

**XXXV CONVEGNO NAZIONALE SICA**

---

# **LA RICERCA IN CHIMICA AGRARIA**

**INTEGRAZIONE DELLO STUDIO  
DEI SISTEMI SUOLO, PIANTA E AMBIENTE**

**11-13 SETTEMBRE 2017**

**PALAZZO  
DI TOPPO WASSERMAN  
VIA GEMONA 92, UDINE**

---





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

**Atti del Convegno**

***La ricerca in Chimica Agraria:  
integrazione dello studio dei sistemi suolo, pianta e  
ambiente***

**Udine 11 -13 settembre 2017**

**Palazzo Di Toppo Wassermann  
Via Gemona 92, Udine**

## SOMMARIO

---

<i>Programma e indice posters.....</i>	<i>1</i>
<i>Sessione Suolo.....</i>	<i>1</i>
<i>Comunicazioni orali.....</i>	<i>1</i>
<i>Posters.....</i>	<i>10</i>
<i>Sessione Pianta.....</i>	<i>27</i>
<i>Comunicazioni orali.....</i>	<i>27</i>
<i>Posters.....</i>	<i>37</i>
<i>Sessione Ambiente.....</i>	<i>61</i>
<i>Comunicazioni orali.....</i>	<i>61</i>
<i>Posters.....</i>	<i>71</i>
<i>Indice degli Autori.....</i>	<i>89</i>
<i>Organizzazione.....</i>	<i>92</i>

## **PROGRAMMA**

---

## LUNEDÌ 11 SETTEMBRE

---

**13.00**  
Accoglienza partecipanti  
e registrazione

**14.30**  
Saluti istituzionali  
e apertura Convegno

### SESSIONE SUOLO

Moderatori:

**Franco Ajmone Marsan**  
Università di Torino

**Concetta Eliana Gattullo**  
Università di Bari

**15.00**  
Relazione a invito  
**Yakov Kuzyakov**  
Università di Göttingen, Germania  
*Microbial hotspots  
and hot moments in soil*

**15.45**  
**Vito Armando Laudicina**  
Università di Palermo  
*Improvement of physical, chemical  
and biochemical properties of a salt  
affected Alfisol by addition of biochar  
and gypsum*

**16.00**  
**Eren Taskin**  
Università di Bari  
*Risposta in vitro di funghi ligninolitici  
al biochar ed hydrochar*

**16.15**  
**Martina Mazzon**  
Università di Bologna  
*Changes in soil phenol oxidase  
activities due to long-term  
compost and mineral N supply  
in a walnut orchard*

**16.30**  
Coffee break e Visione poster

**17.30**  
**Pasqua Murgese**  
Università di Bari  
*Uso dei Plant Growth  
Promoting Bacteria in agricoltura*

**18.00**  
**Veronica Santoro**  
Università di Torino  
*Ritenzione di P organico durante la  
coprecipitazione ossidativa di Fe(II)*

**18.15**  
**Riccardo Spaccini**  
Università di Napoli Federico II  
*LIFE CarbOnFarm project:  
technologies to stabilize soil organic  
carbon and farm productivity,  
promote waste value and climate  
change mitigation*

**18.30**  
**Fabio Valentinuzzi**  
Libera Università di Bolzano  
*Valutazione dell'effetto del digestato  
solido e liquido prodotto in un impianto  
di biogas sulla qualità del suolo  
e sulla crescita delle piante*

**19.00**  
Aperitivo di benvenuto

## MARTEDÌ 12 SETTEMBRE

---

**8.00**  
Registrazione partecipanti

### SESSIONE PIANTA

Moderatori:

**Rossella Ghisi**  
Università di Padova

**Fabio Francesco Nocito**  
Università di Milano

**9.00****Relazione a invito****Enrico Martinoia**

Università di Zurigo, Svizzera

*Heavy metals: about the role of the vacuole in detoxification, phytoremediation and safe food***9.45****Fabrizio Araniti**

Università Mediterranea di Reggio Calabria

*Attività fitotossica del monoterpene fenolico timolo su pianta adulta di A. thaliana: un approccio fisiologico, molecolare e metabolomico***10.00****Stefania Astolfi**

Università della Tuscia, Viterbo

*Effect of localized S application on capability to cope with Fe deficiency of tomato plants grown in split-root system***10.15****Bhakti Prinsi**

Università di Milano

*Time-course del profilo metabolico e proteomico in radici e foglie di mais in risposta a diverse disponibilità di nitrato e ammonio***10.30****Coffee break e Visione poster****11.30****Michele Pesenti**

Università di Milano

*Genome-wide association study for mild-salt tolerance in rice***11.45****Marco Landi**

Università di Pisa

*The "privilege" of being red: a comprehensive picture of the photoprotective mechanisms adopted by anthocyanin-equipped and green-leafed morphs of sweet basil***12.00****Laura Ravazzolo**

Università di Padova

*Strigolactones involvement in maize root response to nitrate availability***12.15****Laura Zanin**

Università di Udine

*Water extractable humic substances promote nitrate acquisition in maize plants modulating genes involved in transcriptional regulation and nitrogen assimilatory pathway***12.30****Pranzo e Visione poster****14.30****Workshop***Importanza dell'interazione suolo-pianta per la nutrizione delle colture e la produzione sostenibile di cibo***Moderatore:****Gian Attilio Sacchi**

Università di Milano

**Zeno Varanini**

Università di Verona

*Il contributo di Angelo Maggioni nella ricerca in Chimica Agraria***15.00****Relazione a invito****Ismail Cakmak**

Università Sabanci, Tuzla, Turchia

*Tackling malnutrition with plant mineral nutrition***15.45****Discussione****16.15****Coffee break e Visione poster****17.00****Assemblea dei soci e rinnovo delle cariche sociali****21.00****Cena Sociale**

## MERCOLEDÌ 13 SETTEMBRE

8.00

Registrazione partecipanti

### SESSIONE AMBIENTE

Moderatori:

**Giovani Gigliotti**

Università di Perugia

**Maria Teresa Ceccherini**

Università di Firenze

9.00

Relazione a invito

**Milena Horvat**

Jožef Stefan Institute, Lubiana, Slovenia

*Mercury contaminated sites in the context of global mercury cycle*

9.45

**Floriana Bedussi**

Università di Milano

*Valutazione di due biochar in substrati per la coltivazione di ciclamino*

10.00

**Antonio G. Caporale**

Università di Napoli Federico II

*Hexavalent Cr quantification in highly polluted soils by isotope dilution mass spectrometry (IDMS)*

10.15

**Lucrezia Lamastra**

Università Cattolica del Sacro Cuore

*Water footprinting of wine products: an assessment for the water footprint of Piedmont quality wines*

10.30

**Silvia Ghisoni**

Università Cattolica del Sacro Cuore

*UHPLC-ESI/QTOF-MS profiling followed by multivariate chemometrics allowed to trace cultivars and geographical origin in hazelnut*

10.45

Coffee break e Visione poster

11.30

**Elio Padoan**

Università di Torino

*Bioaccessibility of lead in phosphorus amended urban soils: impact of particle size and bioaccessible method*

11.45

**Enrica Allevato**

Università della Tuscia

*Utilizzo dell'ammendante compostato misto nella mitigazione dell'assorbimento di metalli pesanti in Beta vulgaris L. var. cycla*

12.00

**Chiara Tacconi**

Università di Perugia

*Effetto di concentrazioni crescenti di AFB1 su un processo di digestione anaerobica semi-continuo: stabilità del processo, degradazione della micotossina e qualità del digestato*

12.15

**Mariana Villegas**

Università di Milano

*Sviluppo di una bioraffineria partendo da Arundo donax L. per la produzione di bioidrogeno ed acidi carbossilici*

12.30

Chiusura Convegno

13.00

Pranzo

## *Posters-Sessione Suolo*

- S1.** Bragato, G.  
*Influenza della paleomorfologia e della gestione forestale sullo stock di carbonio nei suoli del bosco di Muzzana, Udine.....pag. 11*
- S2.** Di Rauso Simeone, G.  
*Analisi dei metaboliti del black carbon attraverso cromatografia liquida a scambio ionico.....pag. 12*
- S3.** Gattullo, C.E.  
*Approccio analitico integrato per la caratterizzazione di suoli inquinati da metalli pesanti.....pag. 13*
- S4.** Giannetta, B.  
*Fe(III) fate after complexation with SOM pools under different land uses.....pag. 14*
- S5.** Gioacchini, P.  
*Effetti sul contenuto e la distribuzione del C organico nel suolo ad un anno dal cambio agronomico-culturale da specie perenni ad annuali.....pag. 15*
- S6.** Grigatti, M.  
*La frazione organica dei rifiuti solidi urbani come fonte potenziale di fosforo in agricoltura.....pag. 16*
- S7.** Ioppolo, A.  
*Distribution of REEs in soil-(Citrus limon L. Burm.) system.....pag. 17*
- S8.** Ioppolo, A.  
*Effects of Citrus essential oils on weed emergence and on soil microorganisms.....pag. 18*
- S9.** Jouini, A.  
*Soil bioindicators and weed emergence as affected by essential oils extracted from leaves of three different Eucalyptus species.....pag. 19*
- S10.** Khakbaz, A.  
*Extraction of humic substances: facts or artefacts? .....pag. 20*
- S11.** Incerti, G.  
*Modelling decomposition, intermolecular protection and physical aggregation based on organic matter quality assessed by <sup>13</sup>C-CPMAS-NMR.....pag. 21*
- S12.** Lerda, C.  
*Effetto delle tecniche conservative sull'accumulo e sulle dinamiche della sostanza organica del suolo.....pag. 22*
- S13.** Oddo, M.  
*Effects of thyme (Thymbra capitata (L.) Cav.) essential oil and its main constituent carvacrol on weeds and soil microorganisms .....pag. 23*
- S14.** Scrano, L.  
*La ricerca in chimica agraria: la sostanza organica protagonista nei processi di degradazione/adsorbimento di contaminanti nel suolo e nelle acque.....pag. 24*
- S15.** Settineri, G.  
*Fango di Jatropha come ammendante per un agricoltura sostenibile.....pag. 25*
- S16.** Stanchi, S.  
*Distribuzione dell'As nelle classi granulometriche e valutazione dell'erodibilità in un suolo contaminato.....pag. 26*



## *Posters-Sessione Pianta*

- P1.** Bartucca, M.L.  
*Utilizzo di biostimolanti per aumentare la tolleranza delle colture agli erbicidi.....pag. 38*
- P2.** Bernardo, L.  
*Proteomic and metabolomic insight into wheat response to drought following AMF inoculation.....pag. 39*
- P3.** Di Baccio, D.  
*Growth and micronutrients distribution in Chichorium intybus L. - Funneliformis mosseae mycorrhizal symbiosis.....pag. 40*
- P4.** Ertani, A.  
*Seaweed extracts as growth promoters of Zea mays L. plants.....pag. 41*
- P5.** Franco, A.  
*Copper toxicity in maize plant affected growth and metals' translocation.....pag. 42*
- P6.** Margon, A.  
*Effect of leonardite- and seaweed-based biostimulants on seed germination and plant growth.....pag. 43*
- P7.** Mimmo, T.  
*Biofortificazione con Selenio in Fragaria x ananassa: implicazioni su qualità, contenuto di composti nutraceutici e profilo metabolico del frutto.....pag. 44*
- P8.** Misra, S.  
*Plants treatment with perfluoroalkyl substances (PFASs): uptake and effects on growth and morphology.....pag. 45*
- P9.** Negrini, N.  
*Variazioni di parametri legati a germinazione, crescita e metabolismo dei carboidrati in genotipi di riso ssp. japonica in risposta alla salinità.....pag. 46*
- P10.** Papalia, T.  
*Salvaguardia e valorizzazione della patata viola calabrese, una varietà a rischio erosione genetica.....pag. 47*
- P11.** Pii, Y.  
*Effetto di microrganismi PGPR sulla qualità dei frutti in piante di fragola allevate in coltura idroponica.....pag. 48*
- P12.** Prinsi, B.  
*Confronto del profilo proteomico in foglie di cultivar di basilico caratterizzate da un diverso accumulo di antociani.....pag. 49*
- P13.** Santin, M.  
*Modulazione dell'espressione genica e dell'attività di enzimi coinvolti nel processo di softening in pesche trattate con UV-B in post-raccolta.....pag. 50*
- P14.** Segà, D.  
*Determinazione dei flussi di magnesio (<sup>26</sup>Mg) in portinnesti di vite attraverso analisi ICP-MS.....pag. 51*
- P15.** Sharma, N.  
*Biochemical and proteomic analyses in Arabidopsis thaliana plants treated with sulfadiazine.....pag. 52*
- P16.** Stevanato, P.  
*Microfluidic chip-based digital PCR for evaluation of sulfate nutritional status in sugar beet.....pag. 53*

- P17.** Tassan Mazzocco, G.  
*Efficienza della concimazione organo-minerale: prove in microcosmo e in lisimetro.....pag. 54*
- P18.** Trevisan, S.  
*Transcriptomic insight into the enhancing effect of the novel biostimulant APR® on maize root growth.....pag. 55*
- P19.** Trevisan, S.  
*Understanding brassinosteroid-regulated mechanisms to improve stress tolerance in maize: a transcriptomic approach.....pag. 56*
- P20.** Vigani, G.  
*Studio delle risposte precoci allo stress salino in varietà di riso mediante analisi di infrared thermography.....pag. 57*
- P21.** Vigani, G.  
*Architettura radicale in due varietà di riso con differente capacità di accumulo di cadmio: indagini bi- e tri-dimensionali .....pag. 58*
- P22.** Zamboni, A.  
*Approcci analitici per l'autenticazione di uve provenienti da agricoltura biologica.....pag. 59*
- P23.** Zannella, C.  
*Elemental and isotopic fingerprint of PDO wheat: matching soil and crop composition to differentiate geographical provenance.....pag. 60*

## *Posters-Sessione Ambiente*

- A1.** Barone, V.  
*Impiego di microalghe per la produzione di etanolo: prove di crescita in condizioni di azoto-carenza ed in presenza di bicarbonato.....pag. 72*
- A2.** Bavcon Kralj, M.  
*Biosorption of metals and TiO<sub>2</sub> nanoparticle from wastewaters by brewer's Saccharomyces yeast biomass .....pag. 73*
- A3.** Capri, E.  
*Nuovo dispositivo di monitoraggio "real-time" per gli impianti di acquacoltura a tutela della salute dei consumatori e dell'ambiente.....pag. 74*
- A4.** Cucina, M.  
*Digestione anaerobica dello scarto di lavorazione del grano saraceno: effetto dei pretrattamenti e valutazioni energetiche.....pag. 75*
- A5.** Di Baccio, D.  
*Autotrophic organisms to counteract excess of micronutrients and heavy metals in the agro-ecosystem: phytoremediation and biofortification perspectives.....pag. 76*
- A6.** Di Rauso Simeone, G.  
*Mitigation of the environmental impact of olive mill wastewater through sustainable bioprocess with energy recovery .....pag. 77*
- A7.** Giulivo, M.  
*Determinazione di ritardanti di fiamma in campioni di pesce provenienti da tre bacini europei.....pag. 78*

- A8.** Lamastra, L.  
*NP, NPnEOs and DEHP in sewage sludge in Italy. Presence of organic contaminants and evaluation of their use as fertilizer for sustainable development. ....pag. 79*
- A9.** Marigliano, L.  
*Ficorisanamento di acque contaminate da benzo[a]antracene .....pag. 80*
- A10.** Panfilì, I.  
*Piante acquatiche e antidoti per il risanamento di acque contaminate da Cu<sup>+2</sup>.....pag. 81*
- A11.** Pellegrini, E.  
*Accumulo dei solfuri nei suoli barenicoli ed implicazioni sulla distribuzione delle comunità vegetali.....pag. 82*
- A12.** Sciarria, T.P.  
*Recupero di nutrienti e produzione di idrogeno da digestato mediante sistemi bioelettrochimici.....pag. 83*
- A13.** Pezzolla, D.  
*Recupero e valorizzazione della lana "di scarto": valutazione della capacità di adsorbimento del rame.....pag. 84*
- A14.** Pezzolla, D.  
*Prove di biodegradazione anaerobica di nuovi biopolimeri utilizzati nel settore alimentare.....pag. 85*
- A15.** Scaglia, B.  
*The anaerobic digestion process capability to produce biostimulant: the case study of the dissolved organic matter (DOM) vs. auxin-like property .....pag. 86*
- A16.** Monaci, E.  
*Residui di quattro fungicidi a rischio ridotto in frutti di fragola trattati in campo e controllo dello sviluppo della muffa grigia in postraccolta.....pag. 87*
- A17.** Zangarini, S.  
*Recupero della struvite a partire dal separato liquido del digestato: risultati preliminari.....pag. 88*

## **SESSIONE SUOLO**

---

### *Comunicazioni orali*

## **Microbial hotspots and hot moments in soil**

Yakov Kuzyakov

Department of Soil Science of Temperate Ecosystems and Department of Agricultural Soil Science, University of Goettingen, Germany

Soils are the most heterogeneous parts of the biosphere, with an extremely high differentiation of properties and processes within nano- to macroscales. The spatial and temporal heterogeneity of input of labile organics by plants creates microbial hotspots over short periods of time – the hot moments. We define microbial hotspots as small soil volumes with much faster process rates compared to the average soil conditions. Such hotspots are found in the rhizosphere, detritusphere, biopores (including drilosphere) and on aggregate surfaces. Hot moments are short-term events or sequences of events inducing accelerated process rates as compared to the average rates. Thus, hotspots and hot moments are defined by dynamic characteristics, i.e. by process rates.

Localization and size of hotspots, their spatial distribution, transport of labile C to and from hotspots, lifetime and process intensities will be presented with a special focus on process rates and microbial activities. The fraction of active microorganisms in hotspots is 2-20 times higher than in the bulk soil, and their specific activities (i.e. respiration, microbial growth, mineralization potential, enzyme activities, RNA/DNA ratio) may be much higher. The duration of hot moments in the rhizosphere (hours to few days) is limited and is controlled by the length of the input of labile organics. In the detritusphere, however, the duration of hot moments is regulated by decomposition rates of litter (weeks to months). The faster turnover and lower C use efficiency in hotspots counterbalances the high C inputs, leading to the absence of strong increases in C stocks. Consequently, the intensification of fluxes is much stronger than the increase of pools. Maintenance of stoichiometric ratios by accelerated microbial growth in hotspots requires additional nutrients (e.g. N and P) from soil organic matter, i.e. priming effects. Consequently, priming effects are localized in microbial hotspots and are consequences of hot moments.

## Improvement of physical, chemical and biochemical proprieties of a salt affected Alfisol by addition of biochar and gypsum

Amira Jouini, Antonino Ioppolo, Marco Riccobono,  
Vito A. Laudicina, Pellegrino Conte

Department of Agricultural, Food and Forestry Sciences, University of Palermo, Viale delle Scienze, Edificio 4, 90128 Palermo, Italy

Salinization is one of the major environmental problems threatening agricultural productivity. Soil salinization is defined as an excessive accumulation of salts within the soil profile. It negatively affects soil physical and chemical properties, as well as the biochemical ones. Reclamation of salt affected soils requires removal of soluble salts and  $\text{Na}^+$  from the soil exchange sites. Subsequently, salts are leached out the root zone by irrigation water when available.

Gypsum ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) is the most commonly used chemical amendment for reclamation of salt affected soils since it provides  $\text{Ca}^{2+}$  that replaces  $\text{Na}^+$  on the exchange sites and improve soil structure. Also organic amendments have been considered, but not extensively studied, for reclamation of salt affected soils. Recent studies have reported that biochar can be rich in nutrients like  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  and may enhance their availability in soil when added as amendment. Therefore, addition of biochar to a salt affected soil could aid in its remediation by supplying  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$ , and replacing  $\text{Na}^+$ , improving aggregate stability and hydraulic conductivity.

The objective of this study was to evaluate the effects of gypsum and biochar for the reclamation of a saline-sodic soil on some physical, chemical and biological properties.

The topsoil of an Alfisol, about fifty meters far from the foreshore in the Petrosino coast (Sicily, Italy), was used for this experiment. The soil was air-dried and sieved at 2 mm. The main physical and chemical properties of the soil were: pH 7.3, clay 23 %, total carbonates 50.9 %, electrical conductivity  $0.81 \text{ dS m}^{-1}$  (1:5, w/v), total organic C  $11.0 \text{ g kg}^{-1}$ , cation exchange capacity  $24.8 \text{ cmol}_{(+) } \text{ kg}^{-1}$ , exchangeable sodium percentage 35 %. Two doses of gypsum (2.6 and  $5.1 \text{ g kg}^{-1}$  of soil) and two doses of biochar (4.2 and  $8.3 \text{ g kg}^{-1}$ ) were tested. The two doses of gypsum were calculated in order to decrease ESP from 35% to 25% and to 15%, respectively, whereas biochar was added in order to achieve an amount of 10 and  $20 \text{ Mg ha}^{-1}$ . Following addition of gypsum and biochar, either alone or in combination, 100 g of soil were incubated at room temperature in 150 mL plastic pots and maintained at 50% of soil water holding capacity during all the duration of the experiment (22 days). One week after the incubation, three horse-radish seeds were sown. Then, after 13 days, plants were removed, oven dried at  $60^\circ\text{C}$  for 48 hours and weighed. The soils were analyzed to determine porosity, CEC, ESP, ECe, microbial biomass C, soil respiration and microbial community structure. The experiment was carried out in octuplicate. In this work, the results are reported and discussed.

## Risposta *in vitro* di funghi ligninolitici al biochar ed hydrochar

Eren Taskin, Elisabetta Loffredo

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

Il biochar (BC) e l'hydrochar (HC) sono prodotti, rispettivamente, mediante i processi della pirolisi e della carbonizzazione idrotermale. Queste recenti tecnologie consentono il sequestro del carbonio in materiali che vengono impiegati sia come ammendanti del suolo che per scopi di decontaminazione o applicazioni industriali. Per entrambi, il feedstock consiste in scarti organici dell'attività agricola, industriale ed urbana. La presenza in tali materiali di frazioni biodisponibili di varia natura richiede un'attenta valutazione dei loro effetti sulla comunità microbica del suolo, tra cui i funghi ligninolitici. Questi ultimi, per i loro enzimi extracellulari, tra cui laccasi, Mn-perossidasi e lignino-perossidasi, sono protagonisti del ciclo del carbonio del suolo e vengono anche impiegati in programmi di decontaminazione di matrici solide e liquide da inquinanti di vario tipo.

Nell'ambito di un ampio studio sugli effetti di diversi tipi di BC ed HC sulla crescita vegetale nonché sulla crescita ed attività enzimatica di funghi ligninolitici del suolo, è stata valutata la risposta *in vitro* del *Trametes versicolor* (TRA) e del *Pleurotus ostreatus* (PLE). Un BC ottenuto da residui di potatura della vite alla temperatura massima di pirolisi di 550°C ed un HC originato da FORSU a temperature tra 180 e 210 °C sono stati aggiunti, separatamente, al mezzo di crescita fungino alle dosi di 0,4% e 2% (p/v). Queste concentrazioni corrispondono all'incirca a 12 t/ha e 60 t/ha, per una profondità del suolo di 30 cm, quantità prossime a quelle consigliate nella pratica di ammendamento.

In generale, la crescita dei funghi è risultata significativamente stimolata dall'aggiunta di tali materiali. In particolare, la dose più bassa di BC ha promosso la crescita del TRA con incrementi fino al 70%, rispetto al controllo, nell'ultimo rilievo (6 giorni), mentre è risultata ininfluenza sulla crescita del PLE. Alla dose maggiore, il BC ha incrementato la crescita del TRA con un trend crescente e fino al 45% circa, rispetto al controllo, mentre ha rallentato lievemente la crescita del PLE. Quest'ultimo effetto, tuttavia, si è ridotto negli ultimi rilievi, dimostrando che il fungo era in grado di trasformare i composti inibitori, presenti nel BC, in molecole non tossiche. In tutti i trattamenti con l'HC, ed in misura molto simile tra le due dosi, è stata evidenziata una stimolazione generalmente rivelante della crescita di entrambi i funghi. Il TRA ha mostrato i benefici maggiori dell'applicazione di HC con l'allungamento delle ife fungine circa raddoppiato, rispetto al controllo. I risultati preliminari delle prove enzimatiche indicano una stimolazione dell'attività enzimatica da parte del BC e, soprattutto, dell'HC. Nel loro complesso, i risultati ottenuti suggeriscono che l'apporto di tali ammendanti al suolo, soprattutto in presenza di fenomeni di degrado, possa produrre benefici sulla fertilità del suolo.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Questo studio è stato finanziato dall'Università degli Studi di Bari Aldo Moro. Si ringrazia l'Ingelia Italia SpA per aver cortesemente fornito il campione di hydrochar.

## Changes in soil phenol oxidase activities due to long-term compost and mineral N supply in a walnut orchard

M. Mazzon, L. Cavani, A. Margon, G. Sorrenti, C. Ciavatta, C. Marzadori

Department of Agricultural Sciences, *Alma Mater Studiorum* - University of Bologna, Bologna, Italy

Phenol oxidases are a group of soil extracellular enzymes belonging to the group of oxidoreductases that are able to oxidize phenolic compounds, degrade lignin and humic substances and release organic carbon (C) and other nutrients. This class of enzymes has therefore multiple functions at both organism and ecosystem levels and can trigger either positive or negative feedback loops between soil organisms and soil organic matter.

The purpose of this study was to investigate the effects of different types of nitrogen fertilization on soil phenol oxidase activity in order to understand if changes in this activity are able to induce either a positive or a negative feedback loop with soil organic matter.

Soil samples were taken from a 14-year-old walnut experimental orchard subjected, since planting, to the following fertilization strategies: organic (compost) and mineral (urea), at the same rate of nitrogen (100 kg N ha<sup>-1</sup>). Unfertilized plots were also included in the experimental design. Soil samples were divided according to sampling depth (0-20 cm and 20-40 cm) and then characterized in terms of their main physical and chemical properties, C and N availability, microbial biomass and activity and three phenol oxidase activities: catechol oxidase, tyrosinase and laccase.

Results indicate that the activity of the three tested phenol oxidases did not always correlate with microbial biomass, microbial activity and substrate availability. Laccase activity, for instance, showed no correlation with any of these parameters and significant differences in enzymatic activity were linked only to sampling depth. Tyrosinase and catechol oxidase activity were significantly promoted by compost addition. Tyrosinase activity resulted higher in the top soil layer, while catechol oxidase activity was not affected by sampling depth. On the other hand, specific phenol oxidase activities were significantly affected only by sampling depth with the higher value at 20-40 cm depth.

Results confirm the necessity to use more than one substrate in order to adequately describe soil oxidative behavior, since enzymatic activity responds differently to changes in soil conditions.



## Uso dei Plant Growth Promoting Bacteria in agricoltura

Pasqua Murgese<sup>1</sup>, Marina Scagliola<sup>1</sup>, Pietro Santamaria<sup>2</sup>,  
Beniamino Leoni<sup>2</sup>, Carmine Crecchio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia

<sup>2</sup> Dipartimento di Scienze agro-ambientali e territoriali, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia

La rizosfera è definita come l'area di suolo influenzata dal sistema radici. Essa rappresenta una vera e propria nicchia ecologica ricca di elementi nutritivi, essudati radicali, microflora e microfauna.

A seconda dei loro effetti sulla pianta e del tipo di interazione con le radici, i microrganismi che colonizzano la rizosfera, possono essere classificati in patogeni ed utili.

Sono stati individuati molti microrganismi, sia funghi che batteri, capaci di interagire con la pianta esercitando su di essa un'azione benefica diretta e/o indiretta, svolgendo un ruolo fondamentale nella conservazione della fertilità del suolo.

Nel presente studio l'attenzione è stata rivolta ad un gruppo eterogeneo di batteri, definiti Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB), che favoriscono la crescita delle piante grazie alla loro azione biofertilizzante, biostimolante e bioprotettiva nei confronti dei patogeni.

L'obiettivo dell'attività di ricerca è, quindi, testare in vivo tre ceppi di PGPB (BFD160 *E. asburiae*, TFD26 *P. koreensis* e BFS112 *P. lini*, precedentemente isolati e caratterizzati in vitro per le loro elevate capacità di stimolare la crescita vegetale) su piante di *Cucumis melo* L., per valutare gli effetti di tali microrganismi sulle piante in un sistema pianta-suolo, e la concreta possibilità di utilizzo di questi microrganismi come biofertilizzanti.

L'impianto sperimentale ha previsto l'utilizzo di 4 tesi corrispondenti a 4 tipi di trattamenti differenti (soluzione di Hoagland tal quale ed a dose dimezzata con e senza inoculo settimanale di una miscela dei tre PGPB).

Alla fine del ciclo vegetativo sono stati valutati sia i parametri molecolari che fenotipici.

L'analisi molecolare ha incluso la valutazione dell'espressione genica di geni coinvolti nell'assorbimento di azoto, fosforo e ferro da parte delle piante. Questi geni, precedentemente allineati alle sequenze di riferimento disponibili su NCBI da BLASTn, sono stati amplificati utilizzando primers gene-specifici mediante Real Time-PCR.

Le indagini biochimiche e fisiologiche comprendono le misurazioni di parametri fisiologici, quali determinazione della capacità fotosintetica, di traspirazione e della conduttanza stomatica; quantificazione del contenuto di clorofilla e dei micro e macronutrienti; analisi di radici mediante scanner.

## Ritenzione di P organico durante la coprecipitazione ossidativa di Fe(II)

Veronica Santoro<sup>1</sup>, Maria Martin<sup>1</sup>, Cristina Lerda<sup>1</sup>, Marcella Sodano<sup>1</sup>,  
Giuliana Magnacca<sup>2</sup>, Daniel Said-Pullicino<sup>1</sup>, Per Persson<sup>3</sup>, Luisella Celi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO), Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Torino, Torino, Italia

<sup>3</sup>Department of Chemistry, Inorganic Chemistry, Umeå University, Umeå, Svezia

Nel suolo i processi abiotici hanno una grande influenza sul ciclo del fosforo (P), controllandone persistenza e disponibilità per il biota. L'affinità verso gli (ossi)idrossidi di Fe rende il P notevolmente legato al ciclo del Fe e alle sue trasformazioni redox Fe(II)/ Fe(III). Mentre l'adsorbimento di P è un processo ben noto, minor attenzione è stata posta alla coprecipitazione, anche se questa potrebbe influenzare l'entità, le cinetiche e i meccanismi di ritenzione delle diverse forme di P, specialmente in suoli soggetti ad alternanza di condizioni redox. Il lavoro ha lo scopo di comprendere il ruolo della coprecipitazione di diverse forme di P mediante la sintesi di sistemi a diverso rapporto P/Fe ottenuti con fosfato inorganico (Pi), inositolefosfato (IHP) e fosfatidilcolina (PC) durante l'ossidazione di Fe(II). A scopo comparativo, gli stessi composti sono stati adsorbiti su ferridrite (Fh). Sui materiali ottenuti sono stati determinati: contenuto di Fe e P, area superficiale specifica (SSA), porosità, carica superficiale e dimensione delle particelle. Per studiare i meccanismi di coprecipitazione sono state utilizzate le tecniche XRD, TEM, XPS e FT-IR.

Con tutti e tre i substrati, la coprecipitazione offre una maggiore ritenzione di P rispetto all'adsorbimento, ma per entrambi i processi l'ordine di ritenzione è IHP>Pi>PC. La cinetica di ossidazione e precipitazione di Fe(II) risulta rallentata in presenza di Pi rispetto alla preparazione di Fh pura: mentre a basse concentrazioni il Pi sembra interferire con il processo di cristallizzazione accumulandosi sulla superficie e portando a particelle nanometriche, altamente disperse, all'aumentare del rapporto P/Fe, le particelle risultano più aggregate, con SSA minore e maggiore porosità. Nonostante l'XRD mostri la formazione di FePO<sub>4</sub> amorfo, la superficie delle particelle è negativa, indicando che oltre a processi di precipitazione di sali fosfatici si formano particelle di ferridrite su cui il Pi si adsorbe. L'IHP, al contrario, accelera la cinetica di precipitazione del Fe(II) attraverso la formazione di complessi Fe-IHP che coprecipitano in strutture in cui l'IHP si trova più all'interno rispetto al Pi, come evidenziato dai rapporti P/Fe di superficie (XPS) e da una minore carica superficiale rispetto a quella ottenuta sui sistemi adsorbiti. Nell'interazione della PC con la Fh il meccanismo prevalente è invece la ritenzione idrofobica. La PC non influenza la precipitazione del Fe(II), neanche al variare del rapporto P/Fe, e la sua presenza porta a una diminuzione della SSA e del volume dei pori.

La coprecipitazione è quindi un processo di ritenzione molto importante e influenzato dalle forme di P, in termini quantitativi, cinetici e meccanicistici. La maggiore ritenzione di IHP rispetto a Pi e PC evidenzia che anche la coprecipitazione partecipa all'elevata stabilizzazione e accumulo selettivo di IHP nel suolo rispetto ad altri composti, modificandone biodisponibilità e persistenza.

**LIFE CarbOnFarm project: technologies to stabilize soil organic carbon and farm productivity, promote waste value and climate change mitigation (LIFE12 ENV/ IT 000719)**

Riccardo Spaccini<sup>1</sup>, Chiara Bertora<sup>2</sup>, Silvana Cangemi<sup>1</sup>, Vincenzo Di Meo<sup>3</sup>, Carlo Grignani<sup>2</sup>, Alessandro Piccolo<sup>1</sup>, Massimo Zaccardelli<sup>4</sup>, Giuseppe Celano<sup>5</sup>

<sup>1</sup>CERMANU-Università DI Napoli Federico II, via Università 100 80055 Portici NA

<sup>2</sup>DISAFA Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco TO

<sup>3</sup>DIA Università di Napoli Federico II Via Università 100 80055 Portici NA

<sup>4</sup>CREA-Centro ricerca orticoltura e florovivaismo, Via dei Cavalleggeri 25, 84098 Pontecagnano, SA

<sup>5</sup>DIFARMA Università degli Studi di Salerno, Via Giovanni Paolo II, 132 84084 Fisciano, SA

The LIFE CarbOnFarm project focus on the application of sustainable soil managements in agro-ecosystem based on the application of high quality composts. The goal is the restoration of SOM level and functions in agricultural soils, attained through the valorisation of local recycled agricultural biomasses. The project strategies are applied at farm scale in five project sites, located in Piemonte and in Campania regions in Italy, reproducing the local farming systems. Different compost are applied, depending on the local availability of organic waste and biomasses. In farm sites of Piemonte, the compost is produced from the solid fraction of anaerobic digestion of cattle slurry (solid digestate), while in Campania the compost is obtained by the farm biomasses and residues with *on-farm* composting facilities. The main objectives are the improvement in quantity and quality of soil organic carbon, the restoration of biological properties, the maintenance of crop productivity, the decrease of energetic inputs, the control of soil green house gases emissions.

After two year of project activities sounds indications were obtained on the effective contribution of humified composts to soil fertility and crop yields.

The analyses of compost from agricultural biomasses revealed a large content of humified hydrophobic molecules, associated with a suppressive propertie and biostimulation activity. The amended plots of each experimental site showed a significant increase of SOC with an incorporation of exogenous OM in bulk soils and soil aggregates and limited effect on GHG emissions. The addition of OM inputs promoted an overall improvement of soil biological activities, thereby producing also positive effects on crop productivity

## Valutazione dell'effetto del digestato solido e liquido prodotto in un impianto di biogas sulla qualità del suolo e sulla crescita delle piante

Fabio Valentinuzzi<sup>1</sup>, Luciano Cavani<sup>2</sup>, Stefano Cesco<sup>1</sup>, Tanja Mimmo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facoltà di Scienze e Tecnologie, Libera Università di Bolzano, Bolzano, Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Bologna, Italia

L'immissione nei suoli e nell'atmosfera di sostanze derivanti dalle attività zootecniche rappresenta una delle maggiori fonti di emissione di ammoniaca e di lisciviazione di nitrati nei suoli. Questa problematica è stata affrontata dalle direttive UE 2001/81/CE e 91/676/CEE al fine di garantire una maggiore tutela dell'ambiente e della salute umana. Lo smaltimento dei reflui zootecnici è diventata una sfida economica per gli agricoltori, pertanto la valorizzazione di questi reflui in un impianto di digestione anaerobica costituisce una soluzione alternativa. Inoltre, i sottoprodotti derivati (ad es. digestato solido e liquido) potrebbero essere utilizzati come fertilizzanti o ammendanti. Tuttavia, al variare delle materie prime e del processo utilizzato per la loro produzione, tali sottoprodotti potrebbero avere caratteristiche differenti, anche indesiderate, che necessitano la caratterizzazione e la valutazione della loro capacità fertilizzante. Il presente studio ha avuto quindi lo scopo di valutare l'effetto dei digestati ottenuti da un impianto di digestione anaerobica locale (Biogas Wipptal GmbH), sulla qualità del suolo e sulla crescita di diverse specie vegetali.

Un primo esperimento ha avuto lo scopo di valutare la mineralizzazione e il conseguente rilascio di azoto (N) nel suolo. Per questo motivo, suoli raccolti da un vigneto situato a Termeno (BZ) sono stati incubati per sette settimane con 100 mg N kg<sup>-1</sup> suolo, utilizzando le seguenti fonti: digestato solido, fertilizzante commerciale (4% N), urea (46% N). Successivamente, per valutare l'effetto dei digestati sulla crescita di piante di diverse specie vegetali (cetriolo, mais, miscela per prato stabile) è stato effettuato un esperimento in vaso con 5 diversi trattamenti: controllo (nessun aggiunta di N), digestato solido 75 o 300 mg N kg<sup>-1</sup> suolo, digestato liquido 37,5 o 75 mg N kg<sup>-1</sup> suolo. Sui suoli sono stati analizzati ad intervalli regolari, il pH, il fosforo disponibile e le concentrazioni di ammonio e nitrato. La crescita delle piante è stata monitorata misurando lo SPAD e la biomassa della parte aerea.

L'esperimento di incubazione ha mostrato come previsto un più alto rilascio di nitrato nei suoli trattati con urea. I parametri di qualità del suolo non sono stati influenzati negativamente dalle diverse fonti di N, mentre il digestato solido ha indotto un aumento del contenuto di fosforo disponibile. I primi risultati dell'esperimento in vaso hanno mostrato, nel caso del cetriolo, un significativo aumento della biomassa aerea e dell'indice SPAD nelle piante trattate con fertilizzante liquido. Tuttavia, un recupero dell'indice SPAD è stato osservato nelle piante trattate con digestato solido alla fine dell'esperimento. Sono in corso ulteriori analisi per la valutazione dell'effetto del digestato sia sui parametri di qualità del suolo, sia sulla disponibilità e sull'assorbimento dei nutrienti da parte delle piante.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Ricerca eseguita con contributo UE - Programma Life+: 2007-2013 (LIFE12 ENV/IT/000671 - LIFE-OPTIMAL2012).

## **SESSIONE SUOLO**

---

*Posters*

## **S1. Influenza della paleomorfologia e della gestione forestale sullo stock di carbonio nei suoli del bosco di Muzzana, Udine**

Gilberto Bragato<sup>1</sup>, Maria De Nobili<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Viticoltura ed Enologia, sede di Gorizia, Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria, Gorizia, Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Università di Udine, Udine, Italia

Indagando sul contenuto di carbonio nei suoli forestali del bosco di Muzzana (Udine) e di un'area deforestata limitrofa sono emerse indicazioni sui fattori che influiscono sull'accumulo di C in superficie e in profondità, nel caso di specie rappresentato in prima istanza dalla paleomorfologia della pianura friulana.

L'indagine è stata pianificata sulla base del piano di gestione forestale, considerando tre tipologie di gestione (ceduo, alto fusto e interventi di diversificazione) e l'effetto del disboscamento in un'area messa a coltura da oltre sessant'anni. A tale scopo è stato adottato un disegno di campionamento casuale stratificato. Tuttavia, essendo generiche le informazioni disponibili sui suoli e volendo indagare anche la variabilità spaziale dei dati, il disegno di campionamento è stato modificato per ottenere una distribuzione spaziale relativamente omogenea delle osservazioni. Gli strati principali sono stati quindi suddivisi in geostrati (strati delineati secondo le coordinate geografiche) per avere un totale di 130 punti di osservazioni.

Nei punti di osservazione è stato effettuato un campionamento con trivella manuale, raccogliendo campioni di suolo a due profondità (2-12 e 30-40 cm) e analizzandoli in laboratorio per il contenuto di C organico (Corg) e inorganico (Cin), e per alcuni attributi legati alla dinamica della sostanza organica, specificamente la quantità della biomassa microbica (usando il dsDNA come variabile proxy) e, per il solo strato superficiale, alcune attività enzimatiche.

Nei suoli forestali, l'analisi dei dati ha dato valori medi di Corg intorno a 65 g kg<sup>-1</sup> nello strato superficiale e 40 g kg<sup>-1</sup> nello strato sottosuperficiale, con differenze non significative tra le gestioni forestali. Un valore più basso (intorno a 30 g kg<sup>-1</sup>) è stato osservato nello strato superficiale del suolo messo a coltura, mentre in profondità il valore non si discostava significativamente da quello dei suoli forestali. Andamenti analoghi si osservano per il dsDNA e per le attività enzimatiche, mentre Cin presenta valori relativamente costanti in tutta l'area di studio.

L'analisi geostatistica non ha mostrato variazioni di rilievo riguardo al Cin, al dsDNA e alle attività enzimatiche e nello strato superficiale, mentre ha evidenziato un pattern spaziale del Corg legato alla morfologia delle superfici ereditata da un antico percorso del fiume Cormor inattivatosi oltre 10.000 anni fa. Valori elevati di Corg in tutto lo spessore del suolo si osservano nelle aree in cui l'acqua permane più a lungo durante l'inverno, in particolare nel paleoalveo che attraversa il bosco longitudinalmente e in una zona con ristagno superficiale imputabile ad una forte compattazione del suolo di origine verosimilmente pedogenetica.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

Le analisi del dsDNA e delle attività micorbiche sono state fatte secondo i suggerimenti del dott. Flavio Fornasier, che ringraziamo vivamente.

## S2. Analisi dei metaboliti del black carbon attraverso cromatografia liquida a scambio ionico

Giuseppe Di Rauso Simeone<sup>1,2</sup>, Marianne Benesch<sup>2</sup>, Bruno Glaser<sup>2</sup>, Maria A. Rao<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici, Italia

<sup>2</sup> Martin Luther University Halle-Wittenberg, Institute of Agronomy and Nutritional Sciences, Soil Biogeochemistry, Halle, Germany

Il black carbon (BC) è il prodotto della combustione incompleta di biomasse vegetali e combustibili fossili, rappresentato da un *continuum* di materiale parzialmente carbonizzato (biochar, grafite, etc.). Il BC, costituito da anelli aromatici con un diverso grado di condensazione, è un materiale piuttosto ubiquitario nell'ambiente che si ritrova nei suoli, nei sedimenti, nelle acque e nell'aria.

In letteratura sono riportati diversi metodi con i quali è possibile analizzare il BC. Tra questi quello che si basa sulla misura degli acidi policarbossilici (BPCA) è risultato piuttosto efficiente. Infatti, quando il suolo è trattato con un forte agente ossidante il BC presente è ossidato in BPCA da cui è possibile risalire quindi alla quantità di BC nel suolo nonché alle sue caratteristiche strutturali (grado di condensazione). Tuttavia, i BPCA sono già naturalmente presenti nei suoli, anche se in quantità limitate (Haumaier 2010).

Pertanto, lo scopo del nostro lavoro è stato quello di proporre un metodo per analizzare i BPCA liberi, indicati nel presente studio come black carbon metabolites (BCM), attraverso cromatografia a scambio ionico con rivelatore UV che potesse essere alternativo a quello proposto da Haumaier (2010) con analisi gas-cromatografica.

Il metodo ha permesso l'ottimizzazione del tempo di estrazione e del grado di purificazione del campione. Inoltre, con l'adozione della cromatografia a scambio ionico è stata evitata la derivatizzazione del campione. I risultati hanno mostrato che con il metodo proposto è possibile estrarre con NaOH i BCM dai campioni di suolo dopo 48 ore.

Una volta verificata l'efficienza, il metodo è stato validato estraendo i BCM naturalmente presenti in campioni di suolo con diverse caratteristiche. Le quantità di BCM variavano al variare delle caratteristiche chimico-fisiche dei suoli, quali pH, carbonio organico ed anche il contenuto di BC. Pertanto, tale metodo potrebbe essere utile per seguire il destino del BC, ad esempio il biochar, nel suolo stesso.

Haumaier L., 2010. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 173, 727-736.

### **S3. Approccio analitico integrato per la caratterizzazione di suoli inquinati da metalli pesanti**

Concetta Eliana Gattullo, Ignazio Allegretta, Carlo Porfido,  
Rosaria Mininni, Matteo Spagnuolo, Roberto Terzano

Dip. di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari, Bari, Italia

L'indagine del suolo e delle forme di inquinamento in esso presenti, fino a livelli micrometrici, è uno strumento essenziale ai fini della comprensione delle cause di inquinamento e della definizione e realizzazione delle strategie di bonifica. In presenza di inquinamento da metalli pesanti (MP), non è sufficiente individuare gli elementi con concentrazioni superiori ai valori soglia di contaminazione stabiliti dalla legge, ma occorre altresì indagare la speciazione dei MP e la loro biodisponibilità.

In questo studio, tecniche analitiche innovative che impiegano raggi-X e procedure convenzionali sono state utilizzate per caratterizzare alcuni suoli prelevati a Taranto e Altamura (BA), in siti contaminati da MP. Durante il campionamento, sono state individuate le zone a maggiore concentrazione di MP mediante fluorescenza portatile di raggi-X. I campioni sono stati sottoposti alle principali analisi chimico-fisiche, inclusa l'estrazione con DTPA. Il contenuto totale di MP è stato determinato con ICP-AES, dopo digestione acida in microonde. La distribuzione di MP nelle fasi solide del suolo è stata indagata mediante estrazioni sequenziali (metodo BCR modificato, 4 step), nonché analisi di microfluorescenza di raggi-X ( $\mu$ -XRF) su sezioni sottili di suolo. Un'aliquota finemente macinata di ciascun campione è stata analizzata mediante diffrazione di raggi-X quantitativa e fluorescenza di raggi-X a dispersione di lunghezza d'onda.

I due suoli di Taranto, simili tra loro per le proprietà fisico-chimiche (franco sabbiosi, calcarei, pH=8,  $C_{org}$  2,8%) e mineralogiche, sono risultati caratterizzati da un contenuto elevato di Cu (229 e 140 mg/kg), Pb (415 e 292 mg/kg) e Zn (636 e 574 mg/kg). La frazione estratta in DTPA non ha superato il 12% (Cu), 17% (Pb) e 5% (Zn) rispetto al totale. Le estrazioni sequenziali hanno rivelato che oltre il 92% di questi MP è associato alle frazioni recalcitranti del suolo. In media, il 76% (Cu), 60% (Pb) e 77% (Zn) sono stati determinati nella frazione residua, e il 22% (Cu), 36% (Pb) e 16% (Zn) al termine del IV step (frazione potenzialmente legata alla sostanza organica e ai solfuri). Le mappe  $\mu$ -XRF hanno rivelato una distribuzione eterogenea di Cu, Pb e Zn, con spot ad elevata concentrazione di dimensioni variabili. I tre MP sono risultati spesso associati tra loro, facendo ipotizzare la presenza di leghe metalliche (stagno al Pb) riconducibili ad attività militari pregresse svolte nel sito. Tali risultati, unitamente ai dati ecotossicologici che hanno rivelato l'assenza di fitotossicità dei suoli, dimostrano la limitata mobilità e disponibilità dei tre MP. Tuttavia, i livelli di Pb misurati nell'estratto di DTPA superano i valori mediamente riscontrati in suoli prossimi a reti stradali, indicando un potenziale rischio ambientale per questo elemento. I dati relativi al sito di Altamura sono in fase di acquisizione.

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

La ricerca è stata finanziata dal Programma "Future in research" (UE, Regione Puglia, A.R.T.I.).



## S4. Fe(III) fate after complexation with SOM pools under different land uses

Beatrice Giannetta<sup>1,2</sup>, Claudio Zaccone<sup>3</sup>, César Plaza<sup>4</sup>, Matthew G. Siebecker<sup>5</sup>,  
Costantino Vischetti<sup>1</sup>, Donald L. Sparks<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Agricultural, Food and Environmental Sciences, Polytechnic Univ. of Marche, Ancona, Italy

<sup>2</sup>Dept. of Plant and Soil Sciences, Univ. of Delaware, Newark, Delaware, United States

<sup>5</sup>Delaware Environmental Institute, Univ. of Delaware, Newark, Delaware, United States

<sup>3</sup>Dept. of the Sciences of Agriculture, Food and Environment, Univ. of Foggia, Foggia, Italy

<sup>4</sup>Institute of Agricultural Sciences Spanish National Research Council (CSIC), Madrid, Spain

Adsorption to mineral surfaces may affect soil organic matter (SOM) protection, stability, and long-term accumulation in different ways depending on its molecular structure and pedo-climatic conditions. Iron (Fe) oxides have been suggested as a key regulator in the soil C cycle, and Fe speciation in soils is highly dependent on environmental conditions and chemical interactions with SOM. However, the molecular structure and hydrolysis of Fe species formed in association with SOM is still poorly described. We hypothesize the existence of two pools of Fe which interact with SOM: mononuclear Fe(III)-SOM complexes and precipitated Fe(III) hydroxides.

To verify our hypothesis, we studied the interactions between Fe(III) and several physically fractionated SOM fractions. Specifically, we examined the fine silt plus clay (FSi+C) and fine sand (FSa) fractions, which were obtained by ultrasonic dispersion and wet sieving. Mineral-associated (Min) and free (FR) SOM were obtained using a densimetric physical fractionation. The soil samples spanned several land uses for comparison, including coniferous forest (FS C), grassland (GS), technosols (TS) and agricultural (AS) soils.

Batch experiments were conducted at pH 7 to investigate the formation and stability of Fe(III)-SOM complexes; each SOM fraction was reacted with an acidified Fe(III) nitrate solution. Solid phase products and liquid supernatants were analyzed for C and Fe content. X-ray diffraction (XRD) and Brunauer-Emmett-Teller (BET) were also performed. Attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) was used to assess the main C functional groups involved in C complexation and desorption experiments.

Spectra of the unreacted versus reacted SOM fractions revealed a shift of asymmetric carboxylic groups ( $1643\text{ cm}^{-1}$ ) probably due to mononuclear Fe(III)-OM complexation, only in GS. The presence of a peak at  $1160\text{ cm}^{-1}$  in the Min and FSi+C fractions of all land uses was associated with small changes in carboxylate groups. Changes in the IR region corresponding to carbohydrates occurred in all GS and TS fractions and could be indicative of hydrolysis products formation, maybe encapsulated by polysaccharides. Preliminary linear combination fitting (LCF) of Fe K-edge extended X-ray absorption fine structure (EXAFS) spectra suggested an increase of ferrihydrite from 49% in unreacted to 66% Fe(III) in reacted samples. Further EXAFS analyses will be conducted, to determine major Fe(III) species.

This approach will help reveal the mechanisms by which SOM pools can control Fe(III) speciation, and will elucidate how both Fe(III)-OM complexes and Fe(III) polymerization can affect SOM reactivity and, consequently, its mean residence time in different ecosystems.

**ACKNOWLEDGEMENTS** Portions of this research were carried out at Delaware Environmental Institute and at the Stanford Synchrotron Radiation Lightsource.

## **S5. Effetti sul contenuto e la distribuzione del C organico nel suolo ad un anno dal cambio agronomico-colturale da specie perenni ad annuali**

Paola Gioacchini, Daniela Montecchio, Claudio Ciavatta, Claudio Marzadori

Dipartimento di Scienze Agrarie, *Alma Mater Studiorum*, Bologna, Italia

Negli ultimi anni uno dei maggiori problemi ambientali è rappresentato dai cambiamenti climatici in atto dovuti all'aumento di gas serra emessi dalle varie attività umane. In questo contesto, l'agricoltura può giocare un duplice ruolo contribuendo a questo aumento o, al contrario, contenendo le emissioni di gas serra, in particolare di CO<sub>2</sub>, a seconda delle pratiche adottate e della gestione del suolo. In questo quadro le colture poliennali da energia, oltre a fornire una fonte di energia rinnovabile, sono in grado di apportare al suolo quantità di C molto elevate e di promuoverne il sequestro e la stabilizzazione grazie al fatto che il suolo rimane indisturbato durante l'intero ciclo produttivo.

Obiettivo del lavoro è stato quello di valutare la capacità di accumulo del C organico nel suolo indisturbato coltivato con due specie poliennali (*Miscanthus* ibrido x *Giganteus* e *Arundo donax* L) nell'arco dell'intero ciclo colturale, e l'effetto che la prima lavorazione per l'inserimento di colture annuali (frumento e mais rispettivamente) ha avuto sul contenuto e la distribuzione del carbonio stesso. I campioni di suolo sono stati prelevati dopo 10 e 14 anni (fine ciclo produttivo) dall'inizio dell'impianto delle poliennali, e dopo il primo anno della successione con le annuali. Il prelievo è stato effettuato ad una profondità di 60 cm, e i campioni sono stati separati in tre strati (0-15 cm; 15-30 cm e 30-60 cm).

Il contenuto di C organico negli ultimi 4 anni di ciclo produttivo è significativamente aumentato solo nello strato più superficiale, mentre i due sottostanti sono rimasti invariati. Con il passaggio alle annuali, il contenuto di C dello strato superficiale è sempre diminuito, mentre è aumentato nei due strati sottostanti ed in particolare in quello più profondo. Questo incremento è stato più accentuato nella successione colturale da Miscanto a frumento. In questo caso il suolo ha subito un'aratura come lavorazione principale, e il rivoltamento delle zolle ha portato in profondità grandi quantità di C dagli strati più superficiali portando ad un incremento netto del contenuto totale di C nel suolo di circa il 12%. Nella successione *Arundo*-mais, dove è stata effettuata solo l'estirpatura senza rivoltamento degli strati, il contenuto complessivo e la distribuzione di C nel suolo sono rimasti, invece, sostanzialmente simili a quelli del sistema indisturbato.

## S6. La frazione organica dei rifiuti solidi urbani come fonte potenziale di fosforo in agricoltura

Marco Grigatti, Claudio Ciavatta, Claudio Marzadori

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna – Bologna Italia

La frazione organica selezionata dei rifiuti solidi urbani (FORSU) può rappresentare una fonte di fosforo (P) in agricoltura, la cui disponibilità è però ancora poco studiata.

Nel presente studio due digestati provenienti dalla digestione anaerobica (DA) della FORSU in condizioni “wet” (DA<sub>1</sub>), e in condizioni “dry” (DA<sub>2</sub>) ed i rispettivi compost (ACM<sub>1</sub> e ACM<sub>2</sub>), sono stati analizzati per le principali caratteristiche fisico-chimiche, la stabilità biologica (OUR), e sottoposti a frazionamento del P-inorganico (P<sub>i</sub>) tramite estrazione chimica sequenziale (SCE).

Inoltre è stata valutata la disponibilità potenziale del P (P-Olsen) dei diversi prodotti in una incubazione in un suolo calcareo (30 mg P kg<sup>-1</sup>, 25 °C, 112 gg.), in comparazione con un controllo non fertilizzato (Ctrl), una fonte di P-inorganico (P-chem), ed un compost di riferimento (ACM<sub>ref</sub>).

I DA presentavano un OUR maggiore rispetto ai rispettivi ACM (59 vs. 7 mmol kg<sup>-1</sup>VS h<sup>-1</sup>). I DA mostravano inoltre uno specifico pattern di frazionamento (%) del P. DA<sub>1</sub>: NaHCO<sub>3</sub> (43)> HCl (35)> NaOH (12)> H<sub>2</sub>O (10). DA<sub>2</sub>: HCl (65)> NaHCO<sub>3</sub> (17)> H<sub>2</sub>O (15)> NaOH (3). Gli ACM presentavano caratteristiche simili ai DA di origine: ACM<sub>1</sub>: NaHCO<sub>3</sub> (43)> HCl (37)> NaOH (12)> H<sub>2</sub>O (7); ACM<sub>2</sub>: HCl (79)> NaHCO<sub>3</sub> (12)> H<sub>2</sub>O (6)> NaOH (3).

Nella incubazione in suolo DA<sub>1</sub> e ACM<sub>1</sub> presentavano il P-Olsen più elevato, sia all’inizio che al termine dell’esperimento (15 vs. 13 mg kg<sup>-1</sup>), in accordo con quanto determinato via SCE e molto simile a quanto evidenziato in P-chem (19-11 mg Kg<sup>-1</sup>). Nello stesso intervallo di tempo gli altri prodotti (DA<sub>2</sub> e ACM<sub>2</sub>) presentavano i valori minori (7 vs. 9 mg Kg<sup>-1</sup>), in linea con ACM<sub>ref</sub>.

I risultati evidenziano che la fase di compostaggio incrementa la stabilità biologica dei materiali, necessaria per il corretto impiego in campo, e che poco influenza il frazionamento del P che è determinato principalmente dalle caratteristiche dei DA (Ca:P; Fe:P).

Lo studio del frazionamento del P<sub>i</sub>, in particolare lo studio della frazione labile: (P<sub>i</sub>-H<sub>2</sub>O + P<sub>i</sub>-NaHCO<sub>3</sub>) può fornire utili indicazioni relative alla potenziale disponibilità dell’elemento in seguito alla addizione di DA e ACM in un suolo calcareo. Questo riveste particolare interesse nel breve-medio periodo tipico delle colture annuali.

## S7. Distribution of REEs in soil-(Citrus limon L. Burm.) system

Antonino Ioppolo<sup>1</sup>, Andrea G. Castrianni<sup>1</sup>, Filippo Saiano<sup>1</sup>, Eristanna Palazzolo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali Palermo, Italia

The consumers have an increasing interest about food traceability with respect to safety, quality and typicality issues. The knowledge of a chemistry relationship between the soil and the agricultural products is an important tool for the quality assessment of food. Citrus Limon is the most important fruit tree crop in the world and the detection of potential fraud could improve by using tools linking the chemistry composition of this production to its typical growing area. This study use rare earth elements (REEs) as geochemical tracers. The REEs are a set of 14 elements, from lanthanum to lutetium that can be divided in light rare earth elements (LREEs), from La to Gd and heavy rare earth elements (HREEs), from Tb to Lu. The REEs have recognized as very useful tracers due to their generally coherent and predictable behaviour. The aim of the research is to observe whether the fruits of various cultivars of citrus cultivated on the same soil and their products (fruit and juice) reproduce the same distribution of REEs. Taking into account of our previous works carried out on grapevine – soil system [1,2], we applied the same technique to evaluate and trace the REEs distribution in soil– Citrus Limon fruits system. Sampling of soil and of fruits was carried out in the CREA experimental farm located in Acireale (CT, Sicily) where are present several Citrus Limon cultivars cultivated in Sicily. The REEs amount, the HREEs/LREEs relations and their distribution in the fruit and citrus juice with respect to the own soil were determined and calculated. The intriguing results obtained with a geochemical approach are the first on the soil–Citrus Limon fruits system.

[1] A.Pisciotta, L.Tutone, F.Saiano Food Chemistry. 2017, 221, 1214–1220

[2] P.Censi, F.Saiano, A.Pisciotta, N.Tuzzolino Sci. Total Environ. 2014, 597–608

## **S8. Effects of Citrus essential oils on weed emergence and on soil microorganisms**

Antonino Ioppolo, Amira Jouini, Vito A. Laudicina, Eristanna Palazzolo

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

Weed invasion is a major problem for agricultural productivity since causes economic and environmental damages. Weed control can be achieved through chemical, mechanical, biological and cultural means. Although synthetic herbicides are effective for weed control, they have a negative impact on soil and the environment. Therefore, it is important to develop alternative means that are in the meanwhile effective and eco-friendly. EOs are commonly used for bactericidal, virucidal, fungicidal, antiparasitical, insecticidal, medicinal and cosmetic applications. Citrus EOs are the most widely used in the world for many purposes. Moreover, some studies have recently investigated their potential as herbicides. EOs can be extracted in different ways among which hydro distillation and cold pressing are commonly used. The two methods are based on different procedures. Hydro distillation is carried out with a Clevenger-apparatus that conducts the distillation process by boiling, condensing and decantation to separate the EOs.

The cold pressing consist of crushing and pressing the peels thus leading to the formation of a watery emulsion. Then, the emulsion is centrifuged to separate out the EOs. Since no external substance are needed, this process ensures that the resulting EOs retains all their properties.

The aim of this work was to evaluate the in vivo potential effects of Citrus EOs extracted by hydro distillation and cold pressing on weed emergence and on soil biochemical properties.

The topsoil (5 cm) of an Inceptisol within the campus of University of Palermo was used for the experiment. 500 g of soil, air-dried and sieved at 1 cm, were used to fill each of the 24 aluminium pots (10 x 20 cm). then, soils were brought up to 100% of their water holding capacity (WHC) by adding firstly 150 mL of tap water (2/3 of WHC) followed by 70 mL of tap water (1/3 of WHC), by a manual sprayer, containing 8 mL L<sup>-1</sup> of each one of the extracted EOs. Then, the soils were maintained at 50% of their water holding capacity during all the period of the experiment. Fitoil was used as emulsifier at a concentration of 1 ml L<sup>-1</sup>. Soils without EO, and with or without Fitoil, were considered as control. After one month the soils were moistened, plant biomass and height, and soil chemical and biochemical properties were evaluated. The experiment was carried out in quadruplicate to investigate the soil proprieties. In this work, the results are showed and discussed.

## S9. Soil bioindicators and weed emergence as affected by essential oils extracted from leaves of three different Eucalyptus species

Amira Jouini, Antonino Ioppolo, Luigi Badalucco,  
Eristanna Palazzolo, Vito A. Laudicina

Department of Agricultural, Food and Forestry Sciences, University of Palermo-Palermo, Italy

The widespread use of synthetic herbicides has resulted in herbicide-resistant weeds, altered ecological balance and negative effects on human health. To overcome these problems, efforts are being made to reduce the reliance on synthetic herbicides and shift to natural products. Essential oils (EOs) extracted from plants have been demonstrated to have potential herbicide activity. EOs, composed by volatile organic compounds and characterized by a strong odor, are used in the cosmetic, pharmaceutical and food industries as they are thought to be safe compounds for humans, animals, and the environment. EOs extracted from Eucalyptus leaves have antimicrobial, antiviral, fungicidal, insecticidal, anti-inflammatory, anti-nociceptive and anti-oxidant effects. Moreover, in vitro studies have demonstrated that they have inhibitory effects on germination of seeds of many crops and weeds.

The aim of this work was to evaluate the in vivo effects of EOs extracted from Eucalyptus leaves on both weed emergence and biochemical soil properties. Furthermore, since the diverse species of Eucalyptus have shown to have different biological activities, EOs were extracted from three Eucalyptus species (*E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. occidentalis*). Fresh leaves were collected from an afforested area near Piazza Armerina (province of Enna, Italy) and their EOs extracted by hydrodistillation. Soil samples were collected from the topsoil (<5 cm) of an Inceptisol within the experimental farm of the University of Palermo, air-dried and sieved at 1 cm. Five hundred grams of this soil were filled in each of 20 aluminum pots (10×20 cm). The soil samples were brought up to 100% of the water holding capacity (WHC) by adding 150 mL of tap water, followed by 70 mL of tap water containing 8 mL L<sup>-1</sup> of one of the three extracted EOs. This experimental test was repeated for remaining two EOs. Fitoil was used as emulsifier at a concentration of 0.1% (v/v). The control consisted of the soil treated as the EO treatment but with Fitoil only. The soils were incubated in greenhouse conditions. After 2 days, the 100% WHC halved and then it was kept to this level (50% WHC) by watering soil daily. The experiment was carried out in quadruplicate. After one month the soil were brought up to 100% of WHC, plant biomass and height of germinated weeds and soil biochemical properties were evaluated. This work reports the results and discuss them.

## S10. Extraction of humic substances: facts or artefacts?

Ali Khakbaz<sup>1</sup>, Carlo Bravo<sup>2</sup>, Marco Contin<sup>2</sup>, Daniele Goi<sup>2</sup>, Maria De Nobili<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Politecnico di Ingegneria e architettura, Università degli Studi di Udine, Udine, Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Università degli Studi di Udine, Udine, Italia

Humic substances are complex, recalcitrant compounds at the center of traditional views of soil organic matter (SOM) which emphasize the role of recalcitrant fractions in many environmental and agricultural functions of SOM. Moreover, the existence of a recalcitrant fraction was found essential for the functioning of the two most reliable C models, the Century and the Roth C. The quantification and characterization of the traditional humic C fraction was also proven to be useful in the evaluation of the quality of composts and sewage sludges for their use in agriculture.

The reliability of extraction of humic substances by alkaline extractants has been questioned many times in the past decades and was once again challenged in a recent paper published in Nature (Lehmann and Kleber, 2015). Because of the importance of humic C and its widespread use as a parameter for the characterization of SOM and of a wide range of organic amendants, spanning from biosolids to compost and anaerobic digestion effluents, it is important to re-examine the possibility of artefact formation during extraction.

Sphagnum moss and two peats at different stages of decomposition were extracted by NaOH solutions of different concentrations (0.1 and 0.5M), alkaline pyrophosphate, neutral pyrophosphate and water and extracts were fractionated according to the classic solubility scheme and to an SPE procedure. Fractions and whole extracts were quantified and characterised by UV-vis and fluorescence spectroscopy.

## **S11. Modelling decomposition, intermolecular protection and physical aggregation based on organic matter quality assessed by <sup>13</sup>C-CPMAS-NMR**

Guido Incerti<sup>1</sup>, Giuliano Bonanomi<sup>2</sup>, Tushar Chandra Sarker<sup>2</sup>, Francesco Giannino<sup>2</sup>,  
Fabrizio Carteni<sup>2</sup>, Pierluigi Mazzei<sup>3</sup>, Riccardo Spaccini<sup>2,3</sup>, Alessandro Piccolo<sup>2,3</sup>,  
Stefano Mazzoleni<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Agroalimentari Ambientali e Animali, Università di Udine, Udine, Italy,

<sup>2</sup> Dipartimento di Agraria, Università di Napoli Federico II, Portici, Italy,

<sup>3</sup> Centro Interdipartimentale di Ricerca CERMANU, Università di Napoli Federico II, Portici, Italy

Modelling organic matter decomposition is fundamental to predict biogeochemical cycling in terrestrial ecosystems. Current models use C/N or Lignin/N ratios to describe susceptibility to decomposition, or implement separate C pools decaying with different rates, disregarding biomolecular transformations and interactions and their effect on decomposition dynamics. We present a new process-based model of decomposition that includes a description of biomolecular dynamics obtained by <sup>13</sup>C-CPMAS NMR spectroscopy. Baseline decay rates for relevant molecular classes and intermolecular protection were calibrated by best fitting of experimental data from leaves of 20 plant species decomposing for 180 days in controlled optimal conditions. The model was validated against field data from leaves of 32 plant species decomposing for 1-year at four sites in Mediterranean ecosystems. Our innovative approach accurately predicted decomposition of a wide range of litters across different climates. Simulations correctly reproduced mass loss data and variations of selected molecular classes both in controlled conditions and in the field, across different plant molecular compositions and environmental conditions. Prediction accuracy emerged from the species-specific partitioning of molecular types and from the representation of intermolecular interactions. The ongoing model implementation and calibration are oriented at representing organic matter dynamics in soil, including processes of interaction between mineral and organic soil fractions as a function of soil texture, physical aggregation of soil organic particles, and physical protection of soil organic matter as a function of aggregate size and abundance. Prospectively, our model shall satisfactorily reproduce C sequestration as resulting from experimental data of soil amended with a range of organic materials with different biomolecular quality, ranging from biochar to crop residues. Further application is also planned based on long-term decomposition datasets from different natural and agro-ecosystems.



## S12. Effetto delle tecniche conservative sull'accumulo e sulle dinamiche della sostanza organica del suolo

Cristina Lerda, Daniel Said-Pullicino, Luisella Celi

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO), Italia

Le tecniche di agricoltura conservativa possono aumentare la sostanza organica nel suolo (SOM) con importanti effetti sulla fertilità chimica, fisica e biologica. Non sempre però tali effetti sono apprezzabili per la complessa interazione tra i processi che controllano l'accumulo e il turnover della SOM. E' fondamentale quindi individuare pools di sostanza organica più labili e più reattivi che possano essere importanti indicatori di tali dinamiche. Questo lavoro si inserisce all'interno del progetto HELPSOIL LIFE12ENV/IT/000578 e ha lo scopo di confrontare, in alcune aziende agricole della Pianura Padana, tecniche conservative (AC) con quelle tradizionali (AT), valutando come il tempo di applicazione e l'intensità delle lavorazioni, passando dall'aratura all'erpicoltura alla minima lavorazione fino alla semina su sodo, possano influire sulle dinamiche della SOM e sulla sua distribuzione tra forme labili e quelle stabilizzate fisicamente o chimicamente con la fase minerale. Sui campioni di suolo prelevati a tre diverse profondità, è stato determinato, oltre al contenuto di carbonio organico (TOC) e di azoto totale, anche il frazionamento densimetrico, metodo che prevede la separazione della SOM in una frazione libera (fPOM), una occlusa fisicamente negli aggregati (oPOM) e una associata chimicamente alla frazione minerale (MOM).

Nelle aziende dove le pratiche conservative sono in atto da più di 5 anni si evidenziano, rispetto agli appezzamenti AT, importanti aumenti di TOC, fPOM e oPOM sia negli strati superficiali sia in quelli più profondi, con una tendenza ancora più marcata dove l'AC viene praticata da oltre 10 anni. Al contrario, nelle aziende dove l'AC è applicata da meno di 5 anni o dove i suoli hanno una bassa fertilità, non si riscontra alcun effetto positivo. Nelle stesse aziende si evidenziano però, nei trattamenti con semina su sodo, valori sempre più alti di fPOM e oPOM, indicando un iniziale processo di accumulo della sostanza organica.

In un'altra serie di aziende, la semina su sodo è stata confrontata con tecniche di lavorazione dalla più aggressiva in termini di disturbo come l'aratura a quella meno impattante come lo *strip till*. Solo l'aratura, rispetto a tutte le altre tecniche tradizionali e alla semina su sodo, presenta un minor contenuto di TOC, mentre la semina su sodo evidenzia di nuovo negli strati superficiali aumenti di fPOM e di oPOM

L'agricoltura conservativa determina quindi un accumulo di TOC laddove il suolo risulta avere un buon grado iniziale di fertilità, in quanto sono molteplici i fattori che influiscono sull'accumulo e sulla stabilizzazione della SOM, primo fra tutti il tempo. Effetti marcati si osservano anche nel breve periodo sull'aumento dell'fPOM e oPOM, che possono favorire una migliore aggregazione, portando nel tempo ad un aumento della SOM e della fertilità complessiva del suolo.

### S13. Effects of thyme (*Thymbra capitata* (L.) Cav.) essential oil and its main constituent carvacrol on weeds and soil microorganisms

Martina Oddo<sup>1</sup>, Mercedes Verdeguer M.<sup>2</sup>, Adela Sánchez-Moreiras M.<sup>3</sup>,  
Eristanna Palazzolo<sup>1</sup>, Luigi Badalucco<sup>1</sup>, Vito Armando Laudicina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italy

<sup>2</sup>Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain

<sup>3</sup>Departamento de Biología Vegetal y Ciencias del Suelo, Universidad de Vigo, Vigo, Spain

Essential oils (EOs) are very complex natural mixtures of lipophilic substances, such as terpenoids, aromatic compounds, oxides, ethers, alcohols, esters, aldehydes and ketones, at different concentrations. They are extracted by hydrodistillation from plant tissues, mainly aerial parts (leaves, flowers or fruits). The EOs are aromatic, characterized by a pungent odour, limpid and differently coloured, soluble in organic solvents with a density lower than water. Many studies have demonstrated that EOs have microbiocidal, insecticidal and herbicidal activities. *Thymbra capitata* (L.) Cav.), as many Lamiaceae, is traditionally used as spice in Europe. The antimicrobial effects of its essential oil has been studied both in agriculture and for human purposes, and it has shown herbicidal potential both in vitro and pot experiments. The main constituent of thyme (*T. capitata*) EO is carvacrol that negatively affects pests and weeds, human pathogens and phytopatogens. Moreover, it has been reported that carvacrol inhibited weed germination in vitro conditions.

Our aim was to investigate the *in vivo* effects of *T. capitata* EO and carvacrol, applied in vivo in greenhouse conditions, on weeds emergence and soil microbial biomass, activity and community structure.

The soil used was collected from the topsoil (0-5 cm) of an organic tangerine orchard, in Puçol, Comunitat Valenciana (Spain). The soil was air dried and sieved at 4 mm. In each of ninety-six (12 per treatment) rectangular plastic containers (17.5 x 12 x 8 cm) first were put 45 g of perlite (2.5 cm height) and then 1 kg of soil more (total height 7.5 cm). The soil was brought to 2/3 of its water holding capacity (WHC) by adding tap water (373 mL) and then the EO treatments were applied until completing the 1/3 of WHC remaining (186.5 mL): water (control), water plus Fitoil (control with Fitoil), *T. capitata* EO and carvacrol each at three different concentrations, i.e. 2, 4 and 8 µL/mL for *T. capitata* and the equivalent doses for carvacrol, considering its content in the *T. capitata* EO (72.3%, v/v). *T. capitata* and carvacrol were emulsified with Fitoil, an organic emulsifier (0.1% (v/v) Fitoil in tap water). The EO treatments were applied by a manual sprayer. After the applications, soil containers were incubated in greenhouse conditions. Just after 3 days the 100% WHC halved and then it was kept to this level by watering soil each two days. On days 30, 60, 120 and 180 since the beginning of the incubation, three pots per treatment were selected to determine the number of emerged weeds, the seedlings and roots length, their fresh and dry weight, and the coverage. Then, the same 3 pots were destructively sampled and the soil analysed to determine the microbial biomass carbon, extractable organic carbon, soil respiration and phospholipid fatty acids profile.

Results were then discussed.

## **S14. La ricerca in chimica agraria: la sostanza organica protagonista nei processi di degradazione/adsorbimento di contaminanti nel suolo e nelle acque**

Scrano L., Lelario F., Santacroce M., Bufo S.A.

Dipartimento di Scienze, Università della Basilicata, Potenza, Italia

La sostanza organica, risultato della trasformazione chimica e biologica di residui vegetali, animali e microbici, contribuisce alla nutrizione delle colture ed al miglioramento della struttura del suolo. Questo mix di prodotti organici, estremamente eterogeneo, la cui composizione e strutturazione è dipendente dalla matrice di partenza, dalla varietà delle reazioni chimiche coinvolte e dal contesto ambientale in cui si forma, influenza nel suolo e nelle acque i processi di adsorbimento/ degradazione e fotodegradazione di contaminanti.

Alcune sostanze, ad esempio, svolgono un ruolo estremamente importante e controverso durante i processi fotodegradativi poichè posseggono gruppi funzionali organici capaci di assorbire nella regione dell'ultravioletto agendo sia da fotosensibilizzanti che da quencers.

In questo lavoro sono descritti alcuni casi- studio condotti sia in sospensione acquosa sia in fase adsorbita in cui si evidenzia il ruolo della sostanza organica nella degradazione di differenti classi di erbicidi (difenileteri, imidazolinoni, triazine, feniluree).

Le prove in sospensione hanno messo in evidenza un effetto generalizzato di fotosensibilizzazione solo quando le sostanze umiche sono presenti in concentrazioni non troppo elevate. In questa situazione, infatti, possono prevalere reazioni di fotoradicalizzazione delle molecole umiche con attivazione indiretta delle reazioni di fotolisi. Al contrario, concentrazioni maggiori di sostanze umiche favoriscono processi protettivi dovuti all'adsorbimento, se non addirittura fenomeni di scattering della luce con una drastica riduzione della radiazione efficace.

In fase adsorbita su strato sottile il contributo della sostanza organica del suolo all'attivazione indiretta delle reazioni fotolitiche o fotossidative riguarda uno spessore di suolo non superiore al millimetro. Al di sopra di tale spessore l'adsorbimento è il fenomeno prevalente.

## **S15. Fango di *Jatropha* come ammendante per un agricoltura sostenibile**

Giovanna Settineri<sup>1</sup>, Teresa Papalia<sup>1</sup>, Federico Romeo<sup>1</sup>,  
Adele Muscolo<sup>1</sup>, Maria Rosaria Panuccio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di AGRARIA, Università Mediterranea, Feo di Vito 89122-Reggio

A causa del progressivo esaurimento delle riserve petrolifere e delle crescenti emissioni di gas serra nell'ambiente, vi è un urgente bisogno di utilizzare energie alternative e sostenibili. La *Jatropha curcas* L. pianta arbustiva perenne originaria del Kenya, che ha la capacità di crescere su terreni marginali, produce semi la cui spremitura porta a grandi quantità di olio utilizzabile come biocarburante e residui solidi (seed cake) e fanghi difficili da smaltire per l'elevato contenuto di olio residuo, minerali, proteine e composti tossici. Lo scopo del presente lavoro è stato quindi quello di valorizzare questo sottoprodotto utilizzandolo come ammendante per migliorare la fertilità del suolo. Il fango è stato dapprima caratterizzato chimicamente e poi utilizzato alla concentrazione del 25%, stabilita sulla base del carbonio organico contenuto, per ammendare due suoli con caratteristiche diverse: un suolo sabbioso-franco e uno franco-sabbioso. I risultati ottenuti hanno evidenziato che il fango ha una elevata quantità di sostanza organica, un pH vicino alla neutralità e un basso contenuto di azoto. Dopo 30 giorni sono state analizzate le proprietà fisiche chimiche e biologiche dei suoli ammendati rispetto a quelli non ammendati (suoli controllo) ed è stato osservato un incremento di C organico e un abbassamento del valore di N che giustifica l'elevato rapporto C/N dei suoli trattati rispetto a quelli controllo. L'elevato rapporto C/N indica che prevale nei suoli trattati il processo di umificazione rispetto a quello di mineralizzazione con incremento della fertilità potenziale del suolo. La biomassa microbica (MBC), il numero delle colonie fungine e batteriche e l'attività idrolitica del suolo sono significativamente aumentate nei suoli ammendati rispetto ai suoli controllo mentre vi è stata una diminuzione dell'attività ossidoreduttasica. Questi risultati indicano che probabilmente, l'aggiunta del fango ha determinato lo sviluppo di microrganismi produttori di enzimi idrolitici. In aggiunta, i risultati hanno anche evidenziato che nel suolo franco-sabbioso con presenza di carbonati e con pH alcalino, l'aggiunta del fango ha diminuito il pH, portandolo a valori di neutralità. In breve il fango di *Jatropha* aumenta la dotazione di sostanza organica, creando le condizioni favorevoli per lo sviluppo dei microrganismi che hanno un ruolo chiave nel ciclo dei nutrienti e nel funzionamento degli ecosistemi influenzando indirettamente la fertilità e la produttività dei suoli. Il fango di *Jatropha* può essere quindi utilizzato per il recupero dei suoli delle aree marginali e desertificate, di suoli alcalini-calcarei e come ammendante al posto dei fertilizzanti di sintesi per un agricoltura sostenibile e un incremento della bioeconomy.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

PO Calabria FESR 2007-13- Progetto Si.Re.Ja

## **S16. Distribuzione dell'As nelle classi granulometriche e valutazione dell'erodibilità in un suolo contaminato**

Silvia Stanchi<sup>1</sup>, Elena Zanzo<sup>1</sup>, Marco Prati<sup>1</sup>, Ramona Balint<sup>1</sup>, Luisella Celi<sup>1</sup>,  
Elisabetta Barberis<sup>1</sup>, Maria Martin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO), Italia.

Siti con concentrazioni particolarmente elevate di metalli pesanti e metalloidi nel suolo possono diventare sorgente di contaminazione ambientale in seguito alla solubilizzazione dei contaminanti, ma anche per mobilizzazione del particolato contenente gli elementi tossici. I siti minerari abbandonati della Valle Anzasca, nel Piemonte Nord-Occidentale, presentano zone in cui la concentrazione dell'arsenico è elevatissima, nell'ordine di alcune decine di g kg<sup>-1</sup>, soprattutto in corrispondenza delle discariche dei detriti minerari. Studi precedenti hanno mostrato una certa stabilità dell'As legato alle fasi solide rispetto al rischio di solubilizzazione; tuttavia, poiché questi materiali, di granulometria variabile, si trovano sui pendii scoscesi di una stretta valle, anche l'erosione potrebbe concorrere alla diffusione dell'inquinante sotto forma di particolato. La probabilità che la zona interessata dalla contaminazione si espanda, raggiungendo anche il corso d'acqua, dipende dunque anche dalla concentrazione del contaminante nelle fasi solide del suolo, nonché dalla vulnerabilità all'erosione.

L'analisi di campioni di suolo provenienti da profili scavati lungo il pendio, a partire dal cumulo di detriti fino ai margini del corso d'acqua, ha evidenziato la prevalente associazione dell'As al particolato fine, anche se l'incidenza di quest'ultimo nella composizione granulometrica del campione varia molto, aumentando al diminuire della quota, al contrario del contenuto totale di As. Il coefficiente di erodibilità K del modello RUSLE, è positivamente correlato con le frazioni del limo e della sabbia fine, mentre manca una correlazione con il contenuto di sostanza organica, anch'esso crescente al diminuire della quota. I suoli più erodibili sarebbero quindi quelli che si trovano più a valle, per via del loro maggior contenuto di sabbia fine e limo, mentre quelli a monte, più contaminati, risulterebbero più stabili all'erosione idrica in virtù di una granulometria più grossolana. L'arricchimento in frazioni fini presenti a valle potrebbe derivare dall'erosione dei siti contaminati più a monte. Tuttavia questo appare poco probabile, perché il loro contenuto in As è relativamente modesto rispetto a quello dei profili a monte; inoltre, in questi ultimi, il topsoil non pare impoverito di As, né, in generale, di limo e sabbia fine, rispetto agli orizzonti sottostanti. Il sito in oggetto sembra dunque soggetto a una mobilità del contaminante relativamente limitata, anche per quanto riguarda la forma particolata associata al run-off di superficie. La particolare morfologia del sito e l'instaurarsi di una notevole copertura vegetale, a dispetto delle elevate concentrazioni di As, potrebbero aver contribuito alla stabilizzazione dei suoli contaminati rispetto ai processi di erosione idrica del topsoil.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

Questa ricerca è stata finanziata dal MIUR, progetto PRIN 2010-11, e dai fondi per la ricerca locale dell'Università degli Studi di Torino 2015 e 2016.

## **SESSIONE PIANTA**

---

### *Comunicazioni orali*

## **Heavy metals – about the role of the vacuole in detoxification, phytoremediation and safe food**

Enrico Martinoia

Department of Plant and Molecular Biology, University Zurich, Switzerland

Every living organism needs essential heavy metals such as iron and zinc. However, if plants grow on soils containing high concentrations of these metals or of non-essential, toxic metals and metalloids such as cadmium or arsenic they may accumulate them at concentrations toxic for their growth as well as for animals and humans feeding these plants. For plants, one of the major steps to survive in heavy metal contaminated soils consists in depositing heavy metals safely into the large central vacuole. To be efficiently stored in this metabolic nearly inactive compartment, complexing agents such as carboxylates, nicotianamine or phytochelatins have also to be transported concomitantly with heavy metals into the vacuole in order to avoid that they can be transported back to the cytosol. Our laboratory is interested since many years in heavy metal resistance and especially in the role of the vacuole in heavy metal detoxification. On one side this knowledge will provide us with basic knowledge how plants deal with abiotic stresses, on an other side this knowledge can be exploited to learn which strategies should be applied in plant breeding and which are the most promising approaches allowing to produce plants that can clean up the environment and that accumulate less toxic metals in the edible parts. In the first part of my talk I will show how we succeeded to identify two vacuolar ABC transporters acting as the long-sought phytochelatine transporters. These transporters play a central role in providing resistance to plants against arsenic, mercury and cadmium. In the second part I will discuss how we identified the corresponding transporter in rice. Due to the complex anatomy this transporter plays mainly a role in nodes, which are the crossroads for the delivery of inorganic nutrients to the different parts of this crop. Absence of this transporter results in an increased arsenic content in grains. Finally I will discuss two biotechnological approaches. The first one was carried out with poplar. The goal was to produce plants that can be used for phytoremediation/phytostabilisation. The second approach deals with arsenic in rice fields. This is extremely important in India and Bangladesh, where rice is a staple food. Paddy fields of these countries contain very high amounts of arsenic due to irrigation with arsenic-containing water in former times. Rice growing on these soils takes up high arsenic concentrations which is transferred to grains and enters in the food chain. This has a toxic effect for the population. Therefore we have the goal to produce rice plants that accumulate much less heavy metals in rice grains.

## Attività fitotossica del monoterpene fenolico timolo su pianta adulta di *A. thaliana*: un approccio fisiologico, molecolare e metabolomico

Fabrizio Araniti, Antonio Lupini, Antonio Mauceri,  
Francesco Sunseri, Maria Rosa Abenavoli

Dipartimento di AGRARIA, Università Mediterranea di Reggio Calabria, Feo di Vito, I-89124 Reggio Calabria, Italy.

Il timolo è un monoterpene fenolico naturale, derivante dal cymene, ampiamente prodotto da diverse specie appartenenti alla famiglia delle Labiateae. Sebbene la fitotossicità di questa molecola sia stata già in parte esplorata, vi è una limitata conoscenza degli effetti indotti sulla fisiologia e sul metabolismo delle piante. A tal fine, la specie modello *Arabidopsis thaliana* è stata trattata per 16 giorni per subirrigazione con 300  $\mu\text{M}$  timolo. I risultati hanno confermato l'elevato potenziale fitotossico del timolo, il quale ha causato una riduzione dello sviluppo delle piante accompagnata da un'elevata produzione di antociani e dalla formazione di aree necrotiche sulle lamine fogliari. Inoltre, le piante mostravano una forte riduzione del contenuto proteico totale, del peso fresco e secco e del loro rapporto, ed un aumento del contenuto di  $\text{H}_2\text{O}_2$  e del potenziale osmotico fogliare. L'analisi metabolomica ha inoltre evidenziato un forte incremento del contenuto in zuccheri ed amminoacidi, quali galattinolo e prolina, noti per il loro coinvolgimento nei meccanismi di osmoprotezione. Il timolo causava inoltre un'alterazione del contenuto in pigmenti fotosintetici, un incremento di sensibilità alla luce ed una riduzione dell'efficienza del PSII. Le rosette delle piante trattate erano caratterizzate da un aumento di  $\text{Na}^+$  e  $\text{NH}_4^+$ , nonché da una riduzione del contenuto in  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Ca}^{2+}$ . Allo stesso tempo, si è osservata un'alterazione dell'espressione di diversi geni coinvolti nel trasporto a breve e lunga distanza di questi ioni. In conclusione, i risultati ottenuti suggeriscono che il timolo è una molecola estremamente fitotossica capace di indurre un forte stress ossidativo e di influenzare lo sviluppo delle piante alterando l'assorbimento dei nutrienti ed il processo fotosintetico.

### ACKNOWLEDGEMENTS

La ricerca è stata supportata dal MIUR (Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca), progetto SIR-2014 cod. RBSI14L9CE (MEDANAT).



## Effect of localized S application on capability to cope with Fe deficiency of tomato plants grown in split-root system

Stefania Astolfi<sup>1</sup>, Eleonora Coppa<sup>1</sup>, Silvia Celletti<sup>1</sup>,  
Youry Pii<sup>2</sup>, Tanja Mimmo<sup>2</sup>, Stefano Cesco<sup>2</sup>

<sup>1</sup>DAFNE, University of Tuscia, via S.C. de Lellis, 01100 Viterbo, Italy

<sup>2</sup>Faculty of Science and Technology, Free University of Bozen-Bolzano, 39100 Bolzano, Italy

It has been recently demonstrated an important interplay between sulfur (S) and iron (Fe) in tomato (Zuchi et al., 2009, 2015). S shortage hinders Fe deficiency response by blocking ethylene production, and limiting the activity and the expression of both Fe(III)-chelate reductase (FRO1) and Fe<sup>2+</sup> transporter (IRT1) (Zuchi et al., 2009), whereas Fe shortage modulates sulfate uptake and assimilation rate (Zuchi et al., 2015). This link has been attributed to the involvement of methionine in the synthesis of S-adenosine methionine (SAM), the common precursor of nicotianamine (NA) and ethylene (Guerinot and Yi, 1994).

Following up on our previous studies, which demonstrated that Fe use efficiency increased under adequate S supply, a split-root experiment was performed to determine whether plant S status and/or S external concentration could modify plant capability to uptake and accumulate Fe. This split-root hydroponics system allowed the root system of each tomato plant to grow in two different compartments, both Fe-deficient, but one S-sufficient, and the other one S-deficient.

The split-root experiment allowed to manipulate separately the S status of the root environment and of the plant, and thus to separate systemic and local effects.

Since one half of the root system received adequate S supply, symptoms typically induced by S deficiency were not expected to appear. Accordingly, no significant differences in root fresh weight were found between treatments. However, half of the root apparatus subjected to S deficiency showed a decrease of total S, thiols and protein content, which were closely related to enhanced activity of both ATPsulfurylase (ATPS) and O-acetylserine(thiol)lyase (OASTL), two enzymes involved in the assimilatory pathway, and higher expression of *SIST1.1*, encoding a high affinity sulfate transporter.

On the other hand, we found that S-free external medium stimulated Fe(III) reducing capacity (40%) and up-regulated expression of *SIFRO1*. The expression of both *SIFRO1* and *SIIRT1* genes is controlled by the bHLH transcription factor SIFER, which accordingly showed the same pattern of regulation as *SIFRO1*. However, the absence of S supply to half of the root system did not affect *SIIRT1* expression.

Summarising, root sulfate uptake and assimilation rate was greater in S-deficient half of root system compared to S-sufficient one, as commonly occurs under S deficiency condition, although S was freely available to half of the roots and thus plant optimal S status was preserved. This phenomenon could be likely ascribed to the S status of the root environment rather than to plant S status. Furthermore, in contrast with our previous studies, data showed that the same S-deficient half of root apparatus showed an improved capability to cope with Fe deficiency, but the two different steps (reduction and transport) of Strategy I mechanism seem to be regulated by different mechanisms.

## Time-course del profilo metabolico e proteomico in radici e foglie di mais in risposta a diverse disponibilità di nitrato e ammonio

Bhakti Prinsi<sup>1</sup>, Emilio Gasparini<sup>1</sup>, Luca Espen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali – Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Nei suoli agrari, le piante utilizzano prevalentemente l'azoto (N) sotto forma di nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) e ammonio ( $\text{NH}_4^+$ ). L'utilizzo dell'N richiede una stretta coordinazione del metabolismo radicale e fogliare, per adeguare sia i sistemi di assorbimento e assimilazione, sia il metabolismo del carbonio, necessario per fornire scheletri carboniosi, potere riducente ed energia. Inoltre, l'utilizzo da parte delle piante di  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  richiede risposte diversificate. Infatti, se da un lato l'assimilazione del  $\text{NO}_3^-$  necessita anche la fase di riduzione, dall'altro, l' $\text{NH}_4^+$  è direttamente assimilabile, ma concentrazioni eccessive possono provocare squilibri metabolici. Infine, un'osservazione interessante è che la crescita di molte piante è favorita dalla presenza contemporanea di entrambi i nutrienti.

Questa ricerca si pone l'obiettivo di ampliare le conoscenze biochimiche riguardo le risposte delle piante a  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  e le influenze reciproche fra i due nutrienti. In particolare, lo studio è rivolto alla descrizione delle variazioni nel tempo dei profili metabolici e proteomici in radici e foglie di mais (*Zea mays* L.).

Le piante di mais, allevate in coltura idroponica per 8 giorni, sono state esposte a diverse condizioni: alta disponibilità di  $\text{NO}_3^-$  (5 mM), alta disponibilità di  $\text{NH}_4^+$  (5 mM) e presenza contemporanea dei due nutrienti ( $\text{NO}_3^-$  2.5 mM,  $\text{NH}_4^+$  2.5 mM). Foglie e radici sono state collezionate dopo 6h, 30h, e 54h ed utilizzate per l'analisi dei livelli dei principali metaboliti e per analisi proteomiche ad ampio spettro.

Le analisi della biomassa delle piante, delle concentrazioni di  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NH}_4^+$  nei due organi, così come degli zuccheri riducenti, saccarosio e amminoacidi, hanno confermato l'efficacia del trattamento e l'induzione dei processi assimilativi. Inoltre, i dati ottenuti hanno suggerito l'instaurarsi di meccanismi di controllo dell'omeostasi dei due nutrienti ed evidenziato assetti metabolici diversificati in funzione delle condizioni di allevamento. L'analisi proteomica dei campioni fogliari e radicali è stata condotta con recenti approcci di spettrometria di massa, che permettono la contemporanea quantificazione relativa di centinaia di proteine. L'analisi ha confermato come i diversi assetti metabolici siano associabili a variazioni di specifiche proteine, con andamenti distinti fra radici e foglie. Ad esempio, a livello radicale sono risultati diversamente regolati enzimi coinvolti nell'assimilazione dell'N, nel metabolismo amminoacidico e proteico, nell'omeostasi redox. Nelle foglie, è stato altresì possibile osservare risposte inerenti al metabolismo del carbonio, alla funzionalità fotosintetica e alla risposta a stress abiotico.

Nel complesso, lo studio aggiunge nuove informazioni sulle risposte biochimiche, e sulla loro dinamica, alla disponibilità e alla forma di nutriente azotato in piante di mais.

## Genome-wide association study for mild-salt tolerance in rice

Michele Pesenti<sup>1</sup>, Gabriele Orasen<sup>1</sup>, Alessandro Abruzzese<sup>1</sup>, Moez Maghrebi<sup>1</sup>, Marta Dell'Orto<sup>1</sup>, Patrizia De Nisi<sup>1</sup>, Elena Baldoni<sup>1</sup>, Avinash C. Rai<sup>1</sup>, Andrea Volante<sup>2</sup>, Giampiero Valè<sup>2</sup>, Noemi Negrini<sup>1</sup>, Silvia Morgutti<sup>1</sup>, Gianpiero Vigani<sup>1</sup>, Fabio F. Nocito<sup>1</sup>, Gian Attilio Sacchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali – Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

<sup>2</sup>Unità di ricerca per la risicoltura - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA), Vercelli, Italia

Soil salinity is one of the environmental constraints that affect crop cultivation worldwide. Among cereals, rice (*Oryza sativa* L.) is one of the most salt-sensitive although cultivars can differ in their response to salt stress. In European coastal rice areas, salty raining and the salt wedge intrusion phenomenon caused by the rise in the sea levels consequent to the ongoing climate changes are provoking a tendency toward salinization in the adjacent paddy fields where rice is grown. Thus, the identification of rice cultivars tolerant to salt stress and the dissection of salt stress tolerance mechanisms are of high interest for European rice breeding.

Plant response to salt stress is a complex trait, depending on the combination of many genes and metabolic pathways, and thus difficult to control and engineer. Exploiting natural variation occurring in worldwide genotypes may be a powerful approach to discover new genes involved in salt tolerance. In this context, a phenotyping activity has been performed in a greenhouse to study the natural variation of a worldwide japonica rice collection (281 cultivars) in the responses to mid-salt stress. Plants were grown, under submerged conditions, in pots containing paddy soil and measurement of some physiological traits such as, seedling emergence percent; plant height, chlorophyll a fluorescence on the flag leaf 10 days after flowering, delay in flowering; infrared thermography, was assessed. Moreover, visual salt injuries at vegetative stage were determined by using the Standard Evaluation Score (SES) proposed by IRRI

To identify significant loci putatively involved in salt tolerance a genome wide association study (GWAS) was performed. For this purpose the stress susceptibility index (SSI) was calculated for all the phenotypic traits analyzed by using the following formula:  $SSI = (1 - Y_s/Y_p)/D$ , where  $Y_s$  is the mean performance of a genotype under stress,  $Y_p$  is the mean performance of the same genotype without stress,  $D$  (stress intensity) =  $1 - (\text{mean } Y_s \text{ of all genotypes}/\text{mean } Y_p \text{ of all genotypes})$ . Results highlighted a variability among the genotypes in response to the treatment, suggesting that the rice population used might be a good resource for the discovery of traits related to salt stress response. Moreover, the GWAS identified several significant associations between SNPs and the analyzed salt stress-related traits. In particular 24 most significant loci were identified. The analysis of these gene is still in progress.

### ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge the support of NEURICE project (Grant Agreement n. 678168).

## The “privilege” of being red: a comprehensive picture of the photoprotective mechanisms adopted by anthocyanin-equipped and green-leafed morphs of sweet basil

Marco Landi<sup>1</sup>, Lucia Guidi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Pisa, Department of Agriculture, Food and Environment, Via del Borghetto 80, I-54124, Pisa, Italy.

After more than three decades of extensive research, whether the light abatement exerted by epidermal anthocyanins represents their main ecological function remains a highly debated matter. In addition, the differences on the investment of carbon to phenylpropanoid biosynthesis between green- and anthocyanin-leafed species and the typical shade syndrome displayed by anthocyanin-rich morphs still poses concerns whether or not cyanic plants are less efficient than green morphs in terms of photosynthesis.

In the first experiment we evaluated: morpho-anatomical changes, photosynthetic performances as well as the variations of individual products of the methylerythritol-4-phosphate and the phenylpropanoid pathway in green (Tigullio, TIG) and purple-leafed (Red Rubin, RR) basil under full sun and shade conditions (30% of solar irradiance). A subsequent experiment was conducted to assess: daily gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence kinetics, pattern of phenylpropanoid and isoprenoid compounds as well as the expression of genes encoding for isoprenoid and phenylpropanoid biosynthesis by RNA-seq analyses.

Plants of TIG showed the typical sun-shade dimorphism with smaller, thicker leaves with a more densely packed mesophyll associated with total chlorophylls (Chl<sub>tot</sub>) content and higher ratio of Chl *a*/Chl *b* and VAZ/Chl<sub>tot</sub> under full sun. Small differences at whole-plant level, leaf morpho-anatomy and leaf pigment composition were observed during the shade-to-sun transition in RR.

TIG and RR did not differ in terms of daily CO<sub>2</sub> gain, even though the photosynthesis decreased more in TIG than in RR in high sunlight, because of larger stomatal limitations and transient impairment of PSII photochemistry. Mechanisms involved in thermal energy dissipation (NPQ) were scarcely activated in RR, whilst NPQ was markedly higher in TIG, especially in sunny hours. The methylerythritol-4-phosphate pathway promoted mainly the synthesis and de-epoxidation of VAZ pigments in TIG and of neoxanthin and lutein in RR. This enabled the green-leafed TIG to process the excess radiant energy effectively, and the red-leafed RR to optimize light harvesting and photoprotection.

Our dataset offers the evidences of an effective photoprotective role of epidermally-located coumaroyl anthocyanins in leaves of purple sweet basil. The privilege of being red, correlated with a lower plasticity of morpho-anatomical traits, leads cyanic leaves to display severe limitations as compared to the acyanic counterpart at low solar irradiances, while TIG performed less under high irradiances. Our results contrast the previous hypotheses of an inherent lower carbon assimilation displayed by red morphs.

## Strigolactones involvement in maize root response to nitrate availability

Laura Ravazzolo<sup>1</sup>, Alessandro Manoli<sup>1</sup>, Sara Trevisan<sup>1</sup>, Silvia Quaggiotti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE), Università di Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro, PD, Italia

Strigolactones (SLs) are a new class of carotenoid-derived phytohormones. They act as stimulants for both germination of parasitic weeds in the Orobanchaceae family and for arbuscular mycorrhization initiation, but they also play multiple roles in regulating plant development. In addition, soil nutrient deficiencies, mainly due to low Pi and low nitrate, trigger enhanced SL biosynthesis and exudation, which seems to influence root architecture.

In our previous study (Manoli *et al.*, 2016, *Frontiers in Plant Science*), we showed how a 2 h-nitrate treatment is sufficient to repress the transcription of genes involved in SLs biosynthesis and transport. In the present study, we demonstrated that 24 h of nitrate deficiency are necessary to induce the transcription of the same genes. Moreover, SLs involvement in maize root response to nitrate was investigated by determining their influence on the frequency of sites of lateral root (LR) emergence in maize seedlings. After 24h in a nitrate-depleted solution, an hematoxylin staining assay was carried out to detect the number of LR primordia (LRP) within three treatments groups: 24h in a nitrate-deficient solution, 24h in a nitrate-1mM-supplied solution or 24h in a nitrate-deficient solution with the presence of a SLs biosynthesis inhibitor (TIS108, 2 $\mu$ M). The results from LR density analysis suggest a putative involvement of SLs in the inhibition of LR emergence in nitrate-depleted roots, while nitrate seems to be involved in LR development through inhibition of some SLs pathway.

To deepen the SLs involvement in maize root response to nitrate fluctuations, a germination bioassay on *Phelipanche ramosa* seeds was then performed. *P. ramosa* belongs to the Orobanchaceae family, namely obligate root-parasitic plants whose seeds can be used to indirectly detect the SLs exudation. A modified bioassay and a neutral red staining were developed to evaluate the germination rate in *P. ramosa* seeds. Root exudates of maize seedlings grew in nitrate-1mM-supplied solution, or nitrate-deficient solution (-N), or nitrate-deficient solution supplied with TIS108 were tested. On a quality level, a clear induction of germination was shown in those seeds treated with -N root exudates, whereas a very reduced germination was detected in the seeds treated with +NO<sup>3</sup>-root exudates or with -N+TIS108-root exudates.

In conclusion, our preliminary results are consistent with the involvement of strigolactones in the repression of lateral root development in nitrate-deficient media, while the inhibition of SLs action by nitrate supply seems to participate in the complex mechanism leading to regulation of lateral root development by this anion.

### ACKNOWLEDGEMENTS

This project was supported by the University of Padova (ex 60% 2015) and by a Ph.D. grant from Fondazione Cassa di Risparmio di Padova e Rovigo (CARIPARO 2015).

## **Water extractable humic substances promote nitrate acquisition in maize plants modulating genes involved in transcriptional regulation and nitrogen assimilatory pathway**

Laura Zanin<sup>1</sup>, Nicola Tomasi<sup>1</sup>, Anita Zamboni<sup>2</sup>, Zeno Varanini<sup>2</sup>, Roberto Pinton<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, University of Udine, Udine, Italy

<sup>2</sup>Dipartimento di Biotecnologie, University of Verona, Verona, Italy

Nitrogen is one of the key factors limiting growth of cereals, mainly because of their low Nitrogen Use Efficiency (NUE). The improvement of NUE is thus becoming urgent to obtain cereal yields in more sustainable ways with a limited fertilizers application. This goal could be obtained by breeding for high NUE at low fertilizer input and by optimizing plant-soil relationships in order to improve the acquisition of native and applied nitrogen. Soil humic substances have been shown to promote uptake of nutrients, including nitrate, however, molecular basis of this behaviour has not been clarified so far.

In the present work, the role of a low molecular weight water-extractable fraction of humic substances (WEHS) in nitrate acquisition of maize plants was investigated. Nitrate uptake rates were analysed and correlated to transcriptomic changes occurring in maize roots treated with nitrate and WEHS.

When both nitrate and WEHS were present in the nutrient solution, they promoted and accelerated the acquisition of nitrate. Nitrate-treated plants showed maximum nitrate uptake rate after 8 hours of root exposure to the anion, while Nitrate+WEHS-treated plants reached the same values of nitrate uptake rate already after 4 hours of treatment. To identify molecular mechanisms involved in this behaviour, we analysed the transcriptomic profile of maize roots exposed to Nitrate or to Nitrate+WEHS after 4 and 8 hours of treatment.

Microarray data indicate that about 2000 transcripts were specifically induced by Nitrate+WEHS treatment and not by Nitrate alone, and among these some transcripts were involved in transport, metabolism and remobilization of nitrogen. Especially after 4 hours of treatment, Nitrate+WEHS plants induced the expression of genes involved in the hormonal metabolism, primary metabolism and signalling pathway; these transcriptional changes occurred when plants showed the maximum net influx of nitrate in the roots. After 8 hours of treatment, the capability of Nitrate+WEHS-treated plants to take up nitrate slowed down; at this time, we measured the upregulation of a large set of transcripts involved in nitrate transport (NRT1.1, NRT1.2) and coding for some enzymes of nitrogen assimilatory pathway (NR, GS, GOGAT, CNX) and the downregulation for known transcription factors (NIN-like protein, NFYA, GRF5).

In conclusion, humic substances favour nitrogen acquisition by fastening the plant response to nitrate availability, in particular its uptake and rapid assimilation. Present data shed further light on the contribution of the organic soil component to the nitrogen use efficiency in crops.

## **Tackling malnutrition with plant mineral nutrition**

Ismail Cakmak

Sabancı University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, 34956 Istanbul, Turkey

Despite significant achievements in reducing global hunger problem, micronutrient malnutrition (“hidden hunger”) still represents a major health problem in the world. Around 2 billion people are affected from micronutrient deficiencies such as zinc, iodine and iron deficiencies. Inadequate dietary intake of micronutrients is the particular reason of the problem, especially in the developing countries where extensive amounts of cereals are consumed with very low concentrations of micronutrients. High prevalence of micronutrient deficiencies is commonly associated with the regions where soils contain low amounts of micronutrients. Most of the cereal cultivated soils globally have diverse of chemical and physical problems (such as high pH and low amounts of organic matter and water) which limit chemical solubility and root uptake of micronutrients. Under such adverse soil and climatic conditions, the new genotypes developed by classical plant breeding or genetic engineering for high macronutrients in grain may not be able to fully exploit their genetic capacity to absorb and accumulate sufficient amounts of micronutrients in their grains. Therefore, treatment of plants with micronutrients seems to be an essential agronomic practice to ensure and maintain sufficiently high micronutrients in grains for human nutrition. The field studies conducted in the past 7-8 years under the HarvestZinc project ([www.harvestzinc.org](http://www.harvestzinc.org)) on different cereal species demonstrated that the plant nutrition-based (i.e., agronomic) approach is a quick and cost-effective solution. A targeted foliar spray of micronutrients, such as right after anthesis, either individually or as a cocktail of micronutrients was found to be highly effective in increasing grain micronutrients. Maintenance of high pool of zinc, iodine and selenium in the leaf tissue during the reproductive growth stage through foliar spray seems to be a critical issue in achieving desirable concentrations of micronutrient in grains for human nutrition. The increases were found not only in whole grain but also in endosperm part or polished rice. It is also important to highlight that application of plant mineral nutrition approaches on genotypes with high genetic capacity for root uptake and seed translocation of micronutrients will further maximize accumulation of micronutrients in grain. The foods made from cereal grains biofortified agronomically with micronutrients, such as bread and cookies, had also sufficiently high micronutrients indicating higher stability of the micronutrients in the end-products. Consuming agronomically-biofortified foods is expected to result in significant contribution to human nutrition with high biological impacts.

## **SESSIONE PIANTA**

---

*Posters*



## **P1. Utilizzo di biostimolanti per aumentare la tolleranza delle colture agli erbicidi**

Maria Luce Bartucca, Ivan Panfili, Daniele Del Buono

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

Gli erbicidi sono tra gli agrofarmaci più utilizzati in agricoltura in quanto consentono il controllo selettivo delle malerbe. Nonostante i benefici derivanti dal loro impiego, tali molecole possono provocare danni alle colture, anche nei casi in cui esse siano considerate ben tolleranti. Tra gli effetti negativi più frequenti si riscontrano riduzioni della biomassa, necrosi e appassimento. Tali danni sono diversi in relazione al tipo di pianta, all'erbicida utilizzato, alla fase fenologica in cui esso viene applicato e alla tipologia di suolo su cui viene distribuito.

Negli ultimi anni sta crescendo l'interesse e la diffusione dei biostimolanti. Tali prodotti, che si dividono in diverse categorie, sono generalmente definiti come regolatori positivi della crescita e/o miglioratori del metabolismo delle colture, determinando, così, un importante aumento nelle rese agricole. I biostimolanti, infatti, sono ritenuti capaci di attivare importanti processi fisiologici e biochimici che avvengono nelle piante.

Obiettivo della presenta ricerca è stato quello di investigare l'efficacia di un prodotto commerciale (Megafol) su piante di mais trattate con metolachlor, un erbicida gramincida ampiamente utilizzato in Italia. Semi di mais sono stati sviluppati in presenza di metolachlor a 5 diverse concentrazioni (range 0,032 a 0,500 mg L<sup>-1</sup>) con o senza Megafol. Il biostimolante ha notevolmente ridotto l'effetto negativo esercitato dall'erbicida sulla germinabilità del mais. Inoltre, altri parametri fisiologici e di crescita hanno ulteriormente confermato l'effetto positivo del biostimolante. Al fine di delucidare il meccanismo con il quale si esplicava quest'azione protettiva, alcuni enzimi antiossidanti e del metabolismo detossificativo sono stati investigati nei campioni trattati con il metolachlor e in quelli con l'erbicida in combinazione con il Megafol. Aumenti di attività enzimatica sono stati riscontrati nel caso di ascorbato perossidasi (APX), catalasi (CAT) e glutatione S-transferasi (GST) nei campioni trattati con la miscela Met + Meg, rispetto a quelli trattati con il solo erbicida. L'induzione degli enzimi antiossidanti indica che l'effetto protettivo del biostimolante permette al mais di meglio contenere lo stress ossidativo determinato dall'erbicida. L'induzione riscontrata a carico delle GST testimonia che le piante trattate con il biostimolante presentano un metabolismo detossificativo più efficiente che permette l'inattivazione dello xenobiotico.

## P2. Proteomic and metabolomic insight into wheat response to drought following AMF inoculation

Letizia Bernardo<sup>1,2</sup>, Caterina Morcia<sup>2</sup>, Paolo Carletti<sup>3</sup>, Franz-Werner Badeck<sup>2</sup>,  
Roberta Ghizzoni<sup>2</sup>, Fulvia Rizza<sup>2</sup>, Valeria Terzi<sup>2</sup>, Luigi Lucini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department for Sustainable Food Process, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza, Italia

<sup>2</sup> Council for Agricultural and Economics- Genomics Research Centre (CREA-GB), Fiorenzuola d'Arda (PC), Italia

<sup>3</sup> Department of Agronomy, Food, Natural resources, Animals and Environment, Università di Padova, Padova, Italia

The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are plant growth promoters known to ameliorate plant water uptake and nutrient availability in wheat. In this work, two cultivars of *Triticum spp.*, i.e. a bread and a durum wheat grown under drought stress and inoculated or not by AMF, were evaluated through a shotgun proteomic approach. The beneficial symbiosis was confirmed by measuring morphological and physiological traits, and the AMF association led to increased aboveground biomass in both wheat genotypes. Overall, 50 and 66 statistically differential proteins could be identified in bread and durum wheat cultivars, respectively. The findings highlighted a modulation of proteins related to sugar metabolism, cell wall rearrangement, cytoskeletal organization and sulphur-containing proteins, as well as proteins related to plant stress responses.

In order to gain a deeper insight into molecular processes involved in wheat response to drought following AMF colonization, an UHPLC-ESI/QTOF-MS metabolomic analysis was then carried out. Multivariate chemometrics allowed highlighting differential metabolites. Unsupervised hierarchical clustering showed that metabolic profiles could be clearly discriminated only under water stress, whereas under water availability differences in metabolic profile were less evident. The metabolite modulation, considering the interlink between water regime and the symbiotic rate, was genotype-dependent. Our findings highlighted a difference in the cysteine and methionine metabolism in response to water stress and/or AMF colonization, therefore strengthening the proteomics data about the rearrangement of sulphur-containing molecules. According to metabolomic results, a different reallocation of carbon sources could be also postulated.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The research was supported by MIC-CERES project, Agropolis Fondation - Cariplo Fondation, CERES Initiative.

### **P3. Growth and micronutrients distribution in *Chichorium intybus* L. - *Funneliformis mosseae* mycorrhizal symbiosis**

Daniela Di Baccio<sup>1</sup>, Alessandra Pepe<sup>2</sup>, Cristiana Sbrana<sup>3</sup>,  
Ermenegildo Magnani<sup>1</sup>, Manuela Giovannetti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Agro-environmental and Forest Biology (IBAF), CNR, Roma, Italy

<sup>2</sup>Department of Agriculture, Food and Environment, University of Pisa, Pisa, Italy

<sup>3</sup>Institute of Agricultural Biology and Agrobiotechnology (IBBA), CNR, Pisa, Italy

It has been shown that arbuscular mycorrhizal (AM) fungi (AMF), symbionts living in close association with the root system of most land plants, can improve host nutrition and health, boost both primary and secondary plant metabolism and eventually enhance biomass production. In optimal growth conditions, mycorrhizal symbioses increase plant photosynthetic activity, thanks to the higher availability of nutrients. However, if the beneficial effects of the mycorrhizal symbiosis are known, nutrient exchange mechanisms occurring in fungal-plant relationships are not fully understood. This for at least two main reasons: 1) the experimental constraints involved in *in vivo* studies of nutrient transfer during the symbiosis, 2) the analytical limits in the investigation on the absorption and transfer of nutrients by fungal extraradical hyphal networks.

With the aim of studying micronutrients distribution in mycorrhizal symbioses, chicory (*Chichorium intybus* L.) plants inoculated with *Funneliformis mosseae* IMA1 were analysed. The plants were maintained for one month in a growth chamber, in a quartz substrate enriched with a standard nutrient solution (Long-Ashton) in controlled conditions (25-21°C day/night temperature, 16:8-h light/dark cycle, 350  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  photosynthetic photon flux density).

Iron (Fe), copper (Cu), zinc (Zn) and manganese (Mn) content and uptake were assessed in plants (shoots and roots) and in the extraradical mycelium (ERM) by Atomic Absorption (Varian SpectrAA model 220FS) and Inductively Coupled Plasma-Optical Emission (ICP-OES, Varian 720; LOD: 5-20  $\mu\text{g L}^{-1}$ , LOQ: 20-40  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) spectrophotometry. Mycorrhizal plants increased their total biomass, as revealed by the enhanced number and area of leaves. Zn concentration and content were higher in the shoots of mycorrhizal plants, while Fe accumulated mainly in roots. In the ERM, Fe, Mn and Zn amounts were larger than those of Cu. The leaves of mycorrhizal host-plants showed higher total carotenoid levels, with an increase of the carotenoid to chlorophylls ratio. Mycorrhizal symbiosis seems to improve Fe uptake through the extraradical network.

The analysis of nutrient distribution patterns in plants and extraradical mycelium may provide important information on the ability of mycorrhizal mycelium to uptake and transfer key micronutrients to the host plant, useful for AMF application in food plant biofortification or bioremediation of polluted soils.

#### P4. Seaweed extracts as growth promoters of *Zea mays* L. plants

Andrea Ertani<sup>1</sup>, Ornella Francioso<sup>2</sup>, Anna Tinti<sup>3</sup>, Michela Schiavon<sup>1</sup>, Serenella Nardi<sup>1</sup>

1 Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente, Università di Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (Padova), Italy.

2 Dipartimento di Scienze Agrarie, Università di Bologna, Viale Fanin 44, 40127 Bologna, Italy; ornella.francioso@unibo.it

3 Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna, Via Belmeloro 8/2, 40126 Bologna, Italy; anna.tinti@unibo.it

\*Correspondence: andrea.ertani@unipd.it; Tel.: +39-049-827-2912; Fax: +39-049-827-2929

Extracts from brown seaweeds like *Ascophyllum nodosum*, *Macrocystis pyrifera* and *Durvillea potatorum* are widely used during crop cultivation practices, and their physiological effects on plants have been generally evaluated in terms of improvement of crop performance, yield, and resistance to biotic and abiotic stresses. Overall, these effects are related to the presence of growth promoting compounds in the extracts, whose chemical composition largely depends on the technologies and processes used for their production. As a results of using different extraction procedures, the biological activity of extracts may considerably vary. After the extract preparation, an analytical approach which does not require any sample pre-treatment can be then used to chemically characterize the extracts in all their preserved components. In this study, five seaweed extracts were characterized by using Fourier transform infrared (FTIR) and FT-Raman spectroscopies, which are recognized as fast and cost-effective techniques able to identify functional groups in mixtures of compounds. In order to verify the hormone-like and/or antioxidant activity of the five extracts, their content in isopentenyladenosine (IPA), indoleacetic acid (IAA) and phenols was additionally estimated. Our results indicate that FT-IR and Ft-Raman spectroscopies are highly effective in characterizing very complex mixtures like seaweed extracts, while allowing the identification of functional groups with biological activity. The spectra obtained via FT-IR and FT-Raman depicted a different spectral pattern for each individual extract, although the bands assigned to alginic and uronic acids were generally dominant. Also, the seaweed extracts differed in IAA, IPA and phenols contents. *Zea mays* L. plants were further treated with two different doses of these seaweed extracts (0.5 and 1.0 mL L<sup>-1</sup>) and grown in hydroponics inside a growth chamber. The leaf biomass, SPAD index and sugar content were enhanced in plants treated with the extracts compared to the untreated plants, thus suggesting that the five extracts might be used as biostimulant in agriculture to improve the plant performance.

## P5. Copper toxicity in maize plant affected growth and metals' translocation

Alessandro Franco, Laura Zanin, Roberto Pinton, Nicola Tomasi

Dipartimento di Scienze AgroAlimentari, Ambientali e Animali, Università degli Studi di Udine, Udine

The long-term use of Copper (Cu)-containing fungicides has caused Cu accumulation in agricultural soils which rise concern on its environmental and toxicological impacts. Although Cu is also an essential micronutrient for growth and development of plants.

The excess of copper in the soil promotes oxidative stress in plants with the production of radical oxygen species (ROS), compromises the permeability of the membranes (peroxidation of lipids), and interferes in important cellular processes such as photosynthesis, respiration and other cellular mechanisms, strongly inhibiting the development of plants. In order to prevent the copper excess as well as responding to the shortage condition, plants have a complex network of cellular and molecular mechanisms to cope with copper homeostasis.

Another interesting aspect is the interactions between Cu and Fe. Plant response to Fe deficiency condition induce the release of root exudates, the activity of PM H<sup>+</sup>-ATPase and reductase which, in turn, might enhance Cu uptake. Moreover, in condition of Cu excess, Cu ions might strongly compete with Fe ions, reducing Fe uptake and possibly enhancing the oxidative stress.

In the present study, the effect of Cu excess on morphological parameters as well as on Fe uptake and translocation rate were investigated in roots and leaves of maize plants to get information about the nature of the *in vivo* effects of Cu. Overall, since the most common chelating agent used to enhance the water solubility of iron in hydroponic system is EDTA other metals, such as Cu, and Zn could compete with Fe for the EDTA. For this reasons Fe, Cu, Zn and Mn content in maize was investigated using two different sources of iron: FeEDTA as a synthetic source and Fe-citrate as an organic form.

Copper, when 100 µM CuSO<sub>4</sub> was supplied, induced a sharp decrease of dry matter yield of maize with significant effects on root morphological parameters in comparison to 1 µM CuSO<sub>4</sub>. Copper appeared to interfere with the uptake of Fe as Fe deficiency-chlorosis-like symptoms appeared in Cu toxicity. Preliminary results of ICP-OES indicated that the Fe-deficiency is directly caused by an insufficient supply of Fe to the shoots, in agreement with the observation of McBride (2001) which demonstrated that Cu interferes with Fe absorption and translocation in short term uptake experiment. However, even if differences between treatments at leaf level have been observed for now it is not possible to distinct between these symptoms if it is due to the excess of Cu or a Fe-deficiency due to a competition between both metals. In addition, Cu excess and supplying of the two sources of iron may also affect the accumulation of Mn and Zn.

Further research on Cu homeostasis are needed to improve the understanding of how this metal is taken up and translocated by crops, and which regulatory mechanisms are involved in the protection against Cu deleterious effects.

## **P6. Effect of leonardite- and seaweed-based biostimulants on seed germination and plant growth**

Alja Margon<sup>1</sup>, Luciano Cavani<sup>1</sup>, Luigi Sciubba<sup>1</sup>, Claudio Marzadori<sup>1</sup>, Claudio Ciavatta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Agricultural Sciences, Alma Mater Studiorum, University of Bologna, Viale Fanin 40, IT-40127 Bologna, Italy

The objective of this study was to test the effect of biostimulants on seed germination and plant growth. We tested four different leonardite- and seaweed-based products applied at different doses. The experiments were performed either completely *in vitro* or in constructed soil microcosms.

Even though all tested products decreased the seed germination rate in comparison to dd-H<sub>2</sub>O, they did not appear to have any negative effect on relative seed germination.

Some products appeared to have a positive influence on root and coleoptile growth while others stimulated growth of root hair and early development of the plants' aerial parts.

None of the tested products had any significant effect on plant growth in a nutrient-rich soil, while in a nutrient-poor soil only one of the tested products exerted a slightly positive influence.

The application of the products had only a minor influence on N content in the leaves, while differences in C content were not observed. On the other hand, influence on C and N content in the roots was much more marked, especially when the plants were additionally fertilized.

Similarly, application of the tested products influenced uptake of also some other chemical elements that are interesting from the agronomical point of view. The results mirror the results for C and N, with leaves being only slightly influenced, and roots showing a much more marked response, especially in fertilized plants.

Some of the products also exerted a marked auxin-like activity, since they stimulated the formation and elongation of adventitious roots. On the other hand, none of the tested products displayed any significant cytokinin-like activity. What is more, the obtained results suggest that one of the products could have even an adverse effect on cytokinin-modulated processes.

Leonardite- and seaweed-based biostimulants therefore appear to have multiple effects on seed germination and plant development that go beyond the mere influence on plant growth.

## **P7. Biofortificazione con Selenio in *Fragaria x ananassa*: implicazioni su qualità, contenuto di composti nutraceutici e profilo metabolico del frutto.**

Tanja Mimmo<sup>1</sup>, Raphael Tiziani<sup>1</sup>, Fabio Valentinuzzi<sup>1</sup>, Luigi Lucini<sup>2</sup>, Carlo Nicoletto<sup>3</sup>, Paolo Sambo<sup>3</sup>, Matteo Scampicchio<sup>1</sup>, Youry Pii<sup>1</sup>, Stefano Cesco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facoltà di Scienze e Tecnologie, Libera Università di Bolzano, Bolzano, Italia

<sup>2</sup>Istituto di Chimica Ambientale e Agraria, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza, Italia

<sup>3</sup>Dipartimento Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE), Università di Padova, Legnaro, Italia

Il selenio (Se) è presente nella maggior parte dei suoli agrari in concentrazioni relativamente basse, comprese tra 0,01 e 2 mg kg<sup>-1</sup>, mentre nelle cosiddette aree selenifere il suo tenore può raggiungere livelli superiori a 10 mg kg<sup>-1</sup>. Anche se il Se è classificato come micronutriente essenziale per gli organismi animali, il suo ruolo e la sua essenzialità negli organismi vegetali devono ancora essere dimostrati. Tuttavia, la presenza di Se nel substrato di coltivazione è in grado di indurre un incremento nella crescita delle piante. È stato inoltre osservato che la biofortificazione con Se in soia e frumento è in grado di indurre una maggiore resistenza di queste piante agli stress ossidativi, migliorando anche il contenuto in nutrienti minerali e in vitamina E. In seguito a queste prime evidenze, altri studi in merito alla biofortificazione con Se e ai suoi effetti sulla qualità delle produzioni agrarie sono stati condotti in prodotti edibili, quali riso, funghi, carota, patata, valerianella e pomodoro.

Sulla base delle evidenze presenti in letteratura, scopo di questo lavoro è stato quello di valutare l'effettiva possibilità di biofortificare una pianta da frutto arborea, quale la fragola, coltivata in idroponica e di valutare gli effetti dell'aumentata concentrazione di Se sulle proprietà qualitative e nutraceutiche dei frutti.

Le piante di fragola sono state allevate per undici settimane in soluzione idroponica contenente tre livelli di Se (0, 10 e 100 µM), fornito come Na<sub>2</sub>Se<sub>3</sub>, e rinnovando la soluzione nutritiva ogni tre giorni. Allo stadio di completa maturazione delle fragole, i tessuti vegetali (radici, foglie e frutti) sono stati raccolti e processati per le successive analisi. Radici, foglie e frutti sono stati analizzati per accumuli di sostanza fresca e contenuto di elementi nutritivi, mediante ICP-OES. In aggiunta, i metaboliti contenuti nei frutti sono estratti in solvente organico e analizzati mediante metodi spettrofotometrici, HPLC e UHPLC/Q-TOF.

I risultati mostrano che, contrariamente a quanto evidenziato in specie erbacee, le concentrazioni di Se utilizzate nell'ambito di questo esperimento non hanno indotto effetti di tossicità sulle piante e non hanno indotto una riduzione nella produttività delle piante; i trattamenti hanno altresì indotto un accumulo di Se nel frutto, proporzionale alla concentrazione applicata nella soluzione nutritiva. L'analisi del profilo metabolico dei frutti biofortificati con Se ha inoltre evidenziato un incremento della concentrazione di flavonoidi e di composti fenolici, noti per la loro attività antiossidante.

In conclusione, sulla base delle ricerche condotte è possibile affermare che la fragola rappresenta un buon target per programmi di biofortificazione con Se che abbiano lo scopo di produrre "cibi funzionali" destinati all'alimentazione umana.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

La presente ricerca è stata finanziata dalla Libera Università di Bolzano (TN2023).

**P8. Plants treatment with perfluoroalkyl substances (PFASs): uptake and effects on growth and morphology**

Shilpi Misra, Nisha Sharma, Pietro Magnabosco, Silvia Millan, Anna Rita Trentin, Teofilo Vamerli, Rossella Ghisi, Antonio Masi

Department of Agronomy, Food, Natural resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padova, Italy.

Polyfluorinated and Perfluorinated substances (PFASs) are a family of toxic molecules composed of a carbon chain that can be linear or branched, fully or partially fluorinated and may contain functional groups, particularly the carboxylic and sulfonic moiety. They are some of the most persistent pollutants still allowed in product fabrication and industrial applications. PFASs have been shown to interact with blood proteins and are suspected of causing a number of pathological responses, including cancer. The main dietary exposure routes to these substances are contaminated water, fish and vegetables (D'Holliver et al. 2010, Rev Environ Contam Toxicol. 208: 179; Hertzke et al., 2013, Environ Sci Pollut Res Int. 20:7930).

The purpose of this research was to evaluate the effects of PFASs on plant growth and the capacity of *Arabidopsis thaliana*, maize and willow plants to remove these compounds from the nutrient solution, by monitoring the concentration of eleven different PFASs (PFBS, PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFOS, PFNA, PFDA, PFDoA, PFUnA), added individually at three concentrations 1 µg/L, 10 µg/L and 100 µg/L, along a one-week treatment. One ml nutrient solution was collected from each pot at the following time intervals (T0, T1, T3, T5 and T6) and analyzed using HPLC/MS/MS.

Analysis of the nutrient solution from each pot revealed a declining concentration of all the analyzed PFASs, suggesting that they are taken up by roots, with different efficiency depending upon the compound's characteristics. In hydroponically grown maize plants, Image analysis shows that 100 µg/L PFASs slowed down the increase in root length and total surface area. *Arabidopsis thaliana* growth was inhibited in a dose-dependent manner in agar plates containing PFASs.

Further work is in progress to analyze the roots, foliage and stem samples for the accumulation of PFASs in different organs.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

This work was supported by DAFNAE department PRID funds (GHIS\_SID16\_01).



## P9. Variazioni di parametri legati a germinazione, crescita e metabolismo dei carboidrati in genotipi di riso ssp. *japonica* in risposta alla salinità

Noemi Negrini<sup>1</sup>, Silvia Morgutti<sup>1</sup>, Marta Dell'Orto<sup>1</sup>,  
Patrizia De Nisi<sup>1</sup>, Gian Attilio Sacchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali – Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Su scala mondiale, il riso (*Oryza sativa* L.) è una delle principali colture e base della dieta per più della metà della popolazione. Fra i diversi stress cui può essere esposta la coltura, la salinità dei suoli, che interessa circa un terzo delle terre irrigue del mondo, rappresenta uno dei più importanti fattori. L'aumento della salinità dei suoli può essere dovuto a cause sia naturali (fra cui il cambiamento climatico) sia antropiche; fra queste, la pratica di salinizzazione della risaia recentemente adottata in Spagna per combattere *Pomacea insularum* ("apple snail"), aggressivo parassita del riso accidentalmente introdotto in questo Paese e a rischio di diffusione in Europa. Appare quindi interessante, nell'ambito della ssp. *japonica* diffusa in Europa, identificare genotipi/linee di riso resistenti alla salinità e putativamente in grado di adattarsi a mutate o sfavorevoli condizioni ambientali. Il riso risulta particolarmente sensibile alla salinità all'inizio della fase vegetativa (germinazione) e, successivamente, in fase riproduttiva. Lo stress salino è caratterizzato da una componente osmotica che, nella pianta, ha un impatto sia sulla produzione dei carboidrati (fotosintesi) sia sulla mobilizzazione/utilizzo delle riserve alterando i rapporti sink-source e l'allocazione degli zuccheri. Recenti studi condotti in riso suggeriscono che il metabolismo del trealosio, disaccaride non riducente, abbia un ruolo nel determinare la tolleranza a stress quali salinità e anossia. Il trealosio sembra svolgere un'azione protettiva su macromolecole e strutture cellulari e agire come molecola segnale nella regolazione del metabolismo degli zuccheri (saccarosio), in fase sia di germinazione/emergenza sia di riempimento della cariosside.

Su genotipi selezionati dai 281 precedentemente caratterizzati per sensibilità/tolleranza alla salinità sulla base di parametri descrittivi della fase vegetativa e riproduttiva e analisi GWAs, sono attualmente in corso prove di germinazione, in condizioni di controllo (acqua) ed elevata salinità (NaCl 150 mM). I dati ottenuti vengono elaborati mediante il software GERMINATOR (Joosen et al. 2010; doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04116.x) al fine di valutare la naturale variazione della sensibilità al sale sulla base di parametri rilevanti quali la massima percentuale di germinazione ( $G_{max}$ ), il tempo richiesto per raggiungere il 50% di germinazione ( $t_{50}$ ), il periodo di latenza di germinazione (AUC) nelle diverse condizioni. Sui genotipi più interessanti finora individuati viene valutata, in funzione del trattamento salino, anche la vigoria di crescita dei coleottili. In base alla pregressa analisi GWAS dei dati di emergenza, che ha evidenziato un marcatore (S7\_18728431) del gene *OsTPP1* (*trealosio-6-P fosfatasi*) legato alla tolleranza al sale, sono in corso le analisi per una preliminare valutazione di un eventuale coinvolgimento del metabolismo dei carboidrati nella diversa risposta alla salinità.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Lavoro supportato dal Progetto Horizon 2020 - NEURICE.

## **P10. Salvaguardia e valorizzazione della patata viola calabrese, una varietà a rischio erosione genetica**

Teresa Papalia<sup>1</sup>, Giovanna Settineri<sup>1</sup>, Federico Romeo<sup>1</sup>,  
Adele Muscolo<sup>1</sup>, Maria Rosaria Panuccio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di AGRARIA, Università Mediterranea, Feo di Vito 89122-Reggio Calabria

Il consumatore oggi è sempre più attento ai problemi della qualità e della sicurezza degli alimenti senza trascurare i problemi legati alla qualità della vita ed alla conservazione della biodiversità e dell'ambiente. È in questo clima che nasce l'interesse verso la valorizzazione e il recupero delle specie autoctone. Le antiche varietà locali, anche se meno produttive, sono caratterizzate da maggiore eterogeneità genetica rispetto a specie sottoposte a selezione spinta, per tale motivo presentano importanti caratteri di rusticità, di adattamento alle condizioni ambientali e caratteristiche organolettiche dei prodotti che a volte ne esaltano ed aumentano la qualità. La patata Viola Calabrese rappresenta una delle specie vegetali autoctone della Calabria, a rischio erosione genetica, la cui salvaguardia e recupero sono stati oggetto di attenzione negli ultimi anni, sia ai fini della conservazione della biodiversità ma anche per importanti risvolti socio-economici. L'ARSAC (Azienda Regionale per lo Sviluppo dell'Agricoltura Calabrese) ha inteso promuovere lo sviluppo di una filiera per la produzione di un tubero seme pre-base della viola calabrese, basato sulla micropropagazione, tecnica utile per la conservazione del germoplasma, ma soprattutto per l'ottenimento di materiale sano ed in tempi brevi. Nel presente lavoro vengono riportati i risultati delle analisi condotte sui tuberi seme pre-base, ottenuti dalla coltivazione in campo di minituberi e vitropiantine, al fine di valutarne alcune caratteristiche chimiche ed organolettiche. I dati hanno evidenziato che si tratta di una varietà ad elevato contenuto amilaceo (18-19% della sostanza secca), soprattutto se confrontato con quello delle varietà diffuse commercialmente. La percentuale di glucidi totali è intorno al 17% in tutti i tuberi, indipendentemente dall'origine (tuberi seme o vitropiantine). Il contenuto di antiossidanti sia di natura idrofila (acido ascorbico) che lipofila (tocoferolo, vitamina E) e quello di polifenoli è notevole. Le analisi sugli elementi minerali evidenziano un elevato contenuto di potassio e, di contro, un basso contenuto di sodio, rispetto alle quantità di tali elementi normalmente riscontrate nelle varietà commerciali delle patate.

I risultati ottenuti indicano che questa varietà di patata ha interessanti caratteristiche organolettiche che giustificano la necessità di intraprendere azioni a tutela del prodotto, valorizzandone anche la produzione e la commercializzazione. I tuberi seme analizzati costituiscono la prima generazione di tubero seme pre-base da cui si otterrà una produzione sperimentale di tuberi da consumo sui quali verranno effettuate successive analisi e valutazioni qualitative.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

Progetti comprensoriali per la salvaguardia del patrimonio genetico regionale PSR CALABRIA 2007 – 2013 Misura 214 : Recupero, Moltiplicazione, Diffusione e Valorizzazione della patata autoctona "Viola Calabrese"

## **P11. Effetto di microrganismi PGPR sulla qualità dei frutti in piante di fragola allevate in coltura idroponica**

Youry Pii, Hannes Graf, Fabio Valentinuzzi, Stefano Cesco, Tanja Mimmo

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

Numerosi studi condotti negli ultimi anni hanno evidenziato come alcuni microrganismi presenti alla rizosfera, collettivamente indicati come *plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR), possano indurre effetti di promozione della crescita vegetale, particolarmente a livello radicale, e avere un ruolo protettivo per le piante in condizioni di stress biotici e abiotici. È stato inoltre dimostrato che i PGPR possono influire sui meccanismi di acquisizione dei nutrienti minerali da parte delle piante, suggerendo pertanto un loro possibile impiego in agricoltura come biofertilizzanti. Considerando che l'approvvigionamento di nutrienti minerali costituisce uno dei fattori che influenzano maggiormente la qualità delle produzioni agrarie, lo scopo principale di questo lavoro è stato quello di investigare l'influenza dei PGPR sulla qualità dei frutti in piante di fragola (*Fragaria x ananassa* cv. Elsanta). La fragola rappresenta infatti uno dei frutti più popolari, principalmente per i suoi effetti benefici per salute dell'uomo dovuti principalmente ad un alto contenuto di micronutrienti e composti nutraceutici, come ad esempio antiossidanti.

Le piante di fragola sono state coltivate per settanta giorni in coltura idroponica e, a partire dallo stadio di fioritura, sono state inoculate o con una sospensione di *Azospirillum brasilense*, già caratterizzato per le sue attività PGPR, o con il prodotto commerciale Effective Microorganisms®, un biofertilizzante composto da una miscela di almeno 40 diversi ceppi microbici. A completa maturazione delle fragole, i tessuti vegetali (radici, foglie e frutti) sono stati campionati e sottoposti ad analisi per i parametri relativi a crescita, produttività e qualità dei frutti.

Le piante inoculate con PGPR hanno prodotto un minor numero di frutti, che mediamente è altresì risultato di pezzatura maggiore rispetto ai frutti prodotti dalle piante controllo. Inoltre, le fragole ottenute dalle piante inoculate con i PGPR hanno mostrato un indice di dolcezza statisticamente superiore rispetto alle piante controllo e, nel caso specifico dell'inoculo con *A. brasilense*, un contenuto maggiore in termini di flavonoidi e flavonoli, composti noti per la loro attività antiossidante. Infine, il trattamento con i PGPR ha anche indotto un accumulo di micronutrienti nei frutti, che risultavano inoltre più ricchi in ferro, manganese, rame e zinco.

Complessivamente, i risultati del presente lavoro dimostrano che l'applicazione dei PGPR come biofertilizzanti può rappresentare una pratica agronomica sostenibile per il miglioramento qualitativo (in termini di composti nutraceutici quali flavonoidi, flavonoli e micronutrienti) della fragola.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

La presente ricerca è stata finanziata dalla Libera Università di Bolzano (TN2023).

## **P12. Confronto del profilo proteomico in foglie di cultivar di basilico caratterizzate da un diverso accumulo di antociani**

Bhakti Prinsi<sup>1</sup>, Emilio Gasparini<sup>1</sup>, Luca Espen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali – Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Il basilico (*Ocimum basilicum* L.) è una specie officinale utilizzata nella filiera agro-alimentare e in ambito fitoterapico per le proprietà organolettiche e nutraceutiche. Insieme alle cultivar più comuni di larga diffusione, come la cv. 'Genovese', dal tipico colore verde brillante delle foglie, ne esistono altre con distinte peculiarità. La cv. 'Dark opal' è caratterizzata dall'accumulo di antociani nelle cellule epidermiche dell'apparato aereo, che conferisce un colore rosso-violaceo alle foglie. Nell'ambito della biochimica vegetale, queste cultivar possono rappresentare un utile strumento per lo studio del metabolismo dei flavonoidi, e in particolare degli antociani, metaboliti secondari a cui è attribuito un ampio spettro di proprietà nutraceutiche e tecnologiche. In quest'ambito, è interessante sottolineare come in organi caratterizzati da un elevato accumulo di antociani, come i frutti e i fiori, recenti ricerche proteomiche hanno messo in luce strette interazioni fra il metabolismo primario e secondario. Lo studio di questi aspetti nelle foglie, organi fondamentalmente deputati al metabolismo fotosintetico e del carbonio, potrebbe ampliare le attuali conoscenze.

Questa ricerca si pone l'obiettivo di condurre un'indagine di proteomica comparativa fra le foglie di basilico delle cv. 'Genovese' e 'Dark opal', allo scopo di fornire il primo profilo proteomico fogliare di questa specie e di ottenere nuove informazioni inerenti al metabolismo secondario.

Le piante di basilico di entrambe le cultivar sono state cresciute in vaso in condizioni di serra, adeguatamente fertilizzate e irrigate fino allo stadio vegetativo di pianta adulta, collezionando le foglie alle 10:00 a.m. nella medesima giornata. Lo studio proteomico ha richiesto l'ottimizzazione dei protocolli di estrazione proteica, elettroforesi bidimensionale (2D-E) e spettrometria di massa adeguati per una specie, come il basilico, non ancora ampiamente studiata con questi approcci.

L'analisi 2D-E ha permesso di evidenziare un profilo proteomico di elevata qualità per entrambe le cultivar, indicando l'efficacia dei protocolli e fornendo la prima mappa proteomica fogliare di questa specie di interesse agrario.

Sebbene il completamento delle analisi sia ancora in corso, è stato già possibile evidenziare che le due cultivar presentano differenze a carico di proteine ed enzimi coinvolti nella fotosintesi, nella fotorespirazione e nel metabolismo del carbonio. I dati preliminari suggeriscono che il diverso accumulo di antociani abbia perciò importanti effetti su questi aspetti della fisiologia della foglia.

### **P13. Modulazione dell'espressione genica e dell'attività di enzimi coinvolti nel processo di *softening* in pesche trattate con UV-B in post-raccolta**

Marco Santin<sup>1</sup>, Marie-Theres Hauser<sup>2</sup>, Tommaso Giordani<sup>1</sup>, Andrea Cavallini<sup>1</sup>,  
Rodolfo Bernardi<sup>1</sup>, Antonella Castagna<sup>1</sup>, Annamaria Ranieri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa, Pisa, Italia

<sup>2</sup>Department of Applied Genetics and Cell Biology, BOKU-University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Austria

Il processo di softening che avviene durante la maturazione rappresenta uno dei principali fattori responsabili del deperimento dei frutti.

Questo processo coinvolge una serie di eventi coordinati che determinano numerose modificazioni a carico dell'architettura della parete cellulare. Durante la maturazione, la perdita di consistenza del frutto è determinata dall'attività di enzimi specifici i quali, agendo sui polisaccaridi della parete, ne determinano il disassemblamento.

Numerose ricerche hanno evidenziato il ruolo della radiazione UV-B nel migliorare il potenziale nutraceutico di molti frutti. Al contrario, esistono pochi studi relativi agli effetti di questa radiazione sulla plasticità della parete cellulare e, quindi, sul processo di softening durante la conservazione.

Questa ricerca è stata mirata ad investigare in che modo la radiazione UV-B modulasse l'attività e la trascrizione genica dei principali enzimi specificatamente coinvolti nel processo di softening.

A questo scopo, frutti di pesca a fenotipo melting (*Prunus persica* cv. Fairtime) sono stati esposti per 10 o 60 min a radiazione UV-B (2.31 W m<sup>-2</sup>) e successivamente mantenuti a temperatura ambiente per un massimo di 36 ore. L'attività di alcuni enzimi litici di parete (endopoligalatturonasi,  $\beta$ -galattosidasi e pectina metilesterasi) e i rispettivi trascritti genici sono stati quantificati a diversi intervalli di tempo.

I risultati hanno evidenziato un'influenza dose dipendente della radiazione UV-B sull'attività di tutti gli enzimi testati: maggiore era l'esposizione alla radiazione, minore risultava l'attività enzimatica. Tuttavia, i livelli dei rispettivi trascritti non sempre seguivano il trend delle attività enzimatiche. Da questo è possibile ipotizzare che gli effetti della radiazione UV-B si manifestino non solo a livello di espressione genica, ma anche su processi post-trascrizionali e post-traduzionali. La ridotta attività degli enzimi deputati alla degradazione della parete cellulare, determinando un rallentamento del processo di softening, può contribuire a prolungare la conservabilità del frutto. Pertanto, l'utilizzo della radiazione UV-B, oltre a stimolare l'accumulo di composti ad azione bioprotettiva, potrebbe risultare uno strumento efficace anche per limitare il deperimento dei frutti durante la shelf life.

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

Questo lavoro è stato realizzato grazie a fondi di ateneo UNIPI.

**P14. Determinazione dei flussi di magnesio ( $^{26}\text{Mg}$ ) in portinnesti di vite attraverso analisi ICP-MS**

Davide Segà, Anita Zamboni, Zeno Varanini

Dipartimento di Biotecnologie, Università di Verona, Verona, Italia

Il magnesio (Mg) è un macronutriente coinvolto in importanti processi biochimici e fisiologici delle piante, influenzandone la crescita e lo sviluppo. La carenza di questo nutriente, che, grazie alla sua mobilità, appare come clorosi internervale sulle foglie più vecchie, è una disfunzione molto diffusa anche in campo viticolo e causa notevoli perdite di produttività.

È nota la maggiore tolleranza di alcuni portinnesti di vite alla carenza di questo nutriente, ma non si conoscono a fondo le basi biochimiche e molecolari responsabili di queste differenze. Con l'obiettivo di caratterizzare i flussi di questo nutriente in un periodo compreso tra 0 e 60 minuti in radici di portinnesti di vite (SO4 e 1103 Paulsen) con diversa tolleranza alla carenza del nutriente, è stata ottimizzata una metodica basata sull'utilizzo dell'isotopo stabile  $^{26}\text{Mg}$  come tracciante e la sua determinazione attraverso analisi ICP-MS. La messa a punto del metodo è stata condotta utilizzando radici recise di talee del portinnesto Fercal allevate per 28 giorni in presenza ed in assenza di Mg. La determinazione della concentrazione di  $^{26}\text{Mg}$  nei tessuti radicali è stata effettuata attraverso analisi ICP-MS.

Dopo aver verificato l'affidabilità della tecnica, sono stati caratterizzati i flussi dello stesso tracciante negli apparati radicali di microtalee dei portinnesti SO4 e 1103 Paulsen, allevate in presenza ed in assenza del macronutriente per 14 giorni, periodo di tempo sufficiente per determinare i sintomi della carenza nel portinnesto suscettibile SO4. I profili di assorbimento di  $^{26}\text{Mg}$  sono risultati bifasici, con una fase lineare nel periodo compreso tra 0 e 15 minuti. Il confronto delle velocità di assorbimento calcolate in questa fase ha evidenziato una differenza statisticamente significativa in funzione delle condizioni nutrizionali per il solo portinnesto SO4. La crescita in assenza di Mg ha determinato valori di assorbimento più elevati di circa il 50% rispetto a quelli misurati nelle microtalee allevate in presenza del macronutriente. Inoltre, da quest'analisi, è emerso che il portinnesto 1103 Paulsen ha assorbito il tracciante con una velocità superiore (circa il doppio) rispetto al genotipo SO4.

**P15. Biochemical and proteomic analyses in *Arabidopsis thaliana* plants treated with sulfadiazine**

Nisha Sharma<sup>1</sup>, Giorgio Arrigoni<sup>2,3</sup>, Anna Rita Trentin<sup>1</sup>, Cinzia Franchin<sup>2,3</sup>,  
Sabrina Giaretta<sup>1</sup>, Antonio Masi<sup>1</sup>, Rossella Ghisi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>DAFNAE, University of Padova, Viale Università 16, I-30520 Legnaro (PD), Italy.

<sup>2</sup>Department of Biomedical Sciences, University of Padova, Via U. Bassi 58/B, Padova, Italy

<sup>3</sup>Proteomics Center, University of Padova and Azienda Ospedaliera di Padova, Italy

The application of manure, slurry and biosolids to fertilize arable lands is one of the major routes through which pharmaceuticals enter the environment, and accumulation of several antibiotics in plants and translocation within food crops has been reported. The presence of antibiotics in cultivated soils can also impact plant growth and root functionality (Migliore et al. 1995, *Agric Ecosyst Environ* **52**,103; Michelini et al. 2013, *PPB* **67**, 55).

The main purpose of this research was to study the response of the model plant *Arabidopsis thaliana* to sulfadiazine (SDZ), a synthetic antibacterial agent belonging to the class of sulfonamides, one of the most sold classes of veterinary antimicrobial compounds in EU countries (EMA 2012). To this purpose, oxidative stress indicators such as ascorbate, glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) contents, and the activity of enzymes involved in xenobiotic detoxification (glutathione S-transferase, GST) and glutathione metabolism ( $\gamma$ -glutamyl-transferase, GGT) were analysed in root tissues. Moreover, the combined iTRAQ and LC-MS/MS based quantitative proteomics approach was applied.

*Arabidopsis thaliana* ecotype Col-0 plants were grown for three weeks in Petri dishes on half strength Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with sulfadiazine (SDZ) in four different concentrations: 0  $\mu$ M (control), 0.5, 1 and 2  $\mu$ M.

Exposure of plants to SDZ did not induce higher levels of MDA and ascorbate nor higher specific activities of GGT and GST, however GSH content was higher in treated plants. Proteomic analysis revealed 48 proteins altered by SDZ treatment, 42 of them upregulated. Among these, four peroxidases (POD) located in the extracellular region (PER22, PER32, PER39, PER34) and an ascorbate peroxidase (F4JFY4, APX) involved in plant response to oxidative stress. POD enzyme activity was also increased in plants grown in the presence of SDZ. These results, together with the increase of GSH content seem to indicate the existence of an oxidative stress condition in *Arabidopsis* plants treated with SDZ. However, some findings in other biological systems claiming at a role of POD in the conjugation of sulfonamides with phenolics, may suggest a role of POD also in SDZ detoxification. Further analyses have to be carried out to confirm these hypotheses.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by DAFNAE department DOR funds (DOR1621018).

**P16. Microfluidic chip-based digital PCR for evaluation of sulfate nutritional status in sugar beet**

Piergiorgio Stevanato<sup>1</sup>, Chiara Broccanello<sup>1</sup>, Barone Valeria<sup>2</sup>,  
Baglieri Andrea<sup>2</sup>, Giuseppe Concheri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment, University of Padova, 35020 Legnaro (PD), Italy

<sup>2</sup>Department of Agriculture, Food and Environment, University of Catania, Catania, Italy

Sugar beet growth and yield is highly influenced by sulfate nutrition. Digital PCR (dPCR) has been shown to be a promising tool for assessing gene expression and plant nutritional status. dPCR is an improvement of the conventional qPCR to nucleic acid absolute quantification. It works by partitioning a sample of DNA or cDNA into many individual PCR reactions. In this study, the expression levels of selected sugar beet genes putatively involved in sulfate starvation were evaluated using the microfluidic chip-based QuantStudio 3D Digital PCR. Seedlings were grown on sulfate-deprived Hoagland's solution. Six days after germination, 100  $\mu$ M MgSO<sub>4</sub> was then added to the solution. Root samples were collected 36 h after treatments. The expression levels of 4 sulfate-related genes were evaluated in supplied and deprived roots and leaves. The expression of these genes significantly increased ( $P < 0.01$ ) in the S-supplied seedlings compared to those grown in the absence of sulfate. Particularly, supplied roots were characterized by an up-regulation of Bv3\_065290\_srwc gene coding for auxin efflux carrier and Bv1\_004580\_xnrs gene coding for cysteine synthase. Supplied leaves were subjected to overexpression of Bv6\_145280\_yezp gene coding for the transcriptional coactivator p100 and Bv1\_004580\_xnrs gene coding for O-acetylserine sulfhydrylase. Based on our findings, the use of dPCR could become a valuable alternative to qPCR for the evaluation of sugar beet responses to changes in sulfate availability.



## **P17. Efficienza della concimazione organo-minerale: prove in microcosmo e in lisimetro**

Gianni Tassan Mazzocco<sup>1</sup>, Stefano Mazzon<sup>1</sup>, Raffaella Petris<sup>1</sup>,  
Ali Khakbaz<sup>1</sup>, Marco Contin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Università di Udine, Udine, Italia

L'apporto di elementi nutritivi mediante concimi minerali è soggetto ad una bassa efficienza, dovuta a numerose tipologie di perdite o insolubilizzazioni. Inoltre, la concimazione, in particolare nei cereali, rappresenta uno dei fattori produttivi maggiormente energivori e responsabili della produzione dei principali gas serra: CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>O. Nell'ottica di rendere le produzioni agrarie sempre più sostenibili, l'azione sull'efficienza della nutrizione minerale sembra una delle strategie più promettenti, soprattutto nel breve periodo.

Obiettivo del presente studio è la determinazione delle dinamiche di rilascio, mineralizzazione e efficienza nutrizionale dell'azoto di un concime organo-minerale a base torba umificata (Azotop - SCAM) in confronto ad analoghi concimi minerali (Urea e UREA + NBPT), focalizzando l'attenzione sulle principali perdite azotate: volatilizzazione dell'ammoniaca e lisciviazione del nitrato.

L'attività sperimentale è stata condotta sia in microcosmo, utilizzando colonne di suolo (diametro 10 cm, altezza 45 cm), sia in pieno campo mediante lisimetri (superficie 1.56 m<sup>2</sup>, profondità del suolo 0.5m). Nella prova in microcosmo sono stati confrontati Urea, Urea+NBPT e Azotop, in due suoli (acido e calcareo) privi di coltura, mentre in lisimetro è stato confrontato Urea ed Azotop in suolo coltivato con sorgo, rilevando la volatilizzazione dell'ammoniaca e la lisciviazione in forma di nitrato. Nella prova in lisimetro sono stati rilevati anche parametri relativi alla coltura ed al suolo.

Risultati della prova in microcosmo: in entrambi i suoli si è osservata una significativa riduzione dell'ammoniaca volatilizzata nel concime organo-minerale (del 3.6% e del 1.8% rispettivamente nel suolo calcareo e nel suolo acido) mentre per quanto riguarda la nitrificazione e conseguente lisciviazione del nitrato non si sono osservate differenze significative tra i concimi, ma una nitrificazione più intensa nel suolo calcareo rispetto al suolo acido. La percolazione del C organico solubile (DOC) è risultata maggiore per il concime organo-minerale nel terreno acido mentre inferiore nel terreno calcareo. La biomassa microbica, determinata con il metodo della fumigazione-estrazione, ha subito una riduzione con l'urea (-27 e -19% rispettivamente nel suolo calcareo e nel suolo acido) ed un aumento con il concime organo-minerale (+36 e +33% rispettivamente nel suolo calcareo e nel suolo acido).

Risultati della prova in lisimetro: anche nella prova in lisimetro, e quindi in presenza di coltura, il concime organo-minerale ha confermato la minore volatilizzazione dell'ammoniaca rispetto all'Urea, ma con differenze più pronunciate (-20.5%), mentre per quanto riguarda la lisciviazione del nitrato non si sono osservate differenze significative, probabilmente a causa della ridotta piovosità e conseguente limitatissima percolazione. La sperimentazione viene ripetuta nel 2017 per approfondire l'aspetto relativo alla lisciviazione del nitrato.

**P18. Transcriptomic insight into the enhancing effect of the novel biostimulant APR<sup>®</sup> on maize root growth**

Sara Trevisan<sup>1</sup>, Alessandro Manoli<sup>1</sup>, Laura Ravazzolo<sup>1</sup>,  
Clizia Franceschi<sup>2</sup>, Silvia Quaggiotti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Agriculture, Food, Natural resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padua, Agripolis, Viale dell'Università, 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

<sup>2</sup>ILSA S.p.A. Via Quinta Strada 28, 36071 Arzignano (Italy)

Biostimulants include a wide range of natural or synthetic compounds that are applied to plants or soils to ameliorate crop vigor, yields, quality and tolerance of abiotic stresses. The applications of natural-derived biostimulant formulations is proposed as a breaking new ground solution to address the challenges of sustainable agriculture, by providing optimal nutrient uptake, crop yield, quality, and tolerance to abiotic stress. The proposed approach would like to predict and characterize the function of natural compounds as biostimulants.

In this research a combination of chemistry, technology, biology and omic concepts were integrated to investigate the specific mode(s) of action of APR<sup>®</sup>, a new biostimulant provided by the ILSA group (Arzignano, Vicenza). To this aim maize seedlings (B73) were kept in a climatic chamber and grown in a solid medium, testing two different combinations of the nutrient solution and the protein hydrolysate APR<sup>®</sup>. Preliminary analysis on root growth evidenced a statistically positive significant effect of APR<sup>®</sup> on both the dry weight of roots and the root/shoot ratio. The effects of APR<sup>®</sup> were also studied at a molecular level by RNA-sequencing analysis, to clarify the complicated genome interactions that allows biostimulants to promote plant health. RNA-sequencing analysis revealed a total of 1006 differentially expressed genes (DEGs) between treated and control plants. The two APR<sup>®</sup> concentrations were demonstrated to affect the expression of both common and different genes. DEGs were grouped in six clusters according to their expression profiles. According to the Gene Ontology analyses carried out on the isolated DEGs, APR<sup>®</sup> has been proposed to facilitate plant response to stress, by regulating several biological processes such as ROS and hormones homeostasis, transcription regulation and cell wall biosynthesis.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

This work has been supported by ILSA S.p.A. Sara Trevisan was financed by a grant from ILSA S.p.A.

**P19. Understanding brassinosteroid-regulated mechanisms to improve stress tolerance in maize: a transcriptomic approach**

Sara Trevisan<sup>1</sup>, Alessandro Manoli<sup>1</sup>, Silvia Quaggiotti<sup>1</sup>, Serena Varotto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Agriculture, Food, Natural resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padua, Agripolis, Viale dell'Università, 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

Brassinosteroids (BRs) are plant specific steroidal hormones that play pivotal role in the regulation of plant developmental processes and physiological functions, besides multiple stress resistance functions. BRs are thought to act as immunomodulators thus opening new approaches for the improvement of plant resistance against hazardous environmental conditions.

In *Arabidopsis* BRs act through the BRI1 receptor-like kinase and its well-defined signal transduction pathway to activate members of the BZR family transcription factors. However, our understanding of BR functions in crops are incomplete. In our work, we performed a comprehensive genome-wide analysis to characterize the BZR gene family in *Zea mays* L. The expression profiles in different plant tissues of the 11 identified BZR genes were assessed.

For six of the 11 identified ZmBZR genes, we analysed the expression profile in response to several abiotic stresses, such as low-nutrient availability, hypoxia, salinity and heat in maize root, stem and shoot. To better elucidate the role of brassinosteroids in maize stress response and test their effects in plant chemical priming a sequencing-based profiling strategy has been adopted in order to systematically investigate the transcriptional response of maize seedlings to Brassinolide (BL).

To this aim, maize seedlings will be treated with decreasing concentrations of BL, from 100nM to 1nM, and the lowest concentration with significant effects on primary root growth will be selected for RNA-sequencing and gene expression analyse, to identify genes involved in BL response in leaves, stems and roots of maize seedlings. The information generated in this study reveals a complex transcriptional response and further contributes to our understanding of the crop response to environmental stress.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

This project and AM fellowship benefit of the grant “The role of Brassinosteroids in plant stress response and adaptation to environment” funded by the Ministero degli Affari esteri e della Cooperazione Internazionale-PGR00214, Progetti di Rilevanza internazionale Italia-Corea.

**P20. Studio delle risposte precoci allo stress salino in varietà di riso mendiate analisi di *infrared thermography***

Gianpiero Vigani<sup>1</sup>, Avinash C. Rai<sup>1</sup>, Marta Dell'Orto<sup>1</sup>, Michele Pesenti<sup>1</sup>,  
Giorgio Lucchini<sup>1</sup>, Fabio F. Nocito<sup>1</sup>, Gian Attilio Sacchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali – produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

I processi di salinizzazione dei suoli limitano la produzione agricola mondiale, interessando una superficie coltivata superiore a 800 Mha. Considerando la scarsa disponibilità d'acqua ed il progressivo innalzamento del livello del mare, in Europa si assiste ad un incremento della salinità dei delta dei fiumi, zone spesso interessate alla coltivazione del riso, ossia del cereale maggiormente suscettibile allo stress salino. L'identificazione di genotipi tolleranti la salinità assume pertanto particolare importanza per il futuro della risicoltura in Europa. I meccanismi di tolleranza al sale nelle piante sono suddivisi in tre categorie: i) "*osmotic stress tolerance*", tolleranza ad alte concentrazioni esterne di sale; ii) controllo dei processi di acquisizione del sodio; iii) "*tissue tolerance*", tolleranza ad alte concentrazioni interne di sale. La valutazione della conduttanza stomatica fornisce indicazioni utili sul grado di tolleranza allo stress osmotico di un genotipo. Analisi di *infrared (IR) thermography* rappresentano approcci efficaci e non invasivi per determinare la conduttanza stomatica *in vivo*.

In questo lavoro è stato messo a punto un piano sperimentale volto a misurare le variazioni termiche di varietà di riso allevate in condizioni di stress salino. Piante di Vialone nano e Baldo sono state allevate in soluzione idroponica in presenza di un substrato solido inerte composto da 50% perlite e 50% sabbia. Dopo 15 giorni è stata aggiunta una soluzione di NaCl 40 mM e CaCl<sub>2</sub> 2,7 mM (EC = 5 dS/m). A 0, 1, 2, 8 giorni dall'imposizione dello stress sono state acquisite le immagini con la termocamera IR. Questa indagine preliminare ha evidenziato come già nell'arco delle prime 48 ore sia possibile osservare differenze termiche significative tra le piante controllo e quelle trattate con soluzione salina.

Una precedente analisi di fenotipizzazione condotta su una popolazione di 281 varietà di riso è stata identificata una *core collection* di varietà tolleranti (12) e suscettibili (13) allo stress salino. Queste varietà sono state quindi allevate per la determinazione della tolleranza allo stress osmotico nel breve periodo mediante *infrared thermography*. I risultati mostrano una notevole variabilità tra le varietà esaminate per quanto riguarda i valori termici raggiunti in condizioni di stress. Per caratterizzare ulteriormente la risposta alla componente osmotica dello stress salino in termini di conduttanza stomatica e di traspirazione è stata avviata un'analisi del rapporto isotopico <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O della sostanza organica delle foglie. Tale valore, infatti, risultando influenzato dal rapporto <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O dell'acqua fogliare fornisce informazioni utili alla ricostruzione della "storia traspirativa" delle singole foglie di una pianta soggetta a stress salino. I meccanismi di risposta alla componente ionica dello stress salino verranno indagati attraverso la misurazione del rapporto Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> nelle diverse porzioni della parte aerea.

**ACKNOWLEDGEMENTS**

Attività finanziata nell'ambito del progetto NEURICE (Grant Agreement n. 678168).

**P21. Architettura radicale in due varietà di riso con differente capacità di accumulo di cadmio: indagini bi- e tri-dimensionali**

Gianpiero Vigani<sup>1</sup>, Carlo Porfido<sup>2</sup>, Elena Baldoni<sup>1</sup>, Michele Pesenti<sup>1</sup>,  
Giorgio Lucchini<sup>1</sup>, Fabio F. Nocito<sup>1</sup>, Matteo Spagnuolo<sup>2</sup>,  
Roberto Terzano<sup>2</sup>, Gian Attilio Sacchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali – produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia

L'inquinamento dei suoli da metalli pesanti comporta problemi sia ambientali che per la salute umana. L'impiego di piante accumulatrici di metalli in processi di *phytoremediation* rappresenta una possibile strategia di risanamento ambientale. Tuttavia, per le piante coltivate, come il riso, l'interesse è perlopiù rivolto all'identificazione di genotipi in grado di ridurre l'assunzione giornaliera di metalli pesanti come il cadmio (Cd) attraverso la dieta. I meccanismi che regolano l'accumulo di Cd nella pianta sono molto complessi e controllati da molteplici geni. Un aspetto importante che influenza la capacità di acquisizione degli elementi dal suolo è l'architettura radicale. La plasticità dell'apparato radicale consente alla pianta di esplorare diverse zone del suolo in risposta alle necessità della pianta stessa ed alle condizioni specifiche del suolo. Nonostante la sua importanza, poche sono le informazioni relative al contributo che le diverse componenti dell'architettura radicale - quali la lunghezza delle radici ed il *root growth angle* - possono fornire allo studio dei meccanismi di acquisizione dei metalli pesanti.

Una precedente caratterizzazione dello ionoma della granella di una popolazione di 281 varietà di riso ha evidenziato differenze significative nella capacità di accumulo di Cd delle varietà Capataz (alto contenuto di Cd) e Beirao (basso contenuto di Cd). La successiva caratterizzazione fisiologica e molecolare ha permesso di evidenziare come il minor accumulo di Cd nella granella di Beirao fosse attribuibile ad una sua maggiore capacità di ritenere il metallo nelle radici, limitandone così la traslocazione alla parte epigea. In questo lavoro, piante di Capataz e Beirao sono state allevate in *rhizobox* utilizzando un suolo di risaia. Dalle immagini acquisite dell'apparato radicale è stato possibile stimare una maggiore capacità di esplorazione del suolo di Capataz rispetto a Beirao. Tuttavia l'esperimento condotto in *rhizobox* consente solo un'analisi bidimensionale dell'apparato radicale. Per ottenere informazioni tridimensionali, è stata avviata un'indagine mediante microtomografia computerizzata di assorbimento di raggi-X ad alta risoluzione (X-ray microCT), tecnica di *imaging* che consente di indagare la struttura interna di oggetti radio-opachi in maniera non distruttiva. Tale approccio infatti rende possibile lo studio dell'apparato radicale direttamente nel suolo, quindi senza minimamente alterarne l'architettura, eseguendo la scansione dell'intero contenitore in cui la pianta è coltivata. A tal scopo, un protocollo analitico è attualmente in fase di allestimento per l'ottimizzazione delle acquisizioni.

## **P22. Approcci analitici per l'autenticazione di uve provenienti da agricoltura biologica**

Anita Zamboni, Davide Segà, Zeno Varanini

Dipartimento di Biotecnologie, Università di Verona, Verona, Italia

L'agricoltura biologica è una pratica colturale in crescente aumento negli ultimi decenni, soprattutto nei Paesi europei. Il marchio biologico di un prodotto viene garantito da una serie di standard di produzione attraverso certificazioni ed ispezioni degli Organi di Controllo che dovrebbero assicurare la tracciabilità del prodotto. L'intensificazione di questo settore e i costi legati a questa tipologia di produzione, hanno portato all'insorgere di attività fraudolente, in cui non vengono rispettati i limiti restrittivi che comporta l'agricoltura biologica per quanto riguarda i pesticidi di sintesi e i fertilizzanti.

Le analisi che si effettuano come controllo di attività illecite si basano sul rilevamento dei pesticidi nei campioni di uve, ma è ormai risaputo che il residuo di un fitofarmaco non prova le reali condizioni di crescita della pianta, poiché la concentrazione dei prodotti fitosanitari può trovarsi al di sotto del limite di rivelabilità del sistema analitico, o derivare da contaminazioni casuali. Diversi studi in letteratura dimostrano come ci sia una correlazione tra l'origine (organica o di sintesi) dei fertilizzanti applicati e la composizione elementare dei tessuti delle specie coltivate. Inoltre, il *fingerprinting* degli elementi presenti in un tessuto vegetale, contiene molteplici informazioni riguardanti, non solo l'origine geologica, ma anche la tipologia di coltivazione.

In questo lavoro sono state applicate diverse tecniche analitiche con lo scopo di discriminare le uve ottenute da agricoltura biologica rispetto a quelle prodotte attraverso l'applicazione di tecniche colturali convenzionali. Lo studio è stato condotto sulle uve di 7 aziende che praticano agricoltura biologica e 4 aziende che applicano pratiche di agricoltura convenzionale della Provincia di Verona. Nell'analisi sono state incluse varietà a bacca bianca e rossa. L'analisi ha previsto l'applicazione di due tecniche, le analisi ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) e IRMS (Isotope Ratio Mass Spectrometry) che hanno permesso di caratterizzare rispettivamente i profili multielemento e i rapporti isotopici dell'azoto ( $\delta^{15}\text{N}$ ) dei campioni di uva. Sugli stessi campioni è stata effettuata un'analisi multiresiduale di fitofarmaci.

Con l'analisi ICP-MS sono state determinate le composizioni in macro-elementi, i micro-elementi e delle terre rare. I risultati hanno messo in evidenza che nelle uve dichiarate biologiche le concentrazioni di alcuni elementi nutritivi (B e K) risultano statisticamente diverse da quelle determinate per le uve convenzionali. Al contrario, l'analisi dei rapporti isotopici dell'azoto non ha permesso di discriminare le uve provenienti da agricoltura biologica rispetto a quelle prodotte secondo regime convenzionale.

**P23. Elemental and isotopic fingerprint of PDO wheat: matching soil and crop composition to differentiate geographical provenance**

Carmela Zannella<sup>1</sup>, Thomas Prohaska<sup>2</sup>, Paola Adamo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Agricultural Science, University of Naples Federico II, Portici (NA), Italy

<sup>2</sup>Department of Chemistry - VIRIS Laboratory, University of Natural Resources and Life Sciences, Tulln, Austria

Consumers are increasingly aware to the choice of brands and ingredients selection, with greater predisposition for typical products with quality certifications. Ensuring complete food security is a difficult and complex task that requires penetrating control systems: in this context European Union set out several regulations regarding food authenticity, food quality and geographical origin (Council Regulation n. 510/2006), such as Protected Designation of Origin (PDO), Protected Geographic Indication (PGI) and Traditional Speciality Guaranteed (TSG) brands. These products represent the excellence of European agro-food production and are the result of a unique combination between human and environmental factors of their territories.

The investigation focused on the identification of geochemical markers to authenticate the first bread in Europe which has gained the PDO certificate in its category "*Pane di Altamura DOP*", made from durum flour in Apulia region (south Italy). Multielement composition along with the  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  isotope ratio (analyzed by MC ICP-MS) of wheat flour matched with the cultivation soil proved to be a potential tool in this respect. In the specific case of the soils was analyzed both the total  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  isotope ratio and the bioavailable fraction assessed by 1 mol/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . For comparison, the same analyses were carried out also on wheat and soil samples from another Italian area (Avellino, Campania Region) and all data were compared with literature data of wheat and soil samples from different geographical area: Buenos Aires, Córdoba and Entre Rios (Argentina), Hebei and Henan province (China).

The  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  isotope ratio was able to discriminate Altamura wheat flour ( $0,7082 \pm 0,0002$ ) from Chinese wheat (Xinxiang  $0,7110 \pm 0,0002$ , Yangling  $0,7114 \pm 0,0004$ , and Shijiazhuang  $0,7122 \pm 0,0001$ ), while a certain overlapping was observed with Argentine wheat (Buenos Aires  $0,7073 \pm 0,0005$ , Córdoba  $0,7089 \pm 0,0005$  and Entre Rios  $0,7080 \pm 0,0004$ ). The Ca/Sr ratio discriminated well Altamura and Avellino wheat flour from the Argentinean wheats: infact Altamura and Avellino had ratios of 216 and 211, respectively, higher than the ratio of Argentinean wheats (Buenos Aires 150, Córdoba 83, Entre Rios 129).

A good agreement was observed between the Sr isotope ratio of Altamura wheat and the Sr isotope ratio of the bioavailable Sr fraction in soil; by contrast, the Sr isotope ratio of total Sr in soil was much higher than the Sr isotope ratio of wheat and, consequently, of the soil bioavailable fraction.

The analysis of the content in soil and wheat of elements, such as Mn, Sr, Rb and Fe provided complementary information for the geographical traceability of Italian wheat from Altamura.

## **SESSIONE AMBIENTE**

---

### *Comunicazioni orali*



## Mercury contaminated sites in the context of global mercury cycle

Milena Horvat<sup>1</sup>, David Kocman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>J.Stefan Institute, University of Ljubljana, Jamova cesta 39, 1000 Ljubljana, Slovenia

Mercury is a contaminant of a global relevance, which is evidenced from a new global mercury treaty »Minamata Convention«, adopted in 2013. The main objectives of this convention is to protect human and ecosystem health from adverse effects of this toxic metal by reducing the emissions to air and releases to aquatic environment. Several articles within this convention address these issues including the reduction of emissions from stationary sources; limit the use of mercury in products and processes; closure of the primary mercury mining; permanent and safe storage of surplus liquid mercury and appropriate handling of wastes containing high concentrations of mercury. Remediation of mercury-contaminated sites are also addressed by the convention. Due to the unique chemical and physical properties, mercury cycles between environmental compartments (soil, water, air, and biosphere) and can reach places far away from sources of emissions. Global mercury emission inventories include anthropogenic emissions, contributing via current use or presence of mercury in a variety of products and processes, as well as natural source emissions. These inventories neglect the contribution of areas contaminated with mercury from historical accumulation, which surround mines or production plants associated with mercury production or use. Although recent studies have shown that releases of mercury from these historical sites can be significant, a database of the global distribution of mercury-contaminated sites does not exist, nor are there means of scaling up such releases to estimate fluxes on a regional and global basis. Therefore, an effort was made to estimate the contribution of mercury releases from contaminated sites to the global mercury budget. A geo-referenced database was built, comprising over 3000 mercury contaminated sites associated with mercury mining, precious metal processing, non-ferrous metal production and various polluted industrial sites. In the assessment, mercury releases from these sites to both the atmosphere as well as the hydrosphere were considered based on data available for selected case studies, their number, the reported extent of contamination and geographical location. Annual average global emissions of mercury from identified contaminated sites account for about 3-5 % of the global mercury released to the aquatic environment and up to 5 % to the atmosphere. Although these estimates are associated with large uncertainties, our current understanding of mercury releases from contaminated sites indicates that these releases can also be of paramount importance on the global perspective. This is especially important, as it is known that these sites represent a long-term source of releases if not managed properly. Therefore, it is important to re-focus resources in making decisions regarding mitigation and remediation strategies of mercury-contaminated sites on a global level.

## Valutazione di due biochar in substrati per la coltivazione di ciclamino

Floriana Bedussi<sup>1</sup>, Fulvia Tambone<sup>1</sup>, Patrizia Zaccheo, Laura Crippa

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali -Produzione, Territorio, Agroenergia- (DiSAA), Università Degli Studi di Milano, Milano, Italia

Questo studio ha esaminato la fattibilità dell'utilizzo di biochar in substrati di coltivazione come sostituto di componenti minerali quali perlite e come additivo per neutralizzare l'acidità della torba ed aumentare la capacità di scambio cationico del substrato.

In particolare, si è ricreato un substrato di coltivazione professionale idoneo per la coltivazione di ciclamino (miscela di torba bionda, torba bruna ecc.), sostituendo perlite e correttivo con due diversi biochar ottenuti per piro-gassificazione di legno di conifera il primo (S-Bc) e di pioppo il secondo (P-Bc).

In una serra professionale è stata condotta una prova di coltivazione di ciclamino (*Cyclamen persicum* Mill. "Halios") nel corso della quale è stato monitorato il contenuto in nutrienti della soluzione circolante nei primi tempi di crescita, l'accrescimento delle piante e il loro tenore in nutrienti e, al termine della prova, i principali parametri merceologici che descrivono la qualità del prodotto commerciale, nonché la composizione fogliare e dei fiori in azoto, fosforo e potassio.

Per ogni tipologia di miscela (Controllo, S-Bc+torba, P-Bc+torba) sono stati preparati 27 vasi riempiti con 1.2 L di substrato ciascuno, la prova in serra è durata 155 giorni. Il piano di concimazione è stato quello adottato in tutta la serra. A 5, 14 e 25 giorni di crescita sono stati effettuati prelievi della soluzione tramite campionatori Rhizon, i campioni sono stati analizzati per il contenuto di azoto sia in forma ammoniacale che nitrica e per il contenuto di K, P, Mg, Ca. I dati relativi alla composizione della soluzione circolante sono stati elaborati statisticamente tramite ANOVA per misure ripetute.

I risultati hanno messo in evidenza come la presenza del biochar abbia indotto un maggior tenore di potassio nella soluzione, in tutti i prelievi fatti, rispetto al controllo, mentre per quanto riguarda fosforo e magnesio non è stato evidenziato effetto statisticamente significativo né dei fattori (tempo e miscela), né della loro interazione.

Al termine della sperimentazione si è osservato che diversi parametri morfologici misurati sulle piante di ciclamino sono stati influenzati dalla presenza di biochar; in particolare il biochar da conifera ha indotto una maggiore altezza del cespo di foglie, entrambi i biochar hanno prodotto una fioritura numericamente più ridotta (minor numero di fiori aperti) e, per il biochar da pioppo, anche di minor massa. La presenza di biochar garantisce una migliore nutrizione di potassio, calcio e magnesio nelle piante che mostrano contenuti superiori rispetto a quelle del controllo: mediamente K +25%, Mg +30% e Ca +50%.

In conclusione si può affermare dai risultati ottenuti che il biochar è in grado di sostituire la perlite nei substrati di coltivazione a base di torba e nello stesso tempo presenta un potere correttivo che non si esaurisce nella capacità immediata di neutralizzazione dell'acidità della torba ma persiste nel tempo.

## Hexavalent Cr quantification in highly polluted soils by isotope dilution mass spectrometry (IDMS)

Antonio G. Caporale<sup>1</sup>, Diana Agrelli<sup>1</sup>, J. Ignacio García Alonso<sup>2</sup>,  
Pablo Rodríguez-González<sup>2</sup>, Paola Adamo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Agraria, Università di Napoli Federico II, Portici (NA), Italia

<sup>2</sup> Enriched Stable Isotopes, Department of Physical and Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Oviedo, Oviedo, Spain

Chemical form of Cr strongly affects its mobility and bioavailability in soil. Due to toxicity and carcinogenicity of Cr(VI), its quantification is of paramount importance, although rather complicated, since quantitative extraction must be assured while avoiding Cr redox interconversions throughout the analysis.

Both strong alkaline (pH 12) extraction by NaOH-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (EPA3060A), and subsequent colorimetric Cr(VI) quantification by reaction with diphenylcarbazide in acid solution (EPA7196), are not capable of correcting Cr redox interconversions, even when Cr(VI) is separated in anion exchange column prior to be quantified colorimetrically (EPA7199). The correction can be assured through Cr(VI) quantification by isotope dilution mass spectrometry (IDMS, EPA6800), adding before extraction a known amount of isotopically labelled Cr(VI)-spike. Besides this, the use of EDTA as extractant improves Cr(VI) extraction efficiency, since it complexes Cr(III), preventing its oxidation to Cr(VI), and other metals forming insoluble chromates (Ba, Sr, Pb).

The aim of this work was to quantify Cr(VI) by IDMS in soil samples from two Italian sites: (A) six hectares of farmland severely contaminated by Cr (up to 4,487  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), Zn and heavy hydrocarbons (C>12) and currently confiscated by the Judiciary due to past illegal burial of industrial wastes; (B) the Solofrana valley where soil contamination by Cr from tanneries (up to 594  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) is a consequence of surface deposition of polluted river sediments by periodic floods. Cr(VI) extraction was achieved by focused microwaves (5min at 80°C) using 50 mM EDTA as extractant (pH 10), followed by separation of Cr species by Ion Chromatography and detection by ICP-MS. NIST reference materials (2700 and 2701) were employed to validate the proposed Cr(VI) quantification. The quantification of Cr(VI) was accurate for the majority of the soil samples collected in the site A with exception of those taken from profiles and trenches in correspondence of the buried waste materials. The amount of Cr(VI) extracted by the former samples ranged from 0.1 to 11.2  $\mu\text{g g}^{-1}$  (median 3.0), with ~75% of samples exceeding the Cr(VI) screening value (2  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) settled by L.D. 152/2006 for residential/urban soil. However, during extraction, a moderate reduction of Cr(VI) occurred (2-82%, median 12), due to significant presence of reducing agents (such as organic matter and C>12), but it did not jeopardise the correct Cr(VI) quantification. Vice versa, in the soil samples from profiles and trenches the quantification of Cr(VI) was not accurate, since their high content in organic matter (up to 28.7%) and C>12 (up to 2,150  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) caused the complete reduction (~99%) of Cr(VI). Neither the addition of organic matter-stabilisers, the lowering of extraction temperature/time or soil pre-treatment with hexane provided satisfying improvements. In contrast, Cr(VI) quantification in soils from site B was accurate. Here, Cr(VI) ranged from 0.7 to 5.8  $\mu\text{g g}^{-1}$  (median 1.8), with moderate Cr(VI) reduction (<46%).

## Water footprinting of wine products: an assessment for the water footprint of Piedmont quality wines

Lucrezia Lamastra<sup>1</sup>, Gloria Luzzani<sup>1</sup>, Marco Trevisan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari per una filiera agro-alimentare Sostenibile, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza, Italia

Agriculture plays an important role in relation to global water stresses. Water footprint (WF) is being increasingly used to indicate the impacts of the water use by production systems. International standards for WF have been developed, the same standard is commonly applied to different food-chain production systems, and this could lead to an increased dependence of the results to assumptions and choices made by the researcher. This work illustrates the application of a national standard, developed in the framework of the VIVA project, specifically for wine-grape production system (Lamastra et al., 2016). The developed methodology enables different vines from the same winery to be compared. The impacts of water use through the life cycle of grape and wine production on water resources have been assessed for seven different Piedmont wines. Piedmont produces many premium quality wines and its vineyards in the Langhe and Roero areas are protected under the Cultural Heritage and Landscape Code. The functional unit (FU) was a 750-mL bottle of wine at the winery gate. The WF was assessed using a full water-balance calculated using the WF software available on the [www.viticolture.sostenibile.org](http://www.viticolture.sostenibile.org) website.

WF results could be disaggregated into three components:

- The green water represents the volume of rainwater consumed through crop evapotranspiration.
- The blue water consists in the volume of surface or ground freshwater that is withdrawn from the water bodies and returned to a different catchment area, or to the same catchment area but during a different time period.
- The grey water represents a virtual volume of water corresponding to the volume of freshwater required to dilute pollutants below defined legal or eco-toxicological endpoints.

The present work highlights variability of the overall WF of the seven wines even if produced by the same winegrowing farm. The present methodology considers water body contamination by pesticides whereas, commonly, the WF studies consider just fertilization. Factors that are considered influencing water bodies contamination were: distance from the water body, pesticides rate and eco-toxicological behavior of the active ingredients used. The variability of the results is mainly due to the different vineyard management options. For the seven wines the average green WF was over the 95% indicating a low dependency from the external water input (from 507 L/0,75L to 558 L/0,75L). The blue-WF was negligible (always below 0,5%), therefore vineyards were not irrigated and the impact of the winery phase was very small (in all cases below 0,37%) compared with that of the vineyards, due to the high water use efficiency. The grey-WF, water required to dilute pollutants, fertilizers and pesticides used in the vineyard phase, was between 2,4 L/0,75L and 26,9 L/0,75 L. The variability found indicates the importance of considering water issues at the local scale, considering water an essential part of the terroir.

## UHPLC-ESI/QTOF-MS profiling followed by multivariate chemometrics allowed to trace cultivars and geographical origin in hazelnut

Luigi Lucini<sup>1</sup>, Silvia Ghisoni<sup>1</sup>, Giulia Chiodelli<sup>1</sup>,  
Greta Baccolo<sup>1</sup>, Sergio Tombesi<sup>2</sup>, Marco Trevisan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department for Sustainable Food Process, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza, Italia

<sup>2</sup> Department for Sustainable Crop Production, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza, Italia

The world production of hazelnuts is based on about 20 major varieties selected at regional level and adapted to the specific environmental conditions present at the cultivation areas. Indeed, hazelnut has a clear territorial characterization, redistributing in a few countries and regional selectivity is to be found mainly in soil requirements and favorable climatic characteristics.

The present work was aimed to evaluate whether a metabolomic approach might be able to discriminate hazelnut cultivars one to each other, as well as to trace their geographical origin. On these basis, UHPLC liquid chromatography coupled to quadrupole-time-of-flight mass spectrometry via a dual ESI ionization source (UHPLC-ESI/QTOF-MS), able to profile phenolic compounds and sterols in hazelnut, was set up. Compounds identification was achieved thanks to accurate monoisotopic mass, isotopic spacing and isotopic rations, against an in house database. The screening approach was designed to discern 15 cultivars of hazelnuts and to discriminate the geographical origin of two different cultivars each of them originating from the three main growing regions (i.e., Chile, Georgia and Italia). Indeed, secondary metabolites represent adaptive characters that have been subjected to environmental modifications; furthermore, their content in hazelnut kernel is high and is expected to be diverse.

Therefore, phenolic and sterols profile was interpreted using both unsupervised (Hierarchical clustering, Principal Component Analysis) and supervised (Partial Least Squared Discriminant Analysis, PLS-DA) multivariate statistics.

Both unsupervised and supervised chemometrics allowed to discriminate between cultivars, as well as to trace different geographical origins. Interestingly, the hierarchical clustering highlighted as environmental conditions play a major role, as compared to differences between cultivars. Similarly, yearly variations (still present) were less relevant than geographical origin, thus confirming the potential of the profiling adopted for traceability purposes.

The analysis of PLS-DA loadings plot allowed identifying variables of importance (VIP analysis). Phenolic acids such as dihydrocaffeic, sinapic and coumaric acids, lignans (syringaresinol), anthocyanins (peonidin-3-O-6-acetyl glucoside), 5-tricosenylresorcinol and flavonoids (nobiletin, dydimin, quercetin diglucoside, apigenin-7-O-Apyoside, Isorhamnetin-3-O-rhamnoside and Myricetin-3-O-rhamnoside) followed by several sterols were the most represented discriminators.

## Bioaccessibility of lead in phosphorus amended urban soils: impact of particle size and extraction method.

Padoan E.<sup>1</sup>, Bassini J. <sup>1</sup>, Marsan F. Ajmone <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari – Chimica Agraria, Università degli Studi di Torino

Phosphate amendments are one of the most studied management strategies to immobilize lead (thus reducing his bioaccessibility) in heavily contaminated soils (brownfields, mining areas), but their applicability on urban soils is poorly known. In these areas the most likely pathways of exposure are ingestion and inhalation; consequently, Pb-bound to particles <200  $\mu\text{m}$ , than can be easily retained by hands, and <10  $\mu\text{m}$ , removable from soil through wind or water erosion, are the most important fractions in relation to bioaccessibility.

The objective of this study was to evaluate the effect of phosphate amendments on a historically roadside contaminated soil (RO) and an agricultural soil (SP) spiked with 500 mg kg<sup>-1</sup> of Pb. The effectiveness of the treatments was evaluated through acetic acid (AA) and EDTA extractions, while bioaccessibility with four different methods (USEPA 1340 and modifications). Specifically, we assessed: i) the effect of the aging of the contamination on the efficacy of the amendment; ii) the effectiveness at lower-than-in-literature P:Pb rates (3:5, 6:5 and 12:5), applicable urban soils; iii) the effectiveness on different size fractions.

The aging study lasted two years. At the end, the weakly bound Pb tended to decrease, while EDTA-extractable remained stable. For both extractions, contamination aging resulted in a lower efficacy of the amendment, as P additions led to lower percentages of immobilized (not extractable) metal.

On SP soil, P additions managed to decrease AA-extractable Pb linearly with the added quantity, while EDTA extraction evidenced a high effect (75% reduction) only for the highest addition. Bioaccessibility results reported large differences between extractions; with the official method (at pH 1.5) no immobilization could be seen, while using modified extractions at pH 2.5 an effect on SP soil, although not significant, is visible. On RO soil, no effect was detectable with all extractions.

Lead is enriched in the <10  $\mu\text{m}$  fraction of both soils and, in general, the two lowest additions did not display an immobilization trend, while the highest has an effect only on coarsest particles of both soils. The finest particles displayed a significant immobilization only with the milder extraction (at pH 2.5).

In conclusion, amendments were effective only at the highest application rate and on SP soil, while not on RO soil and they did not had any effect on fine particles. As the evaluation of the efficacy depends on the size fraction and the extraction method, without an accepted method for screening P-treated soils rigorous conclusions cannot be drawn, but our results indicate a limitation of the method for historically contaminated urban soils.

## Utilizzo dell'ammendante compostato misto nella mitigazione dell'assorbimento di metalli pesanti in *Beta vulgaris* L. var. *cycla*

Silvia Rita Stazi, Enrica Allevato, Maria Pia Aleandri,  
Rosita Marabottini, Andrea Vannini, Gabriele Chilosi

Dipartimento per l'Innovazione nei Sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali Università degli Studi della Tuscia, Viterbo

L'esposizione delle produzioni agro-alimentari ad inquinanti inorganici costituisce un rischio per la salute umana. L'utilizzo di ammendanti stabilizzati da biomasse di scarto nella fertilizzazione delle colture è in grado di incidere in modo significativo nella componente fisico-chimica e biologica del suolo potenzialmente limitando la biodisponibilità degli elementi inquinanti.

Il presente lavoro ha avuto l'obiettivo di valutare la potenziale mitigazione del trasporto e distribuzione di micro e macroelementi, fra cui Zn, Mg, Cd, Al, As, Fe, Cr, Cu, Ni, Mn, P in bieta da taglio trattata con un ammendante compostato misto (ACM) in un sito sperimentale caratterizzato da una contaminazione naturale di As ed altri elementi. È stata condotta una sperimentazione agronomica a blocchi randomizzati su bieta da taglio, *Beta vulgaris* L. var. *cycla* (Olter sementi, Milan, Italy) (7 kg ha<sup>-1</sup> di seme, interfila 25 cm, intrafila 5 cm, 60 piante m<sup>2</sup>) presso l'azienda agraria didattico-sperimentale dell'Università della Tuscia. Il terreno oggetto di sperimentazione, per ogni elemento, presentava la seguente concentrazione iniziale: Zn 43 mg kg<sup>-1</sup>, Mg 4170 mg kg<sup>-1</sup>, Cd 2 mg kg<sup>-1</sup>, Al 36142 mg kg<sup>-1</sup>, As 56 mg kg<sup>-1</sup>, Fe 16907 mg kg<sup>-1</sup>, Cr 4 mg kg<sup>-1</sup>, Cu 20 mg kg<sup>-1</sup>, Ni 9 mg kg<sup>-1</sup>, Mn 686 mg kg<sup>-1</sup>, P 18 mg/kg. L'utilizzo di ACM (Aquaser s.r.l., Aprilia, Roma) (40 t ha<sup>-1</sup>) è stato messo a confronto con la concimazione minerale standard (Start-UP NPK 15-8-15 + 2 MgO + 25 SO<sub>3</sub>, Agripoint, Latina, Italia). Come controllo è stata usata una parcella in cui non è stata effettuata alcun tipo di concimazione. La valutazione comparativa del sistema di fertilizzazione è stata eseguita in base alla: i) quantità totale di Zn, Mg, Cd, Al, As, Fe, Cr, Cu, Ni, Mn, P; ii) mobilità di As nel suolo; iii) accumulo degli elementi oggetto di studio nei diversi organi della pianta; iv) misurazione del fattore di traslocazione (FT) (dall'apparato radicale alle foglie) di Zn, Mg, Cd, Al, As, Fe, Cr, Cu, Ni, Mn, P; v) distribuzione dell'As negli organi della pianta e misurazione del fattore di bioaccumulo (BAF) (individuato dal rapporto  $AS_{radice}/AS_{biodis}$  nel suolo).

Lo Zn, Mg, Cd, Al, As, Fe, Cr, Cu, Ni, Mn, P sono stati determinati come metalli totali. La mobilità dell'As nel suolo è stata valutata mediante frazionamento chimico.

I risultati nel loro complesso indicano come l'utilizzo di un ACM determini una significativa diminuzione dell'accumulo di alcuni elementi tossici nella parte edule della pianta. In particolare, pur aumentando la mobilità di As nel suolo, si assiste ad una significativa influenza nell'assorbimento del metalloide, con una diminuzione di accumulo nella radice e nella foglia rispettivamente del 49% e 36% rispetto al convenzionale. Per quanto riguarda il Cr, il decremento nella radice e nella foglia è risultato rispettivamente del 42% e del 39% rispetto al convenzionale. In risposta all'utilizzo di ACM, il Cd ha subito un decremento nella radice e nella foglia rispettivamente del 67% e 45% rispetto al convenzionale.

## **Effetto di concentrazioni crescenti di AFB1 su un processo di digestione anaerobica semi-continuo: stabilità del processo, degradazione della micotossina e qualità del digestato**

Chiara Tacconi<sup>1</sup>, Mirko Cucina<sup>1</sup>, Daniela Pezzolla<sup>1</sup>, Claudia Zadra<sup>2</sup>, Giovanni Gigliotti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Ingegneria Civile e Ambientale, Laboratorio di Chimica Agraria – Chimica delle Biomasse di Uso Agrario, Università di Perugia, Perugia, Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Perugia, Perugia, Italia

L'afatossina B1 (AFB1) è un metabolita secondario altamente tossico, prevalentemente prodotto da alcuni ceppi fungini. Secondo la legislazione europea, il mais contaminato da AFB1 a concentrazioni superiori ai limiti di legge, è considerato un rifiuto e, quindi, deve essere smaltito in discarica o incenerito. La digestione anaerobica (DA) può rappresentare una strategia idonea al recupero di energia e materia da questo rifiuto, ma, attualmente, l'influenza di questa micotossina su processi anaerobici operanti in semi-continuo è praticamente sconosciuta.

L'obiettivo del presente lavoro era quello di indagare quali effetti avessero concentrazioni crescenti di AFB1 sulla stabilità del processo di DA.

Per le prove sono stati utilizzati reattori operanti in semi-continuo che trattavano 1,2 L di miscela di liquame suino e mais (90/10 p/p). La prova veniva condotta in regime di mesofilia (37°C) con un tempo di ritenzione idraulica (HRT) di 15 giorni. La procedura veniva condotta inizialmente con una miscela non contaminata (NC) e successivamente con miscele contenenti 25 (C25), 50 (C50) e 100 µg kg<sup>-1</sup> (C100) di AFB1. Sono state misurate giornalmente le produzioni specifiche di biometano (SBP) ed i campioni di digestato sono stati analizzati per una serie di parametri chimici necessari a valutare la stabilità del processo, la qualità agronomica e la concentrazione residua di AFB1.

Con miscela C25, il processo non mostrava fenomeni di inibizione rispetto al controllo non contaminato (rispettivamente la SBP risultava di 628 L kg SV<sup>-1</sup> e 562 L kg SV<sup>-1</sup>). La miscela C50 induceva l'inibizione del processo con una SBP pari a 441 L kgSV<sup>-1</sup>, probabilmente dovuto a un effetto tossico dell'AFB1 nei confronti della microflora anaerobica. Più rilevante era l'effetto inibente della miscela C100, che mostrava una SBP di 122 L kgSV<sup>-1</sup>. Tale effetto inibente può essere attribuito dall'accumulo di acidi organici volatili dimostrato da un valore di pH del digestato pari a 5,4.

I digestati presentavano un interessante contenuto di macronutrienti (N, P, K), tuttavia essi si mostravano fitotossici a causa dell'elevato contenuto di sali solubili e acidi organici volatili. Inoltre, l'analisi dell'AFB1 mostrava un suo accumulo al crescere della concentrazione nelle miscele, in particolare nel digestato della miscela C50. Nel digestato della prova C100, l'accumulo risultava meno evidente, probabilmente a causa di un pathway degradativo della micotossina attivo a pH acidi. A dimostrazione di quanto ipotizzato nel digestato si riscontrava una significativa presenza di AFB2 (Doyle et al., 1982).

Alla luce dei risultati ottenuti, la DA può rappresentare una valida soluzione per la gestione di mais contaminato da AFB1. L'utilizzo agronomico dei digestati dovrebbe essere comunque preceduto da un trattamento aerobico (compostaggio) necessario a rimuovere la fitotossicità residua e completare la degradazione dell'AFB1.



## Sviluppo di una bioraffineria partendo da *Arundo donax* L. per la produzione di bioidrogeno ed acidi carbossilici

Mariana Villegas<sup>1</sup>, Luca Corno<sup>1</sup>, Fabrizio Adani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Gruppo Ricicla, Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Milano, via Celoria 2, 20133, Milano, Italia.

Negli ultimi anni, l'idrogeno e il suo potenziale come combustibile hanno suscitato grande interesse nell'ambito della ricerca. L'idrogeno è un gas a basso impatto ambientale poiché dalla sua combustione si genera acqua, non presenta emissioni tossiche e possiede un alto rendimento energetico ( $142 \text{ kJ g}^{-1}$ ) a differenza di altri gas come il metano ( $53 \text{ kJ g}^{-1}$ ). L'idrogeno può anche essere impiegato in processi di conversione e sintesi di composti chimici ad alto valore aggiunto.

La biomassa lignocellulosica di seconda generazione è una candidata per la produzione di bioidrogeno; in particolare *Arundo donax* L. o canna comune è una coltura di sempre maggiore interesse per l'ottenimento di energia e per le filiere bioenergetiche. La coltura di *A. donax* si caratterizza per l'entità dei costi molto contenuti grazie al fatto che è poliennale (12-15 anni), ha delle rese molto elevate, necessita di pochi input agronomici (interventi irrigui, concimazioni, fitofarmaci...), può essere impiegata su suoli marginali, resiste bene agli stress biotici ed abiotici.

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di stimare la produzione di bioidrogeno potenzialmente ottenibile da *Arundo donax* L. mediante un sistema CSTR (Continuous-flow Stirred-Tank Reactor) attraverso un processo biologico di digestione anaerobica denominato Dark Fermentation, in cui avviene la conversione fermentativa di substrati organici in gas idrogeno e diossido di carbonio. Al fine di massimizzare la produzione di bioidrogeno, la biomassa ha subito un processo di pretrattamento mediante liquidi ionici; questa tecnologia innovativa prevede l'impiego di 1,3 metilimidazolo-acetato per la rimozione della lignina. La successiva idrolisi della biomassa pretrattata permette la liberazione di zuccheri semplici, quali glucosio e xilosio. La miscela di zuccheri è stata impiegata come substrato nel processo fermentativo termofilo per la produzione di bioidrogeno con coltura microbica mista.

Gli zuccheri impiegati come alimentazione sono stati completamente degradati e convertiti in idrogeno,  $\text{CO}_2$  e acidi carbossilici. La resa di produzione di idrogeno è stata di  $1.66 \text{ mol H}_2 \text{ mol zucchero}^{-1}$  corrispondenti a circa  $1028 \text{ m}^3$  di idrogeno per ettaro. La percentuale media di idrogeno nel biogas è stata pari a 45%.

Inoltre con questo lavoro è stato possibile constatare come il digestato in uscita dal processo di digestione fosse ricco in acidi carbossilici, principalmente acido acetico ed acido butirrico che possono essere impiegati come base della produzione di polioidrossialcanoati (bioplastica).

### ACKNOWLEDGEMENTS

Il lavoro è inserito nel progetto finanziato da Fondazione Cariplo: Cheese-industry waste to added-value compounds and bio-materials: an integrated biorefinery (cowboy).

## **SESSIONE AMBIENTE**

---

*Posters*

## A1. Impiego di microalghe per la produzione di etanolo: prove di crescita in condizioni di azoto-carezza ed in presenza di bicarbonato

Barone V., Puglisi I., Fragalà F., Gennari M., Baglieri A.

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

La produzione di biocarburanti pongono il problema dell'occupazione di terre coltivabili sottratte alla produzione di materie prime ad uso alimentare. Una valida alternativa è rappresentata dalle microalghe, microrganismi fotoautotrofi, la cui produzione può anche essere realizzata direttamente in mare, permettendo di risparmiare terreno arabile. Lo sviluppo delle microalghe è condizionato da diversi fattori quali temperatura, intensità luminosa, disponibilità di nutrienti e di CO<sub>2</sub>. Tuttavia, ogni specie algale manifesta esigenze diverse che devono essere stabilite a priori prima di intraprendere un'attività mirata alla loro produzione. Inoltre, le condizioni menzionate, condizionano il metabolismo cellulare verso l'accumulo di composti che possono rappresentare l'obiettivo primario in funzione della destinazione finale della biomassa algale. Al fine di ottenere un maggiore accumulo di lipidi e/o carboidrati è necessario fornire carbonio inorganico disciolto. La maggior parte degli studi che hanno esaminato gli effetti del carbonio inorganico aggiunto sulla composizione chimica delle microalghe, ha considerato l'aggiunta di CO<sub>2</sub>. Tuttavia, molte microalghe e cianobatteri possono attivamente acquisire HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> dall'ambiente esterno attraverso la membrana plasmatica nel citosol, all'interno del quale viene trasformato in CO<sub>2</sub> attraverso l'azione dell'anidrasi carbonica, garantendo così un flusso costante di CO<sub>2</sub> alla ribulosio 1,5 bifosfato carbossilasi per la fotosintesi. Nelle microalghe commerciali si possono aggiungere dei sali di bicarbonato, in modo tale da fornire un'adeguata fonte di carbonio per la produzione intensiva di biomassa. Inoltre, si è osservato che il bicarbonato di sodio stimola l'accumulo di trigliceridi in molte specie di microalghe (Guckert and Cooksey 1990) così come, in condizioni di carezza di azoto, in una coltura di *Scenedesmus WC-1* (Gardner et al., 2012).

Lo scopo del presente lavoro è stato di verificare se la carezza di azoto e l'aggiunta di bicarbonato potevano influenzare lo sviluppo e la produzione di carboidrati in microalghe della specie *S. quadricauda*.

Lo studio è stato condotto su microalghe allevate in 6 condizioni diverse: substrato ottimale (BG11); BG11-N; BG11+HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (1 e 2 g L<sup>-1</sup>); BG11-N e presenza di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> alle due concentrazioni testate.

Per determinare il contenuto in carboidrati delle biomasse ottenute dopo 49 giorni di allevamento, utilizzando la cromatografia ionica, è stato necessario mettere a confronto 11 metodi di pretrattamento. Il pretrattamento della biomassa che ha garantito la determinazione della quantità più elevata di carboidrati rispetto agli altri pretrattamenti è stato il seguente: 100 mg di microalghe sono state in una prima fase trattate con 3 mL di acido concentrato (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72%) per 20 minuti ad una temperatura di 30°C. Successivamente, i campioni hanno subito una seconda idrolisi con acido diluito (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 4%) ed un trattamento termico per 20 minuti a 121 °C in autoclave.

Le tesi con le microalghe allevate in azoto-carezza e in presenza di bicarbonato ad ambedue le concentrazioni, hanno presentato percentuali di carboidrati totali più elevate rispetto al testimone in BG11. La percentuale più elevata si è riscontrata con l'aggiunta di bicarbonato a concentrazione più alta (2g/L), seguita dalla tesi in carezza di azoto.

## A2. Biosorption of metals and TiO<sub>2</sub> nanoparticle from wastewaters by brewer's *Saccharomyces* yeast biomass

Mojca Bavcon Kralj<sup>1</sup>, Polonca Trebše<sup>1</sup>, Alessandro Mattiello<sup>2</sup>,  
Luca Marchiol<sup>2</sup>, Maria De Nobili<sup>2</sup>, Marco Contin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Health Faculty, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

<sup>2</sup>Dipartimento di scienze agroalimentari, ambientali e animali, Università di Udine, Udine, Italia

The idea of closing industrial cycles is nowadays a necessity. In fact, the usage of inexpensive biosorbents to sequester heavy metals from waste waters is one of the most promising technologies being developed in the last decade. In this study, the capacity of metals removal from wastewaters with spent brewer's *Saccharomyces* yeast biomass was expanded in the field of light metals removal: e.g. Ti and TiO<sub>2</sub> nano-particles.

The manufacture of beer involves various by-products that are produced in large quantities. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass is the second major by-product from brewing industry, after spent grain. The re-use of agro-industrial by-products from economical to ecological point of view is a significant achievement for chemical free waste water treatment technologies (WWTT).

TiO<sub>2</sub> is one of the most important materials used in oxidation of organic molecules. Photocatalysis is an important advanced oxidation process (AOP), that makes use of metal oxides as catalysts in treatment of waste waters. Although several oxides have been exploited so far as catalysts, only TiO<sub>2</sub> expressed enough high stability, good performance and low cost. Ti and TiO<sub>2</sub> nano-particles are broadly employed from catalysts to paints, coatings, plastics, papers, inks, fibres, foods, pharmaceuticals and cosmetics. That is why accumulation of Ti in several forms from nano-particles to bigger aggregates has been increasingly observed in the environment.

In our study, brewing cells of *Saccharomyces cerevisiae* were heat-killed at 45 °C and dried. Their flocculation ability with different metals (initial concentration was 500 ppb) was very promising also with very low masses of yeast (5 g of yeast biomass dry weight for 1 L of wastewaters). The best removal for metals was found in case of Ti, In, and Bi (80%, 70% and 69% respectively), followed by Pb, Ga, Cu, Fe and others (less than 10% of removal). TiO<sub>2</sub> nano-particles were on the other hand, efficiently removed (73 – 87%) even with lower masses of added yeast (2 g of yeast biomass dry weight for 1 L). The experiments were performed in plastic flasks, where samples were shaken for an hour, at 250 rpm, at room temperature. The yeast was removed by filtration (0.2 µm) and samples were analyzed by ICP-MS (PerkinElmer NexION® 350X).

The application of yeast as a biosorbent is a promising way of metals and nanoparticles removal from wastewaters and it also eases the burden costs associated with waste management, representing the introduction of a green flocculation processes.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the financial support from the Slovenian Research Agency (research core funding No. P3-0388, Mechanisms of health protection).

### **A3. Nuovo dispositivo di monitoraggio “real-time” per gli impianti di acquacoltura a tutela della salute dei consumatori e dell’ambiente**

Ettore Capri<sup>1</sup>, Gabriele Sacchetti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>OPERA, Centro di Ricerca per lo Sviluppo sostenibile, Università Cattolica, Piacenza, Italia

<sup>2</sup>AEIFORIA srl, Piacenza, Italia

La maggioranza di impianti di acquacoltura si trova in zone costiere che possono essere contaminata da diversi tipi di inquinanti rilasciati nell'ambiente da fonti antropogene o naturali (es. biotossine da fioriture algali nocive). Molti di questi contaminanti vengono assorbiti dagli organismi acquatici entrando nella catena trofica e in ultima analisi condizionando la salute dei consumatori.

In questo contesto, le misurazioni in tempo reale, il rilevamento automatico e il monitoraggio ambientale sono strumenti fondamentali per essere conformi con la nuova normativa marittima (es. Direttiva europea quadro sulla strategia per l'ambiente marino 56/2008/EC), garantire la protezione dei consumatori e la conservazione dell'ambiente marino.

Il dispositivo SEA-on-a-CHIP ([www.sea-on-a-chip.eu](http://www.sea-on-a-chip.eu)) è un sistema analitico autonomo e miniaturizzato per il monitoraggio in tempo reale in loco di contaminanti nocivi nell'acqua marina, pensato per essere utilizzato come sistema di allarme rapido in strutture di acquacoltura. Il dispositivo è stato sviluppato per analizzare contemporaneamente otto contaminanti “emergenti” (cioè contaminanti che, sebbene non ancora normati, destano preoccupazione per problemi di accumulo e tossicità). Tra questi, disregulatori endocrini, inquinanti organici persistenti, biotossine marine, antibiotici e pesticidi. Il dispositivo fornisce una rilevazione estremamente sensibile e selettiva dei composti bersaglio attraverso un immunoassay competitivo indiretto combinato con rilevamento elettrochimico.

Il sistema di biosensori è stato testato attraverso il confronto con la chimica analitica convenzionale, al fine di validare le prestazioni del dispositivo per applicazioni in acquacoltura. Diversi collaudi e casi studio sono stati condotti prima in laboratorio, poi in condizioni controllate e infine in ambiente reale, per tutti i composti target selezionati.

Per garantire un reale ingresso nel mercato del dispositivo è stato elaborato un piano industriale di commercializzazione che ha previsto la realizzazione di un video 3d (<https://goo.gl/7tNxy7>) e di un sistema di supporto on-line formativo presso la piattaforma OpenTEA ([www.opentea.eu](http://www.opentea.eu)).

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

Questo lavoro è supportato dal progetto europeo FP7 SEA-on-a-CHIP n. 614168, [www.sea-on-a-chip.eu](http://www.sea-on-a-chip.eu)

#### **A4. Digestione anaerobica dello scarto di lavorazione del grano saraceno: effetto dei pretrattamenti e valutazioni energetiche**

Mirko Cucina<sup>1</sup>, Chiara Tacconi<sup>1</sup>, Antonio Di Giorgio<sup>2</sup>,  
Daniela Pezzolla<sup>1</sup>, Ornella Francioso<sup>2</sup>, Giovanni Gigliotti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Ingegneria Civile e Ambientale, Laboratorio di Chimica Agraria - Chimica delle Biomasse di Uso Agrario, Università di Perugia, Perugia, Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Università di Bologna, Bologna, Italia

La crescente richiesta di prodotti senza glutine e la tendenza a riscoprire coltivazioni tipiche hanno portato, negli ultimi anni, ad un forte aumento della produzione di farine e derivati del grano saraceno. Il processo di lavorazione di questa coltura produce significative quantità di pula, che può essere trattata attraverso il processo di co-digestione anaerobica per recuperare sia energia che materia (sottoforma di biogas e digestato utilizzabile in agricoltura). Tuttavia, materiali come la pula, ricchi di fibre e sostanza organica difficilmente degradabile, spesso non risultano abbastanza produttivi in termini di biogas da rendere il processo sostenibile. Il pretrattamento (chimico, termico, meccanico) della pula di grano saraceno potrebbe aumentare il grado di disponibilità della sostanza organica alla degradazione anaerobica, come dimostrato per altri sottoprodotti. Lo scopo del presente lavoro era quello di valutare come differenti tecniche di pretrattamento della pula di grano saraceno potessero migliorare l'efficienza del processo anaerobico.

Per raggiungere l'obiettivo, la pula di grano saraceno tal quale e pre-trattata attraverso diverse metodologie veniva impiegata per condurre prove di biometanazione potenziale in regime di mesofilia (37°C). I pre-trattamenti studiati erano: alcalino (NaOH 5%, 20°C, 24h), termico-alcalino (NaOH 5%, 100°C, 24h), termico a basse temperature (70°, 24h), microonde (150°C, 15') e ultrasuoni (KHz, 15'). Le prove venivano condotte utilizzando reattori da 500 mL dotati di sistema di agitazione e di un sistema di misurazione della produzione di biogas e biometano. Le miscele iniziali e finali venivano chimicamente caratterizzate. Per valutare nel tempo l'evoluzione del processo venivano effettuati per ogni tesi campionamenti a 2, 5, 8 e 15 giorni. Su ogni campione venivano analizzati i principali parametri di processo (pH, solidi volatili e FOS/TAC).

I risultati della prova di biometanazione dimostravano che i pre-trattamenti alcalini (condotti con la medesima concentrazione di NaOH ma a temperature differenti) mostravano una produzione di biometano significativamente superiore al materiale non pre-trattato. Probabilmente, il pre-trattamento alcalino favoriva l'idrolisi delle molecole organiche più complesse e, allo stesso tempo, garantiva una idonea capacità tamponante al sistema. Gli altri pre-trattamenti testati non mostravano differenze significative nella produzione di biometano rispetto alla pula non pre-trattata.

Per la prova di biometanazione della pula pre-trattata per via termico-alcalina veniva elaborato un bilancio energetico definito come il rapporto tra l'energia necessaria al pre-trattamento e quella potenzialmente prodotta dalla combustione del biometano. Il risultato ottenuto indicava che questo tipo di pre-trattamento era energeticamente vantaggioso.

## A5. Autotrophic organisms to counteract excess of micronutrients and heavy metals in the agro-ecosystem: phycoremediation and biofortification perspectives

Daniela Di Baccio<sup>1</sup>, Adriana Ciurli<sup>2</sup>, Andrea Scartazza<sup>1</sup>, Beatrice Pezzarossa<sup>3</sup>,  
Martina Grifoni<sup>3</sup>, Enkhzaya Altangerel<sup>4</sup>, Piero Picciarelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Agro-environmental and Forest Biology (IBAF), CNR, Roma, Italy

<sup>2</sup>Department of Agriculture, Food and Environment, University of Pisa, Pisa, Italy

<sup>3</sup>Institute of Ecosystem Study (ISE), CNR, Pisa, Italy

<sup>4</sup>Department of Ecology, School of Agroecology, Mongolian University of Life Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

The bioconcentration and toxicity of micronutrients and heavy metals is becoming a problem of great concern in agro-ecosystems and aquatic environments. As water scarcity is increased by climate change, population growth and rapid urbanization, the reuse of treated wastewater and sewage sludge for crop irrigation and fertilization is expected to rapidly rise. Reused waters and compost products contain a considerable variety of macro- and micronutrients essential for plant growth. Among these, copper (Cu), zinc (Zn), iron (Fe) and manganese (Mn) are heavy metals, thus posing important aspects of ecological risk when the fast rate of reused waters and compost application has significant cumulative effects on nutrient soil availability and on leachate migration in run-off waters.

Microalgae are very sensitive organisms to trace levels of various organic and inorganic pollutants including heavy metals, thanks to their unicellular nature, photosynthetic ability and fast growth rate. A wide range of publications shows the microalgae ability to take up, metabolize and accumulate heavy metals from several habitats as fresh- and seawater, domestic and industrial effluents, salt marshes and constructed wetlands. This ability is due to the capacity of microalgae cells to develop mechanisms of absorption (intracellular) and adsorption (extracellular) for coping with excess of micronutrients and heavy metals. The specific mechanisms underlying the microalgae capacity as biological sensors of potential toxic metals or accumulators of vitamins and minerals (food supplement) are still unknown.

With the purpose of elucidating the mechanisms of absorption and adsorption with which microalgae can uptake and remove trace elements potentially toxic in the agro-environment such as Cu, Zn, Fe or Mn, the microalga *Chlorella vulgaris* was grown at a laboratory scale, in Pyrex flasks inoculated with the algae colonies in TAP medium (control) and TAP enriched with excess of micronutrients. The algae cultures were weekly monitored in three weeks-experiments, by checking markers of growth and health state, and measuring the photosynthetic activity (pigments and chlorophyll fluorescence) and the micronutrients' contents in algal dry biomass and in the growth medium by ICP-OES. For the most micronutrients tested, significant decreases of their contents in the growth medium were associated with increases of concentrations in the algae dry biomass. This suggests a good ability of *C. vulgaris* in removing these heavy metals from polluted waters and/or accumulating them in the extra- or intra-cellular matrix. The results are discussed in the perspective of using microalgae for removing excess of metals from the environment ("phycoremediation") and/or for accumulating beneficial micronutrients in edible matrices ("biofortification").

### ACKNOWLEDGEMENTS

Thank to the colleague Ermenegildo Magnani (IBAF), for support in elementary analysis.

## **A6. Mitigation of the environmental impact of olive mill wastewater through sustainable bioprocess with energy recovery**

Giuseppe Di Rauso Simeone<sup>1</sup>, Angelo Ausiello<sup>2</sup>, Luca Micoli<sup>2</sup>,  
Giuseppe Toscano<sup>2</sup>, Maria Turco<sup>2</sup>, Maria A. Rao<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Portici, Italia

<sup>2</sup> Dipartimento di Ingegneria Chimica, Materiali e Produzione Industriale, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

In olive cultivation areas, groundwater is threatened by possible contamination due to the spreading of olive mill wastewaters (OMW) over agricultural soils. Currently, OMW spreading is subject to regulations that restrict discharged volumes on soil areas according to the local soil drainage properties. Nevertheless, such practice is not without risk of contamination for groundwater resources, since the total OMW volumes are very large (2 Mm<sup>3</sup>/year only in Italy, where triphasic extraction plants are used) and produced in a short period of the year.

OMW cannot be processed in urban wastewater treatment plants because of inhibition of microbial activity in secondary (biological) treatment. Costs bound to the development and realization of specific physicochemical or biological treatments hindered actual application up to now. The project OilWasteRecovery is aimed at the realization of a combined treatment process for the reduction of toxicity and COD of OMW. Detoxification allows reuse of wastewater for soil irrigation, taking further advantage of residual nutrients and minerals for soil fertilization. Alternatively, detoxification allows OMW processing in urban wastewater treatment plant, so reducing the impact on saturated agricultural soils and underlying groundwaters. The other aspect that the project takes into account is the sustainability of the process thanks to energy recovery resulting from the biogas produced by the anaerobic digestion of OMW. The project aims, therefore, to achieve a net zero energy treatment. The combined treatment consists of three steps, each subject to energetic optimisation:

- 1) detoxification of waste water from olive mill of Campania region to improve the biodegradability in anaerobic digesters, with the use of catalysis and/or adsorption in operative "mild" conditions (room temperature, atmospheric pressure, neutral pH) and with low energy consumption;
- 2) anaerobic digestion with biogas production, maximized by the detoxification of the effluent and the co-digestion of agricultural and/or food waste;
- 3) energy recovery from purified biogas, with improved efficiency of production of electricity and heat through the use of fuel cells and cogeneration.



## **A7. Determinazione di ritardanti di fiamma in campioni di pesce provenienti da tre bacini europei**

Monica Giulivo, Ettore Capri

OPERA, Centro di Ricerca per lo Sviluppo sostenibile, Università Cattolica, Piacenza, Italia

I ritardanti di fiamma (FR) alogenati (HFRs) e organofosforati (OPFRs) sono composti chimici ampiamente incorporati in numerosi prodotti quali giocattoli, materie plastiche e elettroniche al fine di prevenire il rischio di incendio. Nonostante le loro proprietà nella maggior parte dei casi vengono generalmente applicati come additivi, il che significa che non sono legati chimicamente alla struttura del polimero e possono quindi facilmente migrare nei compartimenti ambientali. Il rilascio può essere ottenuto attraverso la volatilizzazione, l'abrasione e/o la perdita durante la loro vita, inclusi i processi di produzione, utilizzo, smaltimento e riciclaggio.

A causa delle loro proprietà lipofile e spesso bioaccumulative, combinate con un'alta persistenza, le concentrazioni in acqua per la maggior parte dei FRs sono di solito molto basse. Tuttavia, i FR sono stati ritrovati in numerosi campioni di biota raccolti in tutto il mondo.

A tal proposito la presenza di HFRs and OPFRs è stata analizzata in campioni di biota provenienti da tre bacini fluviali europei, vale a dire Evrotas (Grecia), Adige (Italia) Sava (Slovenia, Croazia, Bosnia-Erzegovina e Serbia).

Al fine di valutare e confrontare il comportamento ambientale di entrambe le famiglie di ritardanti di fiamma è stato inoltre calcolato il fattore di bioaccumulo (BSAFs).

Per i HFR, i campioni di biota sono stati estratti utilizzando un metodo di estrazione liquida pressurizzata (PLE). Gli estratti sono stati successivamente analizzati mediante gas cromatografia accoppiata a spettrometria di massa (GC-MS-MS). Per gli OPFR invece i campioni di biota sono stati estratti mediante ultrasuoni e analizzati attraverso cromatografia a flusso cromatografico turbolento-liquido accoppiata a spettrometria di massa (TFC-LC/MS).

Sia HFRs che OPFRs sono stati riscontrati in tutti i campioni di pesce raccolti nei tre casi studio con concentrazioni comprese tra 9,32 e 461 ng/g lw e tra 14,4 e 650 ng/g lw, rispettivamente per HFRs e OPFRs. I risultati ottenuti sembrano inoltre indicare un potere di bioaccumulo più elevato per gli HFRs rispetto agli OPFR. Ulteriori studi sono però necessari per meglio comprendere i processi di bioaccumulazione degli OPFRs nel biota.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

This work was funded by the European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) under the Globaqua project (No. 603629), and by the Generalitat de Catalunya (Consolid)

**A8. NP, NPnEOs and DEHP in sewage sludge in Italy.  
Presence of organic contaminants and evaluation of their use as  
fertilizer for sustainable development.**

Lucrezia Lamastra<sup>1</sup>, Marco Trevisan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari per una filiera agro-alimentare Sostenibile, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza, Italia

In recent years, following the sustainability dictate, the replacement of materials with alternative materials, which acquire an economic, energetic and environmental value, has gained increasing importance. Among these sewage sludges, resulting from the sedimentation of the suspended solids during the wastewater treatment processes, have been widely used. In the Mediterranean region 40% of sewage sludge is used as a soil organic amendment in agriculture due to the high organic matter content (González-Ubierna et al., 2012). While the use of sewage sludge to bring nutrients and organic matter could be beneficial for the soil, it also represents a risk due to the content of contaminants like heavy metals, organic contaminants and pathogens. The Sewage Sludge Directive (86/278/EEC) is, at present, completely outdated and sets limit values for only 7 heavy metals: cadmium, copper, nickel, lead, zinc, mercury and chromium in soil and in sludge itself. Nevertheless no legislation has been implemented due to lack of data on sewage sludge contamination by organic pollutants, and possible negative effects to the environment (Suciu et al., 2015). The present study aims to show the results of two years sampling of sewage sludge collected from 35 waste water treatment plants situated in the North of Italy. Sewage sludge samples (130) were analyzed in order to assess their suitability as soil fertilizer regarding nonylphenol (NP), nonylphenoxyethoxylates (NPnEOs) and phthalates (DEHP) contents. An effective procedure to analyze sewage sludge has been developed, showing an excellent repeatability and recoveries. Ecotoxicological risk assessment was evaluated using risk quotients (RQs) for sludge amended soil. The majority of the analyzed samples do not contain NP, NPnEOs and DEHP at level higher than the limit proposed by EU Directive Draft. The assessment using RQs reports that NP and NPnEOs never give values higher than 1, and for DEHP the obtained RQs exceed the value of 1 just three times. Data obtained were compared with the other European countries resulting comparable. From the obtained results, it appears that the proposed EU limits for the selected substances in sewage sludge to be used as soil fertilizer in agriculture are sufficiently conservative to avoid negative effects on soil fauna.

## A9. Ficorisanamento di acque contaminate da benzo[a]antracene

Laura Marigliano<sup>1,2</sup>, Anna Guadagno<sup>1</sup>, Mauro Esposito<sup>2</sup>, Giuseppe Di Rauso Simeone<sup>1</sup>,  
Edgardo Filippone<sup>1</sup>, Pasquale Chiaiese<sup>1</sup>, Maria A. Rao<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, via Università 100, 80055 Portici, Italia

<sup>2</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, via Salute 2, 80055 Portici, Napoli, Italia

Gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) sono composti organici ubiquitari costituiti da due o più anelli aromatici che conferiscono caratteristiche chimico-fisiche tali da favorirne la persistenza nell'ambiente. La loro fonte principale di emissione nell'ambiente è di origine antropica (attività industriali, traffico urbano, fumo di sigaretta) sebbene alcuni eventi naturali (eruzioni vulcaniche, incendi boschivi) possono favorirne il rilascio. Enti come International Agency for Research on Cancer (IARC) li ha classificati altamente tossici e/o cancerogeni. Il benzo[a]antracene (BaA) è uno dei 16 IPA più tossici ed è stato incluso dalla IARC nel gruppo 2B dei composti possibilmente cancerogeni per l'uomo.

Il ficorisanamento è tra le tecnologie di bonifica di acque contaminate anche da composti organici che sta riscuotendo un buon successo. Le microalghe, che sono un vasto gruppo polifiletico di organismi, nella maggior parte fotoautotrofi, sono capaci di degradare alcuni policiclici aromatici, come naftalene e fenantrene mediante un meccanismo di azione basato su alcuni enzimi comuni a batteri e funghi tra cui possiamo citare le laccasi.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di utilizzare microalghe verdi (*Chlorophyceae*) nel risanamento di acque contaminate da BaA. Sono state prima identificate le specie algali capaci di crescere in presenza di tale composto e poi è stata valutata la capacità di degradazione del BaA andando a verificare gli effetti sulla produzione dei pigmenti fotosintetici e sull'attività delle laccasi. La crescita di diverse specie algali è stata seguita in presenza di concentrazioni crescenti di BaA a diversi tempi di incubazione.

La presenza di basse concentrazioni di BaA non ha influenzato la crescita delle cellule algali, mentre all'aumentare della concentrazione è stato osservato un aumento del numero di cellule che aveva effettuato la divisione cellulare, ad eccezione delle specie *Chlamydomonas reihardtii*, *Ankistrodesmus braunii* e *Scenedesmus vacuolatus*. Tuttavia, alla concentrazione più elevata di BaA l'inibizione è stata maggiore del 50% in tutte le specie algali studiate.

Il BaA ha influenzato il contenuto dei pigmenti fotosintetici e dei carotenoidi con una riduzione della clorofilla totale prodotta e ad un incremento del contenuto dei carotenoidi, indice dello stress indotto dell'apparato fotosintetico cellulare. E' stata valutata la capacità di degradazione del BaA, la cui concentrazione inibiva la crescita algale del 50%, nelle specie *C. reihardtii*, *A. braunii* e *S. vacuolatus*. Nel breve periodo il contaminante è stato accumulato nei tessuti algali, mentre nel lungo periodo è stata osservata una riduzione della concentrazione di BaA all'interno delle alghe dovuta ad un processo di degradazione con formazione di prodotti secondari.

## A10. Piante acquatiche e antidoti per il risanamento di acque contaminate da Cu<sup>+2</sup>

Ivan Panfili<sup>1</sup>, Maria Luce Bartucca<sup>1</sup>, Eleonora Ballerini<sup>2</sup>, Daniele Del Buono<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

Negli ultimi decenni si è assistito ad un progressivo deterioramento dei corpi idrici dovuto alla dispersione nell'ambiente di molte sostanze inquinanti. Un caso particolarmente importante è quello dei metalli pesanti. Essi, infatti, possono risultare molto mobili nell'ambiente, e capaci anche di accumularsi nei tessuti di organismi acquatici. Questo ovviamente comporta seri problemi agli ecosistemi colpiti e alla salute umana.

Tra le strategie di bonifica ambientale, la fitodepurazione ha stimolato una certa attenzione; essa si basa sull'utilizzo di specie vegetali, da insediare negli ambienti inquinati, in grado di accumulare notevoli quantità del contaminante. Tra le specie vegetali ritenute adeguate per il risanamento degli ambienti acquatici, recentemente è stato rivolto un particolare interesse a quelle acquatiche galleggianti.

La presente ricerca ha pertanto avuto lo scopo di investigare la capacità di due specie acquatiche "free floating", *Lemna minor* (lenticchia d'acqua) e *Salvinia auriculata* (salvinia comune), di rimuovere Cu<sup>+2</sup> (Cu) da acque contaminate, cercando di potenziare quest'abilità con degli agrofarmaci detti antidoti (*safeners*). Numerosi studi hanno infatti evidenziato che i *safeners* aumentano con notevole efficacia la resistenza di alcune specie vegetali a erbicidi, stress abiotici e biotici di varia natura.

I risultati ottenuti hanno evidenziato che la lenticchia d'acqua, tra le due specie vegetali, era quella in grado di resistere a concentrazioni di Cu più elevate. Comunque, tale capacità veniva stimolata in entrambe le specie dai *safeners*. Sono stati infatti determinati %I<sub>50</sub> significativamente più elevati nelle piante trattate con i *safeners* (%I<sub>50</sub> è la concentrazione di Cu<sup>+2</sup> capace di inibire del 50% la crescita delle piante). I dati di BCF (*Bioconcentration factor*) hanno evidenziato che entrambe le piante, allorché trattate con i *safeners*, manifestavano una maggior capacità di accumulare Cu. Successivamente, gli esperimenti di fitodepurazione di acque contaminate con Cu<sup>+2</sup> hanno evidenziato che i *safeners* potevano aumentare l'azione decontaminante sia della lenticchia d'acqua, sia della salvinia. In ultimo, la messa a punto di un metodo analitico ha permesso di monitorare i residui degli antidoti nelle acque di allevamento. La lenticchia in poco tempo dal trattamento assorbiva completamente i *safeners* somministrati; nel caso della salvinia, dopo qualche settimana dal trattamento i residui degli agrofarmaci venivano ancora rinvenuti nelle acque di allevamento.

## A11. Accumulo dei solfuri nei suoli barenicoli ed implicazioni sulla distribuzione delle comunità vegetali

Elisa Pellegrini<sup>1</sup>, Valentino Casolo<sup>1</sup>, Francesco Boscutti<sup>1</sup>,  
Marco Contin<sup>1</sup>, Maria De Nobili<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali

Gli ambienti barenicoli rivestono una grande importanza in termini di biodiversità e servizi ecosistemici, ma sono altresì sistemi estremamente vulnerabili. I fattori che regolano gli equilibri esistenti rispondono alla variazione tidale, che caratterizza giornalmente tali ambienti. In queste condizioni, la mineralizzazione della sostanza organica nel suolo avviene seguendo processi perlopiù anaerobici che implicano anche la riduzione del solfato, particolarmente abbondante in ambiente barenicolo a causa degli apporti di acque salmastre. La conseguente produzione di ione solfuro può comportare una tossicità diretta o indiretta sugli organismi viventi, influenzando la distribuzione delle specie vegetali. Questa interazione è difficile da verificare per l'elevato numero di fattori in gioco, incluse peculiarità sito-specifiche e risposte specie-specifiche.

In questo lavoro sono stati misurati diversi parametri chimico fisici del suolo, inclusa la concentrazione di solfuri, operata mediante una sonda selettiva per lo ione  $S^{2-}$ , e sono stati effettuati rilievi della vegetazione e di individui della specie *Limonium narbonense*, la più comune nelle barene della Laguna di Grado e Marano (Nord Adriatico).

Dai rilievi sono stati individuati diversi gruppi vegetazionali i quali mostrano risposte nettamente diverse in funzione ai parametri del suolo considerati. Le maggiori concentrazioni di solfuri (oltre a 10 mM) si riscontrano in corrispondenza di comunità a dominanza di *Spartina maritima*, in particolare nei suoli con tessitura argilloso-limosa. Questa specie è probabilmente in grado di tollerare elevate concentrazioni di solfuri attraverso vie di esclusione a livello radicale. Le concentrazioni minori si riscontrano invece in presenza di *L. narbonense* e *Juncus maritimus*, indipendentemente dalla tessitura dei suoli. *L. narbonense* in particolare è in grado di diffondere ossigeno nel suolo, condizione che modifica drasticamente le condizioni redox e di conseguenza la produzione di solfuri. Anche la quota dei diversi siti influenza la presenza dei solfuri (correlazione di Pearson -0.44) pur non mostrando elevate correlazioni con il potenziale redox (0.53) e confermando quindi il diverso significato dei due termini. Infatti, la quota rappresenta l'influenza del periodo giornaliero di sommersione ed è indipendente dai fattori biotici che invece possono influenzare anche più direttamente lo stato redox di un suolo. La concentrazione di carbonio organico nel suolo sembra essere guidata dagli apporti della biomassa epigea di *L. narbonense*, ma non sembra influire sulla produzione di solfuri.

Le interazioni che intercorrono tra l'accumulo di solfuri nel suolo e la zonazione costituiscono un ambito ancora poco studiato. La presenza di minime concentrazioni di ione solfuro potrebbe infatti rilevarsi necessaria per la colonizzazione di alcune specie alofile, nonché determinare una diversa biodisponibilità di metalli potenzialmente tossici legati alla frazione dei solfuri volatili. Questi fattori possono di conseguenza influenzare la distribuzione delle comunità vegetali e complicare le interazioni esistenti tra i comparti suolo-pianta.

## A12. Recupero di nutrienti e produzione di idrogeno da digestato mediante sistemi bioelettrochimici

Tommy Pepè Sciarria<sup>1</sup>, Fabrizio Adani <sup>1</sup>, Fulvia Tambone<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Università degli Studi di Milano-Disaa, Gruppo Ricicla Lab, Milan, Italy

Il recupero dei nutrienti, come il fosforo (P), dalle acque reflue urbane e agroindustriali rappresenta un nuovo sistema per valorizzare gli scarti attraverso il recupero di sostanze nutritive e l'abbattimento degli inquinanti. La struvite ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) è un minerale che cristallizza in maniera spontanea a pH basico (>7.5) in presenza di  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  e viene prodotto per permettere la precipitazione ed il recupero del P presente nelle acque reflue. In questo lavoro, è stato studiato un metodo di recupero del fosforo nella frazione liquida del digestato mediante il trattamento del digestato prima attraverso sistemi bio-elettrochimici e poi mediante precipitazione indotta della struvite. Una parte dello studio è stata effettuata allo scopo di ridurre i costi dei sistemi bioelettrochimici MEC. A tal fine è stato testato un catodo a basso costo in maglia d'acciaio inox (SSM) alternativo ai catodi standard con catalizzatore al platino come .Le sperimentazioni svolte utilizzando il digestato come *feeding*, sia per i bioreattori *Microbial fuel cell* che per i *Microbial electrolysis cell* (1.07V applicati) hanno portato ad una rimozione del fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) tra il 21% ed il 30%, e del carico organico (COD) tra il 27% ed il 44%. La successiva aggiunta di soluzioni ad alto titolo di  $\text{Mg}^{2+}$  ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e *seawater bittern*), noto fattore limitante del processo di cristallizzazione della struvite, utilizzate nel rapporto molare di 1.6:1 e 1.5:1 (Mg:P), ha consentito un ulteriore abbattimento del fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) fino tra il 60 e il 70% con un abbattimento finale del 90%. Le performance dei sistemi bioelettrochimici MEC ha portato a produzioni di idrogeno medie di  $1.90 \pm 0.04 \text{ l H}_2 \text{ l}^{-1} \text{ d}^{-1}$  ad una concentrazione di idrogeno pari al  $85 \pm 1.8 \% \text{ H}_2$  sul biogas prodotto. Per quel che riguarda i reattori MFC, l'efficienza Coulombica riscontrata è stata del 35%, con una potenza elettrica normalizzata sul volume totale del bioreattore di  $14.19 \pm 0.15 \text{ W m}^{-3}$ . Questi risultati mostrano come i sistemi MEC e MFC potrebbero essere utilizzati sia per il trattamento del digestato stesso (abbattimento carico organico) ma anche come tecnologie per produrre  $\text{H}_2$  ed energia elettrica. Inoltre, i dati ottenuti, hanno evidenziato come i sistemi bioelettrochimici siano in grado di favorire un abbattimento e un recupero del fosforo. In ultimo, i test sperimentali condotti comparando il catodo a basso costo SSM in alternativa allo standard al platino, hanno evidenziato performance simili, che permetterebbero un abbattimento dei costi grazie anche al recupero dell'idrogeno ed dell'elettricità prodotta. In conclusione, i risultati ottenuti hanno mostrato come le tecnologie MET possano essere integrate alla comune digestione anaerobica, mettendo le basi per un sistema di trattamento dei reflui in grado di valorizzare le biomasse e i reflui zootecnici non solo producendo energia ma anche recuperando nutrienti.

### ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by Fondazione Cariplo – Project: Renewable P-fertilizer from livestock effluent to prevent water eutrophication - POWER (Grant 2014-1276)

### **A13. Recupero e valorizzazione della lana “di scarto”: valutazione della capacità di adsorbimento del rame**

Daniela Pezzolla<sup>1</sup>, Francesca Maria Sarti<sup>2</sup>, Giovanni Gigliotti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Ingegneria Civile ed Ambientale, Laboratorio di Chimica Agraria – Chimica delle Biomasse di Uso Agrario, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

Lo smaltimento della lana di scarto (residui della tosatura e la lana poco pregiata o di media qualità) rappresenta ancora oggi un problema per molti allevamenti ovini dato che la lana sucida è classificata dal Reg. CE 1774/2002 (integrato con il Reg. CE 1069/2009) come sottoprodotto di origine animale a rischio igienico-sanitario e quindi rifiuto speciale.

Se da un lato il suo smaltimento è molto oneroso per la filiera agro-zootecnica, però è anche vero che la lana, per le sue proprietà, è adatta anche ad usi non tessili. Infatti, una delle proprietà più interessanti è quella di assorbire le sostanze nocive presenti nell'ambiente come gas, polveri sottili e metalli. Questa proprietà è dovuta probabilmente all'elevata presenza di cheratina nelle fibre sostanza in grado di formare legami con gli xenobiotici organici ed inorganici.

All'interno di questo contesto si inserisce l'obiettivo del presente lavoro, che ha lo scopo di valutare la capacità di adsorbimento di diverse tipologie di lana di scarto nei confronti del  $\text{Cu}^{2+}$  presente in soluzione.

In particolare, è stata testata la capacità di adsorbimento del  $\text{Cu}^{2+}$  su campioni di lana ottenuta dalla tosatura delle seguenti razze: Sarda, Lacaune, Appenninica, Gentile di Puglia, Sopravissana e Merinizzata italiana. Dopo aver selezionato e classificato le lane di scarto in base alla qualità della fibra, sono stati effettuati dei sub-campioni per ogni tipologia di lana che sono poi stati sottoposti a lavaggio Soxhlet per eliminare la lanolina presente nel vello.

La capacità di adsorbimento è stata valutata attraverso un test di batch equilibrium che consiste nel mettere la lana a contatto con soluzioni a concentrazione crescente di  $\text{Cu}^{+2}$  (2.5, 5, 10, 14 e 28 mg/L) in rapporto 1:100 p/v, mantenute in agitazione per 24 h. La concentrazione finale del  $\text{Cu}^{+2}$  nelle soluzioni acquose è stata determinata mediante spettroscopia di assorbimento atomico e per differenza è stata calcolata la quantità di  $\text{Cu}^{2+}$  adsorbita da ciascun campione.

I dati sono stati elaborati in base all'equazione di Freundlich. I risultati dimostrano una discreta capacità di adsorbimento di tutte le lane, in particolare questo effetto è più significativo per la Gentile di Puglia ( $K_f = 0,97$ ), seguita dalla Merinizzata ( $K_f = 0,52$ ); la Sarda e la Lacaune, mostrano invece i più bassi valori di adsorbimento.

Tale lavoro ha dimostrato che la lana definita “di scarto” può essere recuperata e valorizzata per il risanamento ambientale di siti inquinati da metalli pesanti, senza subire necessariamente trattamenti preliminari che andrebbero ad aumentare i costi di gestione.

## A14. Prove di biodegradazione anaerobica di nuovi biopolimeri utilizzati nel settore alimentare

Daniela Pezzolla<sup>1</sup>, Elena Fortunati<sup>2</sup>, Debora Puglia<sup>2</sup>,  
Luigi Torre<sup>2</sup>, Anna Ricci<sup>1</sup>, Chiara Tacconi<sup>1</sup>, Giovanni Gigliotti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Ingegneria Civile ed Ambientale, Laboratorio di Chimica Agraria - Chimica delle Biomasse di Uso Agrario, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

<sup>2</sup> Dipartimento di Ingegneria Civile ed Ambientale, UdR INSTM, Università degli Studi di Perugia, Terni, Italia

L'inquinamento ambientale dovuto allo smaltimento dei rifiuti plastici, ha portato allo sviluppo di nuove tecnologie volte alla produzione di materiali "bio-based", ovvero prodotti di origine naturale e che sono in grado di biodegradarsi ad opera dei microrganismi presenti nell'ambiente. Pertanto è diventato sempre più diffuso l'impiego di polimeri biodegradabili (biopolimeri) di origine naturale per la realizzazione di materiali plastici da destinare al settore alimentare.

In questo contesto sono stati studiati nanocristalli di cellulosa (CNC), estratti da fibre di canapa *Carmagnola*, come rinforzo di biopolimeri di acido polilattico (PLA) e acido polibutilene succinato (PBS). In particolare, l'obiettivo del lavoro è stato quello di valutare la biodegradazione in ambiente anaerobico di 3 tipologie di biopolimeri: PLA (film prodotto con acido polilattico), PLA\_20PBS (film prodotto con acido polilattico e polibutilene succinato) e PLA\_PBS\_3s-CNC (3% in peso di nanocristalli di cellulosa).

A tale scopo è stata effettuata una prova di digestione anaerobica in *batch* ad una temperatura di  $52 \pm 2$  °C, utilizzando il digestato proveniente dal trattamento di rifiuti urbani come inoculo (CNT), a confronto con campioni del medesimo inoculo addizionati con PLA, PLA\_20PBS e PLA\_PBS\_3s-CNC. Inoltre, ai fini della validità del test, è stata valutata, utilizzando il medesimo inoculo, anche la biodegradazione della cellulosa (REF\_MAT). I film bioplastici ed il materiale di riferimento sono stati addizionati all'inoculo dopo essere stati disgregati in frammenti (1,5x1,5cm) per una quantità pari ad 1 g di solidi volatili. La biodegradazione anaerobica è stata valutata per un periodo di 28 giorni attraverso la misurazione giornaliera del biogas prodotto.

Le analisi chimiche dell'inoculo mostravano un contenuto medio di solidi volatili del 62% ed un valore di pH medio pari a 8,2, parametri che avrebbero assicurato un corretto svolgimento del processo anaerobico. Durante la prima settimana si assisteva ad un incremento della produzione di biogas solo nei campioni addizionati con la cellulosa. Invece i campioni di PLA, PLA\_20PBS e PLA\_PBS\_3s-CNC mostravano un andamento delle produzioni non solo inferiore alla cellulosa, ma anche minore rispetto all'inoculo tal quale, suggerendo che la biodegradazione dei biopolimeri oggetto di studio probabilmente inibiva i primi stadi del processo. L'inoculo trattato con il PLA\_PBS\_3s-CNC a differenza degli altri due biopolimeri, mostrava al termine dei 28 giorni un quantitativo di biogas emesso di poco superiore rispetto al CNT, dimostrando che il formulato con il 3% di nanocristalli di cellulosa, non aveva effetti inibitori sul processo e soprattutto risultava più facilmente biodegradabile.



## **A15. The anaerobic digestion process capability to produce biostimulant: the case study of the dissolved organic matter (DOM) vs. auxin-like property**

Barbara Scaglia, Fabrizio Adani

Gruppo Ricicla Labs – DiSAA - Università degli Studi di Milano, Via Celoria 2, Milano, Italy

Biostimulants improve plant growth by stimulating nutrient uptake and efficiency, improving tolerance to abiotic stress and raising crop quality. Biostimulants are currently only recognised in five categories. However, the recent interest in this sector has led to the identification of some new ones. The aim of this work was to study the auxin-like activity of digestate Dissolved Organic Matter (DOM) obtained from full scale anaerobic digester plants. All DOMs had biostimulant capacity comparable with humic acid and aminoacids. The auxin-like activities depended mainly on the hydrophobic fractions. All digestate DOM conferred auxin-like properties similar to those measured for recognised biostimulants. The hydrophobic DOM fractions (Ho and NHo) were responsible for the hormone-like effect because of the presence of both auxin-active forms (3-indoleacetic acid and hydroxyphenylacetic acids) and auxin-like molecules (fatty acids, linear carboxylic acids, aromatic carboxylic acids and aminoacids).

The PLS analysis identified the fatty acid and the auxin-active molecules, i.e. molecules typically produced during organic matter anaerobic degradation, as the major factors responsible for the hormone-like effect. More in depth, the auxin-effect were directly linked to the auxin-active molecules and to the fatty (67% of the total importance in giving auxin-like activity) while a minor or null contribution was attributable to the carboxylic acids and aminoacid categories.

These results suggested that the anaerobic digestion process could be a useful biotechnology to produce biostimulants. Anaerobic digestion plants are now widespread in the EU with a consistent increment each year moreover than 5.5 million hectares are treated with biostimulants in Europe (defined as the European Economic Area) every year and with an increasing market request of 10% or more per year (EBIC, 2017). In this perspective, digestate could become an important source for the production of new biostimulant classes to meet the agricultural sector's new requirements and to add value to the anaerobic digestion sector, thus contributing to the development of the circular economy.

## **A16. Residui di quattro fungicidi a rischio ridotto in frutti di fragola trattati in campo e controllo dello sviluppo della muffa grigia in postraccolta**

Elga Monaci<sup>1</sup>, Lucia Landi<sup>1</sup>, Sheyen Mattei<sup>1</sup>, Erica Feliziani<sup>1</sup>,  
Gianfranco Romanazzi<sup>1</sup>, Costantino Vischetti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italia

I fungicidi a rischio ridotto (reduced-risk fungicides) sono caratterizzati da basso impatto ambientale, alta specificità d'azione, basso potenziale di contaminazione delle acque e basso rischio per la salute umana e mostrano una notevole efficacia nel controllo delle malattie fungine dei frutti in pre- e postraccolta.

Il presente lavoro riporta i dati relativi ai residui di quattro fungicidi a basso rischio (pyrimethanil, boscalid, fludioxonil e cyprodinil) in frutti di fragola trattati per aspersione in campo, raccolti in tempi diversi ed esposti a shelf life, sia immediatamente dopo la raccolta, sia dopo 7 giorni di frigoconservazione a 4°C, fino alla comparsa della muffa grigia, causata da *Botrytis cinerea*.

I risultati mostrano che i residui dei fungicidi risultano in tutti i campioni e per tutti i tempi di prelievo (zero, 4, 8, 12 giorni dal trattamento) al di sotto dei MRL (Maximum Residue Level), indicando un profilo positivo dal punto di vista dei rischi per la salute umana. La degradazione più veloce è stata mostrata dal pyrimethanil che a 12 giorni dal trattamento risultava il 18,8% dell'iniziale, la più lenta dal fludioxonil che alla stessa epoca risultava invece l'89,7% dell'iniziale, comunque sempre al di sotto del MRL.

L'efficacia nel controllo della malattia, valutata attraverso l'indice di McKinney, che incorpora sia l'incidenza che la gravità del sintomo, è risultata sempre elevata con valori dell'indice che si attestavano intorno a valori compresi fra lo zero ed il 40%, rispetto al 70% del controllo non trattato, mostrando una significativa efficacia dei quattro fungicidi nel controllo della malattia.

In conclusione, l'esperimento effettuato dimostra la buona efficacia dei fungicidi a basso rischio nel controllo della muffa grigia postraccolta nei frutti di fragola. Il basso livello di rischio per la salute umana e per l'ambiente fa preferire l'uso di questi principi attivi rispetto ad altre soluzioni, fermo restando che la gestione dei trattamenti debba prevenire la possibile comparsa di fenomeni di resistenza e assicurare lo stretto controllo dei residui, che non devono mai superare i valori degli MRL di legge.

## A17. Recupero della struvite a partire dal separato liquido del digestato: risultati preliminari

Zangarini S.<sup>1</sup>, Tambone F.<sup>1</sup>, Trombino L.<sup>2</sup>, Adani F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Milano, Italia.

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze della Terra, Università degli Studi di Milano, Italia.

Della seconda metà del Novecento il consumo globale di carne è aumentato e si stima che questo trend continuerà a crescere. La richiesta di maggiori prodotti di origine animale nella grande distribuzione si riflette sia nell'incremento della produzione di cereali e uso di fertilizzanti, sia nell'immissione di output di scarto dal settore zootecnico e agricolo. Tuttavia, se l'obiettivo comune è quello di tamponare gli effetti dell'azoto (Direttiva Nitrati), l'attenzione è ora focalizzata sulle problematiche legate al fosforo. Esso rappresenta infatti una risorsa non rinnovabile e in via di esaurimento nel prossimo futuro. I problemi sono relative alla sua concentrazione nel pool non labile nel terreno (non utilizzabile dalle piante) e alla sua forma solubile, causa principale di eutrofizzazione delle acque. A tal proposito questo lavoro focalizza l'attenzione sui metodi alternativi di impiego di reflui zootecnici, al fine di recuperarne la componente fosfatica e ricavare struvite dagli effluenti sottoposti a processi di digestione anaerobica. La struvite è un fosfato esaidrato di ammonio e magnesio ( $\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) caratterizzato da cristalli con scarsa solubilità che rendono questo sale un fertilizzante fosfatico e azotato a lento rilascio nel tempo.

Per l'esecuzione delle prove sono stati utilizzati 5 differenti separati liquidi. Dopo aver effettuato trattamenti preliminari i campioni sono stati analizzati tramite ICP per determinare il contenuto totale di P e Mg e calcolare le quantità di sorgenti di Mg ( $\text{MgCl}_2$ , ceneri e seawater bittern) da aggiungere, creando le condizioni ottimali per la precipitazione di struvite. I risultati mostrano che l'aggiunta di seawater bittern determina il picco massimo di abbattimento del fosforo (85%) risultando così il migliore trattamento in termini di struvite precipitata. Tale dato è confermato dalle analisi in diffrazione a raggi X e SEM-EDS, le quali mostrano che il fosforo abbattuto precipita come struvite. In particolare le analisi al SEM rivelano che l'aggiunta di SWB permette una migliore cristallizzazione e crescita della struvite, la quale si presenta in cristalli più puri e non inclusi in una matrice mista di altri sali ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Si}^{4+}$ ), a differenza di quelli ottenuti con gli altri trattamenti. È necessario considerare che anche se questi dati provengono da una sperimentazione effettuata a scala di laboratorio, rappresentano un ottimo punto di partenza per il trasferimento di questo lavoro ad un impianto pilota.

### ACKNOWLEDGEMENTS

Questa ricerca è supportata da Fondazione Cariplo – Progetto: Renewable P-fertilizer from livestock effluent to prevent water eutrophication - POWER (Grant 2014-1276).

## INDICE DEGLI AUTORI

Abenavoli, Maria Rosa	29	Cavani, Luciano	5,9,43
Abruzzese, Alessandro	32	Celano, Giuseppe	8
Adamo, Paola	60,64	Celi, Luisella	7,22,26
Adani, Fabrizio	70,83,86,88	Celletti, Silvia	30
Agrelli, Diana	64	Cesco, Stefano	9,30,44,48
Aleandri, Maria Pia	68	Chiaiese, Pasquale	80
Allegretta, Ignazio	13	Chilosi, Gabriele	68
Allevato, Enrica	68	Chiodelli, Giulia	66
Altangerel, Enkhzaya	76	Ciavatta, Claudio	5,15,16,43
Araniti, Fabrizio	29	Ciurli, Adriana	76
Arrigoni, Giorgio	52	Claudio Marzadori	15
Astolfi, Stefania	30	Concheri, Giuseppe	53
Ausiello, Angelo	77	Conte, Pellegrino	3
Baccolo, Greta	66	Contin, Marco	20,54,73,82
Badalucco, Luigi	19,23	Coppa, Eleonora	30
Badeck, Franz-Werner	39	Corno, Luca	70
Baglieri, Andrea	53,72	Crecchio, Carmine	6
Baldoni, Elena	32,58	Crippa, Laura	63
Balint, Ramona	26	Cucina, Mirko	69,75
Ballerini, Eleonora	81	De Nisi Patrizia	32,46
Barberis, Elisabetta	26	De Nobili, Maria	11,20,73,82
Barone, V.	72	Del Buono, Daniele	38,81
Bartucca, Maria Luce	38,81	Dell'Orto, Marta	32,46,57
Bassini, J.	67	Di Baccio, Daniela	40,76
Bavcon Kralj, Mojca	73	Di Giorgio, Antonio	75
Benesch, Marianne	12	Di Meo, Vincenzo	8
Bernardi, Rodolfo	50	Di Rauso, Simeone Giuseppe	12,77,80
Bernardo, Letizia	39	Elisabetta Loffredo	4
Bertora, Chiara	8	Eren Taskin	4
Bonanomi, Giuliano	21	Ertani, Andrea	41
Boscutti, Francesco	82	Espen, Luca	31,49
Bragato, Gilberto	11	Esposito, Mauro	80
Bravo, Carlo	20	Feliziani, Erica	87
Broccanello, Chiara	53	Filippone, Edgardo	80
Bufo, S.A.	24	Floriana, Bedussi	63
Cakmak, Ismail	36	Fortunati, Elena	85
Cangemi, Silvana	8	Fragalà, F.	72
Caporale, Antonio G	64	Franceschi, Clizia	55
Capri, Ettore	74,78	Franchin, Cinzia	52
Carletti, Paolo	39	Francioso, Ornella	41,75
Carteni, Fabrizio	21	Franco, Alessandro	42
Casolo, Valentino	82	García Alonso, J. Ignacio	64
Castagna, Antonella	50	Gasparini, Emilio	31,49
Castrianni, Andrea G.	17	Gattullo, Concetta Eliana	13
Cavallini, Andrea	50	Gennari, M.	72

Ghisi, Rossella	45,52	Mattei, Sheyen	87
Ghisoni, Silvia	66	Mattiello, Alessandro	73
Ghizzoni, Roberta	39	Mauceri, Antonio	29
Giannetta, Beatrice	14	Mazzei, Pierluigi	21
Giannino, Francesco	21	Mazzoleni, Stefano	21
Giaretta, Sabrina	52	Mazzon, M.	5
Gigliotti, Giovanni	69,75,84,85	Mazzon, Stefano	54
Gioacchini Paola	15	Micoli, Luca	77
Giordani, Tommaso	50	Millan, Silvia	45
Giovannetti, Manuela	40	Mimmo, Tanja	9,30,44,48
Giulivo, Monica	78	Mininni, Rosaria	13
Glaser, Bruno	12	Misra, Shilpi	45
Goi, Daniele	20	Monaci, Elga	87
Graf, Hannes	48	Montecchio, Daniela	15
Grifoni, Martina	76	Morcia, Caterina	39
Grigatti, Marco	16	Morgutti, Silvia	32,46
Grignani, Carlo	8	Murgese, Pasqua	6
Guadagno, Anna	80	Muscolo, Adele	25,47
Guidi, Lucia	33	Nardi, Serenella	41
Hauser, Marie-Therese	50	Negrini, Noemi	32,46
Horvat, Milena	62	Nicoletto, Carlo	44
Incerti, Guido	21	Nocito, Fabio F.	32,57,58
Ioppolo, Antonino	3,17,18,19	Oddo, Martina	23
Jouini, Amira	3,18,19	Orasen, Gabriele	32
Khakbaz, Ali	20,54	Padoan, E.	67
Kocman, David	62	Palazzolo, Eristanna	17,18,19,23
Kuzyakov, Yakov	2	Panfili, Ivan	38,81
Lamastra, Lucrezia	65,79	Panuccio Maria Rosaria	25,47
Landi, Lucia	87	Papalia, Teresa	25,47
Landi, Marco	33	Pellegrini, Elisa	82
Laudicina, Vito A.	3,18,19,23	Pepe, Alessandra	40
Lelario, F.	24	Persson, Per	7
Leoni, Beniamino	6	Pesenti, Michele	32,57,58
Lerda, Cristina	7,22	Petris, Raffaella	54
Lucchini, Giorgio	57,58	Pezzarossa, Beatrice	76
Lucini, Luigi	39,44,66	Pezzolla, Daniela	69,75,84,85
Lupini, Antonio	29	Picciarelli, Piero	76
Luzzani, Gloria	65	Piccolo, Alessandro	8,21
Maghrebi, Moez	32	Pii, Youry	30,44,48
Magnabosco, Pietro	45	Pinton Roberto	35,42
Magnacca, Giuliana	7	Plaza, César	14
Magnani, Ermenegildo	40	Porfido, Carlo	13,58
Manoli, Alessandro	34,55,56	Prati, Marco	26
Marabottini, Rosita	68	Prinsi, Bhakti	31,49
Marchiol, Luca	73	Prohaska, Thomas	60
Margon, Alja	43	Puglia, Debora	85
Margon, S.	5	Puglisi, I.	72
Marigliano, Laura	80	Quaggiotti, Silvia	34,55,56
Marsan, F. Ajmone	67	Rai, Avinash C.	32,57
Martin, Maria	7,26	Ranieri, Annamaria	50
Martinoia, Enrico	28	Rao, Maria A.	12,77,80
Marzadori Claudio	5,16,43	Ravazzolo, Laura	34,55
Masi, Antonio	45,52	Ricci, Anna	85

Riccobono, Marco	3	Tacconi, Chiara	69,75,85
Rizza, Fulvia	39	Tambone, Fulvia	63,83,88
Rodríguez-González, Pablo	64	Tassan Mazzocco, Gianni	54
Romanazzi, Gianfranco	87	Terzano, Roberto	13,58
Romeo, Federico	25,47	Terzi, Valeria	39
Sacchetti, Gabriele	74	Tinti, Anna	41
Sacchi, Gian Attilio	32,46,57,58	Tiziani, Raphael	44
Saiano, Filippo	17	Tomasi, Nicola	35,42
Said-Pullicino, Daniel	7,22	Tombesi, Sergio	66
Sambo, Paolo	44	Torre, Luigi	85
Sánchez-Moreiras, M. Adela	23	Toscano, Giuseppe	77
Santacroce, M.	24	Trebše, Polonca	73
Santamaria, Pietro	6	Trentin, Anna Rita	45,52
Santin, Marco	50	Trevisan, Marco	65,66,79
Santorio, Veronica	7	Trevisan, Sara	34,55,56
Sarke, Tushar Chandra	21	Trombino, L.	88
Sarti, Francesca Maria	84	Turco, Maria	77
Sbrana, Cristiana	40	Valè, Giampiero	32
Scaglia, Barbara	86	Valentinuzzi, Fabio	9,44,48
Scagliola, Marina	6	Valeria, Barone	53
Scampicchio, Matteo	44	Vamerali, Teofilo	45
Scartazza, Andrea	76	Vannini, Andrea	68
Schiavon, Michela	41	Varanini, Zeno	35,51,59
Sciarria, Tommy Pepè	83	Varotto, Serena	56
Sciubba, Luigi	43	Verdeguer, M. Mercedes	23
Scrano, L.	24	Vigani, Gianpiero	32,57,58
Sega, Davide	51,59	Villegas, Mariana	70
Settineri, Giovanna	25,47	Vischetti, Costantino	14,87
Sharma, Nisha	45,52	Volante, Andrea	32
Siebeck, Matthew G.	14	Zaccardelli, Massimo	8
Sodano, Marcella	7	Zaccheo, Patrizia	63
Sorrenti, G.	5	Zaccone, Claudio	14
Spaccini, Riccardo	8,21	Zadra, Claudia	69
Spagnuolo, Matteo	13,58	Zamboni, Anita	35,51,59
Sparks, Donald L.	14	Zangarini, S.	88
Stanchi, Silvia	26	Zanin, Laura	35,42
Stazi, Silvia Rita	68	Zannella, Carmela	60
Stevanato, Piergiorgio	53	Zanzo, Elena	26
Sunseri, Francesco	29		

## ORGANIZZAZIONE

---

### *Comitato organizzatore*

*Roberto Pinton (Coordinatore)*

*Marco Contin*

*Maria De Nobili*

*Simonetta Santi*

*Nicola Tomasi*

*Laura Zanin*

### *Comitato scientifico*

*Paola Adamo*

*Luigi Badalucco*

*Luisella Celi*

*Stefano Cesco*

*Claudio Ciavatta*

*Marco Contin*

*Maria De Nobili*

*Luca Espen*

*Liviana Leita*

*Teodoro M. Miano*

*Beatrice Pezzarossa*

*Roberto Pinton*

*Simonetta Santi*

*Roberto Terzano*

*Nicola Tomasi*

*Zeno Varanini*

*Laura Zanin*

### *Segreteria organizzativa e tecnica*

*Emanuela Pividore*

*Mara Bulfone*

*Aldo Bertoni*

*Andrea Cudini*

Con il Patrocinio dell'Università degli Studi di Udine  
e del Dipartimento di Scienze Agro-Alimentari, Ambientali e Animali



**UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI UDINE**

**hic sunt futura**

Con il contributo di:

