



oloBion

La metabolomica: un'opportunità per comprendere e monitorare l'attività dei biostimolanti

*Marzia Leporino, Paolo Bonini, Sanae Benabou, Sajjan Mehta,
Youssef Rouphael, Mariateresa Cardarelli, Giuseppe Colla*



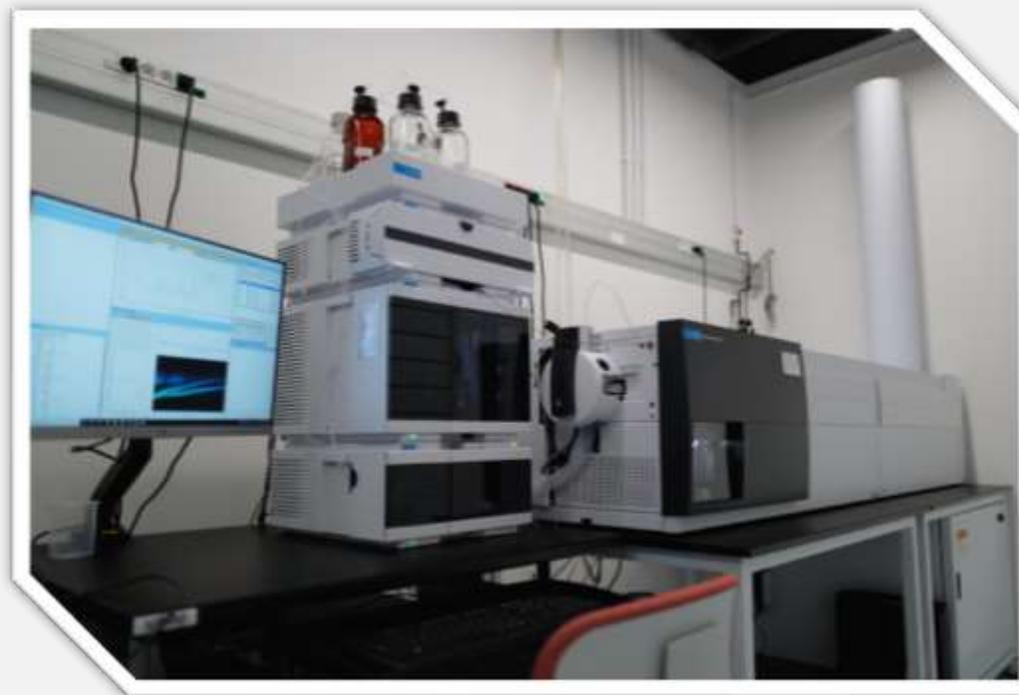
Qual è il legame?



Phenospex TraitFinder



Spin off approvato dell'Università della Tuscia



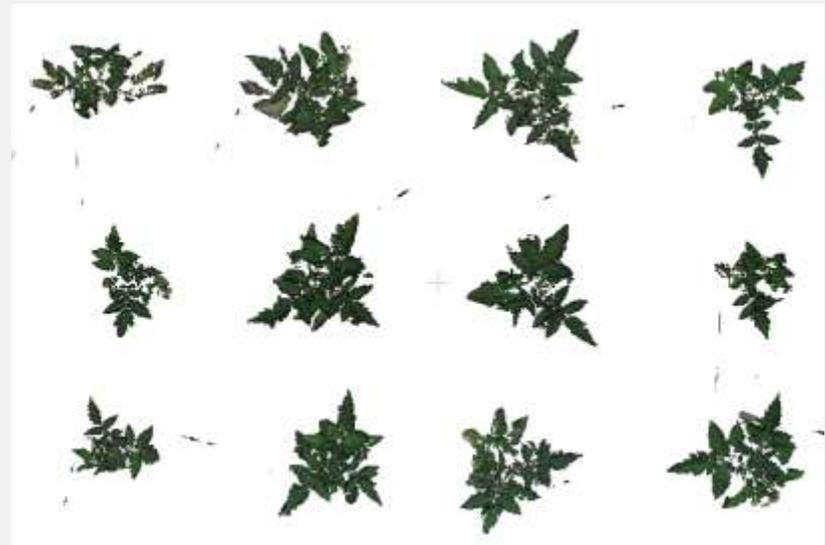
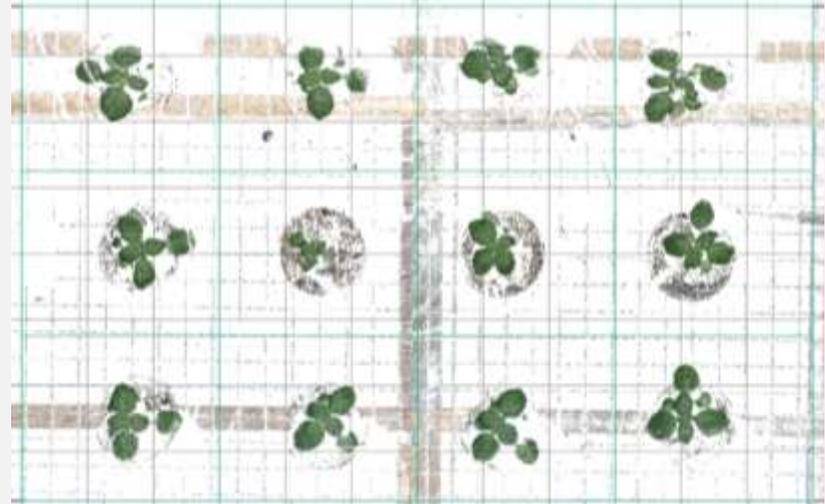
Agilent 6560 Ion mobility qTOF

Fenomica



ARCADIA

Spin off approvato dell'Università della Tuscia



Blocks

6

Units

72

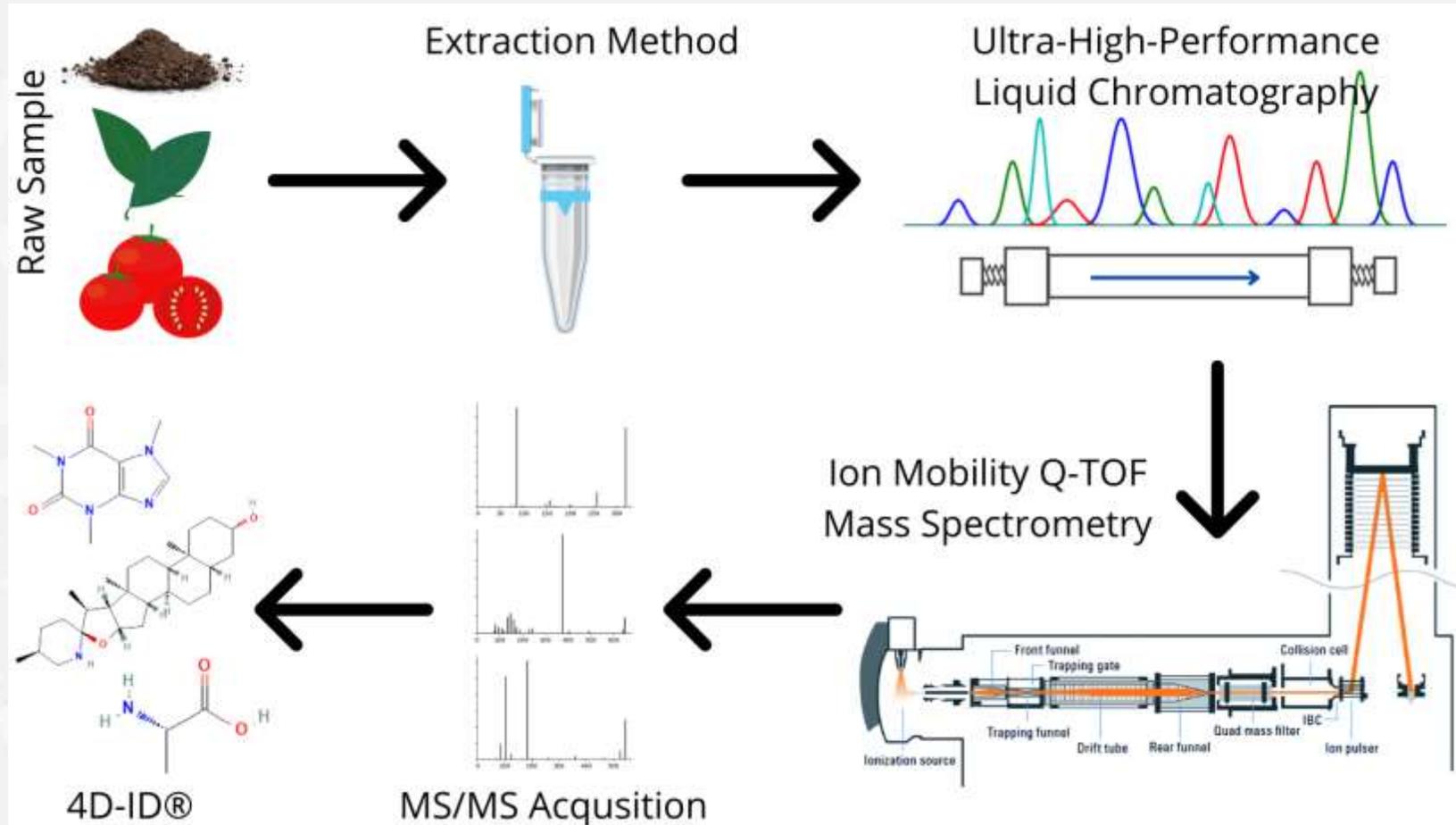
Sample groups

6

Sample size

12

Metabolomica



La tecnica 4D-ID[®]

Identificazione di un composto secondo 4 dimensioni

m/z

Tempo di ritenzione

Tempo di deriva (CCS)

Spettri di frammentazione



4D-ID[®] - Tempo di ritenzione



analytical
chemistry

pubs.acs.org/ac

Article

Retip: Retention Time Prediction for Compound Annotation in Untargeted Metabolomics

Paolo Bonini,[#] Tobias Kind, Hiroshi Tsugawa, Dinesh Kumar Barupal, and Oliver Fiehn[#]

Cite This: *Anal. Chem.* 2020, 92, 7515–7522

Read Online

ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information

ABSTRACT: Unidentified peaks remain a major problem in untargeted metabolomics by LC-MS/MS. Confidence in peak annotations increases by combining MS/MS matching and retention time. We here show how retention times can be predicted from molecular structures. Two large, publicly available data sets were used for model training in machine learning: the Fiehn hydrophilic interaction liquid chromatography data set (HILIC) of 981 primary metabolites and biogenic amines, and the RIKEN plant specialized metabolome annotation (PlaSMA) database of 852 secondary metabolites that uses reversed-phase liquid chromatography (RPLC). Five different machine learning algorithms have been integrated into the Retip R package: the

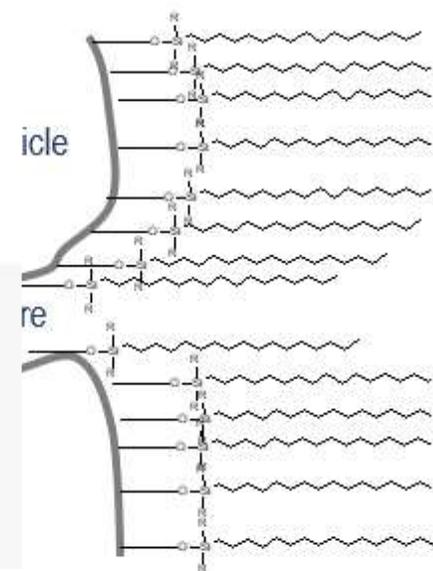
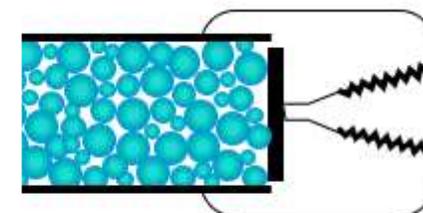
Experimental retention times

Predicted retention times for > 320,000 compounds

HILIC
RP



5 Machine Learning methods



Rounded phase



Statistica



1° Prova sperimentale – Basilico (*Ocimum basilicum* L.)

Trattamento	Inoculazione con <i>Trichoderma</i> spp.	Salinità	Inoculazione con <i>Fusarium</i> spp.
A	NO	NO	NO
B	NO	NO	SI
C	SI	NO	NO
D	SI	SI	SI
E	NO	SI	NO
F	NO	SI	SI



Focus

Interazione tra piante di basilico e un prodotto commerciale a base di *Trichoderma* spp.
(Condor - Atens, Tarragona)

Risultati Fenomica

Independent Samples T-Test

		p
3D Leaf Area mm2	0.715	
Canopy Light Penetration Depth mm	0.379	
Convex Hull Area Coverage %	0.822	
Convex Hull Area mm2	0.91	
Convex Hull Aspect Ratio	0.34	
Convex Hull Circumference mm	0.896	
Convex Hull Maximum Width mm	0.966	
Digital Biomass mm3	0.88	
GLI Average	0.429	
Hue Average	0.043	*
NDVI Average	0.318	
NPCI Average	0.032	*
PSRI Average	0.061	*
Plant Height Averaged mm	0.553	
Plant Height Max mm	0.566	
Projected Leaf Area mm2	0.908	
Saturation Average %	0.55	
Surface Angle Average	0.441	
Voxel Volume Total mm3	0.821	

Hue (°) ↔ Luminosità ↔ Saturazione

Permette classificazione del colore

È rappresentato come un angolo nella ruota dei colori

0° e 360° = rosso, 120° = verde, 240° = blu.

Normalized Pigment Chlorophyll Index (NPCl)

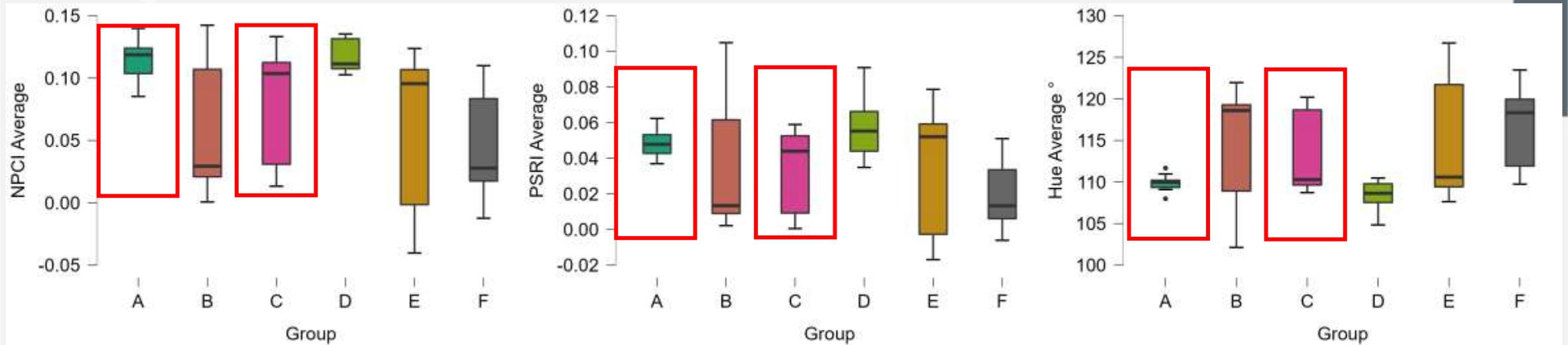
Indice per contenuto di clorofilla

Plant Senescence Reflectance Index (PSRI)

Indice per la senescenza fogliare



Fenomenica ↔ Metabolomica



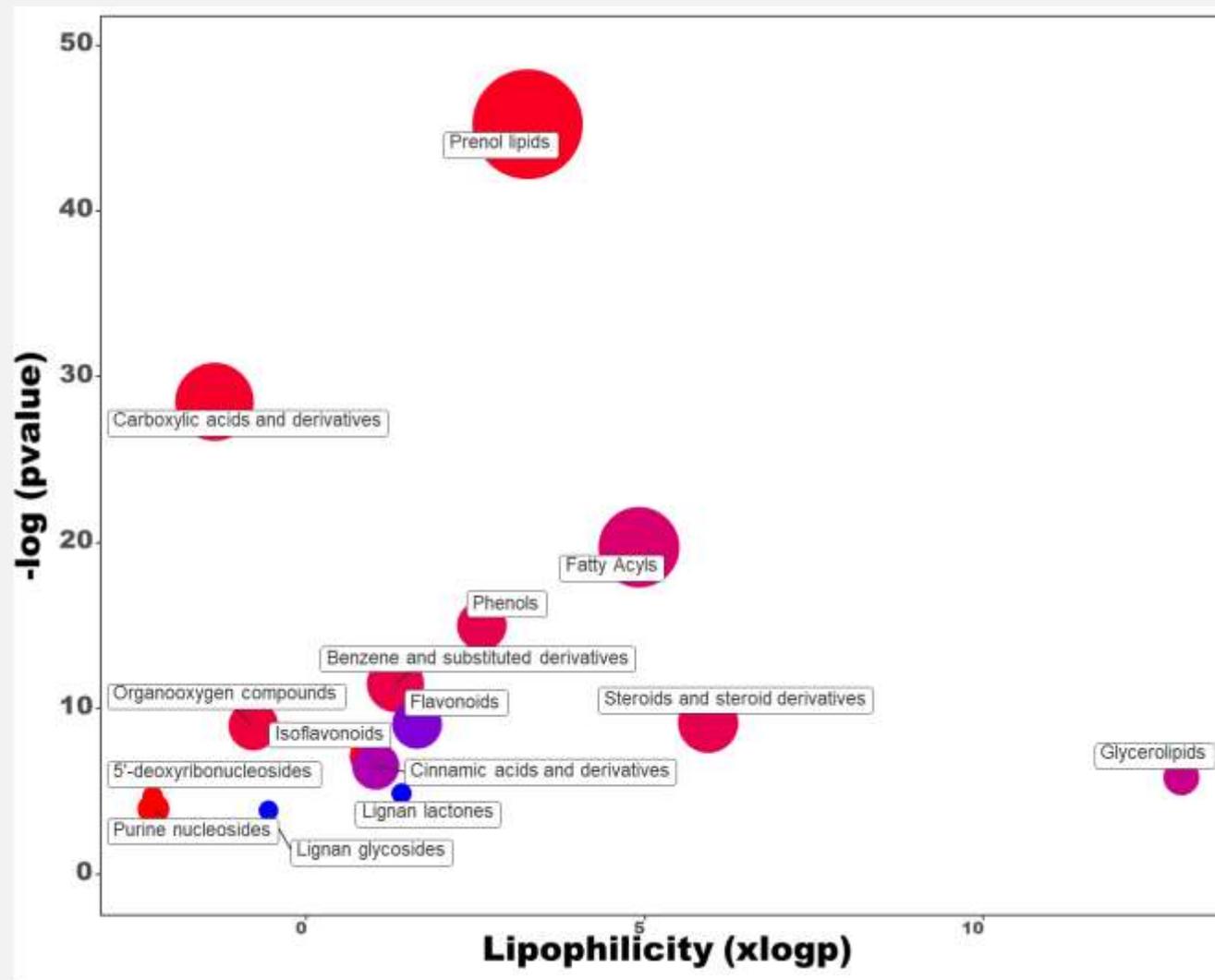
- **2981** caratteristiche con dati MSMS, RT e CCS
- **197 molecole** individuate in base agli spettri e alla previsione del tempo di ritenzione e del CCS
- **207 molecole** individuate con lo strumento di frammentazione in silicio con filtro di previsione del tempo di ritenzione e CCS



Chemical enrichment plot dati da analisi metabolomica

Aumentano

- Eugenol
- Daidzein
- Oli essenziali
- L-Kynurenine



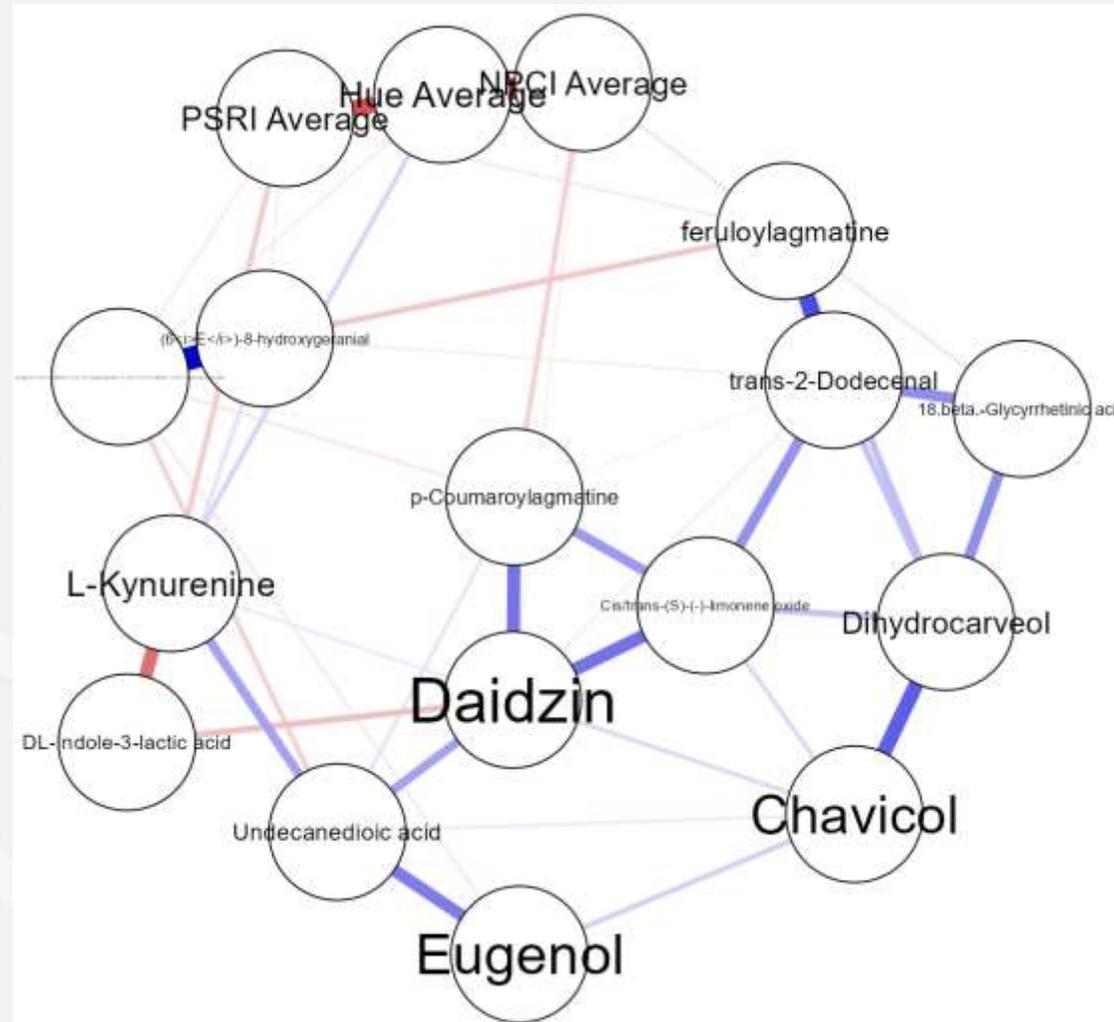
La fenomica correla con i dati da metabolomica

Variable		Hue Average		NPCI Average		PSRI Average		Daidzein		L-Kynurenine
Hue Average	Pearson's r	—								
	BF ₁₀	—								
NPCI Average	Pearson's r	-0.969	***	—						
	BF ₁₀	4.29E+11		—						
PSRI Average	Pearson's r	-0.915	***	0.859	***	—				
	BF ₁₀	2.23E+07		189222.1		—				
Daidzein	Pearson's r	0.502		-0.586	*	-0.389		—		
	BF ₁₀	4.831		18.245		1.339		—		
L-Kynurenine	Pearson's r	0.614	**	-0.591	*	-0.584	*	0.655	**	—
	BF ₁₀	31.062		19.865		17.499		74.841		—
p-Coumaroylagmatine	Pearson's r	0.509		-0.604	*	-0.39		0.934	***	0.547
	BF ₁₀	5.348		25.432		1.35		2.78E+08		9.396

* BF₁₀ > 10, ** BF₁₀ > 30, *** BF₁₀ > 100



Correlazione bayesiana di Pearson nei dati di metabolomica



2° Prova sperimentale – Pomodoro (*Solanum lycopersicum* L.)

Trattamento	Biostimolante	Stress Idrico
A	NO	NO
B	NO	SI
C	IP1	NO
D	IP1	SI
E	IP2	NO
F	IP2	SI
G	IP3	NO
H	IP3	SI



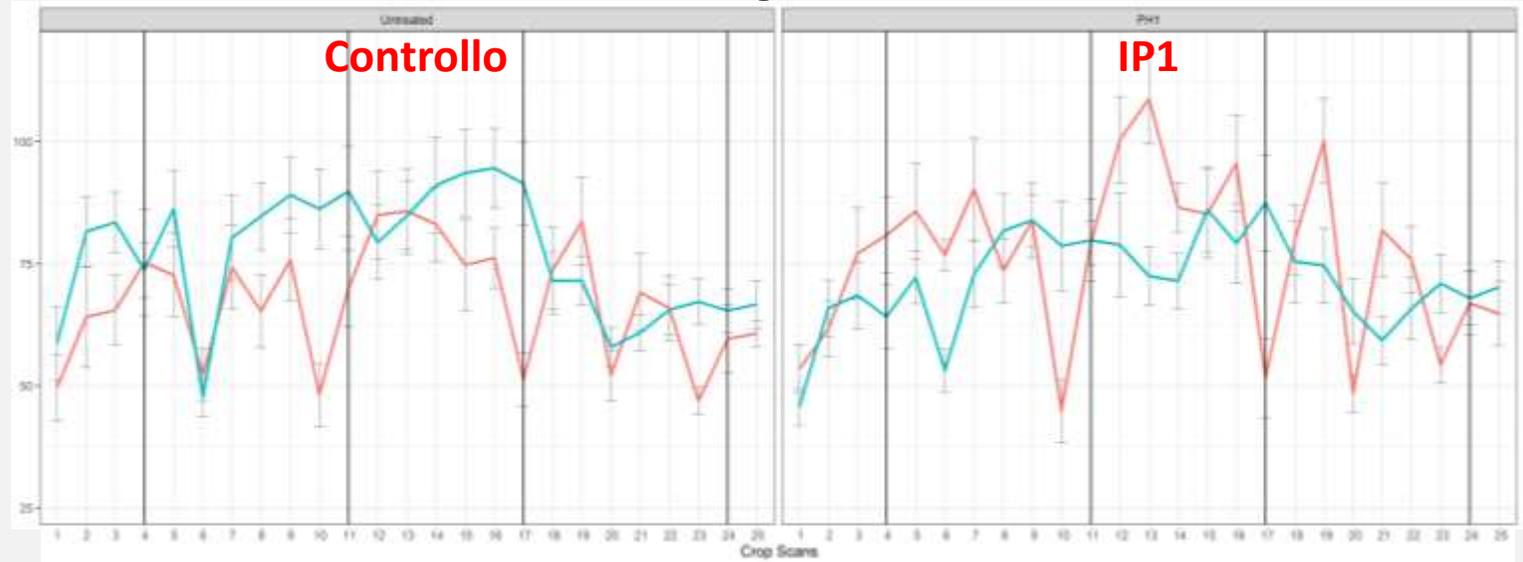
Focus

Risposta delle piante a stressi idrico dopo applicazione di biostimolanti

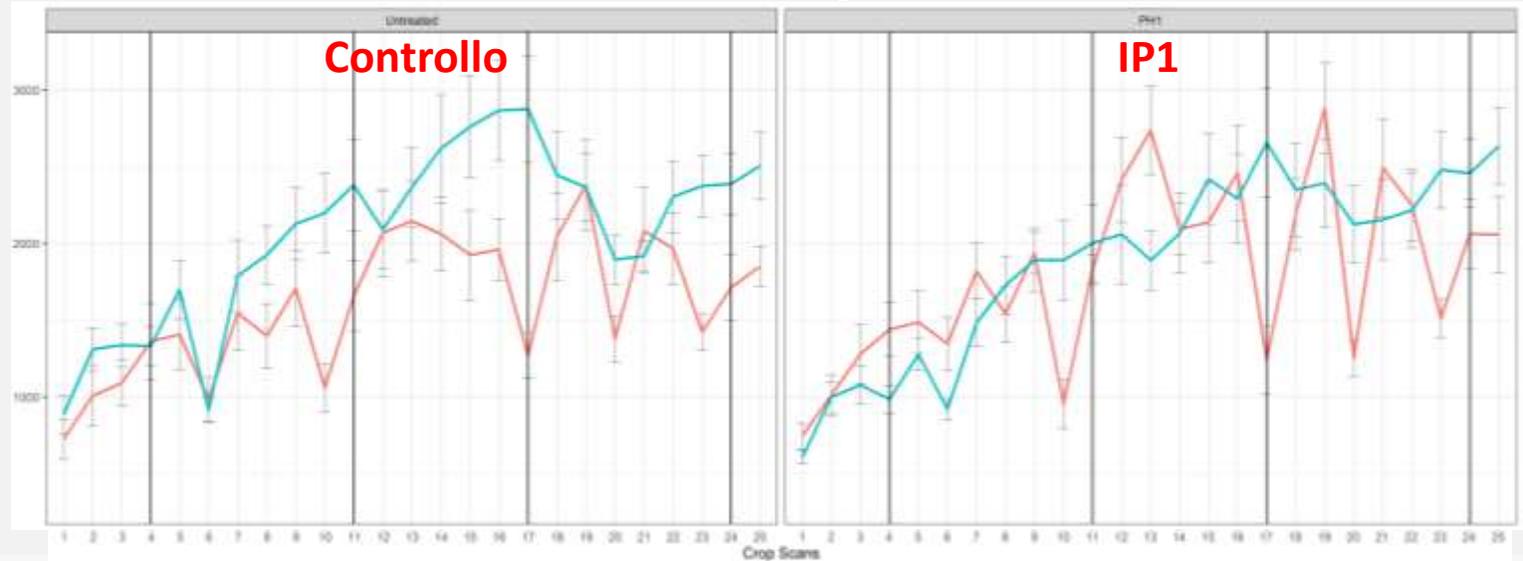
Risultati Fenomica

- Differenze significative (*,**,***)
nei giorni successivi ai trattamenti
e recupero da stress
- Risposta positiva allo stress delle
piante trattate

Area fogliare 3D



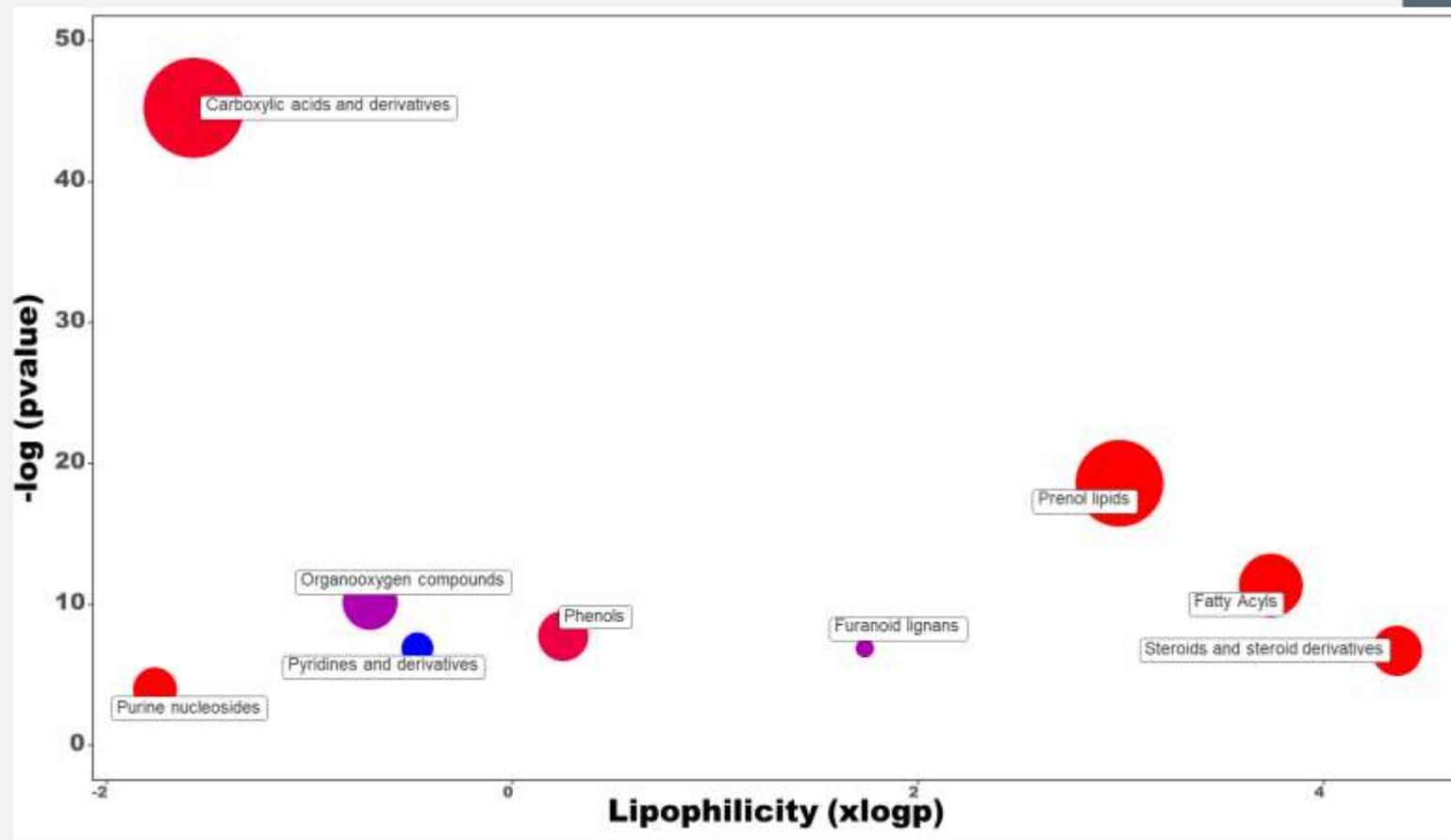
Biomassa Digitale



Chemical enrichment plot dati da analisi metabolomica

Aumentano

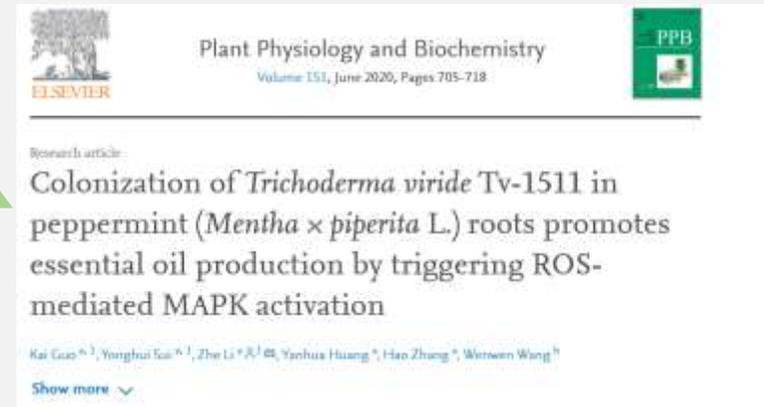
- β -tomatina
- Dipeptidi e amminoacidi
- metil-triptofano
- metil-gibberelline
- Molecole coinvolte nella risposta a stress



Conclusioni – prova basilico

- *Trichoderma* stimola la produzione di oli essenziali in basilico
- *Trichoderma* regola la *pathway* dei flavonoidi, probabilmente perché condivide lo stesso precursore fenilpropanoide
- *Trichoderma* agisce su L-Kynurenina e sul suo metabolita correlato (acido indol-3-lattice) nella *pathway* del triptofano.

Questo meccanismo potrebbe spiegare l'aumento della crescita delle radici ma anche la diminuzione della senescenza delle foglie PSRI (fenomica)



Conclusioni – prova pomodoro

- IP1 conferisce maggiore resistenza allo stress idrico, con aumento della biomassa fogliare
 - Aumento di metaboliti coinvolti nella risposta alla condizione di stress
- meccanismi di protezione



A screenshot of a web page from EMBOpress. The header includes the EMBO JOURNAL logo, EMBOpress branding, and navigation links like "CURRENT ISSUE", "ABOUT", "INFORMATION", "ARCHIVE", "ALERTS", and "SUBMIT". The main content area displays an article titled "Tyr-Asp inhibition of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase affects plant redox metabolism" published on 22 June 2021. The authors listed are Juan C Moreno, Bruno E Rojas, Rubén Vicente, Michał Górka, Timon Matz, Monika Chodasiewicz, Juan S Peralta-Ariza, Youjun Zhang, Saleh Alseikh, Dorothee Childs, Marcin Luzarowski, Zoran Nikoloski, Raz Zarivach, Dirk Walther, Matias D Hartman, Carlos M Figueroa, Alberto A Iglesias, and Alisdair R Fernie, Aleksandra Skirycz. The page also features "OPEN ACCESS" and "TRANSPARENT PROCESS" badges.

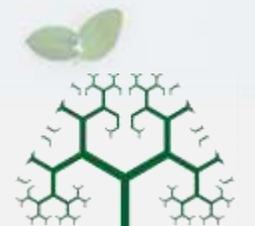
Conclusioni

L'uso combinato di una piattaforma di fenotipizzazione ad alta processività (ARCADIA) e della metabolomica (oloBion) consente di caratterizzare l'attività biostimolante di un prodotto in relazione ai diversi *claims* previsti dal nuovo regolamento europeo sui fertilizzanti.

Per approfondire l'uso di questo servizio contattare

oloBion (Dott. Paolo Bonini) pb@olobion.ai

Arcadia spin off UNITUS (Prof. Giuseppe Colla) info@arcadia.expert



ARCADIA

Spin off approvato dell'Università della Tuscia