

Campionamento di **terreno della rizosfera** di piante di mirtillo e raccolta di **mirtilli**

Obiettivo Raccogliere campioni di suolo della rizosfera di piante di mirtillo e i relativi frutti, coltivati con metodiche agricole differenti (biologica e intensiva) o cresciute in maniera spontanea, al fine di studiare la biodiversità microbica e come essa influenza la crescita delle piante e le proprietà antiossidanti dei mirtilli.

Autore Liceo Scientifico Leonardo da Vinci di Trento
Secondo classificato Mad for Science 2020
Progetto “I microrganismi del suolo e la loro relazione
con le piante di *Vaccinium myrtillus*”



Materiali e reagenti

- Sacchetti di polietilene con chiusura a zip (sterili e non)
- Alcool etilico denaturato
- Acqua
- Pennarello



Strumenti

- Trivella a mano (o vanga)
- Paletta da giardinaggio
- Bilancia portatile (sensibilità 1 g)
- Borsa termica con ghiaccioli
- Frigorifero o freezer



Sicurezza

- Guanti da giardinaggio



Tempo

Circa due ore per ogni sito di campionamento



Procedimento

1. Individuare nell'area di interesse coltivazioni di mirtilli (*Vaccinium myrtillus*) con metodo biologico, intensivo e spontaneo (come, ad esempio, zone boschive in cui crescono i mirtilli selvatici). Scegliere in totale 6 siti (due per ogni tipologia di coltivazione) in ognuno dei quali raccogliere 3 campioni di suolo della rizosfera e 3 campioni di mirtilli. Lo schema sottostante facilita la comprensione dei campioni di terreno e di mirtilli che devono essere raccolti da ogni sito individuato.

AGRICOLTURA BIOLOGICA	AGRICOLTURA INTENSIVA	CRESCITA SPONTANEA
SITO A1	SITO B1	SITO C1
Campioni di terreno <ul style="list-style-type: none">• T1• T2• T3 Campioni di mirtilli <ul style="list-style-type: none">• M1• M2• M3	Campioni di terreno <ul style="list-style-type: none">• T1• T2• T3 Campioni di mirtilli <ul style="list-style-type: none">• M1• M2• M3	Campioni di terreno <ul style="list-style-type: none">• T1• T2• T3 Campioni di mirtilli <ul style="list-style-type: none">• M1• M2• M3
SITO A2	SITO B2	SITO C2
Campioni di terreno <ul style="list-style-type: none">• T1• T2• T3 Campioni di mirtilli <ul style="list-style-type: none">• M1• M2• M3	Campioni di terreno <ul style="list-style-type: none">• T1• T2• T3 Campioni di mirtilli <ul style="list-style-type: none">• M1• M2• M3	Campioni di terreno <ul style="list-style-type: none">• T1• T2• T3 Campioni di mirtilli <ul style="list-style-type: none">• M1• M2• M3

2. Una volta raggiunto il primo sito di campionamento (ad esempio, il sito A1 ad agricoltura biologica) e prima di procedere alla raccolta del terreno circostante le radici della pianta di mirtillo, perlustrare il campo e scegliere 3 aree di campionamento che siano rappresentative e omogenee per colore, granulometria, vegetazione e fertilizzazione ricevuta del sito preso in esame e posizionate a distanza regolare. Compilare la scheda di campionamento, riportata negli allegati.

- 3.** Posizionarsi vicino alle radici della pianta di mirtillo e con una trivella a mano posta perpendicolarmente al terreno scavare fino a raggiungere la profondità del prelievo definita (tra i 2 e i 20 cm). I campioni di suolo della rizosfera saranno così raccolti alla stessa profondità.
- 4.** Con una paletta raccogliere circa 100 g di terreno dallo scavo e inserirli in un sacchetto di polietilene sterile, precedentemente etichettato indicando il sito di campionamento, la tipologia di coltivazione di mirtillo, la profondità del prelievo, la data di campionamento e un numero progressivo da 1 a 3.
- 5.** Procedere in questo modo per tutte le 3 aree di campionamento del sito A1 ad agricoltura biologica.
- 6.** Conservare i 3 sacchetti in una borsa termica a 4°C fino all'arrivo in laboratorio.
- 7.** Per ciascuna delle aree analizzate, raccogliere anche un campione di 100 g di mirtillo che andranno posti in un sacchetto di polietilene, opportunamente etichettato indicando il sito di campionamento, la tipologia di coltivazione di mirtillo, la data di campionamento e un numero progressivo da 1 a 3.
- 8.** Conservare i mirtillo a 4°C in una borsa termica fino all'arrivo in laboratorio.
- 9.** Ripetere il campionamento della rizosfera delle piante di mirtillo, come descritto nei punti precedenti, per ognuno dei 6 siti individuati. Prestare attenzione a pulire gli strumenti, prima con acqua e poi con alcool etilico denaturato, tra campionamenti di siti diversi per evitare contaminazioni. Al termine del campionamento si avranno 18 campioni di terreno.
- 10.** Ripetere il campionamento mirtillo per ognuno dei 6 siti identificati per un totale di 18 campioni di mirtillo.
- 11.** Una volta in laboratorio, i campioni di terreno sono utilizzati per compiere analisi genetiche sui microrganismi che lo popolano e i campioni di mirtillo per analizzarne le proprietà antiossidanti (protocollo "Valutare l'attività antiossidante dei mirtillo" da consultare nella sezione "Chimica"). Se gli esperimenti saranno condotti il giorno seguente, conservare i campioni di terreno e di mirtillo a 4°C, altrimenti porli a -20°C.

Allegati

Di seguito si riporta la scheda di campionamento.

SCHEMA DI CAMPIONAMENTO

DATI GENERALI

Oggetto

Nome/codice del campione

Data

Località

Coordinate GPS (°N, °E, °S, °O)

DESCRIZIONE DEL SITO DI CAMPIONAMENTO

Quota sul livello del mare

Temperatura (media mensile)

Precipitazioni (media mensile)

Vicinanza a centri urbani, industriali, autostrade o altro (indicare anche la distanza approssimativa)

Tipo di vegetazione

Tipo di coltura

Altre osservazioni

DESCRIZIONE DEL SUOLO DA CAMPIONARE

Descrizione della superficie del suolo (indicare anche particolari condizioni momentanee, ma significative)

Uso del suolo (indicare la tecnica agricola o la crescita spontanea ed eventuali particolari trattamenti)

Profondità concordata del campionamento

NOTE

Note

- La rizosfera è la porzione di suolo che circonda le radici delle piante e da cui esse assorbono i nutrienti essenziali e l'acqua necessaria per crescere. Oltre alle radici, nella rizosfera sono presenti componenti biotiche quali: microorganismi simbiotici, batteri benefici e patogeni, funghi micro e macroscopici. I microorganismi che popolano la rizosfera sono in grado di modulare la crescita della pianta e di influenzare le caratteristiche organolettiche dei frutti.
- Il protocollo è stato pensato per essere svolto da 3 gruppi di studenti, ognuno dei quali si occupa di campionare il suolo e raccogliere i mirtilli in una delle tre aree di campionamento per ogni sito di interesse. Ad esempio, il gruppo di studenti 1 raccoglie il campione di terreno T1 e il campione di mirtilli M1 dal sito A1 e A2 (agricoltura biologica), B1 e B2 (agricoltura intensiva) e C1 e C2 (crescita spontanea). Modificare il numero di campioni di terreno e di mirtilli da raccogliere in base al numero di studenti.
- È possibile utilizzare lo schema del punto 1 per assegnare un codice ad ogni campione prelevato. Il codice da riportare sulle buste in fase di campionamento sarà così composto: codice del sito + codice numerico del campione (ad esempio, A1T1 o B2M3).
- I parametri microbiologici della rizosfera e biochimici dei frutti (proprietà antiossidanti) subiscono delle variazioni quali-quantitative legate alle condizioni ambientali (temperatura, precipitazioni, ecc.). Si consiglia, quindi, di effettuare il campionamento in condizioni abituali, evitando ad esempio i periodi di siccità o piovosità abbondante, e di scegliere lo stesso periodo di campionamento per tutti i siti.
- La raccolta dei mirtilli deve essere svolta nel periodo di maturazione dei mirtilli, indicativamente da giugno a fine settembre. Visto il breve periodo di maturazione, la quantità di mirtilli campionata nel protocollo (100 g) è in eccesso rispetto a quanto necessario per eseguire l'analisi degli antiossidanti dei frutti. Questo permetterà di congelare una parte dei mirtilli e di usarli durante il corso dell'anno scolastico per ulteriori esperimenti.
- In assenza di coltivazioni di mirtilli facilmente raggiungibili dalla scuola, è possibile acquistare mirtilli di diversa provenienza e tipo di coltivazione per analizzare le loro proprietà antiossidanti.