Interreg Italia–Österreich

Co-funded by the European Union

CEDRIC

BEST PRACTICE 2

Bio-inoculazione semplice:

Rivestimento dei semi e carica di biochar

Autori: SICIT e HECHENBICHLER

Il progetto CEDRIC si concentra sul trapianto e sull'adattamento dei microbiomi in diverse località. La strategia del progetto prevede il trattamento dei semi di orzo con microbiomi raccolti, analizzati e isolati da campi agricoli situati in varie zone del Nord Italia e dell'Alto Adige.

Inoltre, semi non trattati sono stati posti nel suolo insieme al biochar. Questo biochar funge da vettore ed è stato caricato con un biostimolante non microbico e con i microbiomi isolati, oppure esclusivamente con i microbiomi isolati.

Preparazione dei materiali:

- *Semi*: I semi vengono sterilizzati in una soluzione al 2% di ipoclorito di sodio (NaClO) per 10 minuti e risciacquati quattro volte con acqua deionizzata sterile;
- *Sospensione microbica:* Preparare una sospensione microbica concentrata a 1×10^7 CFU/mL.
- *Biochar:* Il biochar (dimensione delle particelle: 0,5–1,5 mm) è stato pre-caricato con il 10% di biostimolante liquido e asciugato a temperatura ambiente. Il biochar non caricato è stato utilizzato come controllo e nei trattamenti che prevedono solo la sospensione microbica.

Trattamento dei semi:

- I semi vengono trattati con un rapporto di 1 mL di sospensione microbica per grammo di seme.
- Immergere i semi sterilizzati nella sospensione microbica (1×10^7 CFU/mL) e agitarli delicatamente finché la sospensione non viene completamente assorbita.
- Asciugare i semi trattati sotto una cappa a flusso laminare per evitare germinazione precoce e contaminazioni.

Strategia di rivestimento dei semi

Seed coting is the process of applying exogenous materials (pesticides, fertilizers, non-microbial biostimulants, or beneficial microorganisms) onto the seed surface to protect plants, reduce environmental stress, and enhance growth. This method allows precise application of active ingredients even at partial rates.

Materiali utilizzati:

- Leganti: Garantiscono adesione e coesione del rivestimento; esempi includono metilcellulosa, polietilenglicole, chitosano, alcol polivinilico e gomma arabica.
- Riempitivi: Polveri che modificano forma, dimensione e peso del seme, ad esempio bentonite, carbonato di calcio, talco, sabbia, terra diatomacea.
- Ingredienti attivi: Protettivi (fungicidi, pesticidi, insetticidi), nutrienti, simbionti o coadiuvanti del suolo.

Attrezzature:

- Rotating pan (trommel rotante): I semi ruotano in una vasca inclinata mentre vengono applicati liquidi e polveri; molto usata per ottenere un rivestimento uniforme.
- Fluidized/spouted bed (letto fluidizzato): Il flusso d'aria sospende i semi mentre viene applicato il rivestimento atomizzato; ideale per film coating e incrostazioni superficiali.
- Rotary coater (rivestitore rotante): Cilindro con disco rotante per pelleting e film coating; garantisce applicazione uniforme.

Tipi di rivestimento:

- Dry powder coating (rivestimento a polvere secca): I semi vengono miscelati con polveri, spesso per trattamenti microbici, e poi essiccati.
- Seed dressing (trattamento dei semi): **Sottile strato di ingredienti attivi a basso dosaggio; principalmente protettivi chimici.**

- **Film coating:** Sottile strato (<10% del peso del seme) di pigmenti, polimeri o fungicidi; le dimensioni del seme rimangono invariate.
- **Encrusting:** Combina liquidi e solidi per una copertura completa; preserva la forma del seme.
- **Pelleting:** Rivestimento con materiali inerti (vermiculite, caolino, talco) per ottenere semi più grandi, uniformi e sferici; ideale per semi molto piccoli.

Una volta asciutti, i semi possono essere utilizzati immediatamente per la semina o conservati in un luogo fresco e asciutto per un massimo di un mese.

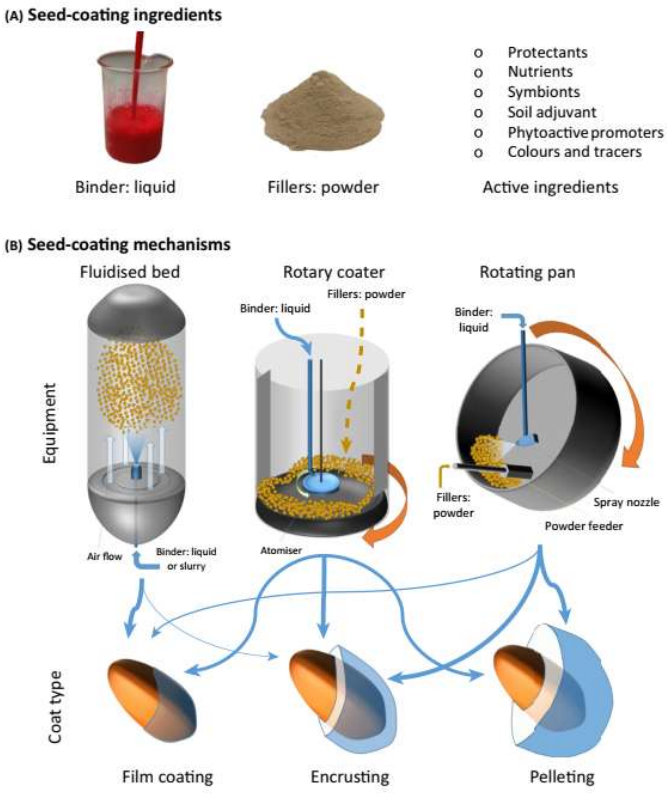

Figura 1: Rivestimento dei semi, illustrazione tratta da Pedrini et al.,

Perché si preferisce il Seed Priming?
Il seed priming è un trattamento pre-semina in cui i semi vengono immersi in acqua o in soluzioni osmotiche per migliorare la germinazione e la crescita iniziale. È ampiamente utilizzato nei laboratori grazie alla sua semplicità, versatilità e convenienza economica.

Motivi per l'uso in laboratorio:

- **Semplicità:** Procedure facili, non richiede attrezzature specializzate.
- **Versatilità:** Applicabile a molti tipi di semi e specie.
- **Economicità**: Utilizza materiali economici e facilmente reperibili (acqua, soluzioni osmotiche, semplici additivi chimici).
- **Condizioni controllate:** Gli ambienti di laboratorio permettono di regolare temperatura, umidità e luce per risultati ottimali.
- **Scalabilità:** Può essere adattato a lotti di semi piccoli o grandi a seconda delle esigenze sperimentali.

2. Carico di biochar:

- Ogni porzione di 30 mL di biochar (caricato con biostimolante o non caricato) viene trattata ulteriormente con una soluzione costituita da 3 mL di sospensione microbica e 3 mL di PBS, corrispondente a un contenuto totale di liquido del 20% (v/v).
- La miscela deve essere mescolata accuratamente e quindi essiccata per 16–20 ore a 20–30 °C.
- The dried biochar can be used immediately or must be stored at 4 °C until use.
- The biochar is placed into the seed furrow, but direct contact with the seed should be avoided by applying a layer of soil between biochar and seeds (see Figure 2).

Perché usare il biochar come supporto?

Il biochar ha una struttura porosa che assorbe facilmente i liquidi. Per questo motivo rappresenta un mezzo di trasporto efficace per tutti i tipi di trattamenti liquidi del suolo, come fertilizzanti, biostimolanti e sospensioni microbiche.

Molteplici benefici per il suolo:

- Migliora la fertilità del suolo
- Aumenta la capacità di ritenzione del terreno
- Rende più soffici i suoli pesanti e compattati
- Può immagazzinare fino a 5 volte il proprio peso in acqua e nei nutrienti in essa disciolti
- Fornisce un habitat ottimale per i microrganismi, aumentando così l'attività biologica del suolo
- Riduce il dilavamento del suolo
- Contribuisce attivamente alla protezione del clima

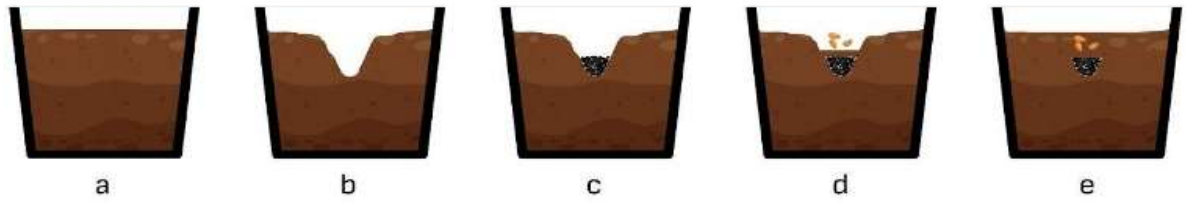

Figura 2: Schema di riempimento dei vasi: *(a) I vasi (7 × 7 × 8 cm; 0,35 L) sono stati riempiti con il terreno. (b) È stato praticato un foro centrale utilizzando uno strumento appuntito. (c) È stato aggiunto 1 mL di biochar e leggermente ricoperto con terreno. (d + e) Tre semi di orzo non trattati sono stati poi posti nello stesso foro e ricoperti con ulteriore terreno.*