

STRESS ABIOTICI E TECNICHE DI ANALISI IN CAMPO ED IN LABORATORIO



Services &
Research
for Agriculture

BIOSTIMOLA:
La realtà dei biostimolanti a portata di campo

Il seminario progetto BIOSTIMOLA

COME VALUTARE IN MODO SCIENTIFICO L'EFFICACIA DEI
BIOSTIMOLANTI: TECNICHE DI INDAGINE DA UTILIZZARE
IN CAMPO ED IN LABORATORIO



PSR
2014 2020
LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTE RADICI



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Iniziativa realizzata nell'ambito del progetto **BIOSTIMOLA**, cofinanziato dall'operazione 1.2.01 "Progetti dimostrativi e azioni di informazione" del Programma di Sviluppo Rurale 2014 – 2020 della Regione Lombardia.

Responsabile del progetto è il **DiSAA dell'Università degli Studi di Milano**, realizzato con la collaborazione di **Agricola 2000**

Mauro Maddalena
Agricola 2000 S.C.p.A

Davide Guffanti
Cristina Teruzzi
UniMi (DiSAA)

Meccanismo e modalità di azione

Meccanismo d'azione:

identificazione di un effetto tangibile dell'azione biostimolante senza comprendere la "modalità di azione" biochimica o molecolare.

Modalità di azione:

identificazione di un processo biochimico, molecolare o fisiologico.



"If we accept the concept that a biostimulant is a product of clear benefit but unknown mode of action, then it can only be regulated by its safety and proof of efficacy"

Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in plant science*, 7, 2049.



Il seminario progetto BIOTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR 2014 2020
LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTERE RADICI



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Davide Guffanti
DiSAA - Università degli Studi di Milano

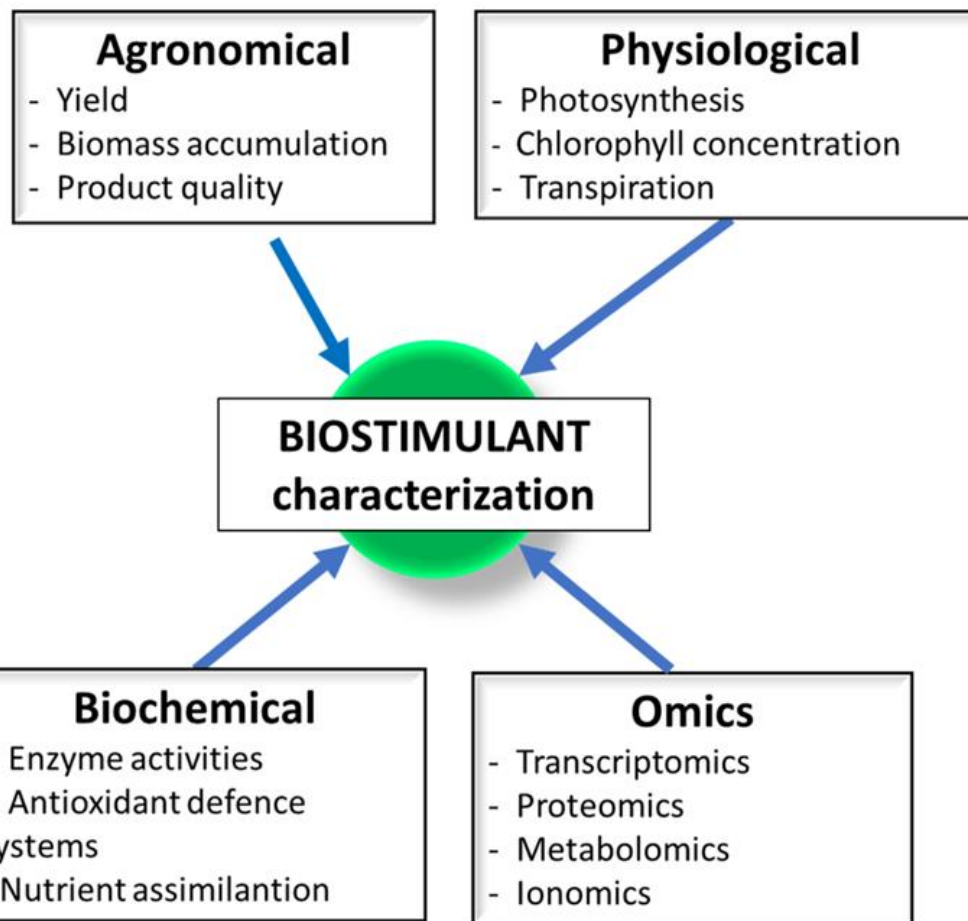




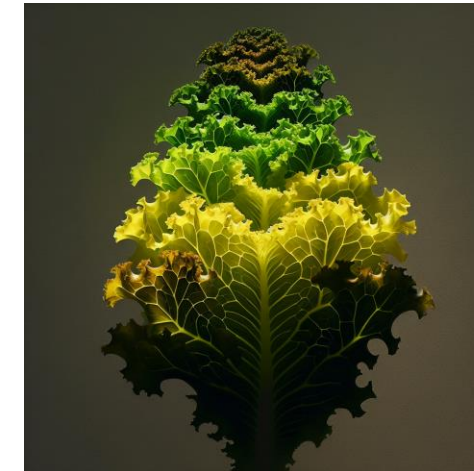
www.rosaflor.it



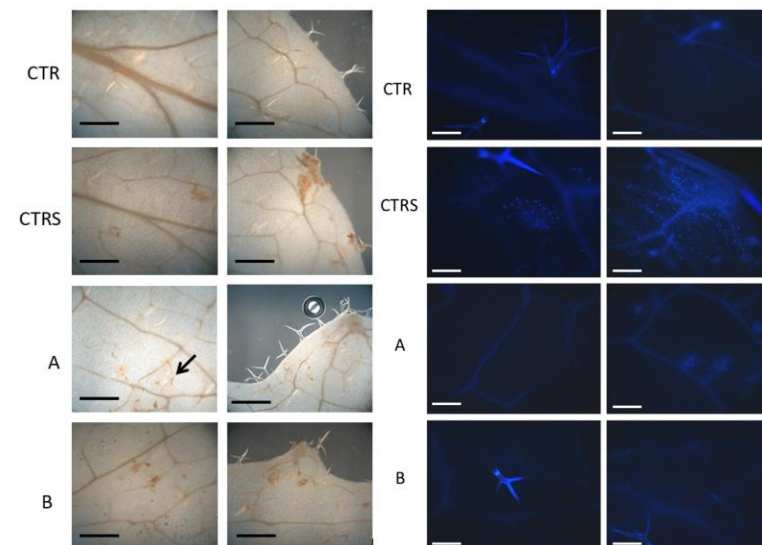
Colla, G., Roupael, Y., Canaguier, R., Svecova, E., & Cardarelli, M. (2014). Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Frontiers in plant science*, 5, 110917.



Franzoni, G., Cocetta, G., Prinsi, B., Ferrante, A., & Espen, L. (2022). Biostimulants on Crops: Their Impact under Abiotic Stress Conditions. *Horticulturae*, 8(3), 189.



(OpenAI, 2024)



Cocetta, G.; Landoni, M.; Pilu, R.; Repiso, C.; Nolasco, J.; Alajarin, M.; Ugena, L.; Levy, C.C.B.; Scatolino, G.; Villa, D.; Ferrante, A. Priming Treatments with Biostimulants to Cope the Short-Term Heat Stress Response: A Transcriptomic Profile Evaluation. *Plants* 2022, 11, 1130.



Il seminario progetto BIOTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR
2014 2020
LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTERE RADICI



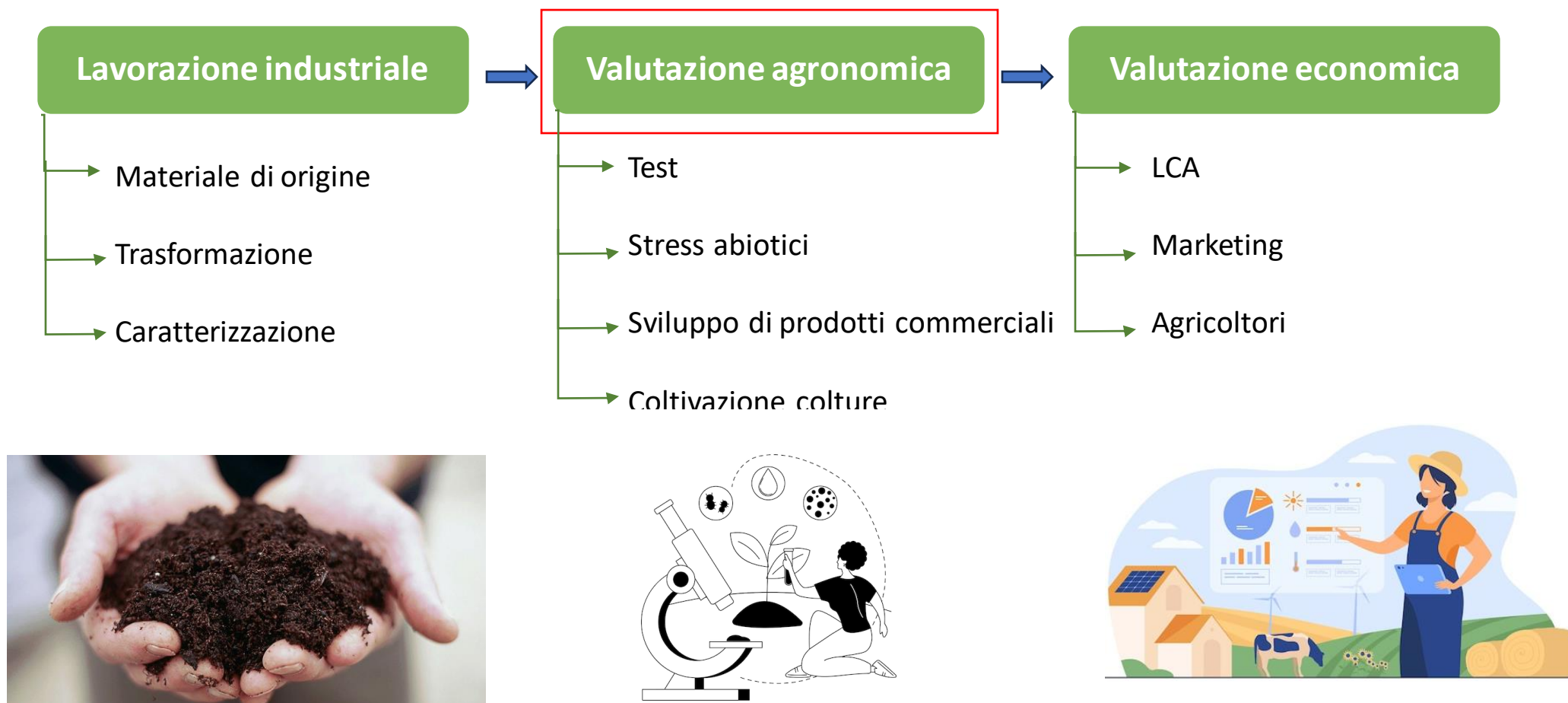
Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Davide Guffanti
DiSAA - Università degli Studi di Milano



Processo di produzione e valutazione di un biostimolante



Valutazione dei biostimolanti

PROVE AGRONOMICHE



Camera di
crescita



Serra



Campo



- Ridurre i fattori di disturbo

- Condizioni con molteplici fattori di interferenza



Workshop progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR
2014 2020
LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTERADICI



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Mauro Maddalena

Agricola2000
Services & Research for Agriculture

Impostazione della prova

Replica A		Replica B		Replica C	
20	26	22	19	27	21
28	17	30	32	23	18
27	31	29	28	24	25
21	25	18	26	31	20
30	24	23	17	29	22
29	22	27	31	19	30
18	32	20	25	26	17
23	19	24	21	28	32
16	11	6	13	5	3
1	12	15	8	9	7
5	13	2	10	14	4
9	6	11	3	8	1
7	2	16	4	15	12
8	10	5	14	6	16
3	15	12	1	10	13
14	4	9	7	2	11



Rappresentativo delle condizioni standard

Block 1	1	2	3	4	5
Block 2	8	6	7	9	10
Block 3	11	14	13	15	12

Scelta del disegno sperimentale



Dose, numero ed epoca di applicazione



Dimensione del plot



Protocollo

- No terreni precedentemente incolti
 - Omogeneità del suolo
 - Ogni causa di variazione dei risultati diversa dai fattori in studio deve essere controllata
 - Effetto bordo
-
- Fully randomized
 - Random Complete Block
 - Split Plot
 - Systematic design
-
- Dose, modalità di diluizione e distribuzione più adatte
 - Stadio fenologico della coltura
-
- In base alla coltura
-
- Metodologia e numero di rilievi

CAMPO DEMO cereali 2021-22



Workshop progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR LOMBARDIA
2014 2020
L'INNOVAZIONE
METTERADICI



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

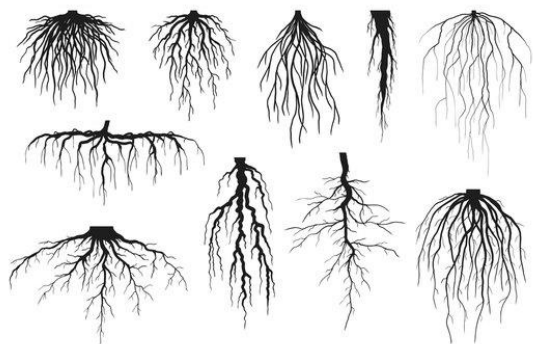
Mauro Maddalena

Agricola2000
Services & Research for Agriculture

Target

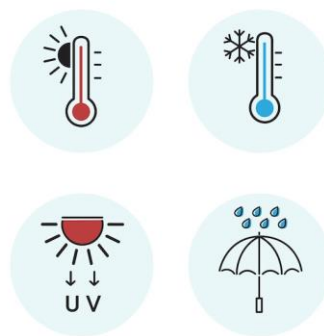
Nutrient Use Efficiency

- Criticità: gestione della **nutrizione minerale**
- Aumentano biodisponibilità **elementi nutritivi** nel suolo (es: acidi umici)
- Stimolano **crescita radicale** (es: idrolizzati proteici)
- Assorbimento **acqua e nutrienti**
- Promuovono **enzimi** in processi assimilazione



Stress abiotici

- **Stress da alta e bassa irradianza** (ROS → biosintesi clorofille/carotenoidi)
- **Basse temperature** (inibiz. Fotosistema II → biosintesi osmoliti, aa prot e non prot)
- **Stress da caldo** (membr. Cellulare, ROS → sistemi antiossidanti e proteine HPS)
- **Stress salino** (< crescita, < clorofilla → > effic. Fotosistema II)
- **Stress idrico** (< fotosintesi, conduttanza stomatica, traspirazione → > regolaz. Stomatica, app. radicale, accumulo osmoliti)



Quality traits

- > biosintesi e accumulo di composti bioattivi
- Shelf life e qualità post raccolta



Tecniche di valutazione

Analisi dell'apparato radicale



Prova su radici di erba medica trattate con prodotto commerciale



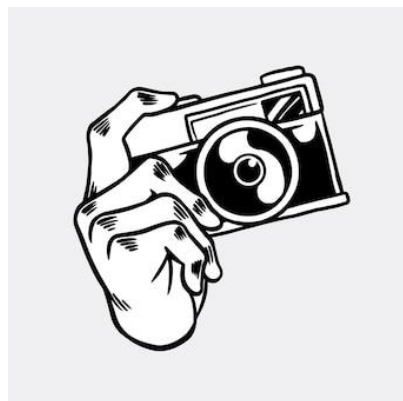
Prova su radici di frumento trattate con prodotto commerciale



Prova su radici di mais trattate con prodotto commerciale

Tecniche di valutazione

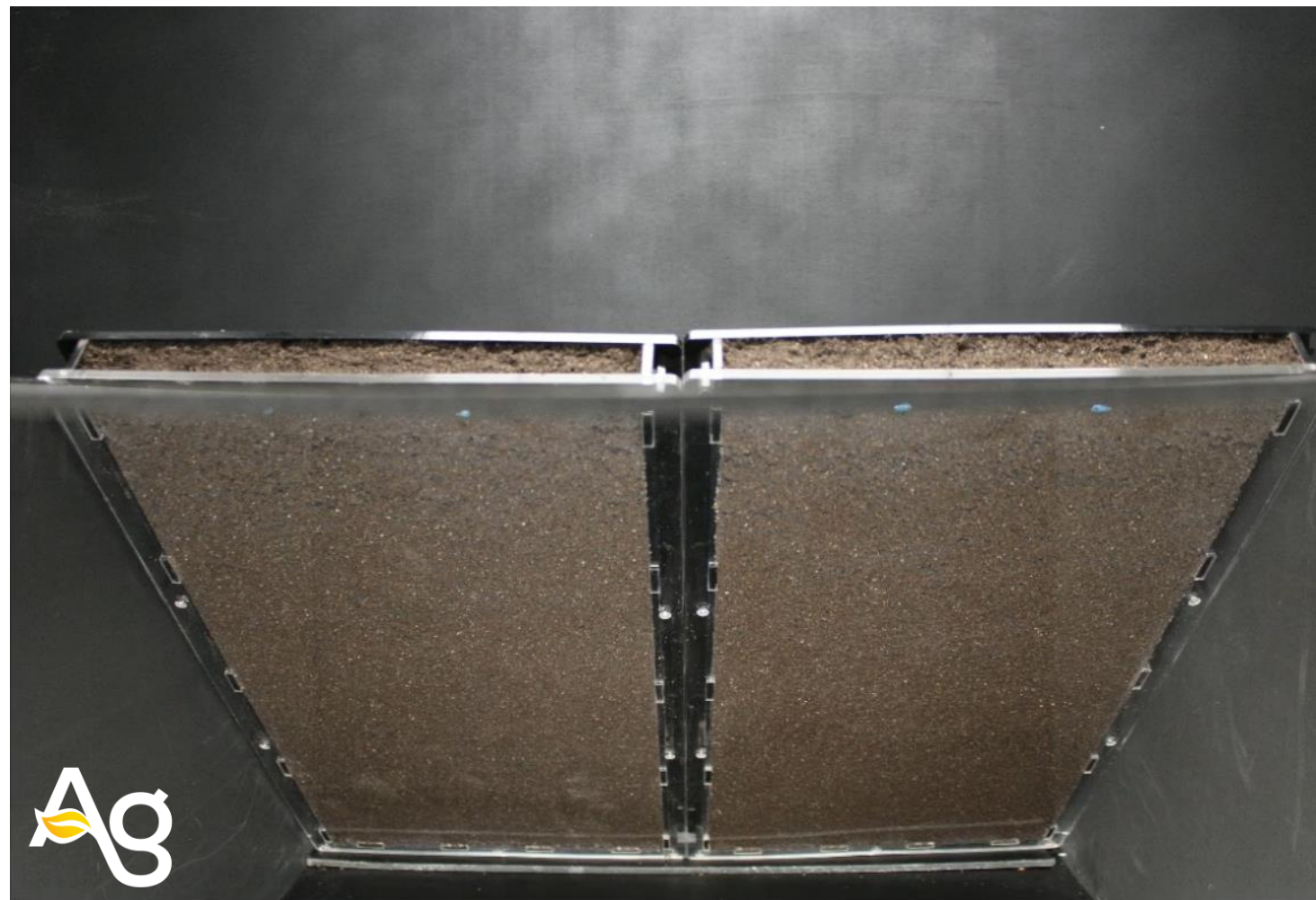
Analisi dell'apparato radicale



Time-lapse video realizzato su melone.

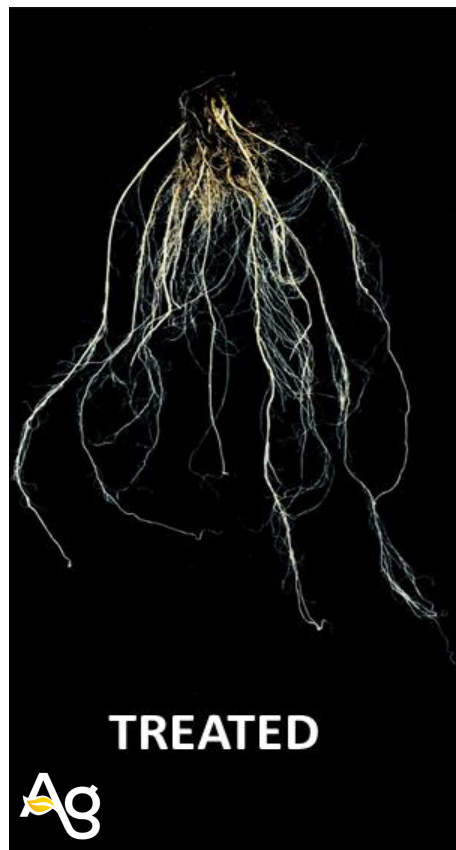
A sinistra controllo non trattato.

A destra semi trattati con un prodotto commerciale.

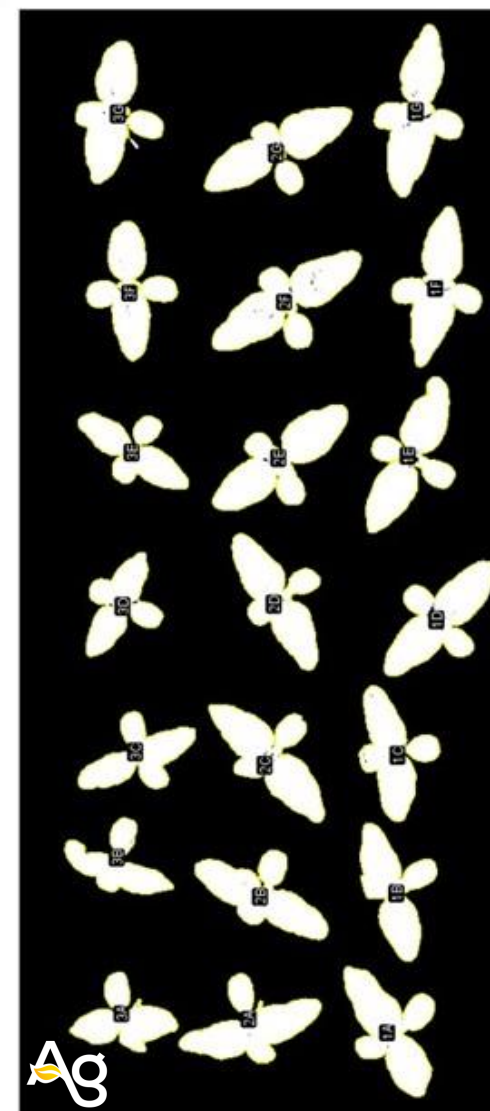


Tecniche di valutazione

Roots and leaves scan



Prova su radici di mais



Prova su girasole

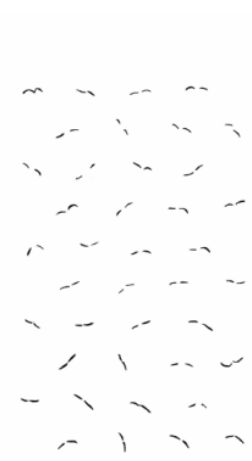
Prova realizzata in plateau su carota.

Tesi 1: controllo non trattato

Tesi 5: semi trattati con prodotto commerciale



Treatment 1



Treatment 5



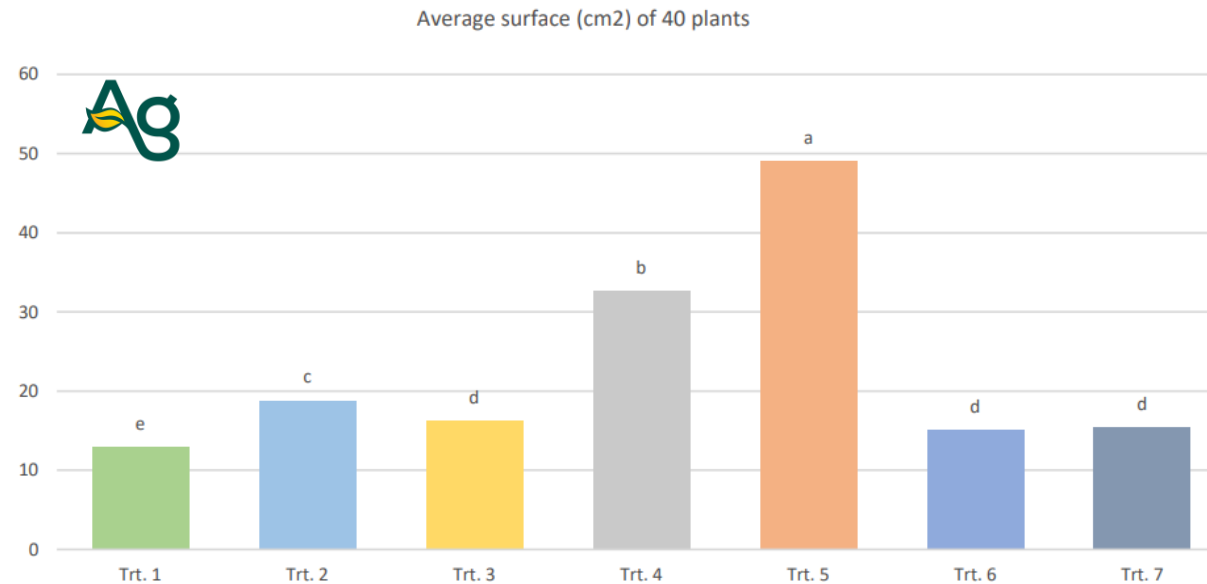
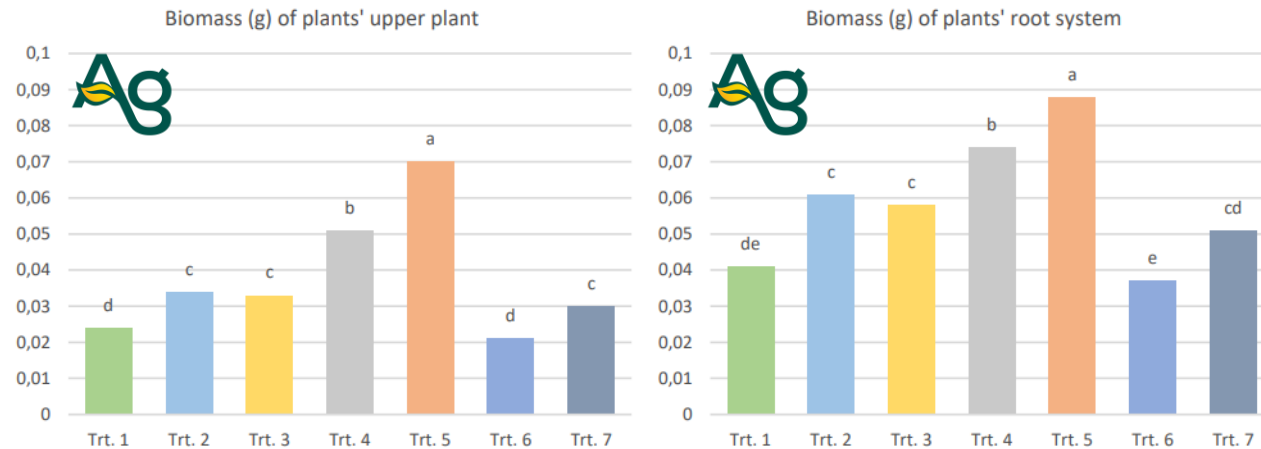
Tecniche di valutazione

Biomassa

Prova realizzata in plateau su carota.

Tesi 1: controllo non trattato

Tesi 2-7: semi trattati con prodotti sperimentali.



Tecniche di valutazione

Droni



Indices	Equation	Reference
NDVI: normalized difference vegetation index	$(R_{NIR} - R_{Red}) / (R_{NIR} + R_{Red})$	Lee et al., 2011
GNDVI: green normalized difference vegetation index	$(R_{NIR} - R_{Green}) / (R_{NIR} + R_{Green})$	Gitelson et al., 1996
NDRI: normalized red edge index	$(R_{NIR} - R_{Red\ edge}) / (R_{NIR} + R_{Red\ edge})$	Mutanga and Skidmore, 2004
NDI: normalized difference index	$(g - r) / (g + r)$	Woebbecke et al., 1995
ExG: excessive green index	$2g - r - b$	Woebbecke et al., 1995
ExR: excessive red	$1.4r - g$	Meyer and Neto, 2008
ExGR: excessive green index minus excess red index	$3g - 2.4r - b$	Meyer and Neto, 2008
VARI: visible atmospherically resistant index	$(g - r) / (g + r - b)$	Gitelson et al., 2002
GLI: green leaf index	$(2g - b - r) / (2g + b + r)$	Louhaichi et al., 2001

RGB



MULTISPETTRALE

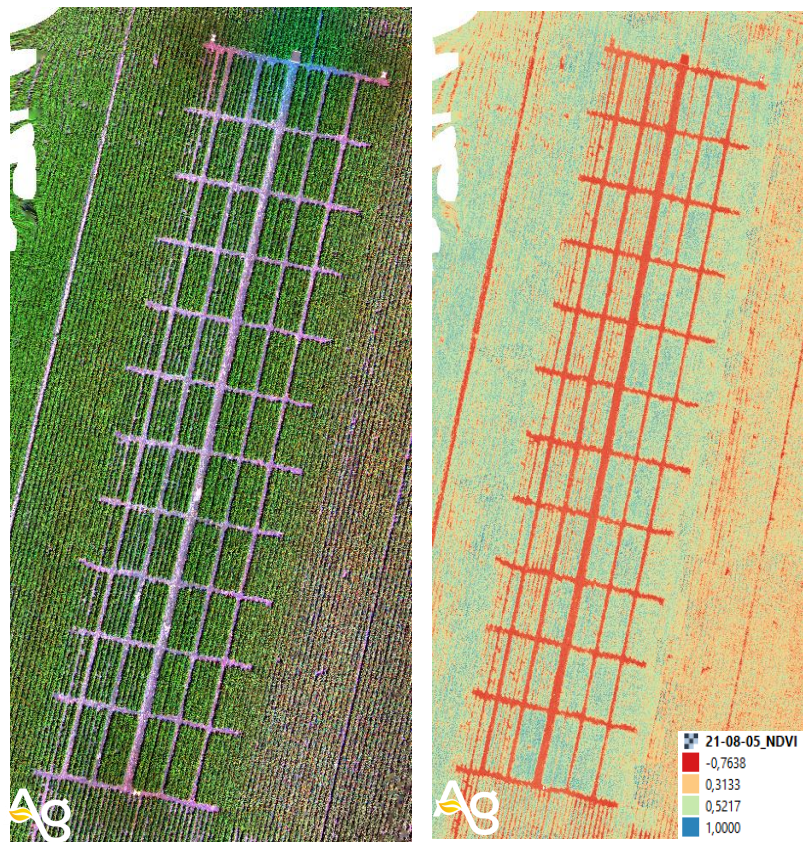


Tecniche di valutazione

Droni

- Vigoria della coltura
- Radiazioni riflesse nel vicino infrarosso e nel rosso

MULTISPETTRALE



HEALTHY
VEGETATION REFLECTANCE

50% NIR 8% RED



NDVI = 0.72

STRESSED
VEGETATION REFLECTANCE

40% NIR 30% RED



NDVI = 0.14

$$\text{NDVI} = \frac{\text{NIR} - \text{RED}}{\text{NIR} + \text{RED}}$$

NDVI calcolato durante campo demo cereali 2021-22.



Workshop progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR LOMBARDIA
2014 2020
L'INNOVAZIONE
METTERE RADICI



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale; l'Europa investe nelle zone rurali

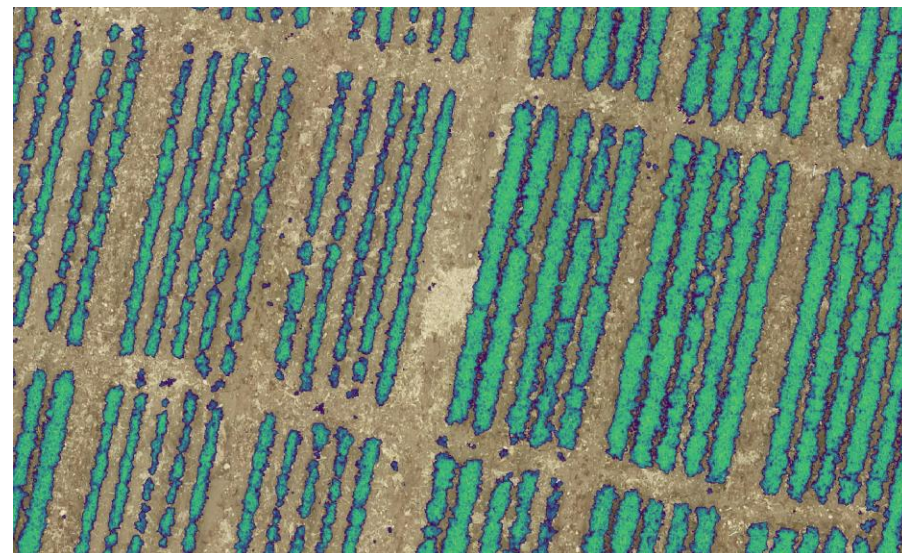
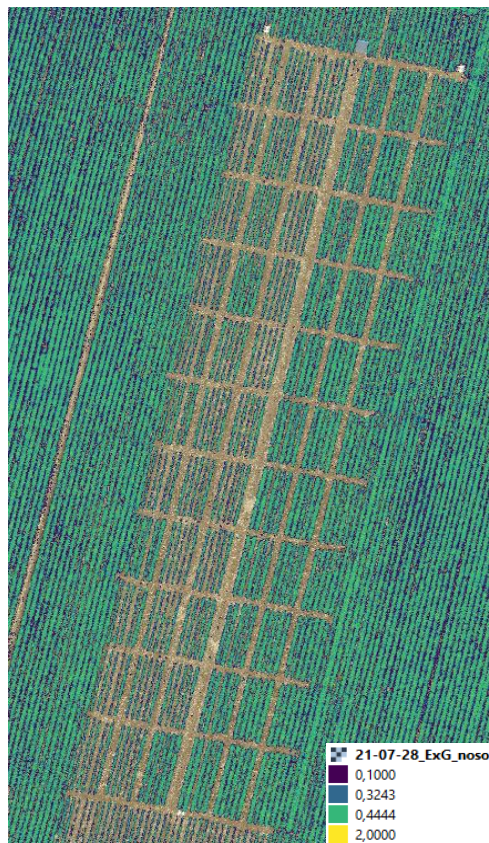
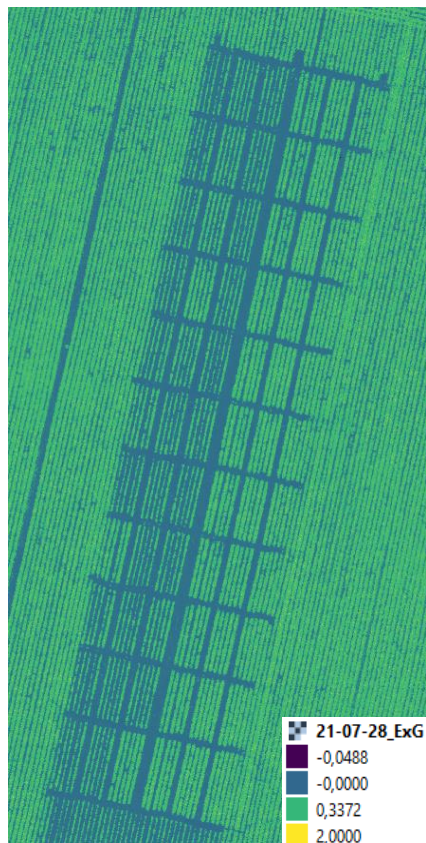
Mauro Maddalena

Agricola2000
Services & Research for Agriculture

Tecniche di valutazione

Droni

- Excess Green Index: $2 \cdot g - r - b$



RGB



EXG calcolato durante campo demo cereali 2021-22.



Workshop progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR LOMBARDIA
2014 2020
L'INNOVAZIONE
METTERADICI



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

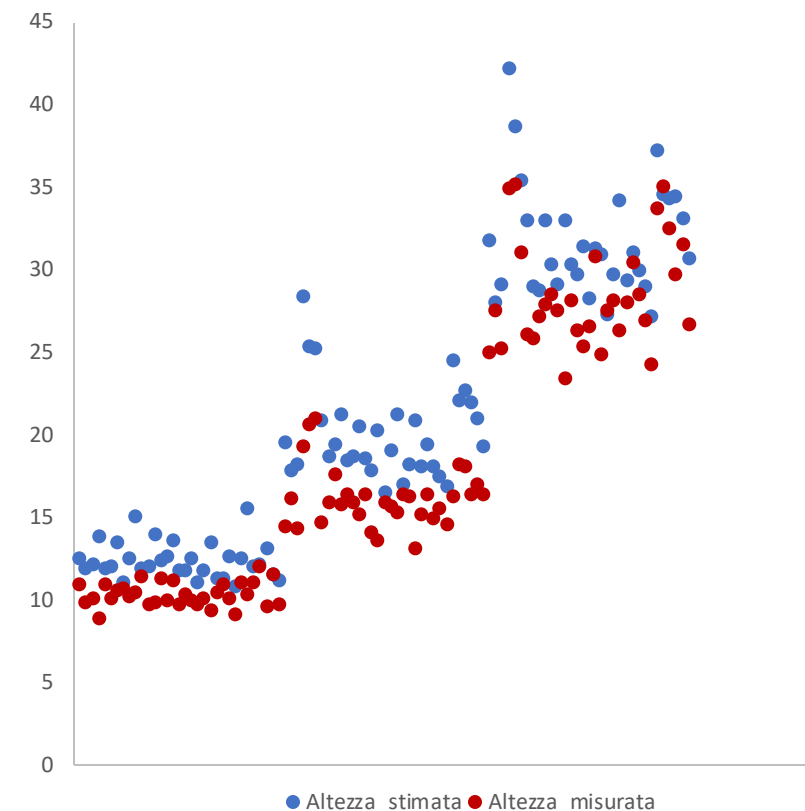
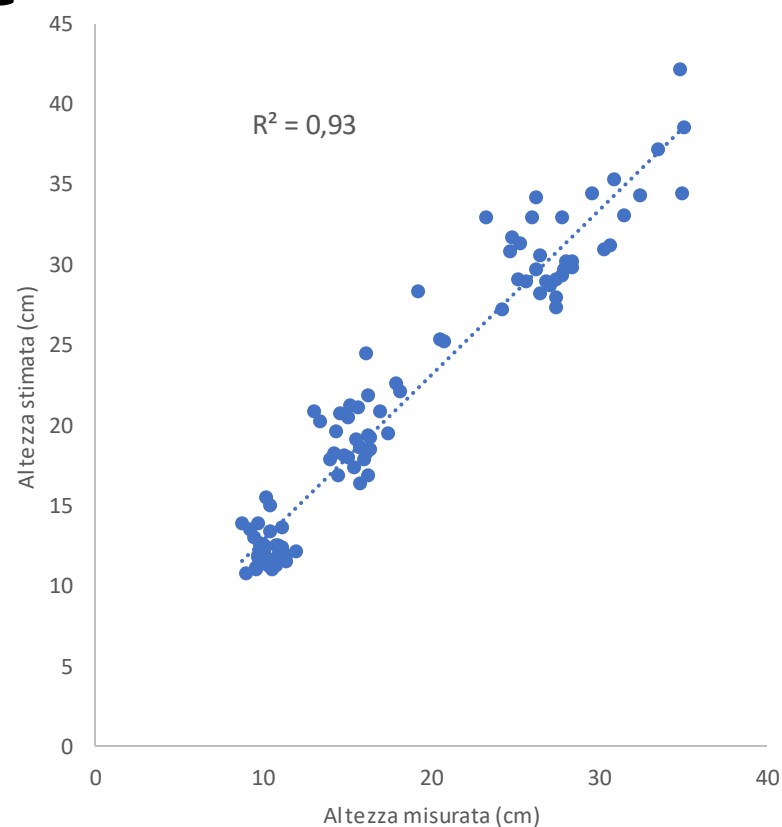
Mauro Maddalena

Agricola2000
Services & Research for Agriculture

Tecniche di valutazione

Droni

RGB



Prova realizzata al campo demo cereali NUE 2021-2022.

Confronto tra altezze stimate da drone con altezze misurate manualmente.



Workshop progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR 2014 2020
LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTERE RADICI



Regione
Lombardia

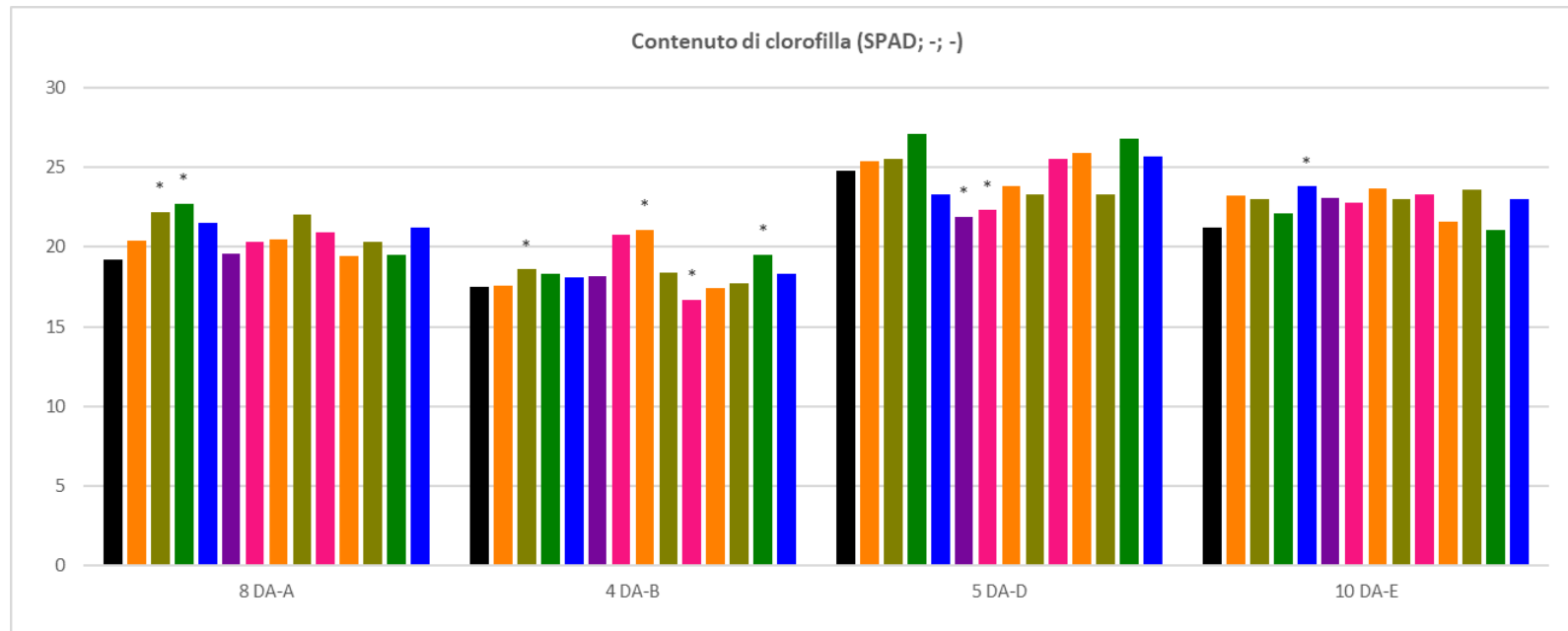
Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Mauro Maddalena

Agricola2000
Services & Research for Agriculture

Tecniche di valutazione

Contenuto di clorofilla



Dati ottenuti dalla prova in condizioni standard durante il primo anno del progetto BIOSTIMOLA su soia.



8 DA-A: 29 Giugno 2023

4 DA-B: 7 Luglio 2023

5 DA-D: 17 Luglio 2023

10 DA-E: 27 Luglio 2023



Workshop progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR LOMBARDIA
2014 2020
L'INNOVAZIONE
METTERE RADICI



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Mauro Maddalena

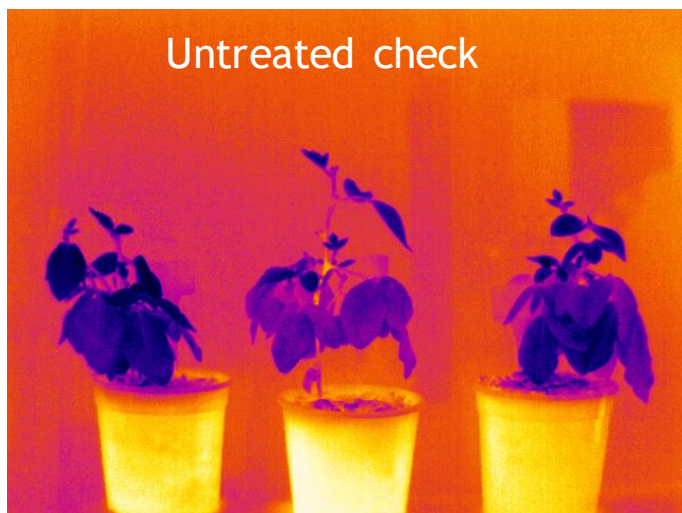
Agricola2000
Services & Research for Agriculture

Tecniche di valutazione

Termocamera

- Stimare indirettamente traspirazione fogliare e lo stato idrico della pianta
- STRESS: stomi chiusi per ridurre/arrestare traspirazione → - perdita acqua, + alto pot. idrico
- STRESS: riduzione attività fotosintetica

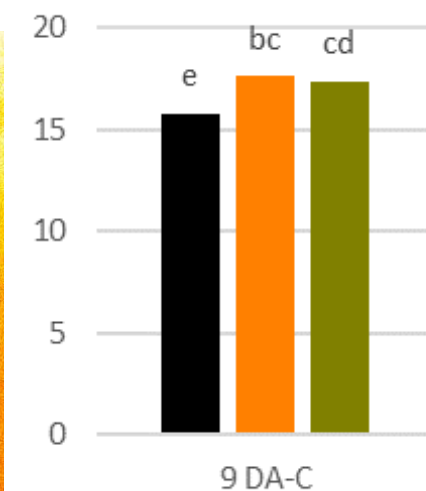
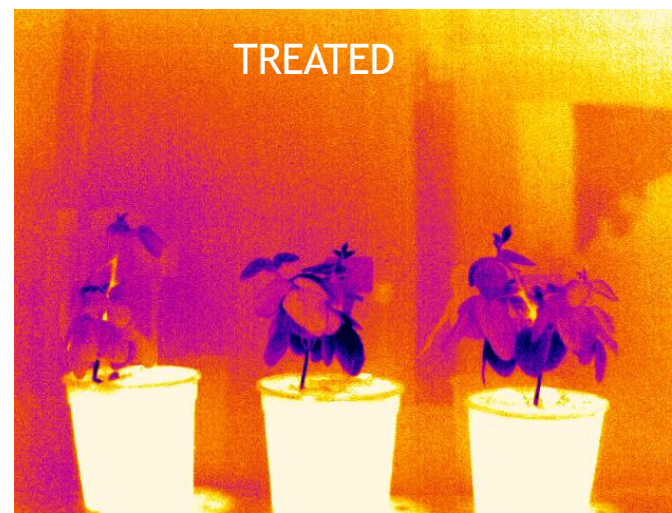
Untreated check



Untreated check stressed



TREATED



■ Controllo
■ Controllo stressato
■ Biostimolante

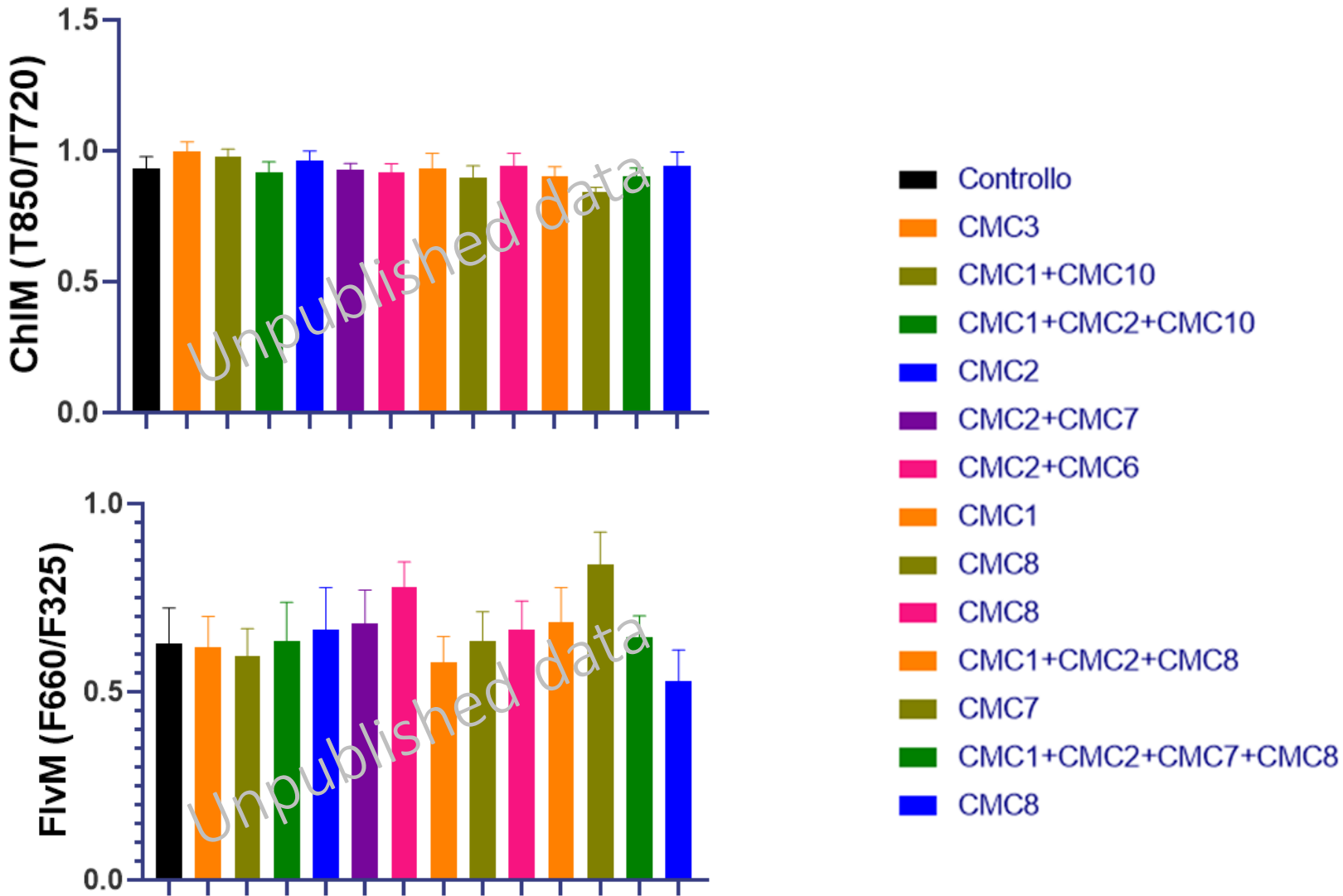
Dati ottenuti dalla prova realizzata in stress idrico durante il primo anno del progetto BIOSTIMOLA su soia.



Determinazione del contenuto di clorofilla e metaboliti secondari



Chlorophyll Content
Anthocyanin Content
Flavonol Content
Nitrogen-Flavonol Index (NFI)



Il seminario progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE METTERE RADICI

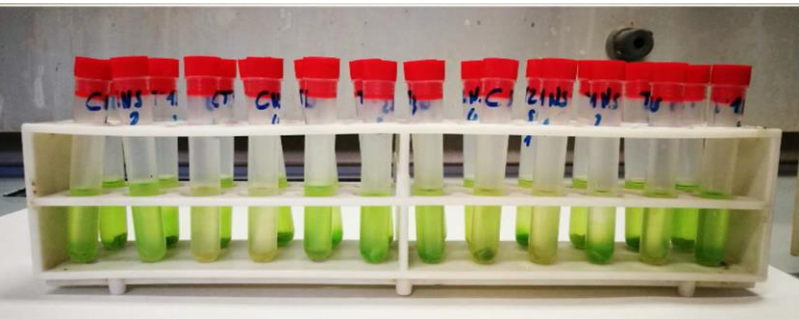
Regione Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Davide Guffanti
DiSAA - Università degli Studi di Milano



Determinazione del contenuto di clorofilla e metaboliti secondari



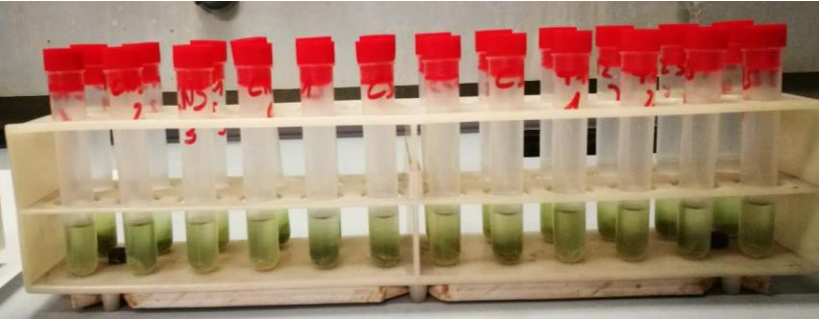
Metodo

Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.

Table 2. Chlorophyll and carotenoid contents in leaves of lettuce seedlings subjected to *Scenedesmus quadricauda* extract treatment (SQ) at each sampling time (T1 (I), after 1 day from the first treatment; T4 (I), after 4 days from the first treatment; T7 (I), after 7 days from the first treatment; T7 (II), after 7 days from the second treatment). Ch-a: chlorophylls a; Ch-b: chlorophylls b; C: carotenoids. Data are means $\pm$ SD. The values are means of data from five replications. Values in the same column for the same sampling times followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$).

Sampling	Treatment	Ch-a (mg g ⁻¹ DW)	Ch-b (mg g ⁻¹ DW)	C (mg g ⁻¹ DW)
T1 (I)	Control	0.323 $\pm$ 0.032 b	0.293 $\pm$ 0.024 a	0.098 $\pm$ 0.014 b
	SQ	0.689 $\pm$ 0.020 a	0.295 $\pm$ 0.030 a	0.247 $\pm$ 0.014 a
T4 (I)	Control	0.405 $\pm$ 0.030 b	0.249 $\pm$ 0.040 b	0.142 $\pm$ 0.018 b
	SQ	0.678 $\pm$ 0.030 a	0.388 $\pm$ 0.029 a	0.219 $\pm$ 0.021 a
T7 (I)	Control	0.546 $\pm$ 0.025 b	0.466 $\pm$ 0.021 b	0.144 $\pm$ 0.020 b
	SQ	0.827 $\pm$ 0.042 a	0.583 $\pm$ 0.028 a	0.231 $\pm$ 0.015 a
T7 (II)	Control	0.463 $\pm$ 0.040 b	0.180 $\pm$ 0.020 b	0.172 $\pm$ 0.018 b
	SQ	0.744 $\pm$ 0.025 a	0.286 $\pm$ 0.032 a	0.234 $\pm$ 0.016 a

Puglisi, I., La Bella, E., Rovetto, E. I., Lo Piero, A. R., & Baglieri, A. (2020). Biostimulant effect and biochemical response in lettuce seedlings treated with a *Scenedesmus quadricauda* extract. *Plants*, 9(1), 123.



Metodo

Ke, D., & Saltveit Jr, M. E. (1989). Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. *Physiologia Plantarum*, 76(3), 412-418.

Phenols, flavonoids, and antioxidants concentration for leaves of soilless grown Iceberg and Romaine lettuce and subjected to different rate of biostimulants containing amino acids (Perfectose™, liquid).*

Perfectose Rate	Cultivar	Phenols (mg 100g ⁻¹)	Flavonoids (mg 100g ⁻¹)	Antioxidant (%)
0 ml L ⁻¹	Iceberg	21.9 c	6.87 d	20.8 c
	Romaine	25.2 bc	9.9 bc	24.4 bc
2 ml L ⁻¹	Iceberg	25.0 bc	8.03 cd	25.0 b
	Romaine	28.5 ab	11.0 ab	26.9 b
4 ml L ⁻¹	Iceberg	29.2 ab	9.5 bc	28.5 b
	Romaine	31.2 a	13.4 a	32.8 a
Significance				
Perfectose (P)		**	**	**
Cultivar (C)		**	**	**
P $\times$ C		NS	NS	NS

Different letters in the same column indicate significant difference at $P \leq 0.05$.

* $P \leq 0.05$.

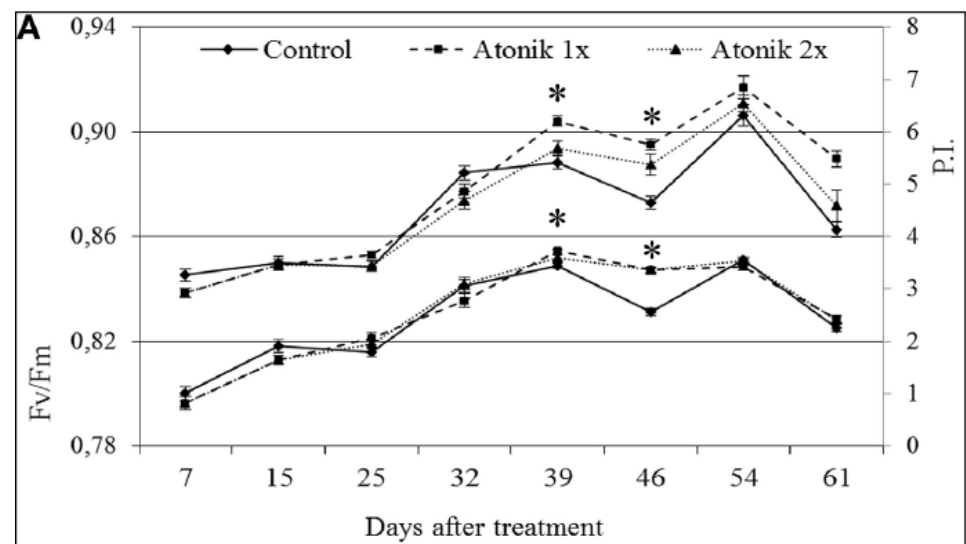
** $P \leq 0.01$.

NS: not significant.

Al-Karaki, G. N., & Othman, Y. (2023). Effect of foliar application of amino acid biostimulants on growth, macronutrient, total phenol contents and antioxidant activity of soilless grown lettuce cultivars. *South African Journal of Botany*, 154, 225-231.



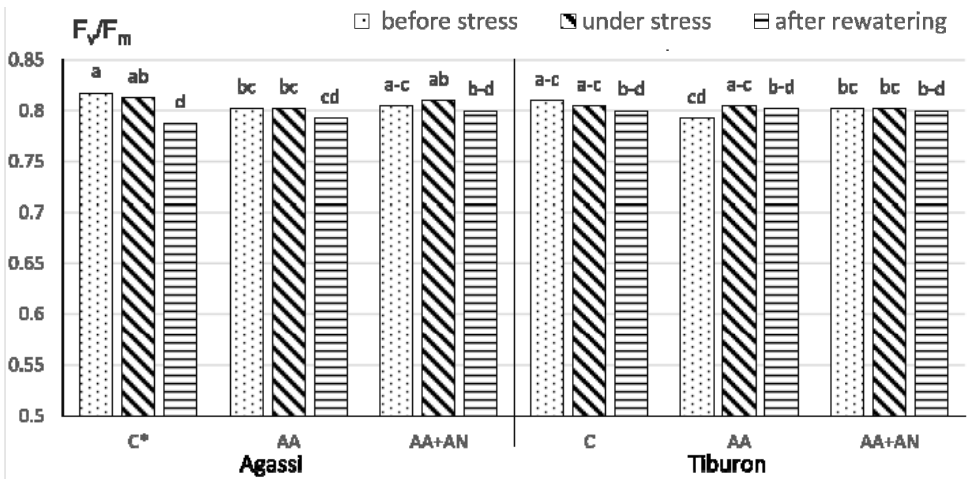
Determinazione della fluorescenza della clorofilla a



Przybysz, A., Gawrońska, H., & Gajc-Wolska, J. (2014). Biological mode of action of a nitrophenolates-based biostimulant: case study. *Frontiers in Plant Science*, 5, 109629.



Fo =	Livello di fluorescenza quando l'accettore di elettroni plastochinonico (QA) è totalmente ossidato (assenza di luce fotosintetica)
Fm=	Livello massimo di fluorescenza quando il Qa è momentaneamente totalmente ridotto
Fv=	Fluorescenza variabile (Fm-Fo)
Fv/Fm=	Efficienza quantica massima del PSII (>0,83*)
ABS/CS	Flusso di energia assorbita per "cross section"***
Dio/CS=	Energia dissipata per CS
TRo/CS=	Flusso di energia intrappolato per CS**
ETo/CS=	Flusso di trasporto elettronico per CS**
RC/CS=	Densità di centri di reazione (F50ms)
RC/CSm=	Densità dei centri di reazione (F300ms)
PI=	Performance index



Kaluzewicz, A., Krzesinski, W., Spizewski, T., & Zaworska, A. (2018). Effect of biostimulants on chlorophyll fluorescence parameters of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) under drought stress and rewatering. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 17(1).



Il seminario progetto BIOTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR LOMBARDIA
2014 2020
L'INNOVAZIONE
METTERADICI

Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Davide Guffanti
DiSAA - Università degli Studi di Milano



Determinazione degli scambi gassosi e della fluorescenza



Table 1. Photosynthesis rate (A) prior to stress, under stress and after re-watering of two broccoli cultivars treated with biostimulants

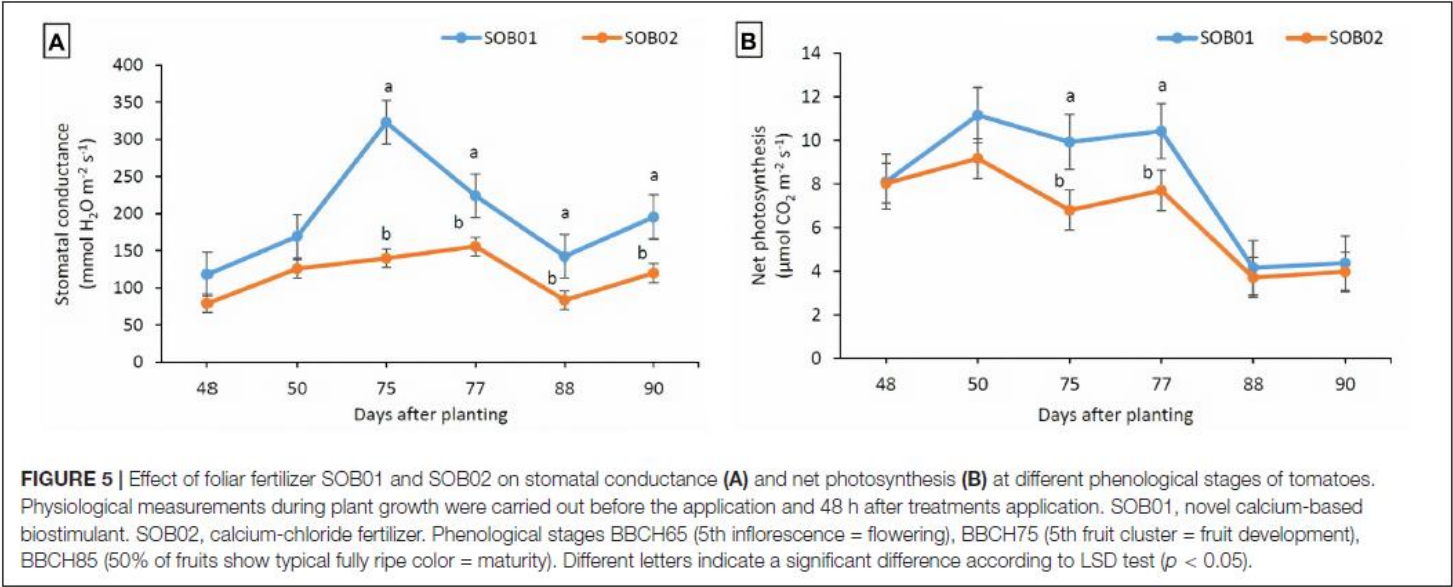
Treatment	Photosynthesis rate ($\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$)			
	Prior to stress	Under stress	After re-watering	Mean
‘Agassi’				
Control	9.83 c*	2.27 d	9.15 c	7.08 B
Amino acids	12.30 ab	12.60 ab	11.84 ab	12.24 A
Amino acids + <i>Ascophyllum nodosum</i> filtrate	12.93 a	13.14 a	11.46 b	12.51 A
Mean	11.69 A**	9.34 C	10.82 B	
‘Tiburon’				
Control	12.08 ab	12.37 ab	9.64 c	11.36 B
Amino acids	12.30 ab	13.47 a	12.37 ab	12.72 A
Amino acids + <i>Ascophyllum nodosum</i> filtrate	10.83 bc	12.09 ab	11.66 b	11.53 B
Mean	11.74 B	12.64 A	11.23 B	

*Values marked with the same letter do not differ significantly at P=0.95

** Values marked with the same capital letter do not differ significantly at P=0.95

KAŁUŻEWICZ, A., KRZESIŃSKI, W., SPIŻEWSKI, T., & Zaworska, A. (2017). Effect of biostimulants on several physiological characteristics and chlorophyll content in broccoli under drought stress and re-watering. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45(1), 197-202.

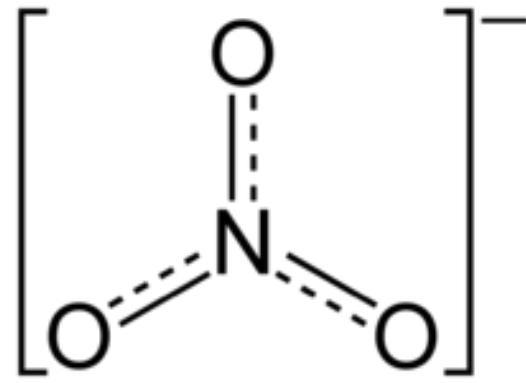
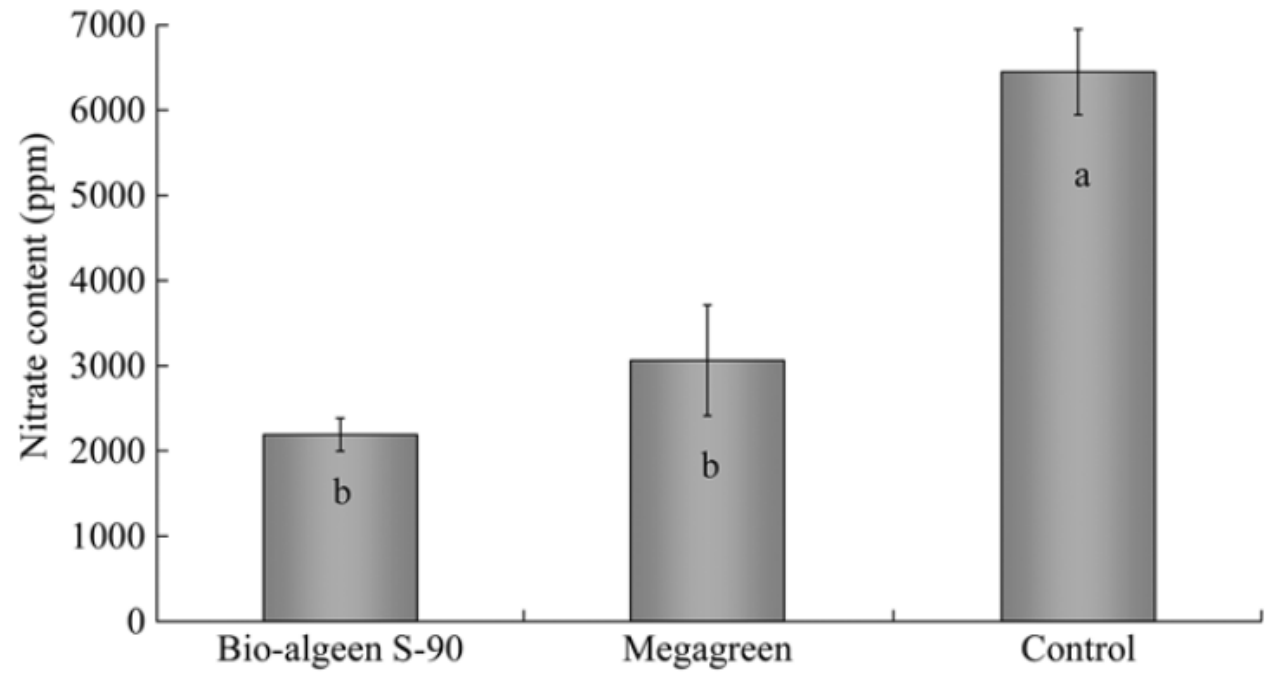
- Tasso fotosintetico
- Traspirazione
- Respirazione
- Conducibilità stomatica
- Temperatura della foglia
- Parametri microclimatici (temperatura, pressione, intensità luminosa...)



Della Lucia, M. C., Baghdadi, A., Mangione, F., Borella, M., Zegada-Lizarazu, W., Ravi, S., ... & Nardi, S. (2022). Transcriptional and physiological analyses to assess the effects of a novel biostimulant in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 12, 781993.



Determinazione del contenuto di nitrati



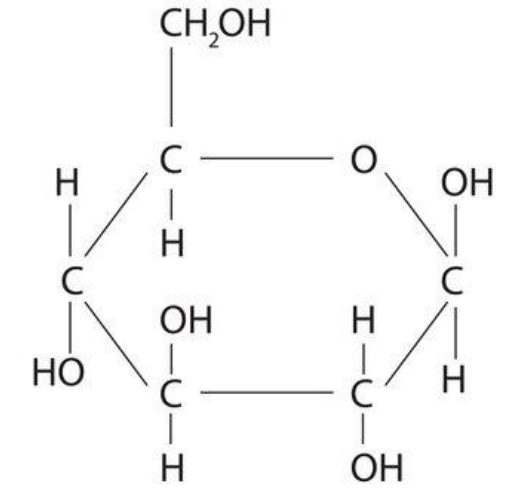
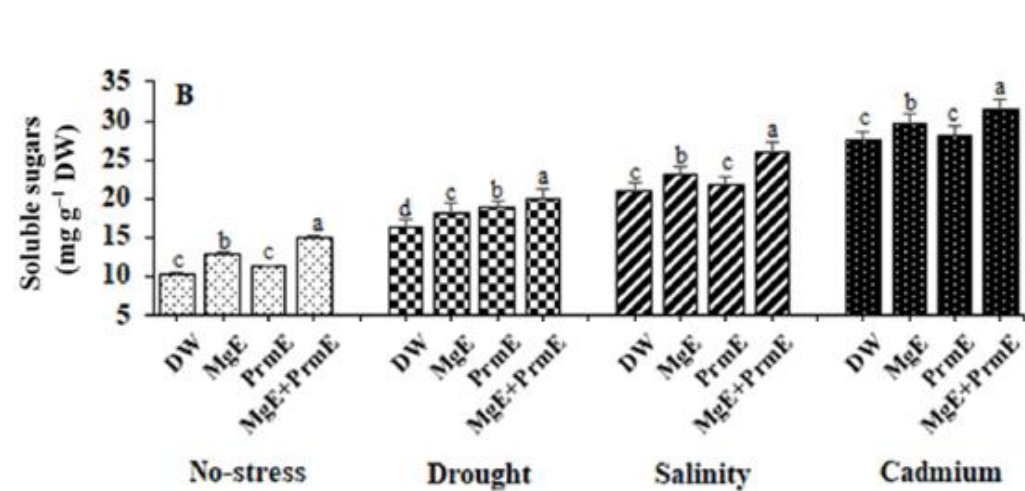
Dudaš, S., Šola, I., Sladonja, B., Erhatic, R., Ban, D., & Poljuha, D. (2016). The effect of biostimulant and fertilizer on “low input” lettuce production. *Acta Botanica Croatica*, 75(2), 253-259.



Metodo

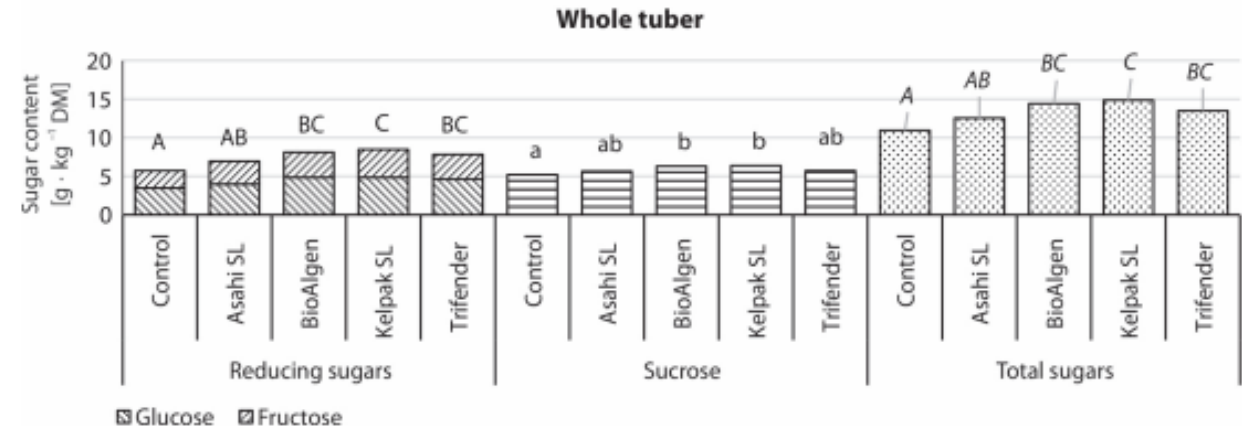
Cataldo D.A., Shrader L.E. (1975), Rapid colorimetric determination of nitrate in plant-tissue by nitration of salicylic-acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 6 (1): 71-80

Determinazione del contenuto di zuccheri



Desoky, E. S. M., Elrys, A. S., Mansour, E., Eid, R. S., Selem, E., Rady, M. M., ... & Semida, W. M. (2021). Application of biostimulants promotes growth and productivity by fortifying the antioxidant machinery and suppressing oxidative stress in faba bean under various abiotic stresses. *Scientia Horticulturae*, 288, 110340.

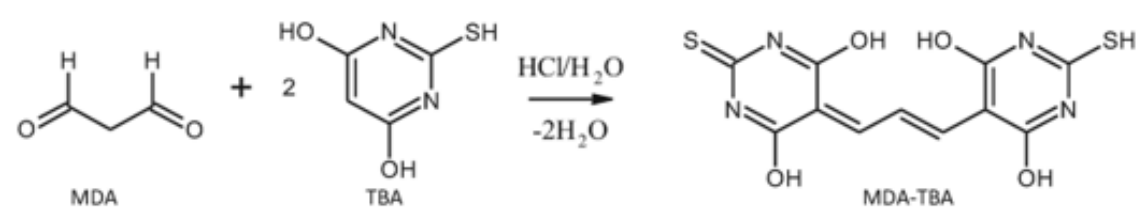
Metodo



Yemm E.W., Willis A.J. (1954), The estimation of carbohydrates in plant extracts by Anthrone. *Biochemical Journal*, 57: 509-513

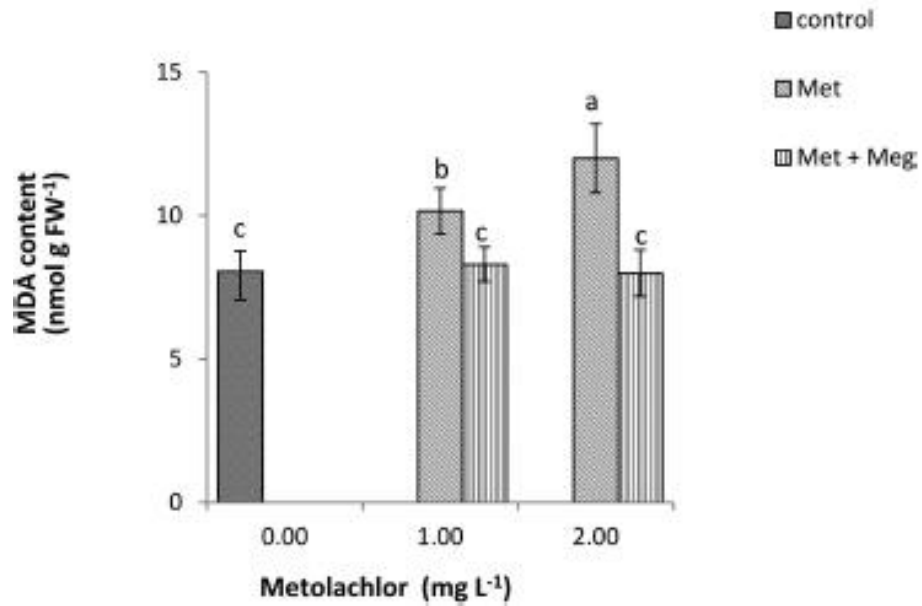
Głosek-Sobieraj, M., Wierzbowska, J., Cwalina-Ambroziak, B., & Waśkiewicz, A. (2022). Protein and sugar content of tubers in potato plants treated with biostimulants. *Journal of Plant Protection Research*, 370-384.

Determinazione della perossidazione lipidica

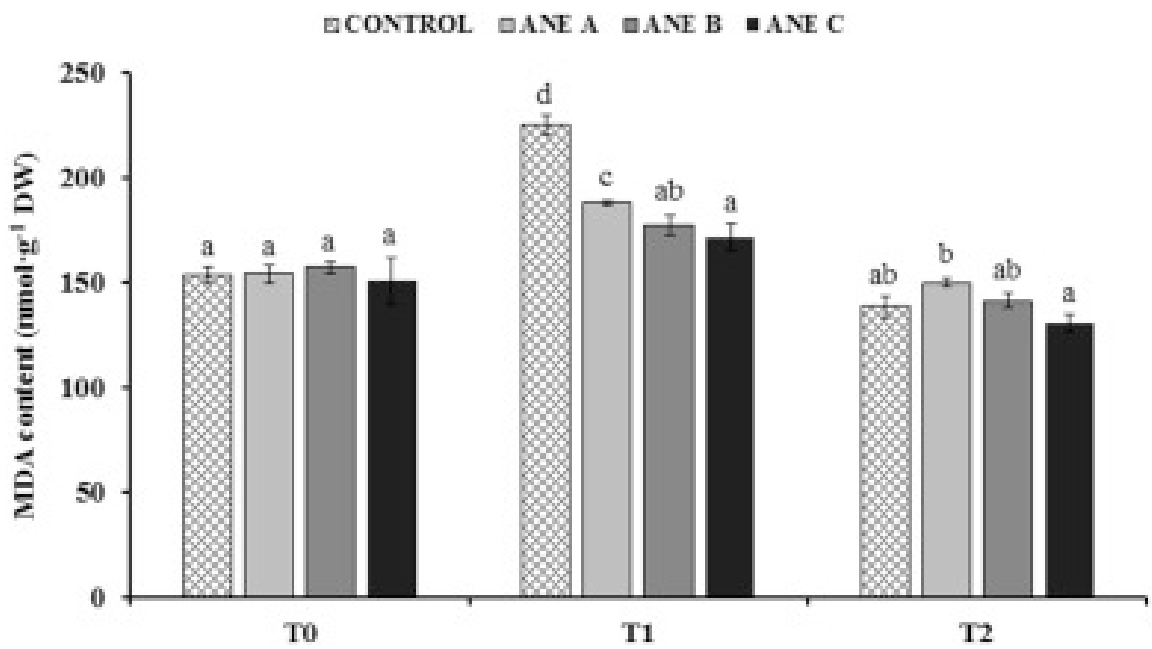


Metodo

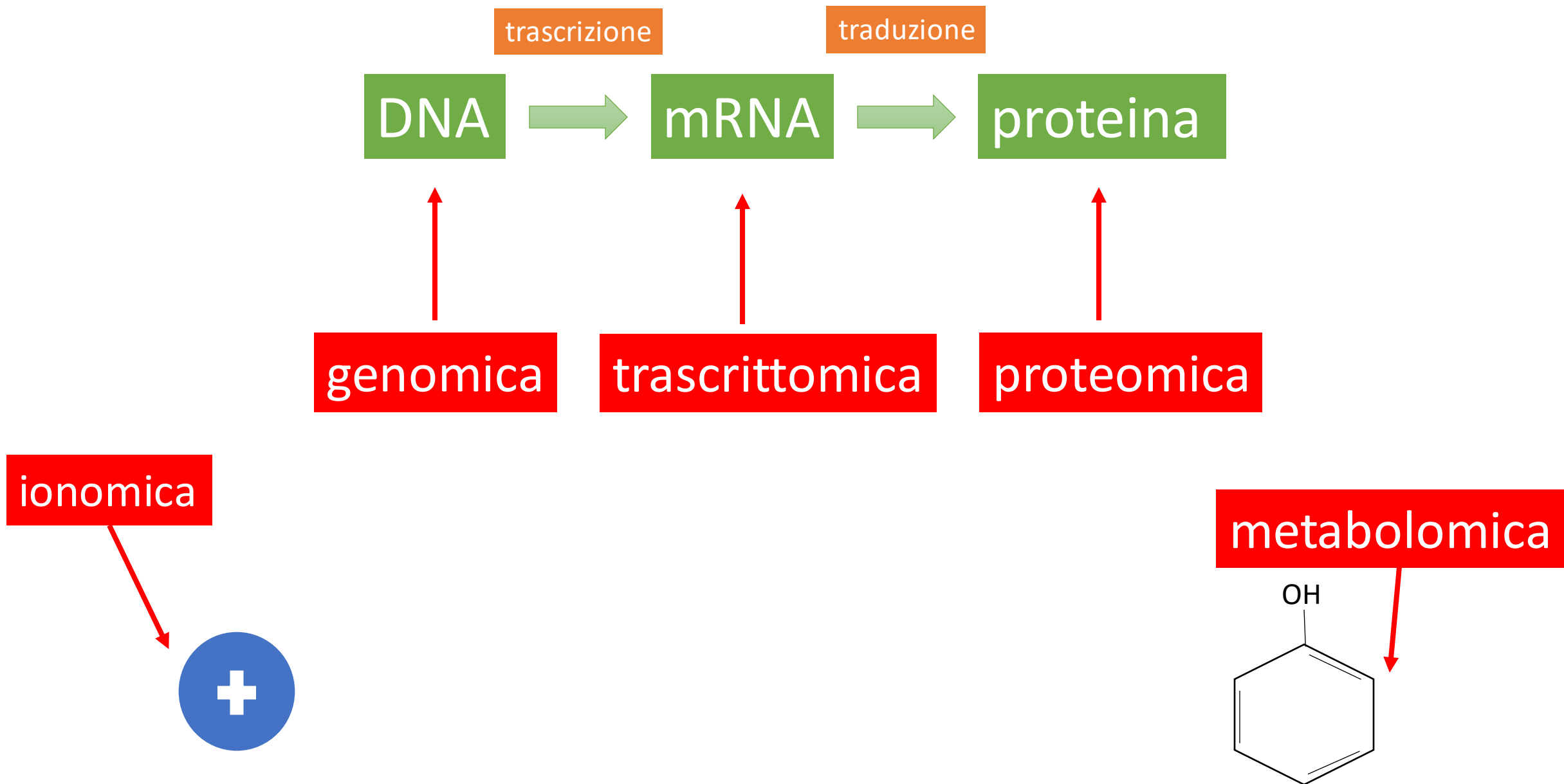
Heath, R.L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts: I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125, 189-198.



Panfili, I., Bartucca, M. L., Marrollo, G., Povero, G., & Del Buono, D. (2019). Application of a plant biostimulant to improve maize (Zea mays) tolerance to metolachlor. Journal of agricultural and food chemistry, 67(44), 12164-12171.



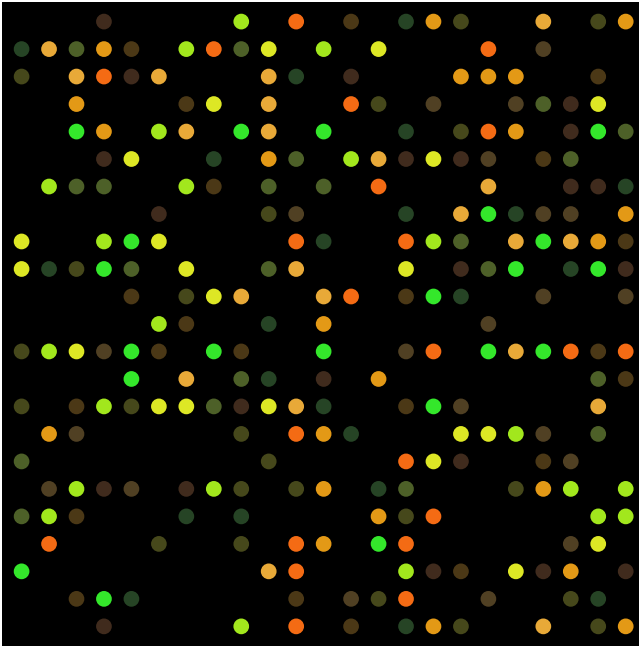
Goñi, O., Quille, P., & O'Connell, S. (2018). Ascophyllum nodosum extract biostimulants and their role in enhancing tolerance to drought stress in tomato plants. Plant Physiology and Biochemistry, 126, 63-73.



Trascrittomica

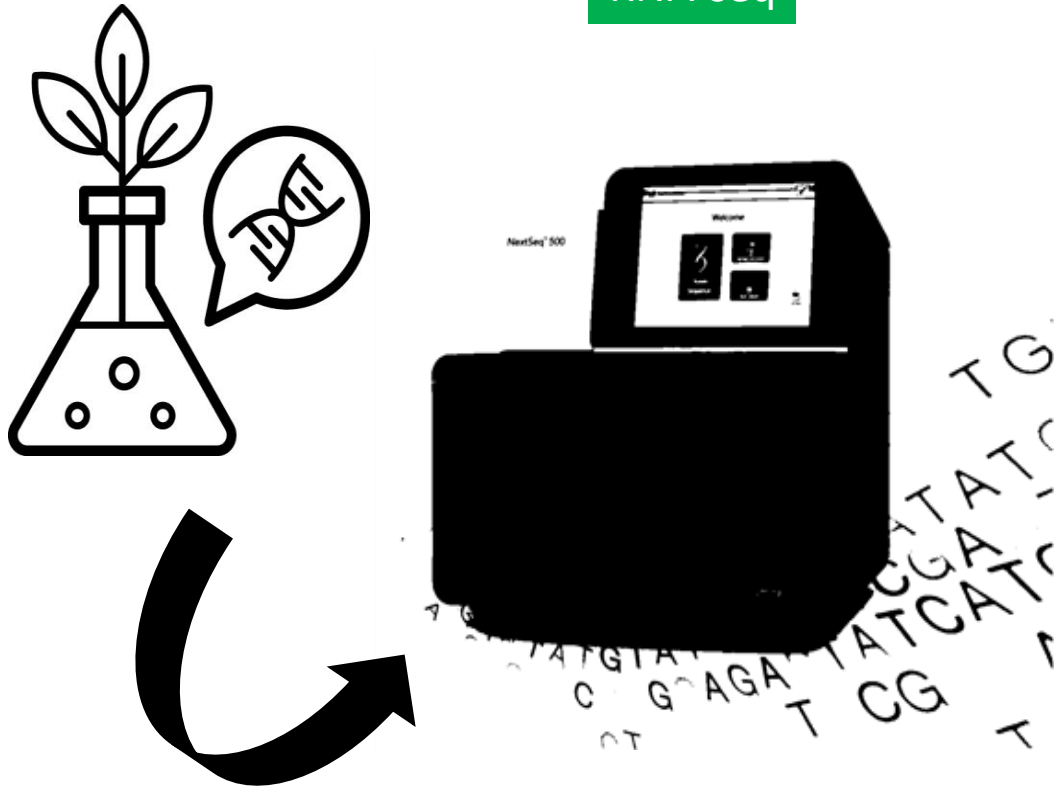
La trascrittomica studia l'insieme degli RNA messaggeri (mRNA) di un organismo

microarray



wikipedia

RNA-seq



Transcriptional and Physiological Analyses to Assess the Effects of a Novel Biostimulant in Tomato

Maria Cristina Della Lucia^{1†}, Ali Baghdadi^{2†}, Francesca Mangione³, Matteo Borella¹, Walter Zegada-Lizarazu², Samathmika Ravi¹, Saptarathi Deb¹, Chiara Broccanello¹, Giuseppe Concheri¹, Andrea Monti², Piergiorgio Stevanato^{1*} and Serenella Nardi¹

¹ Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment, University of Padua, Padua, Italy, ² Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy, ³ Sipcam Italia S.p.A. Belonging Together With Softbey SA to the Sipcam Oxon S.p.A. Group, Pero, Italy

SOB01: biostimolante base Ca

SOB02: fertilizzante base Ca

BBCH65-BBCH75-BBCH85

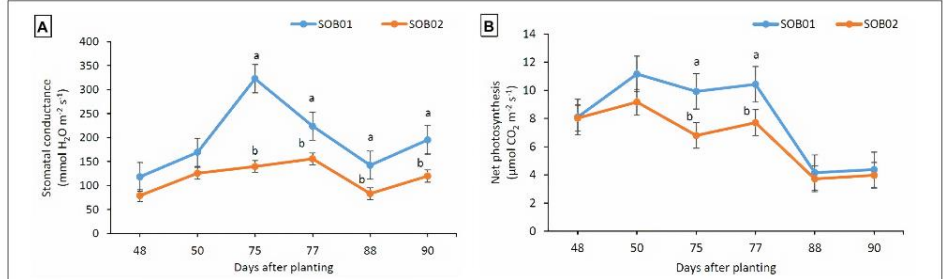
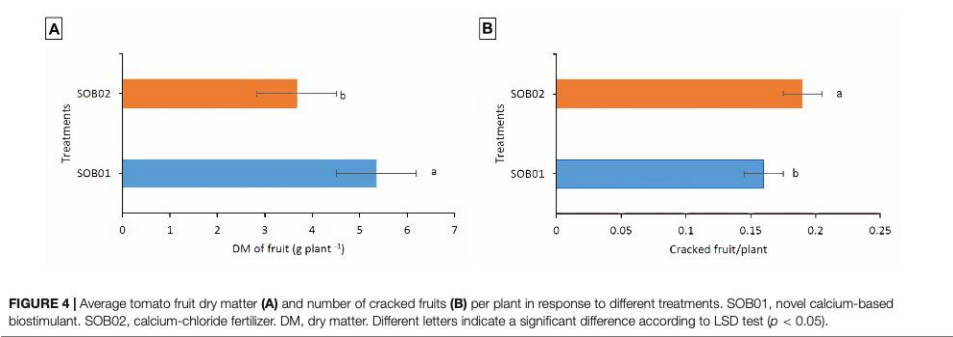


FIGURE 5 | Effect of foliar fertilizer SOB01 and SOB02 on stomatal conductance (A) and net photosynthesis (B) at different phenological stages of tomatoes. Physiological measurements during plant growth were carried out before the application and 48 h after treatments application. SOB01, novel calcium-based biostimulant. SOB02, calcium-chloride fertilizer. Phenological stages BBCH65 (5th inflorescence = flowering), BBCH75 (5th fruit cluster = fruit development), BBCH85 (50% of fruits show typical full ripe color = maturity). Different letters indicate a significant difference according to LSD test ($p < 0.05$).

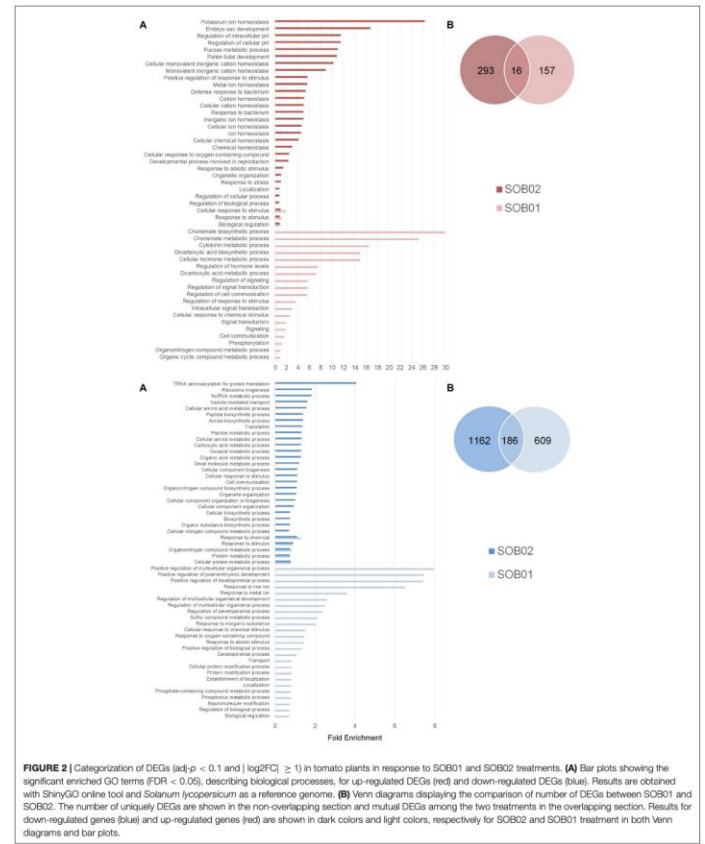


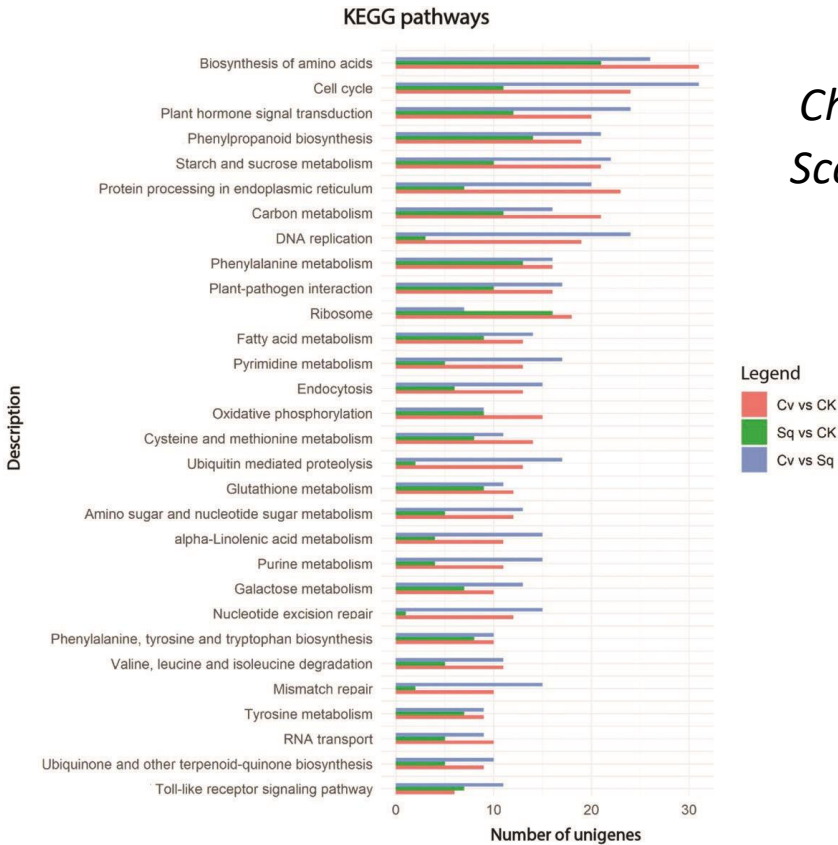
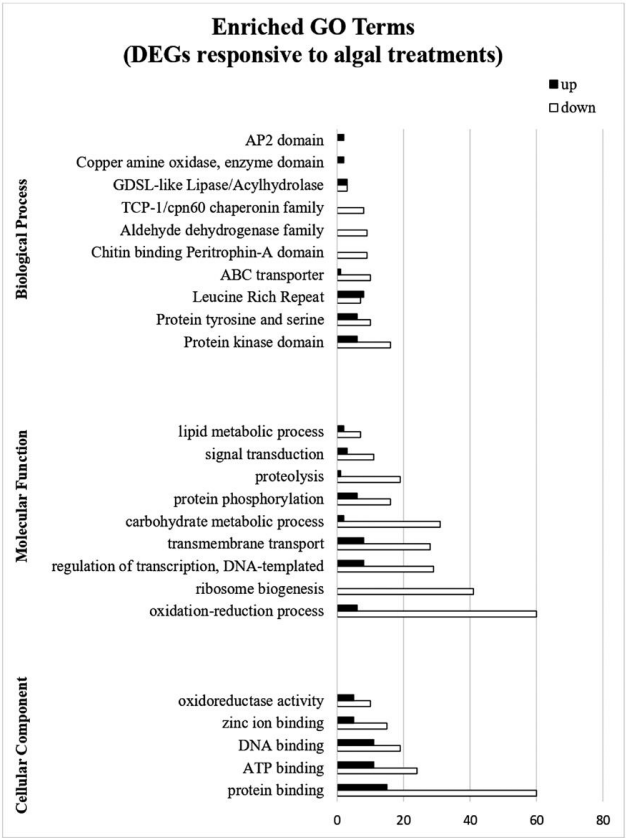
FIGURE 2 | Categorization of DEGs (adj- $p < 0.1$ and $|\log_2FC| \geq 1$) in tomato plants in response to SOB01 and SOB02 treatments. (A) Bar plots showing the significant enriched GO terms (FDR < 0.05), describing biological processes, for up-regulated DEGs (red) and down-regulated DEGs (blue). Results are obtained with ShinyGO online tool and Solanum lycopersicum as a reference genome. (B) Venn diagrams displaying the comparison of number of DEGs between SOB01 and SOB02. The number of uniquely DEGs are shown in the non-overlapping section and mutual DEGs among the two treatments in the overlapping section. Results for down-regulated genes (blue) and up-regulated genes (red) are shown in dark colors and light colors, respectively for SOB02 and SOB01 treatment in both Venn diagrams and bar plots.

Transcriptomic profile of lettuce seedlings (*Lactuca sativa*) response to microalgae extracts used as biostimulant agents

Danilo F. Santoro, Ivana Puglisi, Angelo Sicilia, Andrea Baglieri, Emanuele La Bella and Angela Roberta Lo Piero*

Department of Agriculture, Food and Environment, University of Catania, via Santa Sofia 98, 95123 Catania, Italy

*Corresponding author's e-mail address: rlopiero@unict.it



Chlorella vulgaris: up 3254 down 3943
Scenedesmus quadricauda: up 2773 down 4345



Workshop progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR LOMBARDIA
2014 2020
L'INNOVAZIONE METTE RADICI



Regione Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Cristina Teruzzi
DiSAA - Università degli Studi di Milano



Proteomica

Studio su larga scala delle proteine, della loro struttura e funzione di un sistema biologico.

Analysis of durum wheat proteome changes under marine and fungal biostimulant treatments using large-scale quantitative proteomics: A useful dataset of durum wheat proteins

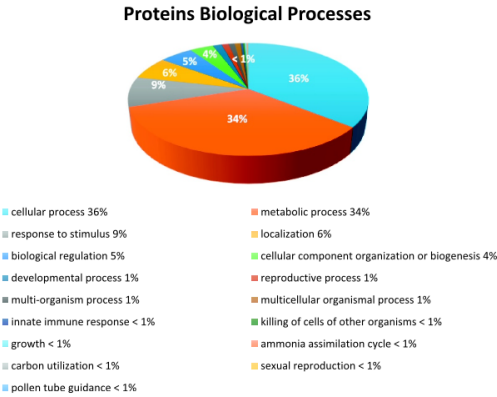
Carole Pichereaux^{a,b,1}, Eve-Anne Laurent^{c,d,e,1}, Audrey Gargaros^b, Sébastien Viudes^c, Céline Durieu^e, Thierry Lamaze^{d,**}, Philippe Grieu^c, Odile Burlet-Schiltz^{b,*}

^a Fédération de Recherche (FR3450), Agrobiosciences, Interactions et Biodiversité (AIB), CNRS, Toulouse, France
^b Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS), Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse, France
^c UMR 1248 AGIR, INRA, Université de Toulouse, Castanet-Tolosan, France
^d UMR 5126, CESBIO, Université de Toulouse, Toulouse, France
^e Agronutrition, Carbone, France



<https://www.colorado.edu/lab/even/instrumentation/organic-chemical-analysis/agilent-1200-series-hplc-uv-vis-detector-and-fluorescence>

A



B

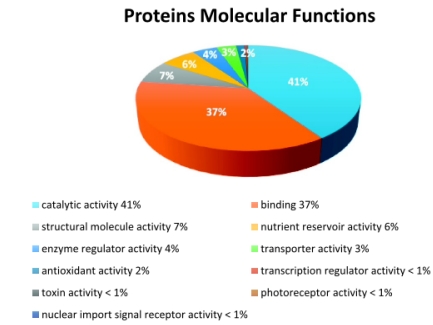


Fig. 2. Pie charts of the distribution of proteins from durum wheat grains based on their predicted: (A) biological processes; (B) molecular functions. This involves all the proteins identified in flour samples in the three conditions having a GO term associated, i.e. a total of 962 proteins for Molecular Functions and 655 proteins for Biological Processes.



Workshop progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR 2014 2020
LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTE RADICI

Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Cristina Teruzzi
DiSAA - Università degli Studi di Milano



Metabolomica

Studio dell'insieme dei metaboliti di un sistema biologico

Capsicum chinensis L. growth and nutraceutical properties are enhanced by biostimulants in a long-term period: chemical and metabolomic approaches

Andrea Ertani^{1*}, Diego Pizzeghello¹, Ornella Francioso², Paolo Sambo¹, Santiago Sanchez-Cortes³ and Serenella Nardi¹

¹ Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente, Università di Padova, Padova, Italy

² Dipartimento di Scienze Agrarie, Università di Bologna, Bologna, Italy

³ Spanish National Research Council (CSIC)-Instituto de Estructura de la Materia (IEM), Madrid, Spain

Table 2 | Fresh weights and number of leaves and fruits (g fw, n) after the 1st and 2nd (T1 and 2) application of biostimulants (untreated, UNT; red grape, RG; alfalfa hydrolyzed, AH).

T	Tr	C	LEAVES	FRUITS							
				G	O	R	TT	G	O	R	TT
mL L ⁻¹			g fw				n				
1	UNT	0	10.1d	14.3d	2.4b	4.6a	21.4d	18d	2	4	23d
1	RG	50	16.8b	28.7b	2.3b	2.7c	33.7b	27b	2	3	42b
1	RG	100	12.7c	19.7c	2.8a	3.0c	25.6c	21c	3	4	28c
1	AH	25	12.3c	18.6c	2.2b	3.4b	24.2c	21c	2	4	28c
1	AH	50	26.7a	40.1a	2.8a	3.4b	46.3a	50a	3	4	55a
2	UNT	0	15.4b	4.8b	0.7c	16.4d	22.0c	4	1b	12c	24c
2	RG	50	18.6a	3.0e	3.9a	31.8a	38.7a	5	4a	32b	36b
2	RG	100	14.3b	4.3c	3.3a	23.1c	30.7b	5	5a	29b	35b
2	AH	25	18.6a	5.3a	0.9c	29.9b	36.1a	5	2b	37a	44a
2	AH	50	17.4a	3.7d	2.4b	32.7a	38.8a	4	2b	37a	41a

T, time; Tr, treatment; C, concentration; G, green; O, orange; R, red; TT, total. In the same column differences among means at T1 and T2 (italicized letters) were at $P \leq 0.05$ using the Student-Newman-Keuls test.

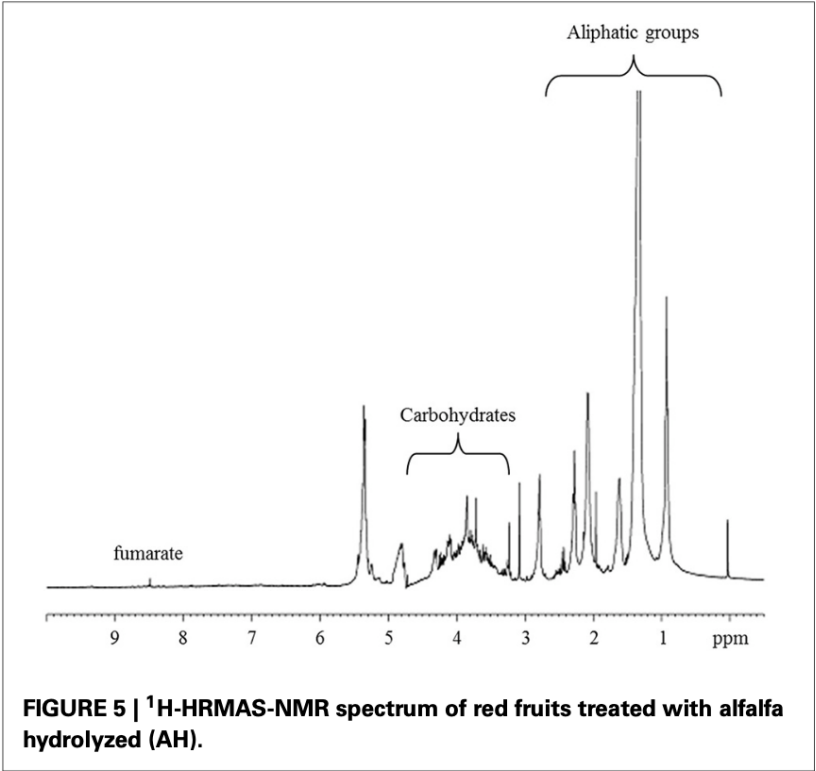


FIGURE 5 | ¹H-HRMAS-NMR spectrum of red fruits treated with alfalfa hydrolyzed (AH).

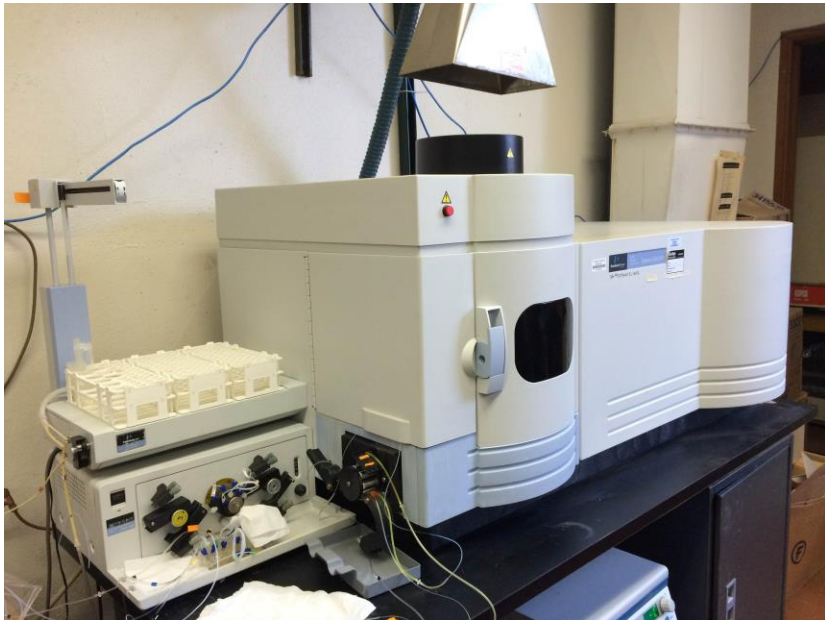
Epicatechina, acido ascorbico, quercitina, diidrocapsaicina alla fioritura. Fruttosio, glucosio, acido clorogenico e ferulico alla maturazione

Nei frutti verdi elevato contenuto di acido clorogenico, p-idrossibenzoico, p-cumarico e attività antiossidante



Iononica

Misura della composizione elementare di organismi viventi e della loro composizione



<https://nature.berkeley.edu/icp>

Molecular and ionic responses of *Solanum lycopersicum* L. (cv. Micro-Tom) plants treated with a novel calcium-based plant biostimulant

Giovanni Bertoldo^a, Maria Cristina Della Lucia^a, Ali Baghdadi^b, Francesca Mangione^c, Massimo Cagnin^a, Claudia Chiodi^a, Giuseppe Concheri^a, Piergiorgio Stevanato^{a,*}, Serenella Nardi^a

^a Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment, University of Padova, Italy

^b Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Italy

^c Sipcam Italia S.p.A. belonging together with Sofbey SA to the Sipcam Oxon S.p.A. Group, Pero, MI, Italy

Table 6

Means (mg kg⁻¹ dm) and percentages of variations for the analyzed elements in Ca-based solution product treated samples. Percentages are the increment or decrement after seven days for the considered elements.

	Ca solution - 0 h	Ca solution - 7 days	% variation
B	60.612	65.839	8.62
Ba	1.768	0.947	-46.43
Ca	28,673.219	28,646.059	-0.09
Fe	107.566	108.290	0.67
K	35,425.961	32,008.752	-9.65
Mg	9479.239	10,154.013	7.12
Mn	234.933	388.144	65.21
Mo	17.915	20.351	13.60
Na	430.497	257.547	-40.17
P	6234.708	5880.697	-5.68
S	19,003.177	18,079.315	-4.86
Sr	29.282	28.766	-1.76
Zn	48.992	78.926	61.10

Table 7

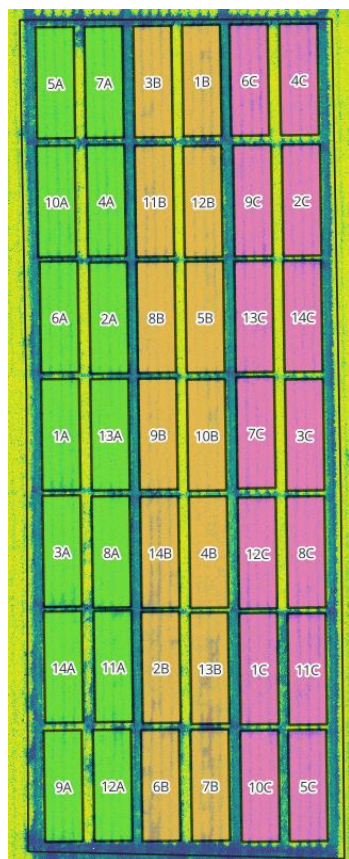
Means (mg kg⁻¹ dm) and percentages of variations for the analyzed elements in CaCl₂ treated samples. Percentages are the increment or decrement after seven days for the considered elements.

	CaCl ₂ -0 h	CaCl ₂ -7 days	% variation
B	84.036	75.447	-10.22
Ba	2.051	1.751	-14.62
Ca	31,737.784	32,325.792	1.85
Fe	159.340	128.585	-19.30
K	44,437.169	32,294.276	-27.33
Mg	10,192.131	11,588.387	13.70
Mn	331.648	315.745	-4.80
Mo	19.748	17.714	-10.30
Na	329.187	206.264	-37.34
P	8073.711	6403.117	-20.69
S	25,043.394	18,170.229	-27.45
Sr	30.618	29.478	-3.72
Zn	65.807	37.233	-43.42



PROGETTO BIOSTIMOLA: approccio multidisciplinare

Valutazione dei biostimolanti per ridurre l'effetto fitotossico del diserbo su soia



After the first application

After the two herbicide applications

7 days after the second application

Harvest

- NDVI
- Chlorophyll, flavonoids anthocyanins content
- Chlorophyll fluorescence analysis
- Nitrogen balance index
- TBARS assay (lipidic peroxidation)

- NDVI
- Chlorophyll, flavonoids anthocyanins content
- Chlorophyll fluorescence analysis
- Nitrogen balance index
- TBARS assay (lipidic peroxidation)

- Yield
- Qualitative parameters of grain (protein and fat content)



Workshop progetto BIOSTIMOLA
17 maggio 2024
Aula Pellizzi, Facoltà di Scienze Agrarie e Alimentari



PSR LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTERADICI
2014 2020



Regione
Lombardia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Mauro Maddalena

Agricola2000
Services & Research for Agriculture