente ad emissione di campo e detector di raggi X a dispersione di energia e un microtomografo ad alta risoluzione.

Una prima analisi speditiva in situ, viene effettuata con la fluorescenza di raggi X portatile (pEDXRF). In seguito, la concentrazione totale dei vari elementi viene stimata con maggior precisione in laboratorio mediante la fluorescenza di raggi X a dispersione di lunghezza d'onda (WDXRF). Nel caso di suoli, sedimenti e materiali geologici è inoltre possibile studiare la loro composizione mineralogica mediante la diffrazione di raggi X su polveri (XRPD). Per mezzo della micro fluorescenza di raggi X (μ XRF) è possibile studiare la distribuzione degli elementi in campioni biologici o inorganici con una risoluzione spaziale di 25 μ m. Per campioni più piccoli o per avere una maggiore risoluzione (fino a poche decine di nanometri), è possibile impiegare il microscopio elettronico accoppiato alla microanalisi (FESEM-EDX). Mediante la fluorescenza di raggi X a riflessione totale (TXRF), è possibile stimare la concentrazione di elementi in tracce, a livello di ppb, in campioni sia liquidi che solidi (in sospensione). Questa tecnica consente anche di analizzare micro volumi (10-20 μ l) di campione, come nel caso di fluidi biologici, sia animali che vegetali. Infine, attraverso la microtomografia (μ CT) è possibile studiare la struttura interna dei campioni con una risoluzione submicrometrica.

La fluorescenza di raggi X a riflessione totale (TXRF): un nuovo strumento per la caratterizzazione di prodotti agroalimentari e per il monitoraggio ambientale .

Allegretta I., Gattullo C.E., Spagnuolo M., Terzano R.

Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Via Giovanni Amendola, 165/A - 70126 Bari, Italy - Micro X-Ray Lab, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italy

La fluorescenza di raggi X a riflessione totale (TXRF) è una tecnica analitica emergente, che negli ultimi anni è stata applicata a un numero considerevole di materiali e settori spaziando dall'analisi dei semiconduttori alla caratterizzazione di prodotti agroalimentari. A differenza delle altre tecniche di fluorescenza di raggi X, il ridotto effetto di autoassorbimento da parte del campione consente di effettuare l'analisi chimica multielementare in tracce fino a livelli di ppb e sub ppb, risultando competitiva con altre tecniche più consolidate come l'ICP-OES.

Nel presente lavoro la TXRF è stata impiegata per caratterizzare campioni biologici al fine di i) controllare la qualità di prodotti agroalimentari, ii) individuarne "impronte digitali" ionomiche e iii) monitorare l'inquinamento ambientale in aree industriali.

La caratterizzazione al fine del controllo di qualità è stata effettuata su frutti di pomodoro (*Solanum lycopersicum* L.), alimento importante specialmente nella dieta mediterranea. Campioni di pesca (*Prunus persica* L.) sono stati analizzati per individuarne specifici "pattern" ionomici in grado di metterli in relazione con le pratiche agronomiche impiegate per la produzione. Infine, è stata condotta una caratterizzazione chimica multielementare di api bottinatrici (*Apis mellifera* L.) campionate da alveari opportunamente collocati in aree prossime a siti industriali e oggetto di monitoraggio ambientale.

Le analisi sui frutti di pomodoro e le api sono state condotte sui campioni tal quali, essiccati e macinati per mezzo di un mulino planetario con giare in zirconio. Per le pesche, si è proceduto con l'analisi del succo, estratto dalla polpa per centrifugazione, e del nocciolo, in seguito a macinazione. Le analisi hanno portato alla completa caratterizzazione elementare dei campioni di pomodoro rivelandone il contenuto di micronutrienti e senza evidenziare la presenza di alcun elemento potenzialmente nocivo per la salute umana. Nel caso delle pesche sono state individuate differenze nel profilo ionomico a seguito delle diverse pratiche agronomiche impiegate per la produzione. Infine, nelle api è stata registrata una variazione dei contaminanti ascrivibili alle attività industriali monitorate (principalmente Fe e Zn) nei diversi mesi dell'anno.

Effetto di erbicidi sull'essudazione radicale in piante di mais

Bartucca M.L.¹, Celletti S.², Astolfi S.², Mimmo T.³, Cesco S.³, Del Buono D.¹

¹*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia, Italy.*

²*Dipartimento di Agricoltura, Foreste, Natura ed Energia (D.A.F.N.E.), via S. Camillo de Lellis, 01100 Viterbo, Italy.*

³*Facoltà di Scienze e Tecnologie, Libera Università di Bolzano, Piazza Università 5, 39100 12 Bolzano, Italy*

L'agricoltura moderna è sempre più dipendente dall'utilizzo di composti di sintesi; tra essi particolarmente importanti sono le molecole ad azione erbicida. Il loro utilizzo permette notevoli incrementi delle rese colturali, grazie all'abbattimento della competizione esercitata dalle specie infestanti. Oltre a tali benefici, sono sempre più importanti gli studi che mettono a fuoco l'impatto di queste molecole sull'ambiente e sulla nutrizione dei vegetali non-target.

In questo contesto, la presente ricerca è stata incentrata sull'effetto che la terbutilazina (TBA), una triazina largamente utilizzata in agricoltura, può esercitare sul mais, con particolare attenzione alla funzionalità dei meccanismi preposti all'acquisizione del ferro (Fe) in situazioni di limitata disponibilità del micronutriente. A tale scopo, piante di mais sono state allevate in soluzione idroponica in condizioni di Fe carenza per due settimane, quindi sono state trattate con due dosaggi di terbutilazina (2 e 5 mg l⁻¹). Le piante così trattate presentavano minori contenuti di clorofilla (indice SPAD) e riduzioni significative nella crescita. Inoltre, il rilascio di fitosiderofori (PS) dalle radici risultava decisamente inferiore rispetto alle piante non trattate con TBA. Tali effetti erano di entità crescente nel tempo e direttamente proporzionali ai dosaggi di erbicida applicati. I cali di attività specifica degli enzimi coinvolti nell'assimilazione dello zolfo (ATP sulfurilasi e O-acetil serina (tiol) liasi), più marcati nelle piante esposte al dosaggio più elevato, suggeriscono la possibilità di un meccanismo di azione della TBA anche a livello del metabolismo dello zolfo (S).

Ricerca eseguita con contributo MIUR, programma FIRB2012

Influence of water on the retention of methyl *t*-butyl ether (MTBE) by high silica zeolites: A multidisciplinary adsorption study from aqueous solution and water vapour

Braschi I.,¹ Pasti A.,² Martucci A.,³ Bisio C.⁴

¹Department of Agricultural Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy

²Department of Physics and Earth Sciences and ³Department of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, University of Ferrara, Ferrara, Italy

⁴Department of Sciences and Technological Innovation, University of Eastern Piedmont A. Avogadro, Alessandria, Italy

Methyl *tertiary*-butyl ether (MTBE) is a gasoline additive to increase octane ratings. MTBE is of particular concern due to its high aqueous solubility/vapour pressure and to its not readily biodegradability and potential human carcinogenicity. As suggested by U.S. EPA, it is of utmost importance the development of water remediation technologies to remove MTBE [Ref.].

Zeolites are alumino-silicates of defined porosity, whose properties are related to the framework structural and chemical features. These properties can be modulated to increase their selectivity and sorbent activity. Here, the ability of two high silica zeolite (ZSM-5 and Y) to retain MTBE in the presence of water (*i.e.* from aqueous and gas phase) was addressed.

MTBE batch adsorption was performed and analyzed by HS-SPME-CG and TG and the exhausted sorbent investigated by XRPD. The Rietveld analysis allowed the identification of

the occurrence and the positioning of MTBE-H₂O clusters into the zeolite pores (see figure). The formation of clusters were also observed when the adsorption was conducted in gas phase in the presence of water vapour by variable pressure/temperature FTIR spectroscopy, thus highlighting the cooperative effect of H₂O in MTBE removal by the zeolites. These findings are of certain interest for scientists working in the depollution of wastewater streams and indoor

environments from oxygenated organic pollutants.

[Ref.]: Braschi et al., **2012** *J. Phys. Chem. C*; Sacchetto et al., **2013** *PCCP*; Arletti et al., **2013** *J. Solid State Chem.*

Research funded by Research Center for Non-Conventional Energy, Istituto ENI Donegani – Environmental Technologies

Cementi organici ed inorganici in macro e microaggregati del suolo: caso studio di un querceto e un medicaio in ambiente montano

Guidi P., Cavani L., Marzadori C., Ciavatta C., Falsone G.

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, viale G. Fanin, 40 – 40127 Bologna, Italia

Composti di natura sia organica che inorganica agiscono come cementi attraverso interazioni di natura diversa, contribuendo alla formazione degli aggregati. E' importante capire il tipo di cementi che intervengono sull'aggregazione del suolo, in quanto la natura e le dimensioni degli aggregati dipendono dall'azione di questi agenti cementanti.

L'obiettivo della ricerca è stato quello di studiare come i vari cementi possano agire in funzione delle diverse classi dimensionali di aggregati e come diverse gestioni di uso del suolo possa influenzarli.

Lo studio riguarda un querceto e un medicaio localizzati nella fascia montana appenninica Bolognese, sviluppati su rocce carbonatiche e con pratiche di gestione non intensiva che garantisce la conservazione della macroaggregazione nel tempo.

Per entrambi i siti sono stati studiati campioni rappresentativi degli orizzonti superficiali. Due frazioni di macroaggregati (4000-1000 μm , 1000-250 μm) e una di microaggregati (< 250 μm) sono state separate per setacciatura e, per ogni frazione, sono stati quantificati i cementi organici (C organico) e inorganici (carbonati, Ca totale e scambiabile, Fe e Al totali, ossidi di Fe e Al pedogenetici).

La frazione più grossolana di aggregati (4000-1000 μm) è più ricca di C organico (55,2 g kg^{-1} querceto; 7,02 g kg^{-1} medicaio), di carbonati (84 g kg^{-1} querceto; 103 g kg^{-1} medicaio) e dei ossidi di Fe e Al (Fe 5,0 g kg^{-1} Al 0,7 g kg^{-1} querceto; Fe 2,6 g kg^{-1} Al 0,5 g kg^{-1} medicaio) rispetto alle altre classi di aggregati. Invece il Ca scambiabile è maggiormente presente nelle frazioni più fini (1000-250 μm , < 250 μm). In funzione del tipo di gestione, il querceto mostra i valori più alti ad eccezione dei carbonati e del Ca scambiabile. Questi dati preliminari fanno supporre che specifici cementi abbiano importanza relativa differente nelle diverse classi di aggregati. Nella formazione di aggregati di dimensioni maggiori sembra rilevante l'azione della sostanza organica e degli ossidi pedogenetici in grado di legare particelle primarie carbonatiche, mentre gli aggregati più fini avrebbero origine da interazioni in cui è coinvolto il Ca nella sua forma più prontamente disponibile.

Impiego di nuovi catalizzatori per il disinquinamento di acque da contaminanti organici: potenzialità e sviluppi nella chimica agraria

Sannino F.^{1,2}, Aronne A.^{2,3}, Pirozzi D.^{2,3}, Pernice P.³, Piccolo A.^{1,2}, Minieri L.³

¹*Dipartimento di Agraria, Università di Napoli "Federico II", Via Università 100, 80055 Portici (NA)*

²*Centro Interdipartimentale di Ricerca sulla Risonanza Magnetica Nucleare per l'Ambiente, l'Agro-Alimentare ed i Nuovi Materiali (CERMANU), Università di Napoli "Federico II", Via Università 100, 80055 Portici (NA)*

³*Dipartimento di Ingegneria Chimica, dei Materiali e della Produzione Industriale, Università di Napoli "Federico II", P.le Tecchio 80, 80125 Napoli*

Le sostanze inquinanti di natura organica (agrofarmaci, idrocarburi policiclici aromatici, fenoli alogenati e policlorobifenili) continuamente rilasciate nell'ambiente determinano una profonda alterazione degli equilibri chimici e biologici. Esse rappresentano pertanto una seria minaccia per l'uomo con gravi conseguenze ecotossicologiche.

Tra i composti di natura organica, gli erbicidi clorurati fenossialcanoici meritano particolare attenzione. A causa della loro stabilità chimica, resistenza alla biodegradazione e buona solubilità in acqua, questi composti raggiungono facilmente i corpi idrici, superficiali e profondi, determinando un significativo inquinamento delle falde. Tali erbicidi sono considerati tossici e posseggono potenziali proprietà mutagene. Oltre a questa classe di molecole, contribuiscono significativamente al fenomeno dell'inquinamento anche gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) che esibiscono effetti tossici, mutageni e carcinogeni. L'elevata stabilità e la scarsa solubilità in acqua degli IPA portano al loro accumulo nella catena alimentare, minacciando in questo modo la salute dell'uomo e la qualità dell'ambiente. Le strategie di degradazione degli inquinanti di natura organica che si basano su processi che utilizzano foto-catalizzatori eterogenei offrono la possibilità di ottenere un elevato grado di rimozione a temperatura ambiente. Esse però richiedono, in relazione all'entità del *bandgap* esistente tra la banda di conduzione e quella di valenza del semiconduttore, l'utilizzo di luce ultravioletta o visibile, imponendo così delle limitazioni sulla scelta del rapporto superficie-volume del materiale.

Un innovativo materiale ibrido di classe II a base di ZrO_2 è stato ottenuto via sol-gel. Esso ha mostrato in assenza di alcun tipo di attivazione, termica e luminosa, una elevata attività catalitica nella degradazione ossidativa di diversi inquinanti, come gli erbicidi clorurati fenossialcanoici (acido 4-cloro-2-metilfenossiacetico, MCPA; acido 4 cloro 2-metilfenossi butanoico, MCPB; acido 2,4-diclorofenossiacetico, 2,4-D; acido 4-clorofenossiacetico, 4-CPA) e il fenantrene (scelto come molecola modello rappresentativa degli IPA). In particolare è stata dimostrata la capacità di questo materiale di generare, in presenza di ossigeno, ioni radicali superossido, $\cdot O_2^-$, stabilmente adsorbiti sulla superficie del catalizzatore in assenza di irradiazione luminosa.

Sessione IV

X NATIONAL MEETING

Italian Chapter of the International Humic Substances Society - IHSS

Soil organic matter: key role in environmental sustainability

Soil Carbon Sequestration: from mechanisms to predictions

Necpalova M., Lee J., Six J.

Department of Environmental Systems Science, Swiss Federal Institute of Technology, ETH-Zurich, Zurich 8092, Switzerland

Soil organic carbon sequestration has been recognized as a potential climate change mitigation option. Restoring, increasing and protecting soil organic carbon became therefore a global priority. The fundamental mechanisms of carbon stabilization within soil have been extensively studied. The influence of soil fauna, microorganisms, roots, chemical and physical processes on soil organic matter stabilization and aggregate dynamics has been widely recognized, however further quantifications of the effects and consideration of the interactive effects are still needed. There is also very little information on soil's inherent biophysicochemical capacity to sequester carbon under given climatic and soil conditions.

Laboratory and microcosm data collected under controlled conditions have been used to develop soil carbon dynamic and ecosystem dynamic models and improve the representation and prediction of the ecosystem processes. Field experiments, designed across different land uses and climates with the aim to identify the best management practices and measures to increase or preserve soil organic carbon, provide insights and data for modelling of management effects under site specific conditions.

Findings obtained from individual experiments can be extrapolated via modelling to larger spatial scales and varying time scales to predict the future changes in soil organic carbon due to management and climate change. To extend the model simulations beyond a single well-characterized field or site, a number of soil, plant, climate, management related parameters and driving variables spanning the range of spatial and temporal conditions need to be compiled.

Our modelling efforts have been concentrated on the site-specific and regional DayCent simulations of various management practices (i.e. manuring, reduced tillage, cover cropping, and reduced synthetic fertilizer inputs) in cropland, grasslands, and forests. We evaluated the effects of regional adoption of alternative practices on GHG emissions and long-term changes in crop production under current climate conditions. Our modelling approach is based on the integration of long term field experimental data with biophysical modelling. Our most recent focus has been on the DayCent modelling of soil organic carbon, nitrate leaching and GHG emissions from Swiss soils, specifically comparing alternative and conventional farming practices for their potential to produce food and mitigate GHG emissions at a regional scale.

Amount, composition and stabilization of soil organic matter in physical soil fractions in response to typical crop rotations in central Italy

Angeletti C.¹, Kölbl A.², Von Lütow M.², Monaci E.¹, Vischetti C.¹.

¹*Department of Agricultural, Food and Environmental Sciences (D3A) Polytechnic University of Marche*

²*Lehrstuhl für Bodenkunde, Technische Universität München*

Crop rotations influence soil organic matter (SOM) accumulation/mineralization dynamics in agricultural soils. In order to evaluate the effect of crop rotations on SOM stabilization dynamics, we compared the effect of two different cropping systems on the accumulation of SOM during a two-year field trial. Two adjacent experimental fields were cultivated until November 2011 under an organic agriculture regime with one Alfalfa based crop rotation (ALF) and a conventional crop rotation based on cereals, legumes and sunflower (CON). At the beginning of the experiment, the two fields followed the same cropping system, encompassing winter wheat and chickpea. Soil samples were taken before the sowing of winter wheat (T0, November 2011) and before the harvest of chickpea (T1, July 2013) and were compared for organic C (OC) and N levels across aggregate and density fractions.

At the beginning of the experiment, OC contents were 44% higher in ALF as compared to CON. The N enriched crop rotation showed a significant effect on the aggregate fractions distribution. ALF contained 39% more macro-aggregates than CON at T0, as an effect of the different tillage intensity in the two fields, while micro-aggregates were 23% more abundant in CON as compared to ALF. During the 2 years the amount of macro-aggregates decreased by 36% in ALF, while remained constant in CON. Conversely, the amount of micro-aggregates remained stable in the two fields. Macro-aggregates and micro-aggregates occluded particulate organic matter oPOM content increased in the two treatments, despite the smaller amount of macro-aggregates recovered. The latter observation indicates a different capability of SOM stabilization in aggregates at T1 as compared to T0.

OC and N bonded to silt and clay particles in CON, increased significantly from T0 to T1, indicating a change in SOM stabilization dynamics. Free-POM (fPOM) > 200 µm C/N ratios were significantly higher in ALF as compared to CON at the beginning of the experiment, while the two values were similar at T1. Macro-aggregates and micro-aggregates oPOM C/N values were higher in CON as compared to ALF at T0. C/N ratio in micro-aggregates oPOM decreased significantly in the two treatments from T0 to T1, maintaining a significant difference.

The two crop rotations determined different SOM stabilization dynamics. The evaluation of the effects of cropping systems will be completed by ¹³C NMR and hydrolysable neutral sugars analysis.

Network analysis of differentially expressed proteins in Arabidopsis roots treated with humic substances

Carletti P.¹, Conselvan G.B.¹, Pivato M.¹, Arrigoni G.^{2,3}, Roomi S.¹, Masi A.¹, Nardi S.¹

¹*Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment, DAFNAE, University of Padova, Padova (Italy)*

²*Proteomics Center, University of Padova, Padova (Italy)*

³*Department of Biomedical Sciences, University of Padova, Padova (Italy)*

Humic substances (HS) are complex, heterogeneous, mixtures of polydispersed organic compounds. They represent the end products of microbial and chemical degradation of dead biota and are the major components of soil organic matter. These substances exhibit a known biostimulant activity on plant physiology, improving crop production and ameliorating abiotic stresses. Proteomic profiling of humic substances effects aims to clarify how HS elicit plant growth by identifying markers for these beneficial responses.

Arabidopsis thaliana plants were grown in hydroponic conditions. A batch of plants was moved for 8 h to a nutrient solution for treatment with HS purified from earthworm faeces (1 mg/l C). Root protein was extracted, purified, in situ trypsin digested and iTRAQ (ABSciex) labelled. The MS analyses were conducted with a LTQ-Orbitrap XL mass spectrometer coupled online with a nano-HPLC Ultimate 3000 (Dionex - Thermo Fisher Scientific). The raw LC-MS/MS files were analyzed using Proteome Discoverer 2.4. A ≥ 1.3 fold change ratio was set as the threshold for differentially expressed protein. The GO-term functional annotation was done using DAVID 6.7 with benjamini correction while protein-protein interaction networks were built using the IIS platform and visualized using the Cytoscape 3.2.1 software.

A total of 902 proteins were identified in root extracts. FAC tool of DAVID produced 16 enriched functional clusters from 182 up-regulated and 6 from 110 down-regulated proteins, under high stringency condition. Enriched clusters included response to stimulus and redox stress, protein synthesis and folding. 25% of differentially expressed proteins belonged to extracellular, cell wall and plasma membrane cellular compartments. IIS interactome evidenced a network of down-regulated stress-related proteins including superoxide dismutase (SOD), copper superoxide dismutase 1 (CSD1), glutathione peroxidase (GPX) and Proteins DJ-1 homolog A (DJ1A) all connected with Receptor for Actin C Kinase 1 (RACK1A).

Arabidopsis roots proteome changes involved numerous pathways, in particular stress and redox responses and protein synthesis. These metabolic pathways can be used to screen for substances bioactivity in future research.

Soil organic matter, biological and isotopic parameters in macro and microaggregates under different management

Guidi P., Cavani L., Falsone G., Marzadori C., Ciavatta C.

Department of Agricultural Science, Alma Mater Studiorum University of Bologna, Bologna, Italy

There is a strong relationship between soil aggregates and soil organic matter (SOM): SOM enhances soil aggregation, on the other hand soil aggregates reduce the rate of SOM decomposition.

Several studies concern on SOM and soil aggregation, but different management can affect their relationship and more specific studies are needed. In particular there is a lack of knowledge on biological and chemical parameters useful in the understanding of the effect of different management on dynamics of organic matter in soil aggregates. However, specific studies about how mechanical properties of single macro and microaggregates affect SOC concentration are still limited.

The mechanical behavior intrinsic to an individual aggregate is not necessarily consistent with that in whole soil. And, most importantly, behavior of fraction aggregates can manage the mechanical properties of the bulk soil concerning SOC sequestration.

The specific aim of this research is thus to assess chemical, biochemical and isotopic variables that can give indication on the SOC dynamics in soil macro and microaggregates.

The macroaggregates (4000-1000 μm and 1000 – 250 μm) and microaggregates (< 250 μm) from the topsoils of an oak wood and an alfalfa grassland located in the Appennines mountain (North Italy) have been studied. The aggregates were analysed for their chemical (organic C, total N and $\delta^{13}\text{C}$ signature) and biochemical (basal respiration, C and N content in microbial biomass) parameters.

The results will allow to assess whether in different aggregates there is a chemical or biochemical variability, and thus to enhance a better understanding of soil organic matter dynamics in particular concerning organic carbon content in the soil.

Production of an artificial soil by co-composting of dredged sediments and pruning residues

Mattei P.¹, Cincinelli A.², Martellini T.², Natalini R.², Renella G.¹

¹*DiSPAA - Department of Agrifood Production and Environmental Sciences, University of Florence, Florence, Italy*

²*Department of Chemistry "Ugo Schiff", University of Florence, Sesto Fiorentino (FI), Italy*

A pilot experiment was set up to produce an artificial soil by co-composting of dredged sediments and pruning residues. This work stems from previous experimentations, which have demonstrated that phytoremediated sediments could be safely used for growing ornamental and aromatic plants. Co-composting is proposed as alternative to phytoremediation since it is shorter, it requires less space and can produce diversified substrates according to the intended use.

The fresh sediments (SED) used were dredged in March 2014 from Navicelli canal (Pisa, Italy). Sediments were slightly polluted by PAH and Be, according to the current mandatory limits; pruning residues (PR) from public and private urban green were obtained by Quadrifoglio s.p.a., (Florence). Co-composting was performed in small (0.196m³) composters, with no watering, no mechanical mixing, no forced aeration or microbial inoculation. Two SED:PR mix were tested (1:1 and 3:1 w/w) and compared with non mixed PR and SED used as controls. All treatments were prepared in three independent replicates. Composting process started in June 2014 and was monitored for more than 1 year.

Periodically solid phases and leachate samples were taken to determine eco-toxicity, content of C, N and humic substances, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and heavy metals concentration, pH and electrical conductivity (EC) values. Temperature was monitored throughout the experimental period.

During the first week temperature increased to 39°C (PR and 1:1), then proceeded as 'cold' composting. The initial results indicated that co-composting increased the sediment OC and N content, reduced its initial high EC, allowed the degradation of selected PAH (-56.8% in 1:1). However, co-composting increased leachate pH value from 7 to 8. Unexpectedly, treatment containing PR were eco-toxic, likely due to their contaminant load (e.g. high Cu concentrations), while SED control did not show any toxicity.

We concluded that co-composting of dredged sediments and pruning residues can be considered as a low cost and low input technology for remediation of materials, otherwise managed as wastes, and their re-use for revegetation of urban and degraded land or for plant nursery, in line with the most recent environmental legislation. However, care is needed in selecting appropriate and non-polluted green materials. Research is in progress to understand the apparent PR eco-toxicity and to study the evolution of microbial community during the process.

DNA occurrence in organic matter fractions isolated from agricultural soils using a physical fractionation method

Martino G.¹, Beneduce L.¹, Lotti C.¹, Bellucci M.¹, Ricciardi L.², Plaza C.³, Zaccone C.¹

¹*Department of the Sciences of Agriculture, Food and Environment, University of Foggia, Foggia, Italy*

²*Department of Soil, Plant and Food Sciences, University of Bari “Aldo Moro”, Bari, Italy*

³*Instituto de Ciencias Agrarias, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, Spain*

Deoxyribonucleic acid (DNA) fate in soil is still not completely understood. In fact, although it is one of the organic compounds from living cells that is apparently broken down rapidly in soils, it is also potentially capable of being incorporated in (or interact with) the precursors of humic molecules, as well as to be adsorbed to clay particles. As a consequence, DNA in agricultural soils may show a mean residence time (MRT) spanning from few weeks to years. An experiment was set up as a randomized complete block design with two factors, namely biochar addition and traditional amendments (*i.e.*, municipal solid waste compost and sewage sludge). Using a physical fractionation method, free (FR) soil organic matter (SOM), SOM occluded within macroaggregates (MA), SOM occluded within microaggregates (MI), and SOM associated with the mineral fractions (MIN) were separated from soil samples. DNA was then isolated from each fraction of the four series, as well as from the unamended soil (C) and from the bulk soils (WS), and analysed with molecular methods to assess the presence of bacterial and/or plant DNA. In all series, most of the isolated DNA was present in the FR fraction, followed by MA. At the same time, while plant DNA was found only in the C, in the WS and in the MIN fraction, bacterial DNA was found in all fractions, although at a different degree of degradation. Consequently, data clearly show that (i) DNA “survived” the SOM fractionation, (ii) bacterial DNA is ubiquitous, although it is more representative of the FR fraction, and (iii) plant DNA probably occurs as one of the constituents of the native SOM chemically protected against degradation.

Adsorptive removal of estrogens and pesticides from aqueous solution using various plant-derived substrates

Loffredo E., Taskin E.

Department of Soil, Plant and Food Sciences, University of Bari Aldo Moro, Bari, Italy

Contaminants of various types released in water from anthropogenic activities are of great concern due to their detrimental effects to human health and environmental systems. Industrial products and byproducts, pharmaceuticals, pesticides, detergents and so on impose increasing costs for wastewater treatments.

Nowadays, alternative low-cost adsorbents, especially originated from agricultural wastes and food industries residues, such as wood chips, almond and coconut shells, peanut and rice husks, are under investigation. Biochar is also considered a promising and relatively low-cost adsorbent, even if there are still knowledge gaps about the influence of feedstock type, pyrolysis conditions, physical and chemical properties on its potential and safe use.

In the present work, four plant-derived adsorbents were used for the removal of two estrogens, 4-tert-octylphenol and 17- β -estradiol, and two pesticides, carbaryl and fenuron, spiked in water each at a concentration of 1 mg L⁻¹. The adsorbents were: a biochar obtained from 100% red spruce pellet pyrolysed at 550 °C, spent coffee grounds, spent tea leaves and a humic acid isolated from a green compost. Kinetics curves and adsorption isotherms studies were performed using a batch equilibrium method. Adsorption data obtained for each compound were fitted to a linear equation and non-linear Freundlich and Langmuir models.

Kinetics data of the four compounds onto all adsorbents showed a relevant instantaneous adsorption which was completed in few hours when it reached equilibrium. The two estrogens were adsorbed onto all materials more quickly than the two less hydrophobic pesticides. Significant differences among adsorbents and the compounds concerned both the model of adsorption and quantitative aspects. Biochar demonstrated an optimum adsorption capability for both estrogens and pesticides, which was comparable to that of the humic acid or even higher. The trend of adsorption varied with the model and the compound, approximately it was: biochar $\geq$ humic acid > spent coffee grounds > spent tea leaves. A marked adsorption efficiency (high values of the sorption constants) was shown by all materials for the contaminants. That suggests a valuable and cost effective exploitation of such materials for the removal of hazardous contaminants from aqueous wastes before their worthwhile recycle.

Mineralization processes of different pure organic substances in the soil

Alianiello F.¹, Schmitt-Köpplin P.², Lucio M.², Valentini M.¹, Cozzolino S.¹, Mascia M.G.¹

¹*Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria - Centro di Ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo*

²*Research Unit Analytical BioGeoChemistry, Helmholtz Zentrum München (German Research Center for Environmental Health)*

Knowledge of mineralization and possible sequestration processes of organic materials in the form of pure compounds added to soil is the object of this study.

An incubation experiment of two soils with four pure compounds addition in separate microcosms has been carried out and different analytical techniques have been used to monitor it. The incubation was carried out for an year under controlled conditions of temperature and moisture (27 °C, 2.5 pF). The compounds were: lignin, cellulose, casein and tripalmitin. The amount of compound added was the one necessary to double the original organic C concentration of the soils. Sub-samples were collected immediately after mixing, after 3 weeks, 3 months, 6 months and 1 year.

Total organic carbon, total extractable carbon, humic plus fulvic acids were determined. Analyses with ¹³C NMR, and with FTICR/MS were carried out.

¹³C NMR spectra showed how fast the composition of treated soils lose the characteristics of the compound added and return to those of the soil alone. Lignin plus soil spectra, instead, seem to preserve most of the characteristics of lignin to the end of the experiment.

FTICR/MS seemed to rebut some aspects of NMR, and revealed that: N small compounds increased in all the theses, excluded the lignin ones, while control-like C compounds decreased.

So, addition of the materials (differently from the prospects resulting from the NMR and TOC results) was not only followed by their mineralization, but new added compounds were sequestered by the soil, while the original Nitrogen of the soil was probably immobilized by microorganisms, and other Carbon material of the SOM was mineralized.

Attività biostimolante di sostanze umo-simili su *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus quadricauda*.

Baglieri A., Sidella S., Barone V. Fragalà F., Gennari M.

Dipartimento di Agricoltura, Alimentazione e Ambiente, Università di Catania

Negli ultimi anni, è sempre più sentita la necessità di utilizzare composti di origine naturale ad azione biostimolante in sostituzione di quelli sintetici per la loro maggiore eco-compatibilità. Tra i più comuni componenti bioattivi riconosciuti come biostimolanti naturali si annoverano: le sostanze umiche (SU), gli estratti da alghe, gli amminoacidi e gli oligo-polisaccaridi. Anche le sostanze umo-simili (SUS) isolate da matrici organiche di diversa natura ed estratte con procedura analoga alle SU del suolo, hanno dimostrato azione biostimolante.

Negli ultimi decenni, si è verificato un notevole interesse verso le microalghe, grazie alla loro capacità di dare origine a notevoli quantità di biomassa in tempi brevi, e alle loro numerose applicazioni quali: composti per l'alimentazione umana e animale, biocarburanti e la formulazione di cosmetici. Nonostante l'effetto dei biostimolanti sulle piante superiori sia stato ampiamente studiato nel tempo, poche ricerche sono state condotte circa la loro influenza sulla produzione quali-quantitativa delle microalghe.

L'obiettivo del nostro studio è stato quello di verificare l'effetto di SUS, estratte da biomasse di scarto di origine agricola, che hanno dimostrato effetto biostimolante su piante di mais e fagiolo, sulla crescita ed il metabolismo di *C.vulgaris* e *S. quadricauda*.

Le prove sono state condotte in batch, all'interno di beute da 250 mL, riempite con 150 mL di soluzione nutritiva (BG11) addizionata di SUS alle dosi di 100 mgL⁻¹ e 200 mgL⁻¹ e di 20 mgL⁻¹ delle due microalghe studiate. Le SUS utilizzate sono state ottenute per idrolisi alcalina, da digestato (D-SUS), da residui di biomassa di *Brassica* sp. esausta dopo estrazione di olio (B-SUS) e da residui di coltivazione di pomodoro (T-SUS). La tesi di controllo ha previsto la crescita delle microalghe sul solo mezzo colturale BG11. Le beute (tre per ogni tesi), sono state illuminate con illuminamento pari a 3500 lux e mantenute a temperatura ambiente.

Dopo 46 gg dall'immissione delle microalghe, i migliori risultati sono stati ottenuti per i trattamenti con D-SUS e T-SUS alle dosi minori. Questi, hanno promosso un incremento di biomassa delle due microalghe (compreso tra il 21-40%), di lipidi (40-60%) e di acidi grassi insaturi (30-65%) rispetto al controllo in BG11. Tali aumenti sono stati più marcati in *C. vulgaris* rispetto a *S. quadricauda*. Di contro, questi estratti alcalini hanno influenzato negativamente la sintesi di clorofille *a* e *b* e, conseguentemente, la produzione di carboidrati. I due pigmenti clorofilliani ed il contenuto in carboidrati sono stati riscontrati in quantità superiore, in entrambe le specie, in seguito al trattamento con B-SUS rispetto al controllo, indipendentemente dalla dose somministrata.

Si può ritenere, così come già riscontrato per le piante superiori, che anche per le microalghe le SUS esercitano un effetto biostimolante, dipendente dalla loro origine, dalla loro concentrazione e dalla specie trattata.

Adsorption selectivity of veterinary sulfonamide antibiotics and humic monomers by zeolite Y and regeneration studies: A zeolite-based WWTP technology against antibiotic resistance

Braschi I.¹, Buscaroli E.¹, Mzini L.L.¹, Blasioli S.¹, Cossi M.², Martucci A.³

¹Department of Agricultural Sciences, University of Bologna, Bologna, IT

²Department of Sciences and Technological Innovation, University of Eastern Piedmont A. Avogadro, Alessandria, IT

³Department of Earth Sciences, University of Ferrara, Ferrara, IT

Among the small-sized organic components of natural waters, the so-called humic monomers (building blocks of humic substances) can affect the efficiency of wastewater treatment plants (WWTPs) based on adsorption processes, due to their dimension comparable to those of the sorbent pores. Recently, the environmental antibiotic spreading is of concern because of the antibiotic-resistance development. Several studies report about the occurrence in surface waters and WWTPs/hospital effluents of sulfonamides, a top-selling class of antibiotics systematically used as growth promoters and to treat/prevent bacterial infections, owing to their anionic nature. Adsorption on high silica (HS) zeolites has been proposed as an efficient technique to remove high amount of sulfonamides with a favourable kinetics in model studies but no information is available about the effect of humic monomers on their efficiency [Ref].

Here the adsorption/desorption of sulfamethoxazole (SMX) sulfonamide on a HS zeolite Y was investigated in the presence of two humic monomers: vanillin (VNL) and caffeic acid (CA). VNL competed with SMX for the zeolite adsorption sites, conversely to what observed for CA, according to their solubility and pKa values. As SMX-VNL co-adsorption was revealed, FTIR spectroscopy combined to Rietveld analysis of XRPD data allowed to define the guest-guest interactions inside the zeolite pores. DFT calculations in vacuo confirmed the stabilization of the complex (see figure) with respect to the isolated compounds. Finally, both thermal treatment and solvent extraction succeeded in the regeneration of the exhausted zeolite.

[Ref] Leardini et al., Martucci et al., 2014 *Min. Mag.*; Blasioli et al., 2014 *J. Coll. Interface Sci.*; Braschi et al., 2013 *RSC-Advances*; Martucci et al. 2013 *Micropor. Mesopor. Mat.*; Braschi et al., 2010 *Langmuir*; Braschi et al., 2010 *J. Hazard. Mat.*

Research co-funded by the Italian Ministry of Education, University, and Research (2008 BL2NWK)

Influence of application of biostimulants based on leonardite, seaweed and carbohydrates on soil microbial activities

Cavani L., Margon A., Ciavatta C.

Department of Agricultural Sciences, Alma Mater Studiorum - University of Bologna.

Non-conventional soil additives, such as soil biostimulants, are nowadays widely used in agriculture. The European Biostimulants Industry Council (2015) defines agricultural biostimulants as “...diverse formulations of compounds, substances and micro-organisms that are applied to plants or soils to improve crop vigour, yields, quality and tolerance of abiotic stresses”. There is some evidence that these substances, when applied to the soil even at remarkably low rates can alter soil microbial communities and activities, yet the precise mechanisms by which these additives influence soil and plant processes are not well understood.

The influence of different putative leonardite, seaweed and carbohydrate based biostimulants on soil microbial activity was evaluated in two different soils. Combinations of different substances were also tested.

After biostimulant application, CO₂ evolution was monitored at regular intervals for two weeks, and soil basal respiration rate (SRR), and respiration curve was determined. After that period the experimental microcosms were assayed for changes in soil microbial biomass (SMB) and activity (SIR, FDA hydrolysis and catechol oxidase activity).

CO₂ emission increase faster in soils treated with seaweed and HA from leonardite activated with carbohydrates (half-time 2-3 days after adding), than in soils treated with only HA from leonardite (half-time 5-9 days after adding). After two weeks, SRR reached stable level that was similar for each thesis. Only the treatments with seaweed and carbohydrate-activated HA increased SMB compared to the untreated soil. The calculated metabolic quotient ($q\text{CO}_2$), a soil quality indicator, showed that treatment with biostimulants reduced metabolic efficiency, with HA from leonardite displaying the best performance. All tested compounds displayed weak or no effect on soil hydrolytic activity, while HA from leonardite increased catechol oxidase activity. Finally, SIR was not affected by addition of biostimulants, except carbohydrate-activated HA.

These results demonstrate that it is possible to increase soil functionality using biostimulants based on HA from leonardite, however the results are influenced by the source material and the production process used.

[1] <http://www.biostimulants.eu/about/what-are-biostimulants-benefits/>

Principal component analysis (PCA) of Fluorescence Excitation-Emission Matrices to identify interaction mechanisms of Humic Acids with S-Triazine and Bipyridilium herbicides and their Cu complexes

D'Orazio V.¹, Zaccone C.², Miano T.¹, Senesi N.¹

¹*Dept. of Soil, Plant and Food Sciences, University of Bari "Aldo Moro", Bari, Italy.*

²*Dept. of the Sciences of Agriculture, Food and Environment, Univ. of Foggia, Foggia, Italy*

Three-dimensional (3D) fluorescence spectroscopy (emission-excitation matrix, EEM) represents a powerful tool in the characterization of humic molecules, and its capability as qualitative and/or quantitative analysis can be strongly improved by the application of multivariate methods.

In this work, Principal Component Analysis (PCA) was used to evaluate the properties of three different humic acids (HA) and to investigate their interaction mechanisms with atrazine (A) and paraquat (P) with or without a paramagnetic metal ion (Cu^{2+}).

Interaction products between the three HA (HAa, HAb and HAc) and atrazine and paraquat in presence of copper were obtained according to a previously tested procedure. Fluorescence spectra were recorded using a Hitachi model F-4500 luminescence spectrophotometer and fluorescence intensity (FI) values (in arbitrary units) were normalized using a quinine sulphate standard (10 μmol in 0.1N H_2SO_4). PCA analysis was performed on fluorescence data using the software STATGRAPHICS Centurion XV.I.

The EEM spectra of the three untreated HA are characterized by the presence of two distinct fluorophores, α and β , centered in the region of longer wavelengths pairs (EEWP), ascribed to the presence of very complex structures, such as conjugated quinones and/or phenols with an elevated polycondensation degree, with the highest FI values for both fluorophores recorded for HAb. The EEM spectra of the A-interaction products are featured by the same two fluorophores, with FI values decreased of about 50%, and a new fluorescent peak, γ , centered at lower EEWP, ascribed to hydroxycumarin-like structures. The HA-P interaction products show a unique peak, δ , centered at intermediate EEWP (aromatic moieties variously substituted) and characterized by very high FI values, especially in the HAb-P. EEM spectra of HA-A- Cu^{2+} show, with respect to HA-A samples, a blue shift of the peak α with an additional decrease of FI values (about 60%) and the disappearance of the peaks β and γ , whereas those of HA-P- Cu^{2+} feature, in comparison with those of HA-P, a red-shift of the peak δ and FI values decreasing in the order HAc>HAb>HAa.

PCA analysis of fluorescence EEM shows that Cu ion does not affect the interaction mechanism between HA and P, whereas it appears to exercise a strong influence in the case of interaction between HA and A. In detail, results indicated that Cu ion behaves like a good antagonist in the preventing the formation of ionic bonds between deprotonated HA-COOH and -OH groups and the weakly basic and easily protonizable atrazine. On the contrary, Cu is not able to affect the prevalent mechanism of HA interaction with paraquat that is a charge-transfer bond between electron-acceptor deactivated bipyridilium ring and activated electron-donor moieties, such as HA diphenols.

Best practices in organic Citriculture: the Palap9 long-term experiment

Roccuzzo G., Allegra M., Stagno F., Tirrò G., Torrì B., Ferlito F.

CREA, Centro di ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee, Acireale (CT), Italy

Palap9 is a field study started in 1995 on 'Valencia late' orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] trees grafted on sour orange (*C. aurantium* L.) in CREA "Palazzelli" experimental farm [Lentini, SR (IT) -37°17'56"76 N, 14°50'29"76 E]. During 15 years, the effects of three organic fertilizers were compared to a control (mineral fertilizer) after yearly application at the same N input level. The system comparison showed the increase of soil organic C stock in the organic treatments, of nutrient use efficiency (P, K, and micronutrients), and of some key fruit quality parameters, being the yield equal.

The mature orchard in 2012 was replaced in the same plots with 'Tarocco Rosso' orange seedlings, grafted on Carrizo citrange [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. × *C. sinensis* (L.) Osbeck], with and without soil disturbance. In order to design and evaluate resilient organic citrus systems, studies on cover crop introduction and soil management techniques are currently carried out.

Fava bean (*Vicia faba* var. *minor* Beck), common vetch (*Vicia sativa* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.), and a vetch-barley mixture showed to be well adapted to local condition as cover crops. Cover crop aboveground biomasses, frequently exceeding 10 Mg ha⁻¹ (d.m.), need the adjustment of traditional soil management techniques. Moreover, the different treatments showed to have an influence on weed dynamics and coverage.

A key issue of organic agroecosystems is to maintain or increase the soil organic matter content over time. By means of composting of residues is possible to recycle a relevant part of organic outputs in fruit tree systems in arid environments. The combined action of cover-cropping and conservative soil management techniques can act to increase the economic and environmental sustainability of organic Citriculture.

This study was realized in the project "Indirizzi Tecnici e scientifici all'impianto e Alla Conversione dei frutteti all'Agricoltura biologica" (ITACA) funded by Italian Ministry of Agriculture, Food and Fishery Policies (MiPAAF).

Polyhydroxyalkanoates (PHA) production from synthetic medium and cheese whey in microbial mixed culture to produce bio-plastics.

Pepè Sciarria T., Colombo B., Adani F., Scaglia B.

Gruppo Ricicla-DiSAA, University of Milan, via Celoria 20100, Milan, Italy

The increasing price of crude oil is pushing the change from a petroleum based economy to a renewable feed-stock based economy. The use of plastics has grown continuously in the past decades with the huge quantity of more than 299 million tonnes of plastic materials produced yearly worldwide in 2013 (Plastics the facts 2014-2015). As result, a large quantity of short-term used plastic can be found into municipal solid waste and in industrial waste. The slow rate of degradation of these plastics (100 years), result in a serious pollution and waste management problem (Castilho et al., 2009). In this context, scientific community put a lot of effort into the development of renewable alternatives for plastic production. Using organic waste to produce biochemical compounds can offer the integrated solution of both organic waste treatment and pollutants reduction resulting from fossil fuels.

The biological polymers known as polyhydroxyalkanoates (PHAs) are biodegradable polymers that have thermoplastic or elastic properties depending on their chemical composition. PHAs are mainly synthesized from VFAs by many bacteria and stored into the cell as carbon and energy reserve (Reis et al., 2011). Various cheap carbon source such as agro-industrial wastes could be used for PHAs production. Cheese whey, is considered a suitable substrate for VFAs production and subsequently PHAs. In this work PHAs production and accumulation were evaluated using fermented cheese whey as carbon source and aerobic sludge as inoculum. Moreover, different experiments were conducted in order to compare PHAs production using fermented cheese whey with PHAs production obtained using a synthetic VFAs solution. This solution was prepared accordingly with VFAs composition and concentration recovered in fermented cheese whey used in this work. PHAs concentration recovered during the experiments was 70-80% (on dry weight) when synthetic VFAs solution was used as carbon source while was 50-60% (on dry weight) when fermented cheese whey was used as carbon source. The analysis of PHA composition obtained from fermented cheese whey showed high level in 3-hydroxyvalerate (15% of total polymer composition); the presence of 3-hydroxyvalerate interfere with the crystalline structure and improve mechanical properties of the polymer.

Soil leaching volume and chemical composition as affected by biochar and compost

Sorrenti G., Toselli M.

Department of Agricultural Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy

The application of biochar or compost to soils are increasingly being recognized as sustainable strategies with the potential to benefit soil fertility and with positive environmental implications. This study was aimed to assess the effect of soil-applied biochar, compost or their mixture on the volumes and chemical properties of the soil solution percolated through the soil. Single 1-year old nectarine trees were grown in lysimeters filled with 503 kg ea. of a sandy soil subjected, in a complete randomized experimental block design (4 replicates), to the following treatments: a) hardwood-derived biochar (20 g kg⁻¹); b) compost (77 g kg⁻¹); c) biocompost (mixture of the previous two treatments) and d) unamended control. Leached soil solution was collected, measured and monthly cumulated for the first 12 months from trial establishment. A subsample of the monthly cumulated leachate was used for chemical characterization. Biochar decreased leached volumes in 3 months out of 12 compared with the control, although it was not enough to reduce the yearly percolated volume. Compost alone significantly increased the total leached volume compared to biochar. The cumulated dissolved organic carbon (DOC), total dissolved nitrogen (TDN), mineral N (mainly under Nitrate-N (NO₃⁻-N)) and elements leached out were overall increased in compost-amended soils (either with or without biochar) as a consequence of easily soluble organic compounds supplied with compost. We observed a synergism between the two amendments, which promoted the leaching of DOC and cumulative TDN, though the source of these extra rates remains uncertain. We speculate that an additional mineralization of compost may have occurred when mixed with biochar. Al, As, Co, Hg, Pb, Sn and V were detected in traces in the leachate, although the concentration remained below the limits for drinking water. Independent of the amendment, the most abundant elements leached were in average Ca (614 kg ha⁻¹), S (359 kg ha⁻¹) and Na (224 kg ha⁻¹), which were also the most supplied through the irrigation water, while Sn and Cr accounted for the lowest values. Biochar decreased the amount of leached Co and Fe but increased that of Hg, K, P, Mo, Se and Sn. Compost significantly increased the cumulative losses of Al, B, Ba, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mo, Na, Ni and Sr while the mixture of the two amendments promoted losses of K, Li, P and Se compared to compost alone.

***Moringa oleifera* Lam. as energy crop to produce biogas**

Tambone F., Adani F.

Ricicla Lab Group - Department of Agricultural and Environmental Sciences - Production, Landscape, Agroenergy, University of Milan, Milan, Italy

Anaerobic digestion (AD), for biogas production, has known a significant growth because of the supportive politics of governments towards renewable energy production. Typical biomasses used in the AD process are livestock manure, agro-industrial residues, organic fraction of municipal solid waste and energetic crops, maize in particular. To meet future sustainability criteria for biofuel systems, it will be crucial to demonstrate systems which do not negatively affect current food production. This is of special relevance regarding the poorest or developing countries where energy demand is growing. Recently *Arundo donax* L. (giant cane) is proposed as an interesting crop for energy production and/or green chemistry. In this context, as part of a broader project aims to develop agriculture in Haiti, also the possibility to produce energy from organic residues has been considered. Haiti is an agricultural based economy yet it is unable to produce enough food to feed its own population so, the most viable hypothesis is to use non-food crops. Recently, the government of Haiti is promoting the cultivation of a tree rich in vitamins, minerals and calcium to tackle food insecurity called *Moringa oleifera* Lam.. Haiti has launched a National Plan to sustain the development of cultivation and use of *Moringa oleifera* either to improve the human diet and healthy state, or to prevent the soil erosion and sustain the local environment. *Moringa oleifera* grows very quickly and, considering the particular bitter taste of this plant and, its use is possible only as a dietary supplement, giving the possibility to use it also to produce energy.

The characteristics of *Moringa oleifera* leaves were compared to maize, as optimal plant for energy production, and giant cane, as energetic non-food plant. The macromolecular composition of *Moringa* is characterized, compared to maize and giant cane, for a the biggest content of lipids, waxes, resins and proteins (total amount 43.8% dm), and the lower content of cellulose (6.8% d.m.). The results of ABP test (anaerobic biogas production test) suggest that the quantity of biogas produced, and the content of methane in the biogas, from the three different plants is similar, for maize, moringa and arundo, respectively, 781, 670 and 686 Nmc t dm⁻¹.

These results suggest that *Moringa oleifera*, in tropical areas where it grows abundantly, offers good opportunities not only as dietary supplement but also as non-food energetic crops.

Effects of single and combined applications of biochar and humic acid on the growth of two ligninolytic fungi

Taskin E., Loffredo E.

Department of Soil, Plant and Food Sciences, University of Bari Aldo Moro, Bari, Italy

Ligninolytic fungi are very important for soil fertility because of their decomposing activity on plant residues that ensures the release of nutrients back into the biosphere. Recently, these fungi have also been successfully used for bioremediation purposes of various matrices from numerous phenolic and non-phenolic contaminants. These functions are at least partly attributable to fungal enzymes with low substrate specificity, namely lignin peroxidases, manganese peroxidases and laccase, especially in the presence of some redox-active mediators.

Biochar (BC) incorporation into the soil has been proposed as an amendment practice that contributes to carbon sequestration in soil. Depending on feedstocks, production conditions and properties, BC can differently affect soil organisms inducing both positive or negative effects on soil fertility. It has been recently found that BC may contain inherent toxic water-soluble fractions which could imperil beneficial soil-resident fungi. It is reasonable to expect that in complex systems like soil other fractions, such as humic acids (HA), interact with BC, especially in wet conditions, producing ultimate effects on fungi which can be different from those caused by single materials.

The objective of this study was to investigate in vitro the growth response of the white-rot fungi *Trametes versicolor* and *Bjerkandera adusta* to the following treatments: a compost humic acid (HA) at a concentration of 200 mg L⁻¹, a BC sample obtained from 100 % red spruce pellet pyrolysed at 550 °C at 2 g L⁻¹, the 24h-water extract of BC (BC_{WE}), and the combination HA-BC_{WE}. The radial mycelial growth was measured several times until the fungus reached the border of the petri dish.

Both fungi responded in a similar way to the different treatments, with the only exception of BC treatment which clearly stimulated *T. versicolor* and inhibited *B. adusta*, especially at the early-growth stage. In general, all the other treatments significantly promoted the growth of both fungi.

Results of this preliminary study evidenced that BC may be either beneficial or detrimental depending on the species of fungi prevalent in the soil. Conversely, HA and BC_{WE} both alone or in combination generally support the growth of these two decomposing agents. The effects of these and other pertinent treatments on some fungal enzymes are currently under investigation.

Applications of vibrational mid-Infrared spectroscopy for studying soil organic matter

Tinti A.¹, Di Foggia M.¹, Bonora S.¹, Tugnoli V.¹, Francioso O.²

¹*Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy*

²*Department of Agricultural Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy*

The term soil organic matter encompasses all organic fractions present in soil, including plant residues in different decomposition stages, biomasses, dissolved organic matter and humic substances (HS) (Stevenson, 1994). Identification in SOM of specific mid-infrared peaks, which correspond to vibrations of certain functional groups such as carbohydrates, lignin, cellulose, fats and/or lipids and proteinaceous substances, makes FT-IR spectroscopy suitable to study the structural features and dynamics of SOM from different environments.

The present work highlights the recent applications of mid-infrared spectroscopy and in particular of diffuse reflectance spectroscopy (DRIFTS) and attenuated total reflectance (ATR) and processing methods (e.g., deconvolution and derivative) to rapidly provide valuable information on soil composition and organic geochemistry. Research has demonstrated that both DRIFT and ATR techniques can be considered useful tools for the analysis of a large number of soil samples, giving not only typical spectral patterns but permitting an accurate prediction of quantitative parameters such as, e.g., total carbon, total nitrogen, C/N ratio, lignin, dissolved OC, carbonyl-C, aromatic-C, O-alkyl-C, and alkyl-C contents. Based on literature results, infrared spectroscopy can be recognized as one of the most promising analytical techniques for a large number of soil samples. In general, several soil features can be obtained from a single spectrum analysis and as a consequence, the costs of one analysis compared to conventional analytical procedures might be greatly reduced. However, different problems need to be resolved before converting this technology into routine analyses. The most pressing issues are the FT-IR standardization procedures; in particular, the analytical data used as reference have to be obtained using accredited analytical procedures and, finally, the creation of a MIR spectral library of soils, that could adequately describe soil variability.

“Floating organic soils”: from C sinks to environmental archives

Zaccone C.¹, D’Orazio V.², Lobianco D.², Miano T.M.², Shotyk W.³

¹*Department of the Sciences of Agriculture, Food and Environment, University of Foggia, Foggia, Italy (claudio.zaccone@unifg.it)*

²*Department of Soil, Plant and Food Sciences, University of Bari “Aldo Moro”, Bari, Italy*

³*Department of Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Canada*

Floating mires are peculiar environments defined by the occurrence of emergent vegetation rooted in highly organic buoyant mats that rise and fall with changes in water level. The curious sight of an island floating and moving on a lake naturally fascinated people from time immemorial. In fact, Seneca (4 BC - AD 65) in his *Naturales quaestiones*, and by Pliny the Elder (AD 23-79) in his *Naturalis historia*, already described this phenomenon almost 2,000 year ago, also providing several details about their size and shape, buoyancy and vegetation.

Several papers have been published on natural floating islands (mires), but most of them focused on ecological and hydrological aspects, as well as on their control and management. Consequently, there are still several open questions, *e.g.*, how do natural floating mires evolve? How “stable” are natural floating mires? Could peat-forming floating mires provide a tool for environmental studies?

A complete, 4-m deep peat core was collected in 2012 from the floating island of Posta Fibreno, a relic mire in Central Italy. This floating island has a diameter of *ca.* 30 m, and a submerged thickness of about 3 m. The ¹⁴C age dating of macrofossils removed at a depth of 360 cm revealed that the island probably formed more than 500 yrs ago (435±20 yr BP), thus resulting in an average growing rate of *ca.* 1.5 cm yr⁻¹. The peat material along the profile shows a very low bulk density (0.063±0.057 g cm⁻³) and an average water content of 94.4%. The total organic C (TOC) content ranges between 35 and 50% (42.8±3.8%, avg.). It was possible to calculate that only the 11% of the TOC is accumulated in the top 100 cm, whereas the 50% of the whole C inventory is stocked in the bottom layers of the island, *i.e.*, between 290 and 395 cm of depth. Of particular interest is a layer located between 290 and 330 cm of depth, as it shows the highest values of density (up to 0.272 g cm⁻³) and total N, and lower C concentration. As both atomic ratios and FT-IR spectra do not show evidences of higher degree of humification, it is likely that this peak in density is due to an increase of dust deposition. In fact, this layer features also higher concentrations of almost all the elements analysed (*e.g.*, Pb, Ni, V, Th, Ba, Al, Cr, Fe, Sr). Consequently, preliminary results seem to show that peat-forming floating mire could provide an exceptional tool to reconstruct environmental changes and the impacts of human activity occurred in the past centuries, since much of its evolution, as well as the changes of the surrounding areas, are recorded in its peat deposit.

The Authors thank the Municipality of Posta Fibreno (FR), Managing Authority of the Regional Natural Reserve of Lake Posta Fibreno, for allowing peat cores sampling. C.Z. is indebted to the Staff of the Regional Natural Reserve for the help during samplings and for their continuous feedbacks.