



CIRCOVAL
Istituto di Produzioni Circolari

GAL
TERRE DEL PO

Progetto Circoval

**Aumentare l'efficienza e il valore aggiunto
della risorsa digestato per ridurre le emissioni e
promuovere produzioni circolari”**

(ID domanda N. 202202433619)

GRUPPO RICICLA

DiSAA – Università degli Studi di Milano
Soil and Environment Lab. , via Celoria 2, 20133 Milano – Italy
Biomass and Bioenergy Lab., Parco Tecnologico Padano, Via Einstein, Loc. C.na Codazza, 26900
Lodi, Italy.

Tel.02 503 16546 Fax. 02 503 16521

<http://users.unimi.it/ricicla> - e-mail: gruppo.ricicla@unimi.it

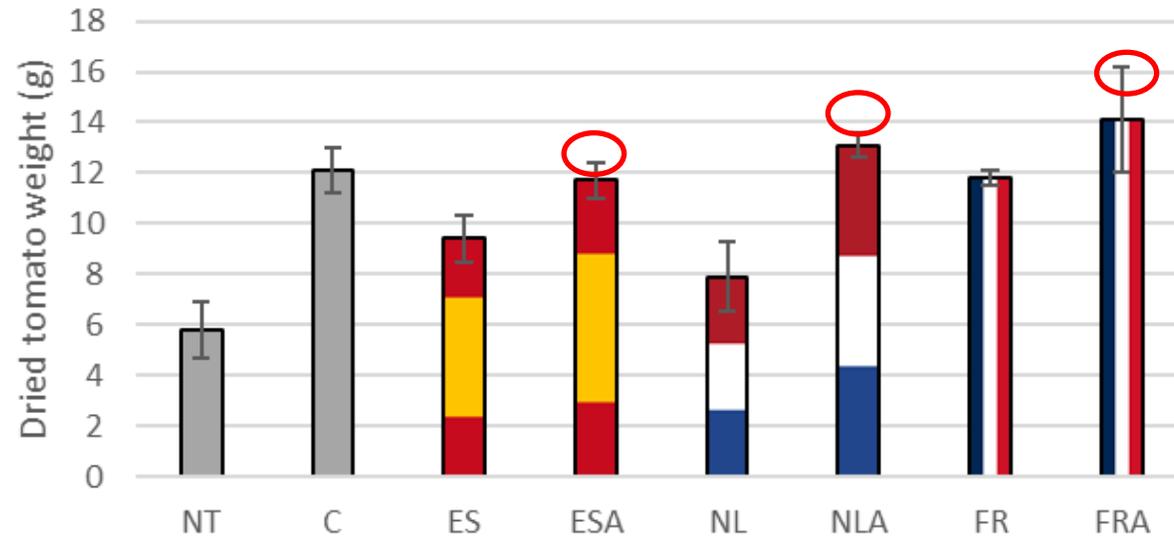
GRUPPO RICICLA

Precedenti sperimentazioni in serra svolte nell'ambito di un Progetto Europeo (Fertimanure – H2020-CR-RUR-08-2019), hanno messo in evidenza l'effetto positivo di preparati microbici a base di Trichoderma su supporti organici, sulle produzioni di pomodoro e la qualità della bacca.



NT = control
 C = chemical
 ES = biodried manure
 NL = manure digestate SF
 FRA = manure biochar

- **Time:** March-July 2022 (110 days)
- **Pots:**
 - 2 kg of soil
 - 60 % of WHC)
 - 8 treatments * 4 replicates = 32 pots
- **Crop:** Tomatoes plants (*Solanum lycopersicum* variety Minuet)
- **Photoperiod:** 16 h light and 8 h dark per day



A = bioactivated; C = chemical; NT = control

- **BBF used as substitute of mineral fertilizers (ES and NL) produced less than chemical**
 - Microorganism were able to overcome low nutrient availability typical of organic fertilizers
 - **BBF used as organic amendment (FR) with the addition of mineral fertilizers, made up a more efficient nutrient availability**
- Enhanced productivity!



Effetto dei preparati microbici su supporti organici sulla qualità delle bacche
(Fertimanure – H2020-CR-RUR-08-2019)

	NC	CF	BBF1	ABBF1	BBF2	ABBF2	BBF3	ABBF3
Total solids (%)	12.6 ± 1.3	10.1 ± 1.2	9.2 ± 0.3	10.6 ± 0.5	9.5 ± 0.8	10.2 ± 0.3	10.4 ± 0.8	12.4 ± 1
Total soluble sugars (°Brix)	6.3 ± 0d	7.1 ± 0b	6.7 ± 0.1c	6.8 ± 0c	6.7 ± 0.1c	6.9 ± 0.1c	7.3 ± 0.1a	7.2 ± 0.1ab
Titrate acidity (% Citric Acid)	0.56 ± 0.01	0.52 ± 0.04	0.55 ± 0.02	0.55 ± 0.02	0.61 ± 0.06	0.57 ± 0.03	0.67 ± 0.01	0.62 ± 0
Sugar:Acid ratio	11.2 ± 0.3d	13.8 ± 1.2a	12.2 ± 0.4b	12.3 ± 0.4b	11 ± 0.1d	12 ± 0.1b	11 ± 0.1d	11.7 ± 0.1c
pH (pH unit)	4.13 ± 0.05	4.12 ± 0.02	4.18 ± 0.02	4.16 ± 0.01	4.12 ± 0.03	4.1 ± 0.05	4.1 ± 0.01	4.05 ± 0.02
Taste Index	1.12 ± 0c	1.21 ± 0.02a	1.16 ± 0b	1.16 ± 0b	1.16 ± 0b	1.17 ± 0.01b	1.22 ± 0a	1.2 ± 0a
Protein (%)	3.26 ± 0.23d	4.07 ± 0.08	4.25 ± 0.18a	3.98 ± 0.12b	4.44 ± 0.1a	4.4 ± 0.21a	4 ± 0.07b	3.64 ± 0.1c
Carotenoids (µg g ⁻¹)	32.8 ± 2.9d	60.2 ± 5.7c	63.6 ± 11.9c	97.5 ± 7.7b	55.9 ± 12.0c	82.7 ± 7.2c	99.9 ± 4.9b	129.4 ± 7.4a
Lycopene (µg g ⁻¹)	25.6 ± 2.3d	46.9 ± 4.4c	49.6 ± 9.3c	76 ± 6b	50.3 ± 4.1c	64.5 ± 7.2c	78 ± 4.9b	101 ± 7.3a

NT = control

C = chemical

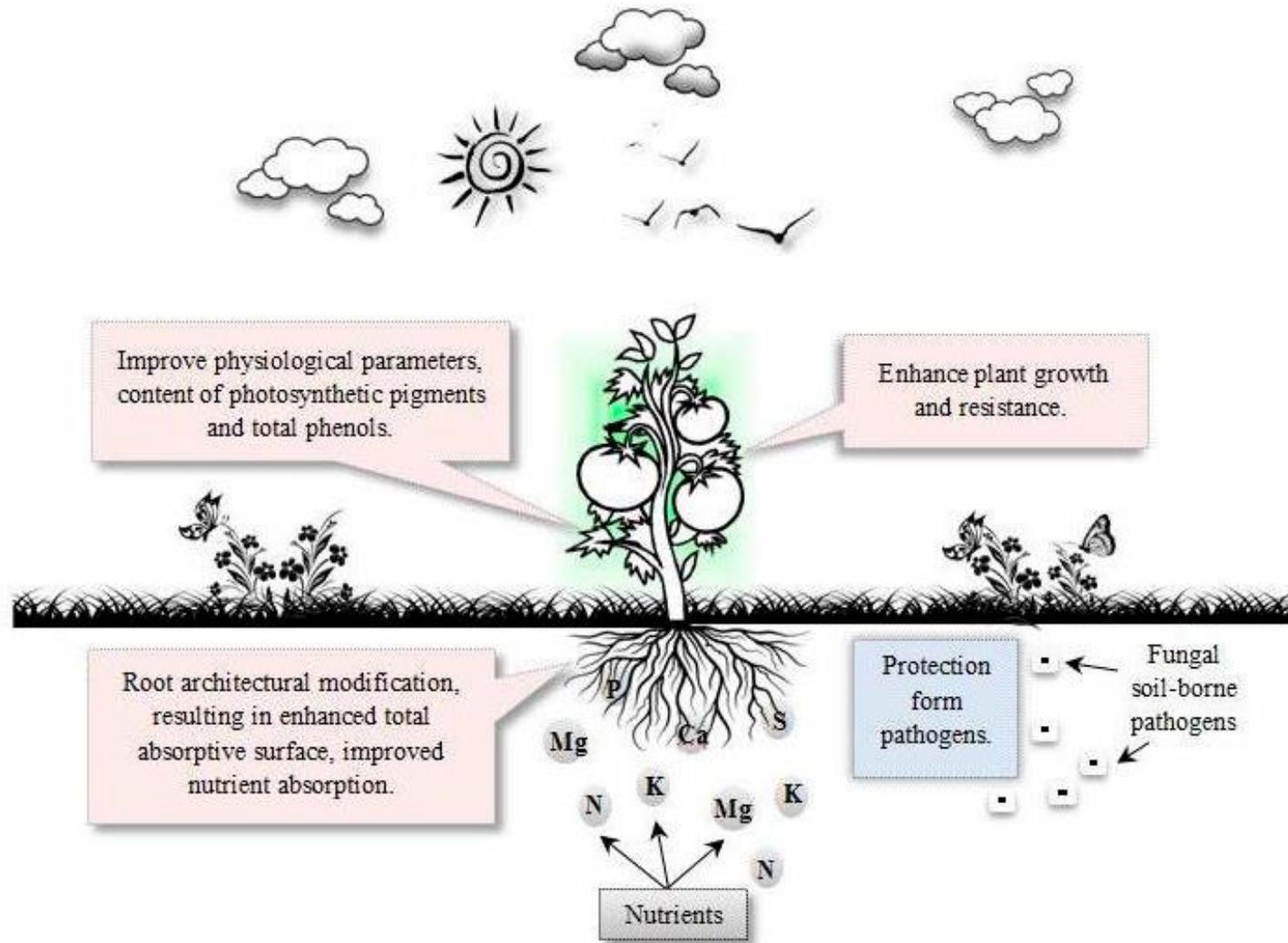
ES = biodried manure

NL = manure digestate SF

FRA = manure biochar

I meccanismi di azione di Trichoderma sono noti e molteplici, e riportati in letteratura.

Di seguito alcuni schemi riassuntivi:



Rappresentazione grafiche degli effetti positive esercitati da Trichoderma su pomodoro

Controllo biologico diretto di *Trichoderma*: schema di azione

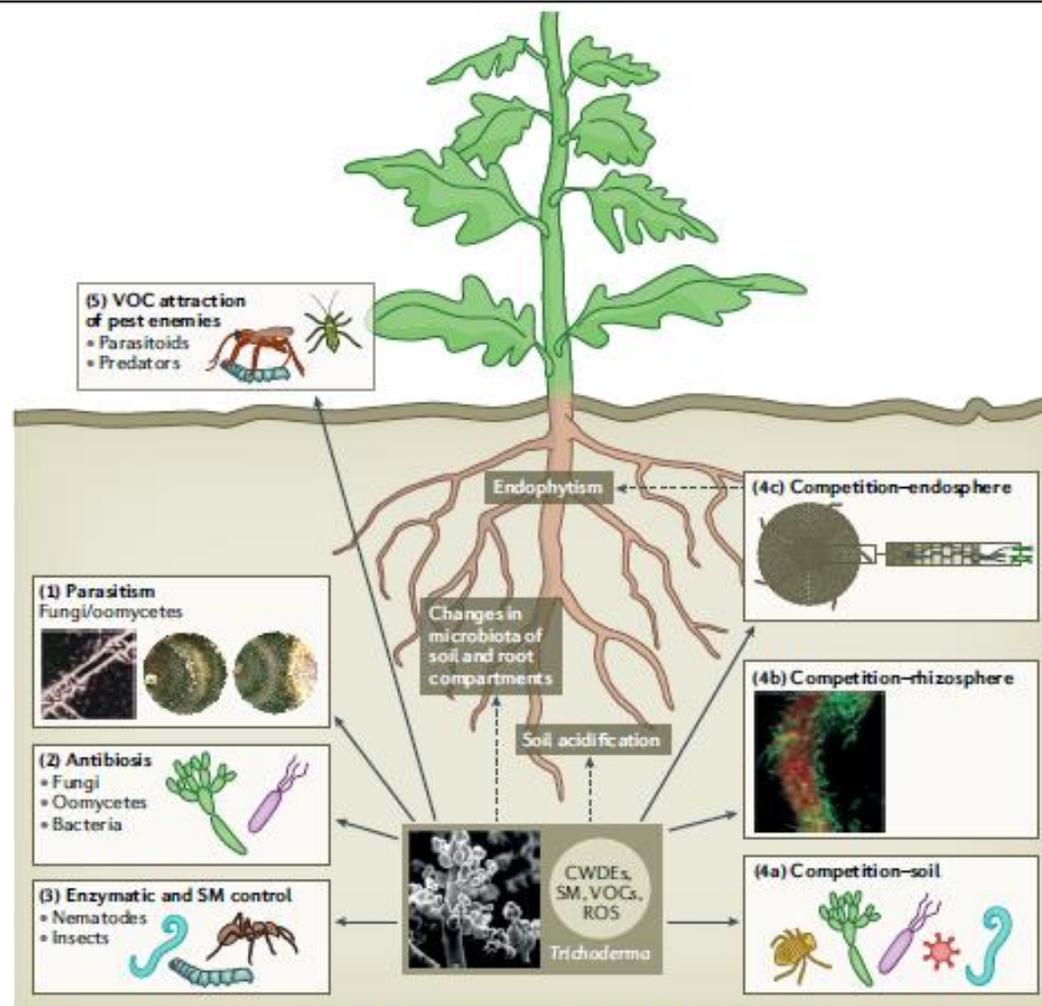


Fig. 2 | *Trichoderma* as a direct biological control agent. *Trichoderma* is found in the soil and plant root zone (rhizosphere), where it produces cell wall-degrading enzymes (CWDEs), secondary metabolites (SM), volatile organic compounds (VOCs) and reactive oxygen species (ROS), all of which permit the fungus to have diverse roles in crop protection. (1) Parasitism of phytopathogenic fungi and oomycetes. (2) Antibiosis by secondary metabolites inhibits growth of fungi, oomycetes and bacteria. (3) Control of nematodes and insects in the soil via enzymes (proteases, chitinases) and secondary metabolites. (4) *Trichoderma*

acidifies the soil and affects the structure and abundance of microbiota in soil and root compartments; in addition, its ability to take up nutrients, tolerate ROS and grow on roots, and its compatibility with other plant-beneficial microorganisms, enable it to compete successfully in the soil (4a), rhizosphere (4b) and endosphere (4c). *Trichoderma* colonization of the rhizosphere and root tissues (endophytism) inhibits the occupation of these spaces by potentially pathogenic microorganisms and nematodes. (5) VOCs produced by *Trichoderma* can attract parasitoids and predators of insect pests.

Controllo biologico indiretto di *Trichoderma*: schema di azione

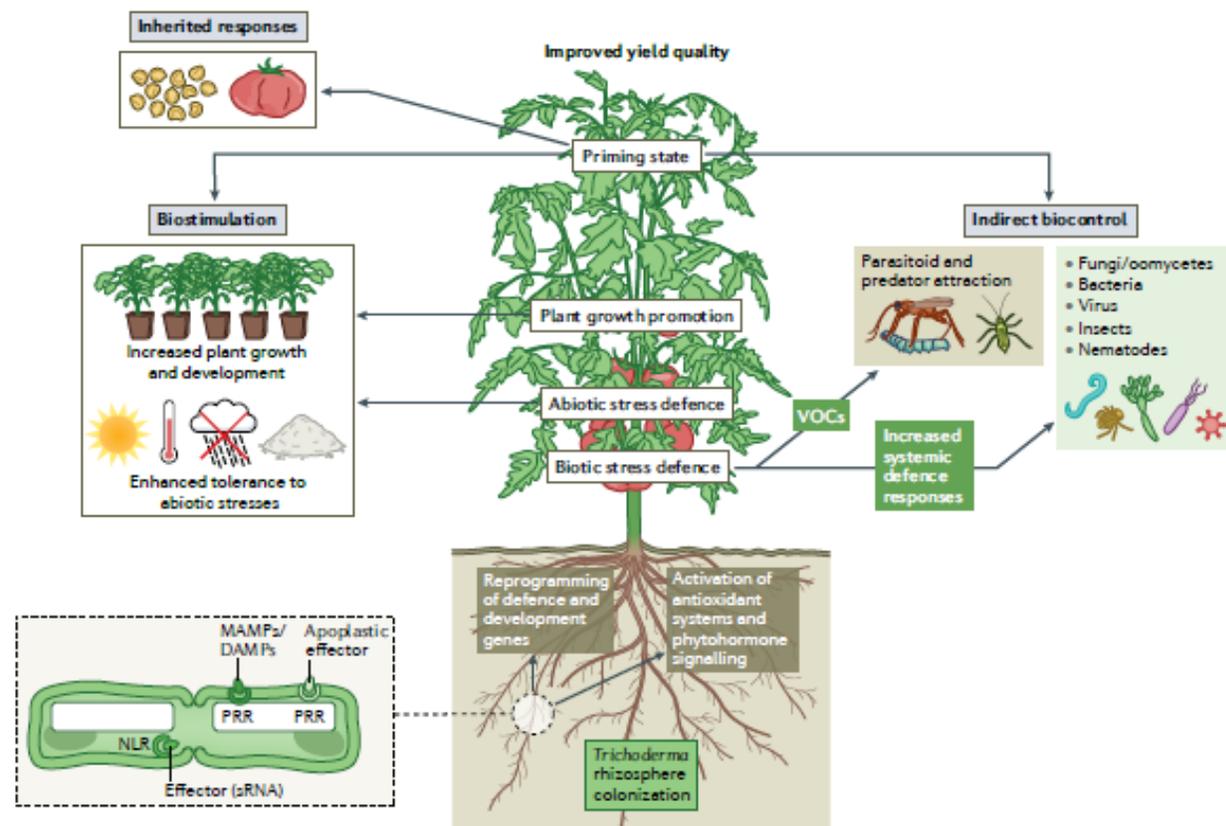


Fig. 3 | *Trichoderma* as an indirect biological control agent, biosimulant and priming inducer. Colonization of the rhizosphere by *Trichoderma* induces local and systemic defence responses in the plant. *Trichoderma* microorganism-associated molecular patterns (MAMPs) and damage-associated molecular patterns (DAMPs) are recognized by pattern-recognition receptors (PRRs) on the plant cell membrane, which also recognize apoplastic effectors secreted by *Trichoderma*. In addition, the release of small RNA (sRNA) by the fungus leads to upregulation of plant cytoplasmic nucleotide-binding site leucine-rich repeat (NLR) receptors. After *Trichoderma* recognition, the plant reprograms genes involved in defence and development, and activates antioxidant systems and phytohormone signalling that lead to biotic stress defence (indirect biocontrol) by increasing systemic immune responses to attack by fungi, oomycetes,

bacteria, viruses, insect herbivores and nematodes, as well as by releasing plant volatile organic compounds (VOCs) that are able to attract parasitoids and predators of insect pests; abiotic stress defence (biostimulation) that results in enhanced tolerance and adaptation to abiotic stresses (such as drought, salinity and extreme temperatures); plant growth promotion (biostimulation), whereby *Trichoderma* stimulates plant growth and development when the plant does not need the activation of the defence-immunity response; priming state, which activates a condition that provides long-lasting indirect biocontrol and biostimulation effects throughout the life of the plant; and inherited responses, in terms of defence and growth traits that can be passed on to offspring by transmission of genetic and epigenetic marks in the seeds. The overall positive results of *Trichoderma* in the soil are noted in improved crop yields and quality.

Circoval: attività di pieno campo volta a confermare l'effetto positivo di Trichoderma abbinato ai concimi organici (frazione solida di digestato).

- capacità di sostituzione della concimazione chimica
- effetto sulle produzioni
- effetto sulla qualità della bacca.

Campo sperimentale di ca. 2 ha coltivato a pomodoro (*Solanum lycopersicum*) presso Casteldidone(CR)
(45°02'49.0" N; 10°23'46.6" E), gestito dall'Agricola Casalasca.



Piano sperimentale

Tesi sperimentale	Concimazione	Note
Controllo	0	
Digestato bovino (fraz. folida)	18.3 t/ha (N/P/K = 193/92/99)	Interrato prima del trapianto
Digestato bovino (fraz. Solida) bioattivato	18.3 t/ha (N/P/K = 193/92/99)	Interrato prima del trapianto. Dosati 2.5 kg/ha di preparato microbico in sospensione due giorni dopo trapianto; trattamento ripetuto dopo 1 mese dal trapianto
Chimico	N/P/K = 124/80/128	+ 24 kg/ha N in copertura (nitrate)

Piano sperimentale

Trapianto pomodoro: 11/06/2023

Aggiunta consorzio microbico (I dose): 13/06/2023

Aggiunta consorzio microbico (II dose): 14/07/2023

Raccolta pomodoro 18.09.2023

**Preparazione
sospensione
microbica**



**Dosaggio della
sospensione microbica
sulla fila**



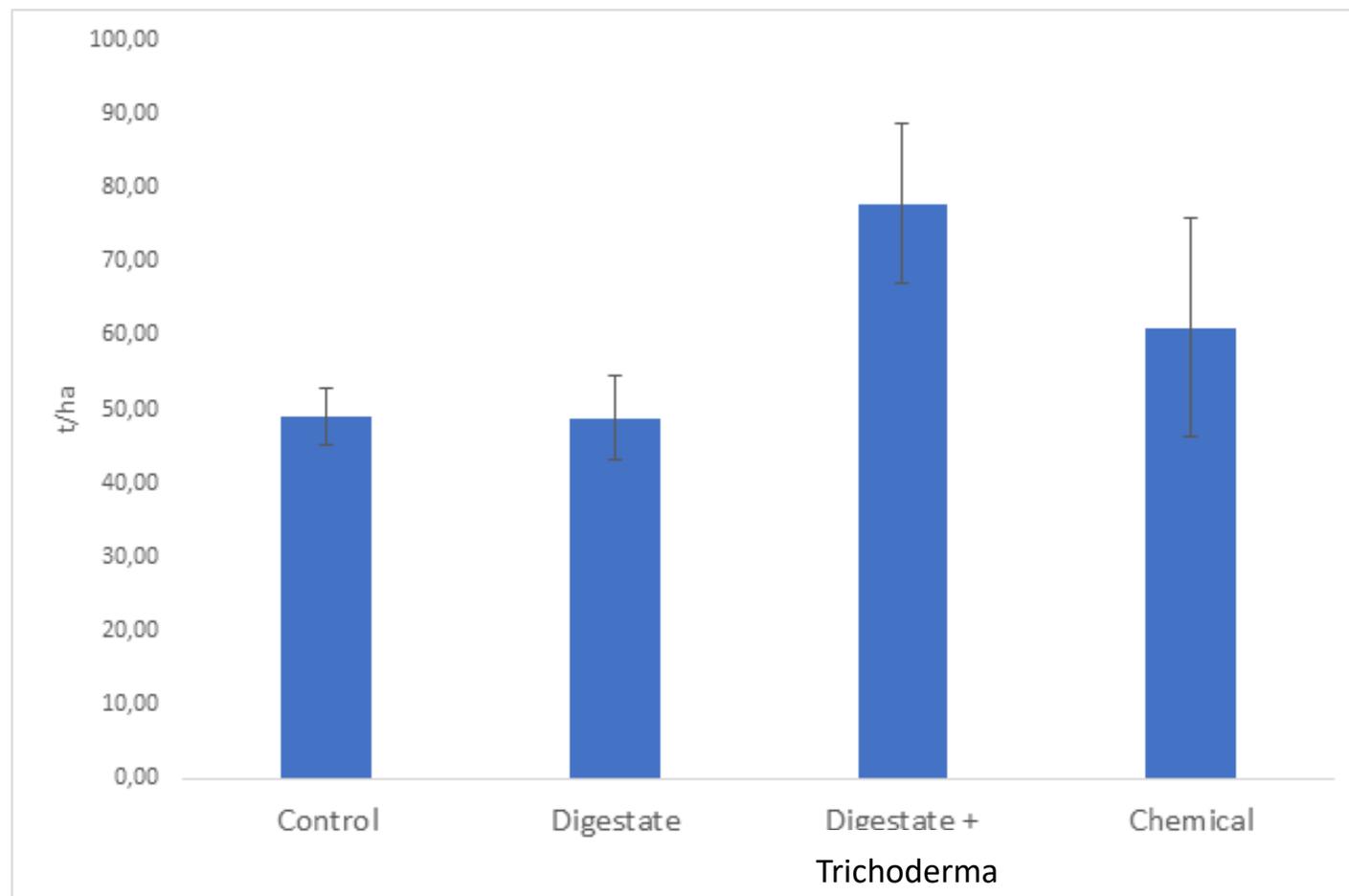


Raccolta





Resa prodotto fresco



Resa e caratteristiche del prodotto

(lettere diverse indicano differenze statistiche $P < 0.05$)

	Control	Digestate	Digestate + MICOVER	Chemical
Resa (t ha ⁻¹)	48.97±3.76 ^b	48.77±5.72 ^b	77.81±10.83 ^a	61.05±14.76 ^{ab}
Peso secco (DM) (%)	5.32±0.15	5.56±0.33	5.63±0.26	5.36±0.19
Licopene (mg kg ⁻¹ fresco)	124±19 ^c	183±13 ^a	147±11 ^{bc}	157±10 ^{ab}
B-carotene (mg kg ⁻¹ fresco)	16.46±4.89 ^b	31.31±3.46 ^a	15.48±1.51 ^b	15.15±2.57 ^b
Proteine t* (% DM)	17.52±0.43 ^c	21.05±0.05 ^{ab}	20.46±0.36 ^b	21.69±0.10 ^a
Grade Brix (°Bx)	5.54±0.34	5.86±0.24	5.62±0.15	5.82±0.43
pH	4.40±0.02	4.54±0.02	4.47±0.02	4.43±0.02
P (µg g ⁻¹)*	3.441±48 ^c	3.843±193 ^a	3.930±73 ^{ab}	4.166±19 ^a
K (µg g ⁻¹)*	30.783±774 ^a	38.526±638 ^b	45.944±554 ^a	35.007±319 ^c
Ca (µg g ⁻¹)*	245±4 ^a	235±5 ^a	192±3 ^b	191±13 ^b
Mg (µg g ⁻¹)*	2061±42 ^b	2145±41 ^b	2321±34 ^a	2166±24 ^{ab}
Na (µg g ⁻¹ *)	2844±108 ^{ab}	2547±54 ^b	1261±62 ^c	3114±194 ^a
Fe (µg g ⁻¹)*	89.16±11.23 ^a	65.35±5.26 ^b	57.09±1.85 ^b	58.24±1.49 ^b
Cu (µg g ⁻¹)*	11.62±0.24 ^b	12.19±0.46 ^b	12.15±0.15 ^b	13.60±0.04 ^a
Zn (µg g ⁻¹)*	15.42±4.23 ^a	12.54±3.23 ^a	7.78±1.95 ^b	11.58±2.98 ^a

Conclusioni

- l'abbinamento preparato microbico Trichoderma con digestato è in grado di supportare la produzione di pomodoro azzerando l'uso dei concimi chimici
- non si evidenziano effetti sulla qualità della bacca se non per alcune variazioni nel contenuto di nutrienti da meglio comprendere
- è una prima sperimentazione da replicarsi
- attenzione è da porsi con riferimento al tipo di digestato, con particolare attenzione al problema delle infestanti: biostimolazione o presenza di semi ?

Da fare

- Sono in corso le analisi metagenomiche per la verifica della presenza di Trichoderma nel suolo rizosferico.
- Utile in prossime sperimentazione adottare approcci di trascrittomica per meglio capire i meccanismi di azione.
- Utile anche non trascurare e misurare gli effetti del contenimento dei patogeni ampiamente documentata in letteratura.