

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

**DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI RISORSE NATURALI
E AMBIENTE**

**Corso di laurea magistrale in Scienze e Tecnologie per l'Ambiente e il
Territorio**

Valutazione degli effetti degli estratti vegetali nel controllo delle piante infestanti

Relatrice: Prof.ssa Roberta Masin

Correlatrice: Dott.ssa Valeria Xotta

Laureanda: Vittoria Spiller

Matricola: 2096723

Anno Accademico: 2023/2024

RIASSUNTO

L'elaborato di tesi prevede la realizzazione di estratti vegetali acquosi a partire dalla biomassa delle specie *Ludwigia grandiflora* e *Datura stramonium*. L'obiettivo è investigare il potenziale erbicida di questi estratti naturali al fine di implementare prodotti fitosanitari più sostenibili e rispettosi dell'ambiente. Le due specie sono state selezionate in quanto si tratta di specie infestanti, in particolare la biomassa di *Ludwigia grandiflora* è considerata di scarto; pertanto, l'impiego per la produzione degli estratti ne consentirebbe il recupero. Inoltre, diversi studi hanno accertato le proprietà allelopatiche di entrambe le specie. Per questa ragione, sono stati studiati i loro effetti allelopatici su alcune specie tipicamente infestanti delle colture. In particolare, le specie infestanti testate sono state *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Sorghum halepense*, *Echinochloa crus-galli* e *Digitaria sanguinalis*. Si tratta di specie a germinazione primaverile-estiva sia monocotiledoni che dicotiledoni, scelte al fine di evincere possibili differenze di effetto tra le due classi sistematiche. In particolare, per *Ludwigia grandiflora* sono stati preparati due differenti estratti utilizzando le due forme della specie, acquatica e terrestre. Mentre, per quanto riguarda la *Datura stramonium*, è stata divisa la biomassa nei tre organi, foglie, steli e radici, per la realizzazione di tre estratti diversi. Inoltre, sono state preparate varie diluizioni degli estratti da testare sulle specie infestanti. In seguito, le analisi statistiche sono state svolte sui dati di germinazione, lunghezza radicale e t50. I risultati più interessanti sono stati riscontrati con l'estratto di *Ludwigia grandiflora* terrestre e l'estratto di *Datura stramonium* foglie sulle monocotiledoni in esame. Infine, è stata avviata una sperimentazione sul potenziale di metano biochimico (BMP) di *Ludwigia grandiflora*, che è tuttora in corso. Da questo elaborato emerge che gli estratti studiati possono contribuire al controllo delle infestanti; pertanto, ulteriori ricerche a riguardo meritano di essere sviluppate.

ABSTRACT

The thesis project involves the production of aqueous plant extracts with the biomass of *Ludwigia grandiflora* and *Datura stramonium* species. The aim is to investigate the herbicidal potential of these natural extracts to realize plant protection products that are more sustainable and environmentally friendly. The two species were selected as weed species whose biomass is considered a waste; therefore, their use to produce extracts would allow their recovery. Furthermore, several studies have proved the allelopathic properties of both species. For this reason, their allelopathic effects on some species typically infesting crops have been studied. Especially, the selected weed species are *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Sorghum halepense*, *Echinochloa crus-galli* and *Digitaria sanguinalis*. This is a group of both monocotyledonous and dicotyledonous macrothermal species, chosen in order to deduce possible differences in effect between the two categories. Two different extracts were prepared for *Ludwigia grandiflora* using the two forms of the species, aquatic and terrestrial. On the other hand, with regard to *Datura stramonium*, the biomass was divided into three organs, leaves, stems and roots, in order to produce three different extracts. Moreover, various dilutions of the extracts were prepared to be tested on the weed species. Statistical analyzes were then carried out on germination, root length and t50 data. The most interesting results were found with the extract of *Ludwigia grandiflora* terrestrial form and the extract of *Datura stramonium* leaves on the monocotyledons species. In the end, a trial on the biochemical methane potential (BMP) of *Ludwigia grandiflora* was started and is still ongoing. This thesis therefore shows that the extracts studied can contribute to weed control, so further research on this subject is worthwhile.

INDICE

INTRODUZIONE	1
SCOPO.....	8
<i>LUDWIGIA GRANDIFLORA</i>	9
<i>DATURA STRAMONIUM</i>	11
MATERIALI E METODI.....	13
CAMPIONAMENTO BIOMASSA.....	13
ESSICAZIONE E MACINAZIONE BIOMASSA.....	14
PREPARAZIONE ESTRATTI.....	15
SCARIFICAZIONE SEMI.....	17
INFESTANTI.....	18
DISEGNO SPERIMENTALE.....	19
RILEVAMENTO DATI	20
ANALISI STATISTICA DATI.....	22
<i>LUDWIGIA GRANDIFLORA</i> (LT – LA): GERMINAZIONE INFESTANTI	22
<i>LUDWIGIA GRANDIFLORA</i> (LT – LA): LUNGHEZZA RADICALE INFESTANTI.....	23
<i>LUDWIGIA GRANDIFLORA</i> (LT – LA): t50 INFESTANTI	23
<i>DATURA STRAMONIUM</i> (DR – DS – DF): GERMINAZIONE INFESTANTI	24
<i>DATURA STRAMONIUM</i> (DF): GERMINAZIONE INFESTANTI.....	25
RISULTATI E DISCUSSIONE.....	26
ESTRATTI ACQUOSI DI <i>LUDWIGIA GRANDIFLORA</i>	26
EFFETTO SULLA GERMINAZIONE (LT – LA).....	26
EFFETTO SULLA LUNGHEZZA RADICALE (LT – LA)	31
EFFETTO SUL t50 (LT – LA).....	35
ESTRATTI ACQUOSI DI <i>DATURA STRAMONIUM</i>	41
EFFETTO SULLA GERMINAZIONE (DR – DS – DF)	41

EFFETTO SULLA GERMINAZIONE (DF)	45
BIOGAS	50
MATERIALI E METODI.....	51
RISULTATI.....	53
CONCLUSIONE	54
BIBLIOGRAFIA.....	56
ALLEGATI.....	60

INTRODUZIONE

“La vegetazione terrestre fa parte di una trama vitale in cui si intrecciano rapporti stretti e fondamentali tra le piante e il suolo, tra pianta e pianta, tra le piante e gli animali. Talvolta non abbiamo altra scelta che alterare l’equilibrio di questi rapporti, ma ciò dovrebbe essere fatto con grande circospezione, consapevoli che la nostra opera può avere conseguenze remote nel tempo e nello spazio. Di una tale preoccupazione non si trova traccia nella rigogliosa produzione di erbicidi, oggi stimolata dall’enorme smercio e dal crescente impiego di prodotti chimici per sterminare certe piante.” – “Primavera silenziosa” [1].

Queste parole sono della fautrice del movimento ambientalista Rachel Carson, per certi versi possono apparire lontane, in quanto oggi l’ambiente è un tema tutt’altro che sottotraccia, bensì è prioritario, preoccupa le Nazioni e l’umanità intera, in particolare le nuove generazioni. Allo stesso tempo, la sua riflessione risulta molto attuale, infatti, a più di 60 anni dalla prima pubblicazione di “Silent Spring”, avvenuta nel 1962, si cerca ancora oggi di aumentare la consapevolezza sui rischi, per l’ambiente e per l’uomo, derivanti dall’utilizzo dei pesticidi. Di certo dall’epoca di Rachel Carson molto è cambiato in termini di conoscenze e sensibilità, ad oggi sono in vigore molteplici normative per la tutela dell’ambiente in ambito fitosanitario. In particolare, vige il *Regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio relativo all’immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari*, il quale ha lo scopo di uniformare i principi regolatori per assicurare un’elevata protezione sia della salute umana e animale che dell’ambiente in tutti gli Stati membri dell’Unione Europea. A tal fine in Italia è stato adottato il *D.lgs. 69/2014 come disciplina sanzionatoria per la violazione delle disposizioni del Regolamento (CE) n. 1107/2009*. Questo decreto legislativo, infatti, stabilisce sanzioni per gli utilizzatori dei prodotti fitosanitari nelle ipotesi di impiego di prodotti non autorizzati; mancato rispetto dell’etichetta; mancato rispetto dei termini per lo smaltimento delle scorte dei prodotti fitosanitari revocati; e scorretta conservazione dei prodotti fitosanitari. Inoltre, è in vigore la *Direttiva 2009/128/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio che istituisce un quadro per l’azione comunitaria ai fini dell’utilizzo sostenibile dei pesticidi*, che è stata recepita dall’Italia con il *D.lgs. 150/2012*. In quest’ultimo decreto legislativo sono presenti la definizione di difesa integrata in agricoltura ed i suoi principi, che potrebbero essere riassunti in un modello di produzione agricola che difende le coltivazioni

integrando diversi mezzi, la scelta dei quali è giustificata dai monitoraggi degli organismi nocivi e dalle condizioni climatiche, al fine di perturbare il meno possibile gli ecosistemi agricoli e quindi l'ambiente. Per quanto riguarda la protezione dei consumatori è presente il *Regolamento (CE) n. 396/2005 del Parlamento Europeo e del Consiglio concernente i livelli massimi di residui di antiparassitari nei o sui prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale*; per ogni alimento è prevista una concentrazione massima di residuo del pesticida e del suo metabolita, ammissibile legalmente, nell'alimento. Esistono diversi limiti massimi di residuo, in base al pesticida in considerazione, per il medesimo alimento. In mancanza del limite massimo di residuo si utilizza un livello predefinito di 0,01 mg/kg. Infine, un importante traguardo per la tutela dell'ambiente è stato l'inserimento nel Codice penale dei delitti contro l'ambiente. Infatti, con la *legge n. 68 del 2015* sono stati introdotti dei reati, tra i quali quelli di inquinamento ambientale e di disastro ambientale. Il *delitto di inquinamento ambientale punisce chi cagiona, "abusivamente", compromissioni o deterioramenti significativi e misurabili all'ambiente*. Invece il *delitto di disastro ambientale punisce chi, "abusivamente", altera in modo irreversibile, o difficilmente reversibile l'equilibrio di un ecosistema e chi provoca una offesa alla pubblica incolumità di particolare rilevanza, tenendo conto dell'estensione della compromissione, degli effetti lesivi o del numero delle persone coinvolte* [2]. Dunque, tutto il ciclo di vita dei pesticidi è regolato, dalla loro introduzione nel mercato, all'utilizzo in campo, per passare poi alla tutela dei consumatori dei prodotti vegetali trattati con pesticidi ed infine vi sono le condanne in caso di gravi eventi di inquinamento dell'ambiente da parte degli utilizzatori dei pesticidi. Il termine "pesticida" in realtà è un termine generico, che fa riferimento a due categorie di prodotti, i "biocidi" e i "prodotti fitosanitari", la loro distinzione è chiara se si considerano lo scopo ed il target del trattamento. Infatti, un "biocida" è un prodotto che ha come scopo la protezione dell'uomo e degli animali, quindi ha come bersaglio gli organismi nocivi per uomo e animali, secondo la definizione del *Regolamento (UE) n. 528/2012*. Invece, un "prodotto fitosanitario" ha come fine ultimo del trattamento la protezione delle piante e dei prodotti di origine vegetale da tutti gli organismi nocivi ai vegetali, secondo la definizione del *Regolamento (CE) n. 1107/2009*. Tra i prodotti fitosanitari, vi sono gli erbicidi, ovvero i prodotti per il controllo delle piante infestanti, le cosiddette malerbe, le quali invadono i campi coltivati. Gli erbicidi possono distinguersi innanzitutto in erbicidi selettivi e non selettivi, quest'ultimi altrimenti detti ad azione totale che agiscono indiscriminatamente sulla vegetazione, ad esempio il diserbante glifosate. Invece gli erbicidi selettivi possono essere in grado di agire solo su determinate piante, per esempio solo sulle monocotiledoni o sulle dicotiledoni, senza danneggiare le

colture presenti. Inoltre, i principi attivi degli erbicidi chimici di sintesi vengono classificati in diverse famiglie chimiche [3]. Gli erbicidi commerciali presentano diversi meccanismi di azione, dunque vi sono anche classificazioni in base a questa caratteristica del prodotto. In particolare, la modalità di azione è di fondamentale importanza per l'agricoltore, in quanto determina quale debba essere l'adeguato contatto dell'erbicida con la pianta affinché possa fare effetto [4]. La necessità di diserbare deriva dai problemi causati dalla competizione che si instaura tra le piante infestanti e le colture, infatti, esse competono per spazio, luce, acqua e nutrienti, causando così gravi compromissioni del raccolto, ovvero della resa, provocando anche perdite economiche per gli agricoltori. A causa della rapida crescita della popolazione mondiale, che ha raggiunto oggi circa gli 8 miliardi di persone, le rese delle colture sono l'obiettivo principale a livello globale. Dunque, grazie alla diffusione e all'ampio utilizzo degli erbicidi di sintesi, è possibile mantenere elevate le rese agricole. Il controllo delle piante infestanti però non avviene solo attraverso l'utilizzo di erbicidi di sintesi, infatti, può avere anche diversa natura da quella chimica. Il diserbo, per esempio, può essere di tipo meccanico attraverso l'estirpazione manuale o l'utilizzo di diversi macchinari come ad esempio aratri, sarchiatrici, erpici rotanti e così via; in questo modo la lavorazione del suolo, prima della semina, permette il rimescolamento degli strati superficiali, portando in profondità i semi indesiderati presenti al suolo, rendendone così difficile o impossibile la germinazione [5]. Il controllo delle malerbe può essere anche di tipo fisico, attraverso la pacciamatura attorno alle colture o la consociazione. È possibile impedire fisicamente la crescita delle piante infestanti attraverso la copertura del suolo con diversi materiali oppure con altre piante di interesse, le quali competono con le malerbe per lo spazio; inoltre, esiste anche la pratica del pirodiserbo, che consiste nell'utilizzo di un fuoco controllato per l'eliminazione delle piante infestanti dal campo [6]. Un'altra tipologia di controllo delle infestanti è la lotta biologica, una pratica poco diffusa che consiste nell'utilizzare insetti e altri organismi patogeni specifici della malerba [7]. Infine, vi sono gli erbicidi naturali, i cosiddetti bioerbicidi, che offrono un'alternativa più rispettosa dell'ambiente rispetto agli erbicidi chimici di sintesi [8]. Tuttavia, prevale ancora l'agricoltura convenzionale che prevede l'utilizzo dei diserbanti di sintesi. Questo modello di agricoltura risulta essere attualmente il più conveniente sia in termini di guadagni economici che in termini di riduzione del tempo di lavoro [9]. Infatti, gli erbicidi di sintesi risultano essere più economici ed efficaci nel controllo delle erbe infestanti rispetto ai metodi meccanici, i quali da soli non risultano risolutivi [10], e rispetto all'impiego dei soli erbicidi naturali, che presentano limiti in termini di economicità, efficacia e degradabilità [11]. Purtroppo, la pratica del diserbo attraverso

l'utilizzo di prodotti fitosanitari di sintesi è anche il metodo più impattante per l'ambiente, infatti, nel corso dei decenni ha causato gravi danni ai compartimenti ambientali, in seguito a fenomeni di inquinamento dell'atmosfera, delle acque superficiali, delle acque sotterranee e dei suoli stessi [12]. Oltretutto gli effetti nocivi di questi prodotti non riguardano solo la sfera abiotica, ma anche quella biotica, infatti, diversi studi dimostrano la tossicità degli erbicidi non solo per le specie vegetali, ma anche per specie animali, provocando l'avvelenamento della fauna e dell'uomo [13, 14]. Inoltre, il vasto impiego di erbicidi di sintesi in agricoltura ha causato l'insorgere di resistenze da parte delle malerbe ai diserbanti stessi. La crescente selettività di questi prodotti ha indotto la selezione naturale di quelle piante che per via di una mutazione nel gene bersaglio dell'erbicida, riuscivano a sopravvivere ai diserbi, così nel giro di poco tempo si sono ottenute intere popolazioni di malerbe resistenti a determinati erbicidi di sintesi. Questo ha comportato un utilizzo degli erbicidi in dosaggi sempre maggiori, man mano che si sviluppavano le resistenze, alimentando così l'inquinamento ambientale e rafforzando le resistenze stesse [15]. Di conseguenza si è innescata la ricerca di nuovi principi attivi, per la produzione di nuovi erbicidi di sintesi sempre più tossici, per poter continuare a beneficiare del loro impiego in agricoltura. Lo studio del fenomeno delle resistenze, invece di scoraggiare l'uso di fitofarmaci di sintesi, ha permesso all'uomo di ideare una tecnologia che mimasse il naturale processo, per utilizzarlo a proprio vantaggio nella produzione di colture geneticamente modificate resistenti agli erbicidi. La definizione di organismo geneticamente modificato, cosiddetto OGM, è la seguente: *“un organismo, diverso da un essere umano, il cui materiale genetico è stato modificato in modo diverso da quanto si verifica in natura mediante accoppiamento o incrocio o con la ricombinazione genetica naturale”*, che è riportata nel *D. lgs. n. 224/2003*, il quale recepisce la *Direttiva 2001/18/CE concernente l'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati* [2]. In diverse parti del Mondo, ma non in Italia [16], è permesso produrre colture geneticamente modificate in grado di resistere a determinati erbicidi, in modo tale che essi possano venire distribuiti in campo, per la lotta alle infestanti, in qualsiasi momento della crescita delle piante OGM, senza il rischio di causare loro danni [17]. Tuttavia, la tecnologia degli OGM impiegata a tali fini, incentiva l'impiego degli erbicidi di sintesi e quindi il reiterarsi di fenomeni di inquinamento ambientale. È necessario intraprendere nuove soluzioni per un diserbo più sostenibile. La definizione più accreditata della sostenibilità, ed in particolare dello sviluppo sostenibile, è quella di Gro Harlem Brundtland risalente al rapporto *“Our common future”*, la quale afferma che *“Lo sviluppo sostenibile è quello sviluppo che consente alla generazione presente di soddisfare i propri*

bisogni senza compromettere la possibilità delle generazioni future di soddisfare i propri" [18]. Dunque, il concetto di sostenibilità ha alla base il compromesso tra i bisogni ed i mezzi per raggiungere i bisogni. In particolare, per quanto riguarda il controllo delle malerbe, il compromesso deve essere raggiunto tra la necessità di diserbare per ottenere rese elevate, al fine di soddisfare la richiesta alimentare, e la quantità e qualità delle risorse naturali per le future generazioni. In tal caso subentra l'agricoltura integrata, ideata al fine di utilizzare i pesticidi in un modo più sostenibile. L'agricoltura integrata, infatti, come detto precedentemente, consiste in una produzione agricola finalizzata al minor impatto ambientale attraverso l'ottimizzazione delle risorse e l'integrazione di diversi mezzi. Questa tipologia di produzione non vieta l'utilizzo di prodotti fitosanitari di sintesi, tra i quali gli erbicidi, ma ne riduce l'impiego, attraverso la razionalizzazione e la combinazione con altri metodi di diserbo, come le tecniche agronomiche meccaniche, le tecniche fisiche, la lotta biologica e gli erbicidi naturali [19]. Un'ulteriore riduzione degli input di sintesi può essere raggiunta con l'agricoltura di precisione, la quale prevede l'impiego delle più moderne tecnologie, quali satelliti e droni, per la realizzazione di mappe di prescrizione. Le mappe di prescrizione forniscono informazioni sito specifiche per l'intera area adibita alla coltivazione, in tal modo la distribuzione degli input è mirata in base alle reali necessità del sito [20]. Infine, vi è l'agricoltura biologica, la quale prevede la maggiore riduzione possibile di fitofarmaci di sintesi attraverso limiti molto ristrettivi al loro utilizzo, i quali sono indicati nel *Regolamento (UE) 2018/848 del Parlamento europeo e del Consiglio, relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici*. Tuttavia, molte ricerche mettono in discussione la sostenibilità di questa tipologia di agricoltura, infatti, le colture biologiche generalmente rendono meno di quelle coltivate con l'utilizzo di pesticidi di sintesi; dunque, nonostante i benefici ambientali offerti da questa produzione agricola, il biologico ad oggi non risulta sostenibile in termini di capacità di soddisfacimento della crescente domanda alimentare della popolazione mondiale [21]. Questo elaborato di tesi in particolare tratta la tematica degli erbicidi naturali, ovvero dei bioerbicidi. Infatti, prevede la sperimentazione e la valutazione del potenziale erbicida di due estratti acquosi vegetali, prodotti a partire da due specie infestanti, rispettivamente la *Ludwigia grandiflora* e la *Datura stramonium*. Questi estratti vegetali a base acqua, in quanto totalmente naturali, potrebbero avere potenziale impiego in tutti i modelli di agricoltura nominati precedentemente. Gli estratti vegetali acquosi non hanno l'ambizione di essere uno strumento da sé risolutivo nel controllo delle infestanti, bensì sono stati ideati come mezzo integrativo per tal fine, offrendo così la possibilità di ridurre l'impiego di input di sintesi. Infatti, gli estratti vegetali, presentano

numerosi svantaggi, che ne limitano il successo e la diffusione. Innanzitutto, hanno emivita breve, ovvero non sono persistenti, questa caratteristica rappresenta una criticità per l'efficacia di un prodotto fitosanitario, ma allo stesso tempo è vantaggiosa dal punto di vista ambientale. La rapida degradabilità, infatti, consente di ridurre il rischio di insorgenza di resistenze, di abbassare la probabilità di causare danni di contaminazione al suolo e all'acqua, e di limitare gli effetti nocivi su organismi non bersaglio. Tuttavia, la persistenza rappresenta un attributo fondamentale per un erbicida, il quale deve persistere a lungo per avere l'effetto desiderato sulla vegetazione infestante [22]. Inoltre, a causa di questa caratteristica spesso la gestione degli estratti risulta più difficoltosa, nella conservazione e nella distribuzione in campo, rispetto ai normali prodotti di sintesi, poiché queste fasi possono avere un impatto significativo sull'efficacia degli estratti stessi [22]. Un altro inconveniente è che la biomassa di partenza utilizzata per produrre gli estratti, potrebbe differire per il contenuto delle sostanze fitotossiche, in base alla zona di provenienza, traducendosi in estratti caratterizzati da efficacia eterogenea [22]. Attraverso l'utilizzo delle malerbe come materia prima nella produzione degli estratti vegetali si realizza la trasformazione di una biomassa vegetale considerata di scarto in un prodotto finale. Alla luce degli elevati ritmi di produzione industriale, risulta di fondamentale importanza un'inversione di rotta, attraverso la riduzione dei consumi delle materie prime non rinnovabili, l'ottimizzazione delle risorse rinnovabili, la prevenzione nella produzione di rifiuti e la valorizzazione di prodotti considerati di scarto [23]. Tuttavia, bisogna ricordare che "naturale" non significa "innocuo", infatti, di questo ne sono una prova gli effetti in termini di fitotossicità degli estratti vegetali acquosi [22]. Pertanto, dopo aver accertato la bioattività di un estratto vegetale sulle infestanti, in laboratorio ed in prove di campo, è necessario svolgere alcune indagini per assicurare l'idoneità del prodotto per la produzione ed il commercio come bioerbicida. Innanzitutto, è essenziale identificare la struttura chimica delle sostanze fitotossiche, indagare la selettività, il meccanismo di azione, determinare il tempo di persistenza, verificare la possibile tossicità per la salute umana e per gli animali [24]. Precisamente, in quanto alcuni estratti vegetali hanno dimostrato tossicità non solo per le piante, diversi studi non si limitano a valutare l'effetto fitotossico, ma analizzano anche il potenziale nematocida [25], fungicida [26] ed insetticida degli estratti [27]. Dunque, gli estratti vegetali per molteplici ragioni non eguagliano le prestazioni degli erbicidi di sintesi, ma sono preferibili dal punto di vista dell'impatto ambientale. La tutela dell'ambiente ormai figura tra le priorità politiche internazionali, infatti, tra i diciassette obiettivi dell'*Agenda 2030 per lo sviluppo sostenibile* delle Nazioni Unite, viene trattata la tematica della produzione

agricola, la quale per il futuro avvenire dovrebbe mirare a sconfiggere le carestie alimentari in modo sostenibile. Per queste ragioni, sebbene siano solamente un mezzo di ausilio nel controllo delle infestanti, la ricerca scientifica sugli estratti vegetali acquosi sta ricevendo crescente interesse ed in generale la ricerca fitosanitaria è orientata verso soluzioni ecocompatibili, per una maggiore protezione ambientale [28].

SCOPO

Il progetto di tesi prevede la sperimentazione del potenziale erbicida di due diversi estratti vegetali acquosi prodotti rispettivamente, uno a partire dalla biomassa della specie *Ludwigia grandiflora* e l'altro della *Datura stramonium*, entrambe specie infestanti. In particolare, l'esperimento consiste nel testare gli effetti degli estratti vegetali acquosi sulla germinazione e sullo sviluppo di alcune specie infestanti a loro volta, sia monocotiledoni che dicotiledoni. In particolare, le specie infestanti sottoposte all'azione degli estratti sono *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Sorghum halepense*, *Echinochloa crus-galli* e *Digitaria sanguinalis*. Gli estratti vegetali acquosi sono realizzati attraverso l'estrazione delle sostanze contenute nella biomassa vegetale, essiccata e macinata, mediante l'impiego di acqua distillata come solvente. Dunque, le sostanze estratte dalle matrici vegetali, tramite l'acqua, sono sostanze idrofile. In contrapposizione agli estratti oleosi, i quali utilizzano un olio come solvente e di conseguenza permettono l'estrazione di composti lipofili. La scelta di procedere con l'estrazione in acqua è stata dettata dalla maggiore disponibilità ed economicità dell'acqua rispetto agli oli. Oltretutto, l'estrazione oleosa realizzata con l'impiego di determinati oli, per esempio gli oli di semi, precluderebbe l'impiego di questi estratti oleosi in agricoltura biologica, in quanto gli oli di semi sono solitamente ottenuti tramite processi chimici industriali [29]. Il modello di agricoltura biologica da *Regolamento (UE) 2018/848 del Parlamento europeo e del Consiglio* prevede "norme rigorose di produzione confacenti alle preferenze di un numero crescente di consumatori per prodotti ottenuti con sostanze e procedimenti naturali". Si è ritenuto più opportuno quindi investigare il potenziale erbicida di prodotti totalmente naturali, anche nella loro produzione, dal possibile impiego universale nella sfera agricola. Questo progetto di tesi concerne la prima fase conoscitiva, ovvero la valutazione in prove di laboratorio degli effetti dei due estratti vegetali acquosi, di *Ludwigia grandiflora* e di *Datura stramonium* l'altro, su un gruppo eterogeneo di specie infestanti. Il potenziale erbicida degli estratti viene valutato sulla base dei dati di germinazione e di crescita delle infestanti sottoposte a diverse concentrazioni degli estratti stessi. Inoltre, per quanto riguarda la specie *Ludwigia grandiflora*, l'elaborato di tesi prevede anche una prima analisi del potenziale impiego del residuo ottenuto durante la procedura di estrazione come substrato per la produzione di biogas, avvalendosi ancora una volta dei principi di circolarità e di sostenibilità.

LUDWIGIA GRANDIFLORA

La specie *Ludwigia grandiflora*, è una dicotiledone appartenente alla famiglia delle Onagracee. Si tratta di una pianta erbacea idrofila radicante, tipica dei corsi d'acqua dolce a lento scorrimento. La specie è perenne ed è caratterizzata da una consistente produzione di biomassa, la fioritura avviene in piena estate ed i grandi fiori gialli possono protrarsi fino all'inizio dell'autunno [30]. Per quanto riguarda la riproduzione, oltre a quella sessuata [31], la specie si avvale anche di quella vegetativa tramite frammenti degli steli. Quest'ultima è la riproduzione prevalente e consente una rapida colonizzazione dell'ambiente conferendo alla specie un elevato grado di invasività [32]. Infatti, la *Ludwigia grandiflora* è una specie originaria dell'America centrale e meridionale che a causa della sua introduzione come pianta ornamentale è conosciuta oggi come una delle più preoccupanti specie aliene invasive in Europa e Asia [33, 34]. La plasticità fenotipica che contraddistingue la specie le conferisce un'elevata adattabilità e flessibilità a diverse condizioni in termini di regime idrico e disponibilità di nutrienti [35]. Per questo motivo risulta estremamente efficace nella colonizzazione di habitat acquatici, come laghi e canali, attraverso la creazione di densi tappeti di biomassa che ricoprono la superficie dell'acqua. In tal modo la *Ludwigia grandiflora* compete con la flora autoctona ed altera l'intero ecosistema, provocando gravi conseguenze anche sulla fauna. Gli effetti principali di queste invasioni, infatti, sono la riduzione del flusso idrico, la sedimentazione della biomassa aerea nel periodo invernale, l'ipossia in acqua ed il drastico declino della biodiversità [30]. In particolare, oltre alla grande capacità di adattamento, la *Ludwigia grandiflora* prevale sulle altre specie vegetali anche grazie alle sue proprietà allelopatiche [30]. L'allelopatia è un fenomeno tramite il quale gli organismi vegetali rilasciano metaboliti, detti allelochimici, nell'ambiente, i quali possono inibire, in alcuni casi promuovere, la crescita delle altre piante circostanti [36]. Dunque, per questo elaborato di tesi è stata selezionata la *Ludwigia grandiflora* per la realizzazione di un estratto vegetale acquoso sulla base di tre motivazioni principali. La prima motivazione è dovuta alla sua presenza in Italia, infatti, questa specie aliena invasiva ha espanso la sua diffusione nei nostri territori, in particolare è divenuta una infestante tipica dei canali. La seconda ragione è riconducibile ai principi di circolarità e di sostenibilità, in quanto il suo impiego comporta il recupero di una elevata quantità di biomassa di scarto. Infine, il terzo motivo risiede nelle proprietà allelopatiche che contraddistinguono la specie, le quali suggeriscono un potenziale effetto erbicida naturale dell'estratto. Studi riguardanti gli estratti acquosi di diverse varietà vegetali hanno individuato allelochimici biodegradabili e solubili in acqua, per questa ragione, in aggiunta a quelle esposte precedentemente, si è optato per

la realizzazione di estratti acquosi [37]. In letteratura, per quanto riguarda la *Ludwigia grandiflora*, sono stati identificati alcuni composti idrosolubili prodotti della specie, quali tannini, polifenoli e flavonoidi [38]. In particolare, uno studio su un'altra specie di Ludwigia, la *Ludwigia hyssopifolia*, ha individuato i fenoli come principali composti responsabili dell'allelopatia [39]. Attualmente la gestione della *Ludwigia grandiflora* in Italia prevede il monitoraggio e l'eradicazione periodica. Tuttavia, durante gli interventi di rimozione manuale in alcuni casi gli esemplari sono stati rimossi dall'acqua e disposti lungo le sponde dei canali, in questo modo la specie si è potuta radicare fuori dall'acqua, dando luogo ad una forma terrestre [40]. Questo fenomeno è stato possibile grazie alla plasticità fenotipica della specie e alla sua grande capacità di adattamento. Dunque, è stato possibile preparare due differenti estratti acquosi, utilizzando le forme acquatica e terrestre di *Ludwigia grandiflora*, allo scopo di indagare possibili differenze in termini di fitotossicità. In particolare, l'obiettivo della tesi è la valutazione degli effetti allelopatici sulle infestanti esposte a diverse concentrazioni dei due estratti, attraverso l'analisi dei dati di germinazione e lunghezza radicale. Inoltre, l'impiego della *Ludwigia grandiflora* per la preparazione di estratti è solo uno dei possibili ambiti di ricerca, un'altra possibilità di studio riguarda la produzione di biogas. Questo progetto di tesi approfondisce anche quest'ultimo aspetto, infatti, prevede un'indagine sul potenziale impiego della *Ludwigia grandiflora* come substrato per la produzione di biogas attraverso una sperimentazione preliminare.



Figura 1 – canale invaso da un tappeto di *Ludwigia grandiflora* in fiore (Codevigo, PD)

DATURA STRAMONIUM

La *Datura stramonium* è una dicotiledone facente parte della famiglia delle Solanacee. Si tratta di una specie erbacea a ciclo annuale caratterizzata da fiori bianchi dalla corolla tubolare osservabili nel periodo estivo. La pianta è particolarmente riconoscibile durante la fruttificazione, poiché i frutti sono capsule globose irte di spine [41]. La sua origine è ancora incerta, ma oggi la specie a causa della sua ampia diffusione è considerabile cosmopolita [42]. In Italia, infatti, la *Datura stramonium* è naturalizzata in tutte le regioni ed è nota come infestante dei campi coltivati. La riproduzione avviene per via sessuata, in particolare i fiori ermafroditi consentono in caso di carenza di partner o di impollinatori adatti, l'autofecondazione, questa garanzia riproduttiva è associata all'invasività della specie [43]. La *Datura stramonium* è nota per essere tradizionalmente utilizzata come pianta medicinale in ambito farmaceutico [44]. Tuttavia, la specie è tossica per l'uomo, è infatti una pianta velenosa conosciuta anche come "erba delle streghe" o "erba del diavolo" a causa delle sue proprietà narcotiche, sedative ed allucinogene [45]. Tali peculiarità sono conferite dal contenuto nella pianta di alcaloidi, come scopolamina e atropina [46]. Inoltre, studi sugli

estratti di *Datura stramonium* hanno dimostrato evidenze di effetti allelopatici, per questo motivo è stata selezionata per il progetto di tesi [47]. Oltretutto, la specie, in quanto di natura infestante, è ampiamente disponibile nel territorio ed offre la possibilità di valorizzare una biomassa inutilizzata. In particolare, per la sperimentazione sulla *Datura stramonium* si è optato per la divisione dei tre organi vegetali principali, foglie, steli e radici, a partire dai quali sono stati realizzati tre diversi estratti acquosi. Infatti, è stato possibile realizzare un'estrazione acquosa in quanto nella specie sono state identificate sostanze idrosolubili quali tannini, fenoli e flavonoidi [44]. Poiché da letteratura l'estratto fogliare puro di *Datura stramonium* è risultato più efficace in termini di allelopatia [48], ai fini del progetto di tesi si è proceduto a realizzare e testare ulteriori concentrazioni, differenti dal 100%, solo di quest'ultimo. L'obiettivo della tesi per quanto riguarda la *Datura stramonium*, dunque, è investigare gli effetti sulla germinazione delle infestanti sottoposte ai tre diversi estratti e nel caso dell'estratto fogliare a diverse concentrazioni.



Figura 2 – Pianta di *Datura stramonium* con capsule (Legnaro, PD)

MATERIALI E METODI

La fase sperimentale del progetto di tesi ha previsto diverse operazioni al fine di studiare gli effetti degli estratti vegetali acquosi di *Ludwigia grandiflora* e di *Datura stramonium*. In primo luogo, è stato necessario procedere al campionamento di alcuni esemplari delle due specie al fine di realizzare i rispettivi estratti. Pertanto, si è proseguito con la semina in piastre Petri delle specie infestanti da sottoporre agli estratti, ovvero *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Sorghum halepense*, *Echinochloa crus-galli* e *Digitaria sanguinalis*. In seguito, è stata monitorata la crescita, in cella di germinazione, delle specie sopraelencate esposte ai diversi estratti di *Ludwigia grandiflora* e *Datura stramonium*.

CAMPIONAMENTO BIOMASSA

Il campionamento della biomassa vegetale di *Ludwigia grandiflora* è stato eseguito in data 09/07/2024 presso il canale in Via Carson Delle Sacche a Codevigo (PD), alle seguenti coordinate 45°15'34.8"N 12°08'24.2"E. Gli esemplari sono stati raccolti nel canale prestando attenzione a mantenere separate le due forme, acquatica e terrestre, prelevate rispettivamente in acqua e sulle sponde del canale, al fine di realizzare due estratti differenti con le piante per intero. Inoltre, dopo la raccolta la biomassa è stata pesata:

- Peso fresco *Ludwigia grandiflora* acquatica: 3074 g
- Peso fresco *Ludwigia grandiflora* terrestre: 1252 g

Invece, la *Datura stramonium* è stata raccolta in data 15/09/2024 presso uno dei campi dell'Azienda Agraria Sperimentale "L. Toniolo" dell'Università di Padova a Legnaro (PD), alle seguenti coordinate 45°20'41.8"N 11°57'03.7"E. In seguito, le piante raccolte di *Datura stramonium* sono state recise in modo da attuare una divisione della biomassa nei tre organi principali: foglie, steli e radici. In particolare, le capsule presenti sulle piante al momento della raccolta sono state separate dal resto della biomassa e non sono state utilizzate per la sperimentazione, allo scopo di realizzare tre estratti, rispettivamente di foglie, steli e radici. Dopo aver effettuato la divisione nei tre organi, le rispettive biomasse sono state pesate:

- Peso fresco *Datura stramonium* foglie: 3713 g
- Peso fresco *Datura stramonium* steli: 3618 g

- Peso fresco *Datura stramonium* radici: 2003 g

ESSICAZIONE E MACINAZIONE BIOMASSA

Dopo il campionamento, la biomassa di entrambe le forme, terrestre ed acquatica, di *Ludwigia grandiflora* è stata essiccata al buio in modo naturale in serra, dove le temperature raggiungevano anche i 40 °C durante il giorno. Invece a causa dell'abbassamento delle temperature esterne per quanto riguarda la *Datura stramonium* è stato necessario essiccare foglie, steli e radici in stufa, al buio, alla temperatura di 40°C. Dopo aver constatato che la biomassa fosse completamente essiccata, è stata effettuata separatamente la macinazione dei cinque campioni, con mulino impostato alla granulometria di 0,5 mm di diametro della polvere. In questo modo è stato possibile ottenere cinque differenti polveri di biomassa, le quali in seguito sono state pesate:

- Peso secco macinato *Ludwigia grandiflora* acquatica: 302 g
- Peso secco macinato *Ludwigia grandiflora* terrestre: 198 g
- Peso secco macinato *Datura stramonium* foglie: 151 g
- Peso secco macinato *Datura stramonium* steli: 200 g
- Peso secco macinato *Datura stramonium* radici: 39 g

Successivamente le polveri sono state riposte in sacchetti di plastica sottovuoto e conservate a temperatura ambiente al buio fino al loro utilizzo.



Figura 3 – *Ludwigia grandiflora* acquatica ad essiccare naturalmente in serra coperta da carta da giornale



Figura 4 – Foglie essiccate di *Datura stramonium*



Figura 5 – Foglie di *Datura stramonium* macinate

PREPARAZIONE ESTRATTI

Per la realizzazione dei cinque estratti vegetali acquosi sono state preparate delle miscele a base di polvere vegetale e acqua distillata in rapporto 1:10 (m/m). Le beute contenenti le miscele sono state coperte per mantenere la condizione di buio e sono state poste su agitatore orbitale per 24 h alla velocità di 275 giri al minuto, a temperatura ambiente. In seguito, è stata effettuata manualmente una prima operazione di filtrazione delle miscele attraverso l'impiego di un colino e di filtri di garza sterile, che ha permesso di rimuovere la maggior parte della polvere contenuta nelle miscele. Seguita poi da 30 minuti in centrifuga impostata a 4500 giri/min, alla temperatura di 20 °C, che ha consentito una separazione più accurata tra la fase liquida ed il residuo solido. La fase liquida che è stata ottenuta dopo la centrifugazione costituisce l'estratto puro al 100% [49]. La resa dell'estratto puro, calcolata considerando il peso della miscela iniziale ed il peso della fase liquida dopo la centrifuga, è risultata essere leggermente diversa tra i cinque estratti:

- Resa estratto di *Ludwigia grandiflora* acquatica: 69,42%
- Resa estratto di *Ludwigia grandiflora* terrestre: 66,80%
- Resa estratto di *Datura stramonium* foglie: 64,78%
- Resa estratto di *Datura stramonium* steli: 54,23%
- Resa estratto di *Datura stramonium* radici: 56,56%

Successivamente per la specie *Ludwigia grandiflora* sono state preparate alcune diluizioni (v/v %) a partire dall'estratto al 100%, sia per la forma acquatica che per quella terrestre, per la precisione il 40%, il 50%, il 60% e l'80%. Invece per quanto riguarda la specie *Datura stramonium* si è optato per realizzare le diluizioni al 40%, 50%, 60% ed 80% solo per l'estratto fogliare. In quanto sia da letteratura che empiricamente, dopo aver effettuato i primi test con gli estratti puri di foglie, steli e radici, è risultato essere più efficace l'estratto delle foglie [48]. Pertanto, non è risultato ragionevole procedere con le diluizioni degli estratti di steli e radici di *Datura stramonium*, in quanto non molto efficaci neanche al 100%. Infine, gli estratti puri e le rispettive diluizioni sono stati posti in provette Falcon e sono stati conservati al buio in congelatore alla temperatura di -20 °C fino al momento del loro utilizzo.



Figura 6 – Estratto al 100% di *Ludwigia grandiflora* acquatica con residuo solido dopo centrifugazione

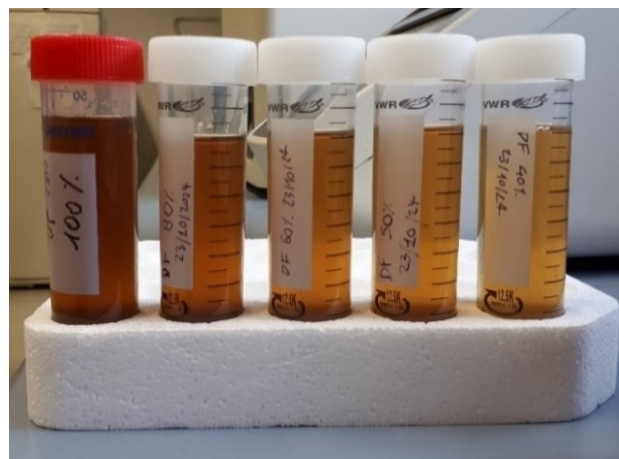


Figura 7 – Estratti al 100%, 80%, 60%, 50%, 40% di *Datura stramonium* foglie

SCARIFICAZIONE SEMI

Per le specie infestanti *Sorghum halepense* ed *Echinochloa crus-galli*, è stata attuata la scarificazione chimica dei semi. In quanto, in prove preliminari sulla germinazione delle infestanti, per queste due specie la germinazione risultava quasi nulla. Si è reso necessario, dunque, scarificare i semi al fine di causare la formazione di microfratture nel tegumento dei semi stessi. La scarificazione, infatti, è una procedura di laboratorio chimica, fisica o meccanica che consente di simulare l'abrasione naturale del tegumento dei semi che avverrebbe in condizioni di campo, attraverso una combinazione di processi naturali fisici, chimici e biologici [50]. I semi in questo modo, tramite microfratture del tegumento, riescono a scambiare gas e acqua con l'ambiente esterno e pertanto a germinare. In particolare, è stata effettuata la scarificazione chimica, sotto cappa, che ha previsto l'immersione dei semi da scarificare in acido solforico concentrato al 96% per 8 minuti di tempo. La procedura ha richiesto particolare attenzione nel cronometrare, in quanto una scarificazione troppo prolungata avrebbe potuto causare un'eccessiva, innaturale, germinazione dei semi. Al termine degli 8 minuti, l'acido è stato rimosso ed i semi sono stati immersi in acqua distillata e poi lavati sotto il rubinetto di acqua distillata corrente, tramite l'ausilio di un colino. Infine, al termine del lavaggio i semi sono stati disposti su carta assorbente ad asciugare all'aria a temperatura ambiente per 48 h, girandoli di tanto in tanto per garantire un'essiccazione ottimale.



Figura 8 – Scarificazione dei semi di *Sorghum halepense* ed *Echinochloa crus-galli*

INFESTANTI

Le specie infestanti coinvolte nella sperimentazione sono tipiche del Veneto, e sono state selezionate in quanto sia monocotiledoni che dicotiledoni, al fine di evincere possibili differenze di effetto degli estratti sulle due classi sistematiche. I semi delle infestanti sono stati raccolti a Legnaro (PD), tra il 2019 ed il 2020, e sono stati poi conservati al buio in cella frigorifera a 4 °C, in particolare:

Dicotiledoni:

- *Abutilon theophrasti* (ABUTH) (2019)
- *Amaranthus retroflexus* (AMARE) (2020)
- *Chenopodium album* (CHEAL) (2019)

Monocotiledoni:

- *Digitaria sanguinalis* (DIGSA) (2019)
- *Echinochloa crus-galli* (ECHCG) (2019)
- *Sorghum halepense* (SORHA) (2020)

Un'altra considerazione riguarda la possibile differenza di effetto degli estratti in base alla dimensione del seme; infatti, le dimensioni dei semi delle infestanti considerate sono molto eterogenee.



Figura 9 – Prima riga da sinistra a destra semi di: ABUTH, AMARE, CHEAL; seconda riga da sinistra a destra semi di: DIGSA, ECHCG, SORHA

DISEGNO SPERIMENTALE

Lo schema sperimentale ha previsto la disposizione di 2 filtri di carta ($\varnothing = 8$ cm) in ciascuna piastra Petri ($\varnothing = 9$ cm), i quali sono stati imbevuti di 4 ml di trattamento [49]. I trattamenti corrispondevano agli estratti nelle diverse concentrazioni e all'acqua distillata per il controllo, ovvero il non trattato. In particolare, i trattamenti previsti nella sperimentazione sono stati:

- Acqua distillata (C)
- *Ludwigia grandiflora* acquatica (LA) al 100%, 80%, 60%, 50% e 40%
- *Ludwigia grandiflora* terrestre (LT) al 100%, 80%, 60%, 50% e 40%
- *Datura stramonium* foglie (DF) al 100%, 80%, 60%, 50% e 40%
- *Datura stramonium* steli (DS) al 100%
- *Datura stramonium* radici (DR) al 100%

Dunque, per procedere a testare gli estratti, è stato necessario rimuovere dal congelatore le provette Falcon necessarie e mantenerle a temperatura ambiente, al buio, per le 48 h precedenti al loro utilizzo, in modo tale che gli estratti potessero tornare allo stato liquido. In seguito, è stata realizzata la semina di 20 semi di infestante in ciascuna piastra Petri. Inoltre, per ogni combinazione di trattamento e specie infestante sono state effettuate 4 repliche. Pertanto, il disegno sperimentale “*trattamento x specie infestante x repliche*” ha implicato la preparazione di 432 piastre Petri in totale.

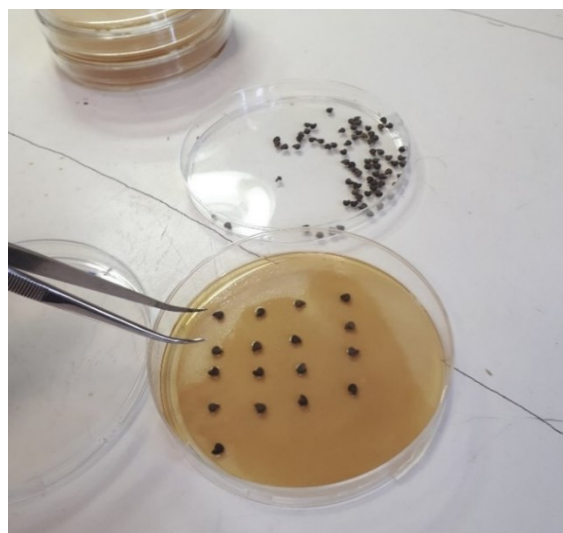


Figura 10 – Semina in piastra Petri di ABUTH R1 per LT 60%

In seguito, una volta sigillate le piastre Petri con pellicola parafilm, sono state poste in germinatoio impostato per alternare la temperatura di 18 °C per le 12 h di buio con la temperatura di 30 °C per le 12 h di luce. È stato possibile adottare le stesse impostazioni di temperatura per tutte le specie infestanti coinvolte nell'esperimento in quanto specie macroterme; pertanto, le condizioni risultavano ottimali per la germinazione di tutte le infestanti. La durata delle prove di germinazione è stata mantenuta a 7 giorni per tutte le combinazioni, eccetto per il *Chenopodium album*, per il quale la germinazione è stata protratta a 14 giorni nelle prove riguardanti gli estratti di *Ludwigia grandiflora*. Infatti, il *Chenopodium album* necessiterebbe di più tempo per la germinazione, ma per le prove sugli estratti di *Datura stramonium* è stato saggiato lo stesso a 7 giorni. È stato garantito l'effetto randomizzato, in quanto le piastre Petri nel corso delle prove sono state spostate ogni giorno, in corrispondenza del rilevamento dati giornaliero, in modo che risultassero sempre in posizioni casuali all'interno del germinatoio per eliminare la variabilità dovuta alla posizione.

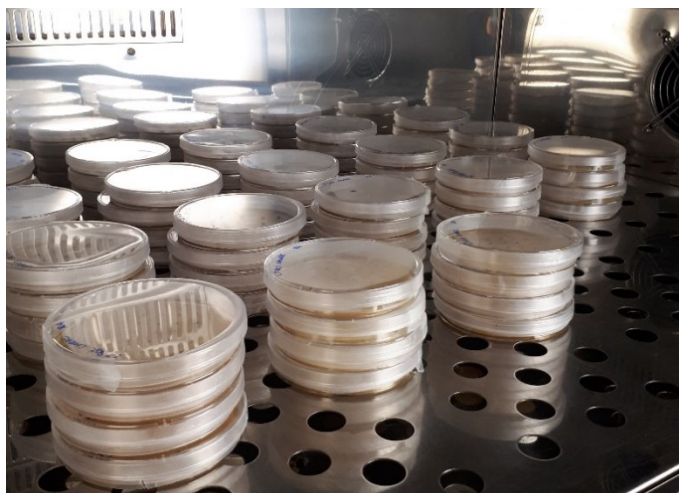


Figura 11 – Piastre Petri in germinatoio

RILEVAMENTO DATI

Per tutta la durata delle prove è stato effettuato il monitoraggio della germinazione attraverso il conteggio giornaliero dei semi germinati, apponendo delle crocette in corrispondenza dei semi germinati sul coperchio delle Petri. Al termine del periodo delle prove di germinazione è stata misurata la lunghezza radicale, con l'ausilio di carta millimetrata, di tutte le plantule presenti in ogni piastra Petri. Poiché è stata rilevata la presenza di muffa in alcune Petri

riguardanti le prove sugli estratti di *Datura stramonium*, per quest'ultima si è deciso di non considerare i dati sulle lunghezze radicali ai fini delle analisi statistiche. Infatti, la lunghezza delle radici potrebbe essere stata compromessa dalla presenza della muffa. Invece, per quanto riguarda la germinazione i dati risultavano paragonabili a quelli delle Petri prive di muffa; pertanto, per la *Datura stramonium* sono stati tenuti in considerazione solo i dati di germinazione per l'analisi statistica.



Figura 12 – Conteggio semi germinati di ECHCG R2 per DR 100% al settimo giorno



Figura 13 – Misurazione lunghezze radicali di ABUTH per C, LA 100%, LT 100% al settimo giorno

ANALISI STATISTICA DATI

Gli effetti sulle specie infestanti degli estratti acquosi di *Ludwigia grandiflora* sono stati investigati attraverso analisi statistiche relative alla germinazione, alla lunghezza radicale e al tempo necessario per raggiungere il 50% della germinazione, altrimenti detto t50. Invece per quanto riguarda la *Datura stramonium* sono state condotte le analisi soltanto sulla germinazione delle specie infestanti. L'analisi ha previsto la statistica descrittiva per singola specie e successivamente l'analisi della varianza (ANOVA) per individuare le significatività dei fattori presi in considerazione.

LUDWIGIA GRANDIFLORA (LT – LA): GERMINAZIONE INFESTANTI

Per determinare l'effetto degli estratti acquosi di *Ludwigia grandiflora* terrestre ed acquatica, è stata studiata la germinazione delle specie infestanti come variabile dipendente. Le variabili indipendenti, dalle quali dipende la germinazione, sono l'estratto e la dose. In particolare, separatamente per ogni specie, è stata analizzata, per ogni replica, la percentuale di germinazione rispetto alla germinazione media del non trattato, ovvero del controllo. Dunque, per ogni specie è stata realizzata inizialmente la statistica descrittiva, calcolando media ed errore standard della germinazione per ogni combinazione di dose ed estratto. In seguito, sono state verificate le assunzioni di base per poter svolgere l'analisi della varianza, ovvero la verifica della normalità dei dati e dell'omogeneità delle varianze tra i gruppi. Per quanto riguarda la normalità dei dati è stato applicato il test di Shapiro-Wilk. Invece per la verifica dell'omogeneità delle varianze è stato utilizzato il test di Levene. In quanto entrambe le assunzioni sono rispettate per tutte le specie in analisi, è stata condotta l'analisi della varianza fattoriale a due vie. Infatti, i fattori sono due e corrispondono alle due variabili indipendenti, estratto e dose, rispettivamente l'estratto presente a due livelli, LT e LA, e la dose a cinque livelli, ovvero 40%, 50%, 60%, 80% e 100%. L'analisi della varianza è stata condotta al fine di stabilire la significatività dei fattori stessi. Infine, in caso di significatività sono stati svolti i confronti multipli a posteriori delle medie applicando il test di Tukey. L'analisi dei dati è stata fatta utilizzando il software RStudio. In particolare, per calcolare l'ANOVA è stata utilizzata la funzione 'Anova' di tipo II della library(car) e per il test di Tukey la funzione HSD.test della library(agricolae). Le tabelle riguardanti la statistica descrittiva, l'analisi della varianza e i confronti tra le medie a posteriori sono rispettivamente le *Tabelle 1, 2 e 3* riportate in seguito nel capitolo degli allegati.

LUDWIGIA GRANDIFLORA (LT – LA): LUNGHEZZA RADICALE INFESTANTI

Un'altra variabile considerata nello studio degli effetti degli estratti acquosi è stata la lunghezza radicale. Tutte le lunghezze radicali sono state rapportate alla media del controllo, separatamente per ogni specie, dunque, è stata analizzata la percentuale di lunghezza radicale rispetto alla media del non trattato. Inizialmente è stata eseguita la statistica descrittiva individuando media ed errore standard per tutte le combinazioni di dose ed estratto per ogni specie. Anche in questo caso prima di realizzare l'analisi della varianza, sono state verificate le assunzioni di base di normalità dei dati e di omogeneità tra le varianze. In quanto per tutte le specie le assunzioni sono state violate, si è dovuto procedere con un test non parametrico. Per la precisione è stato condotto il test dei ranghi, utilizzando la funzione 'art' del pacchetto 'ARTool' del software RStudio che implementa la trasformazione con i ranghi per condurre un'analisi della varianza fattoriale [51]. Inoltre, i gruppi risultano sbilanciati in quanto il numero di osservazioni, ovvero il numero di semi germinati in ogni Petri dei quali è stata misurata la lunghezza radicale, è diverso per ogni combinazione di fattori. Per questa ragione, una volta verificata la significatività, si è dovuto utilizzare il test di Dunn come confronto multiplo a posteriori, che si basa sui ranghi, al posto del test di Tukey. Le tabelle riguardanti la statistica descrittiva, l'analisi della varianza e i confronti tra le medie a posteriori sono rispettivamente le *Tabelle 4, 5 e 6* riportate in seguito nel capitolo degli allegati.

LUDWIGIA GRANDIFLORA (LT – LA): t50 INFESTANTI

Un altro effetto degli estratti preso in considerazione è il ritardo della germinazione delle infestanti, un aspetto molto utile nel controllo delle malerbe [52]. Il ritardo della germinazione può essere verificato attraverso l'analisi del tempo necessario affinché avvenga il 50% della germinazione (t_{50}). Per questo motivo i dati di germinazione sono stati cumulati nel tempo e successivamente sono stati espressi come % sul totale dei semi germinati nella replica. Queste percentuali cumulate sono state interpolate seguendo il modello parametrico time – to – event [53] con la funzione di regressione log – logistica con 3 parametri d, b, e :

$$G(t) = \frac{d}{1 + \exp[-b \cdot (\ln t - \ln e)]}$$

Dove

- G = frazione di semi germinati al tempo t espresso in giorni
- d = frazione di semi germinabili
- e = parametro che rappresenta la mediana del tempo di germinazione per la frazione germinabile, dunque, rappresenta il t50, ovvero il tempo al quale si verifica il 50 % della germinazione
- b = parametro che rappresenta la pendenza della curva attorno al punto di flesso

In questo caso è stata utilizzata la funzione `drmte()` nel pacchetto 'drcte' di Rstudio, specifico per i metodi `time – to – event`. In particolare, è stato ottenuto il valore del t50 per ogni replica con il parametro b , stimato dall'interpolazione dei dati. Il t50 è stato utilizzato per studiare un possibile ritardo della germinazione delle specie dovuto all'estratto e alla dose. Inoltre, è stata svolta l'analisi della varianza, dopo aver verificato le assunzioni di base utilizzando il test di Shapiro-Wilk per la normalità dei dati, e il test di Levene per verificare l'omoschedasticità. In questo caso è stata condotta l'analisi della varianza fattoriale a due vie, considerando come variabile risposta il t50 e come fattori le variabili indipendenti estratto e dose. I livelli del fattore estratto sono due, LT e LA; invece, i livelli del fattore dose sono sei, ovvero 0%, 40%, 50%, 60%, 80% e 100%. In caso di significatività dei fattori è stato condotto il test di Tukey come confronto a posteriori tra le medie. Le tabelle riguardanti l'analisi della varianza e i confronti tra le medie a posteriori sono rispettivamente le *Tabella 7* e *8* riportate in seguito nel capitolo degli allegati.

DATURA STRAMONIUM (DR – DS – DF): GERMINAZIONE INFESTANTI

Al fine di valutare l'effetto tra gli estratti di *Datura stramonium* realizzati a partire dalle foglie, dagli steli e dalle radici della pianta è stata studiata, come variabile risposta, la germinazione delle infestanti. La variabile indipendente in questo caso è l'estratto, ai seguenti quattro livelli, NT, DF 100%, DS 100%, e DR 100%. In particolare, separatamente per ogni specie, è stata analizzata, per ogni replica, la % di germinazione rispetto alla germinazione media del non trattato, ovvero del controllo. Per ogni specie, è stata effettuata inizialmente la statistica descrittiva calcolando media ed errore standard per ciascun estratto. Successivamente è stata condotta l'analisi della varianza a una via per stabilire la significatività del fattore estratto e, nel caso di significatività, sono stati fatti i confronti a posteriori delle medie. In particolare, per le specie ABUTH e SORHA è stato possibile

procedere con l'analisi della varianza parametrica e con i confronti a posteriori delle medie applicando il test di Tukey. Invece, per tutte le altre specie, in quanto le assunzioni dell'analisi della varianza risultavano violate, è stato necessario procedere con l'analisi non parametrica del test dei ranghi ed in seguito con il confronto multiplo a posteriori di Dunn. L'analisi dei dati è stata condotta utilizzando il software RStudio. Negli allegati sono riportate le *Table 9, 10 e 11* rispettivamente sulla statistica descrittiva, sull'analisi della varianza e sui confronti a posteriori delle medie.

DATURA STRAMONIUM (DF): GERMINAZIONE INFESTANTI

L'estratto di *Datura stramonium* foglie è risultato il più efficace in termini allelopatici in diversi studi [48]. Per questo motivo sono stati analizzati gli effetti dell'estratto DF a dosi differenti sulla germinazione delle infestanti; pertanto, la dose dell'estratto è la variabile indipendente. Invece, la variabile risposta studiata, separatamente per ogni specie, è la % di germinazione sul controllo, per ogni replica. In questo caso non è stata condotta un'analisi sul t50, utilizzando la funzione di regressione, poiché la germinazione è risultata quasi nulla o addirittura pari a 0,000% a quasi tutte le dosi per la maggior parte delle specie coinvolte. Per la % di germinazione si è proceduto a calcolare media ed errore standard a dosi differenti. In seguito, è stata condotta l'analisi della varianza parametrica a una via per le specie ABUTH, SORHA e CHEAL, per le quali le assunzioni erano rispettate. Pertanto, in caso di significatività del fattore dose è stato possibile utilizzare il test di Tukey per individuare le differenze tra i sei livelli, NT, DF 40%, DF 50%, DF 60%, DF 80% e DF 100%. Invece, per le restanti specie è stato necessario condurre l'analisi della varianza non parametrica con il test dei ranghi e con il confronto multiplo a posteriori di Dunn. L'analisi dei dati è stata condotta utilizzando il software RStudio. Le *Table 12, 13 e 14* negli allegati riportano i risultati delle analisi svolte.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Nella discussione sono stati esaminati i risultati riguardanti la germinazione delle infestanti sottoposte agli estratti acquosi di *Datura stramonium* e di *Ludwigia grandiflora*, di quest'ultima sono stati discussi anche gli effetti sulla lunghezza radicale delle infestanti e sul t50, ovvero il tempo necessario per raggiungere il 50% della germinazione delle infestanti. In particolare, sono stati utilizzati i seguenti acronimi per gli estratti: estratto *Ludwigia grandiflora* acquatica (LA), estratto *Ludwigia grandiflora* terrestre (LT), *Datura stramonium* foglie (DF), *Datura stramonium* steli (DS) e *Datura stramonium* radici (DR). Il controllo, ovvero il non trattato, è stato indicato con l'acronimo NT. Invece per le specie infestanti sono stati utilizzati i codici EPPO: *Abutilon theophrasti* (ABUTH), *Amaranthus retroflexus* (AMARE), *Chenopodium album* (CHEAL), *Sorghum halepense* (SORHA), *Echinochloa crus-galli* (ECHCG) e *Digitaria sanguinalis* (DIGSA).

ESTRATTI ACQUOSI DI *LUDWIGIA GRANDIFLORA*

EFFETTO SULLA GERMINAZIONE (LT – LA)

La germinazione media percentuale sul non trattato ha subito una riduzione per quasi tutte le combinazioni di estratto e dose per le specie infestanti in analisi, con qualche eccezione dove si è verificato un leggero aumento. Dunque, è stato possibile confermare il potenziale allelopatico della specie [30]. In particolare, i risultati più interessanti riguardano la specie ECHCG per la quale l'estratto LA al 100% ha ridotto la % di germinazione media rispetto al controllo del 50,0%; per la specie SORHA l'estratto LA al 100% ha causato un calo della percentuale di germinazione media fino ad arrivare al 37,5%; per la specie AMARE la germinazione media percentuale è passata al 34,2% con il trattamento LT 100%; ed infine il risultato migliore riguarda la specie infestante DIGSA, per la quale LT 100% ha causato una percentuale di germinazione media del 15,6% rispetto al non trattato. I risultati sono stati riportati nei grafici in *Figura 14, 15, 16, 17, 18 e 19* e rappresentano le germinazioni medie percentuali sul controllo con i rispettivi errori standard al variare della dose e dell'estratto. Per le specie AMARE, DIGSA e SORHA dall'analisi della varianza fattoriale è risultato significativo il fattore dose. Dunque, per queste specie risulta esserci una differenza di effetto tra i cinque livelli, ovvero 40%, 50%, 60%, 80% e 100%, infatti, attraverso i grafici

si può notare un andamento decrescente dei dati, a significare un calo della percentuale di germinazione all'aumentare della dose. Invece per quanto riguarda il fattore estratto, questo è risultato significativo per le specie AMARE, DIGSA, ECHCG e SORHA. Dunque, per queste specie vi è una differenza significativa di effetto tra i due livelli degli estratti, ovvero tra LT e LA. Infatti, nei grafici di AMARE e DIGSA, i dati relativi all'estratto LT risultano sempre al di sotto dei dati di LA, a parità della dose; pertanto, l'estratto LT è stato più efficace nel ridurre la germinazione per queste due specie. Invece, per SORHA ed ECHCG, l'estratto LA ha prodotto una maggiore riduzione della germinazione rispetto a LT, a parità di dose. Tuttavia, in quest'ultimi due casi la differenza di effetto tra LA ed LT non era così elevata, risultando l'estratto LT più efficace nel complesso delle prove, probabilmente a causa di differenze chimico-fisiche tra le due forme della specie [40]. Per le restanti specie, ABUTH e CHEAL, non è stata individuata alcuna significatività sia per il fattore dose che per il fattore estratto. Dunque, la significatività di un fattore determinata tramite l'analisi della varianza consente di rilevare la presenza di una differenza tra i livelli di quel fattore, ma per identificare quali livelli si differenzino in modo significativo è stato necessario svolgere il test di Tukey. Infatti, il test di Tukey realizza i confronti multipli a posteriori delle medie, pertanto ha consentito di assegnare ad ogni livello un gruppo, in base alla differenza significativa o meno dagli altri, riportato nella *Tabella 3* degli allegati.

A. theophrasti

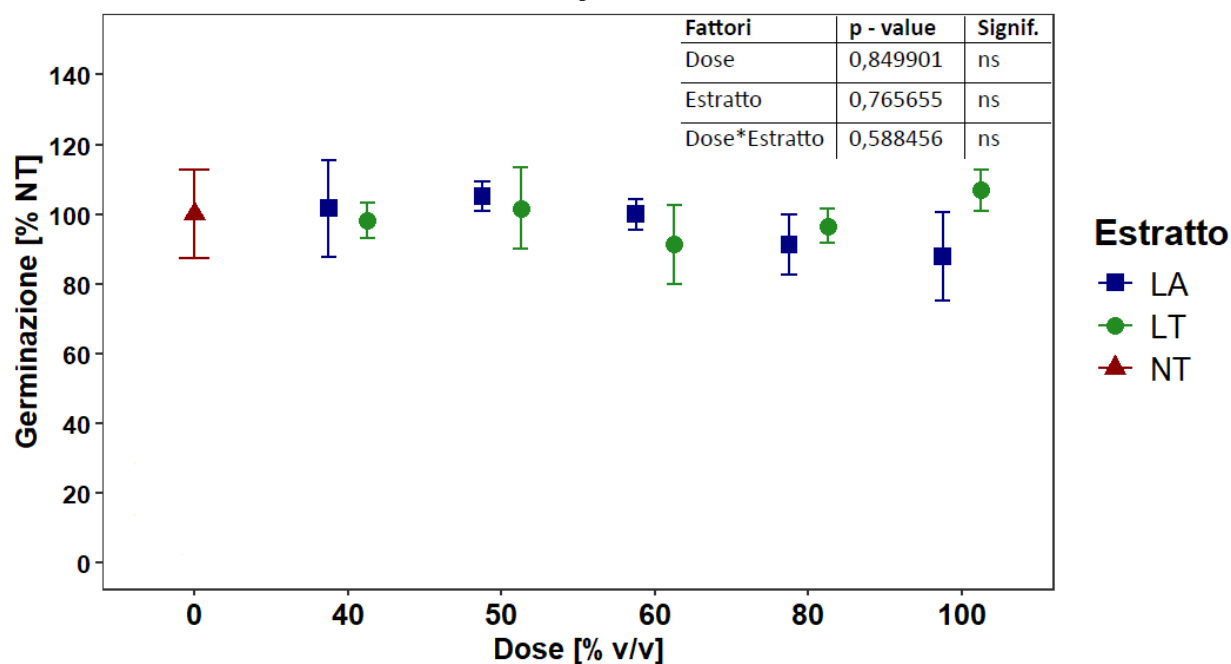


Figura 14 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla germinazione di *ABUTH*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

A. retroflexus

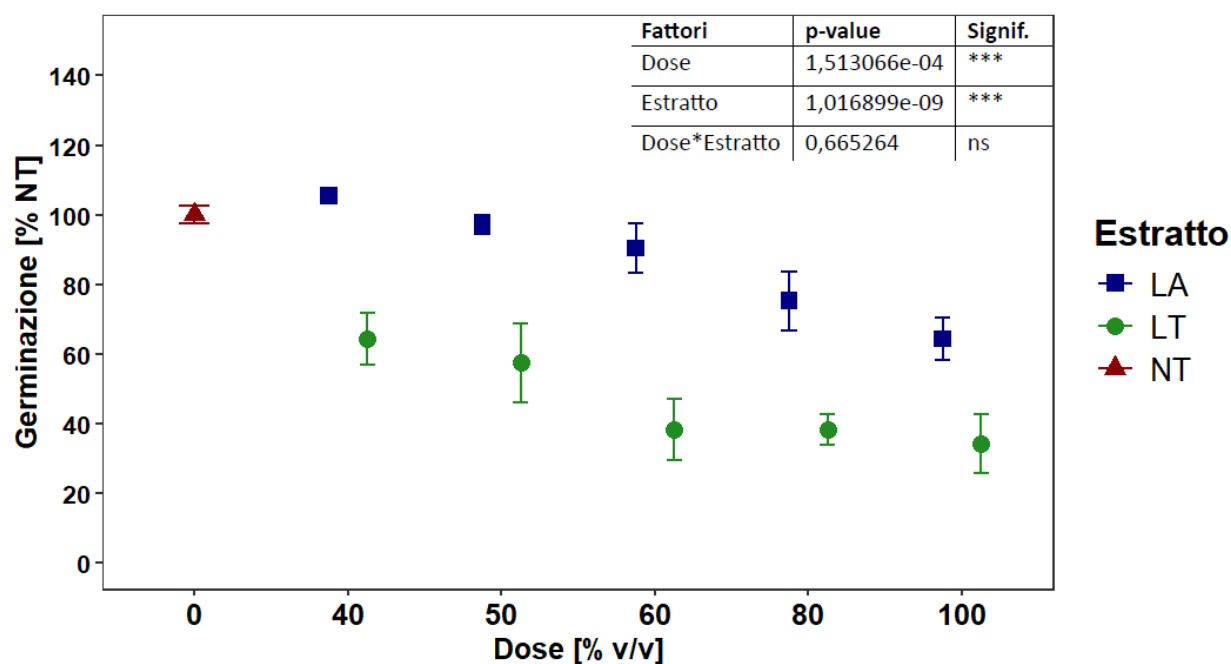


Figura 15 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla germinazione di *AMARE*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

C. album

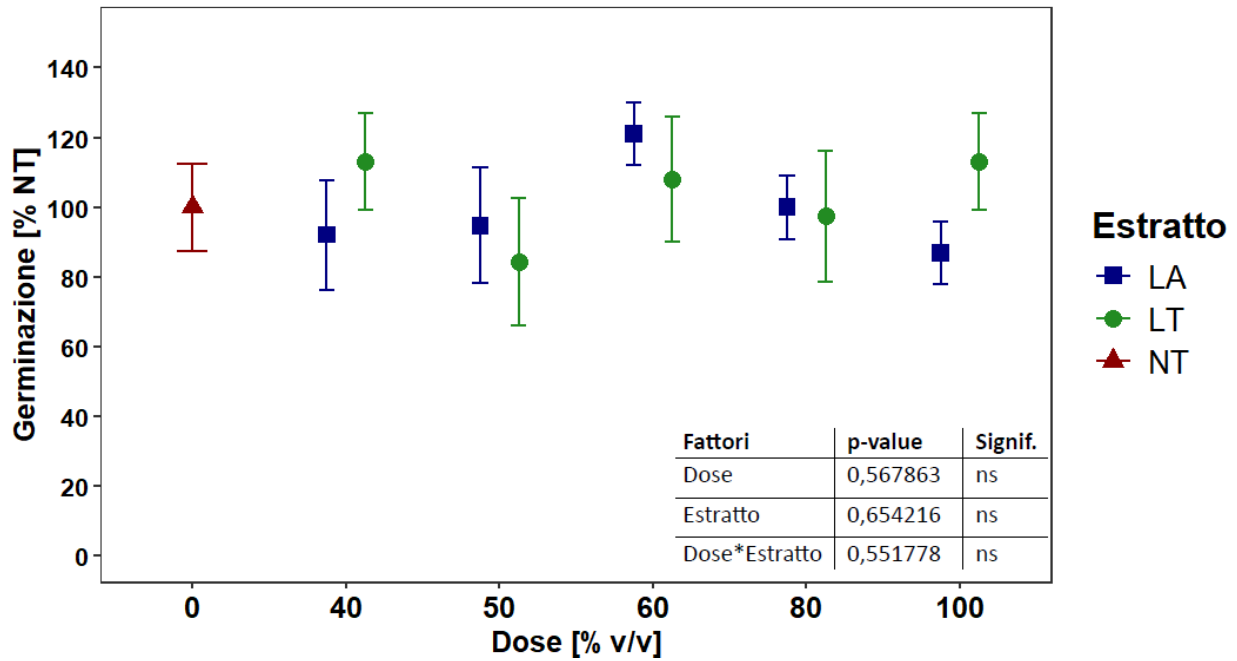


Figura 16 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla germinazione di CHEAL. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

D. sanguinalis

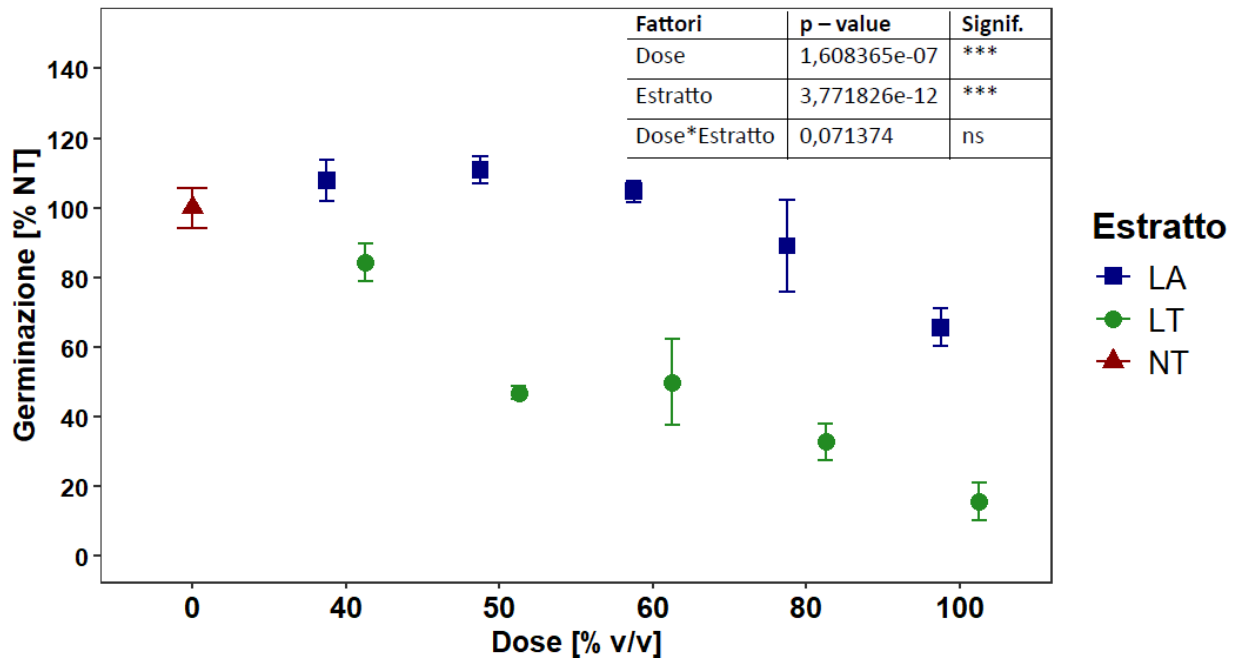


Figura 17 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla germinazione di DIGSA. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

E. crus-galli

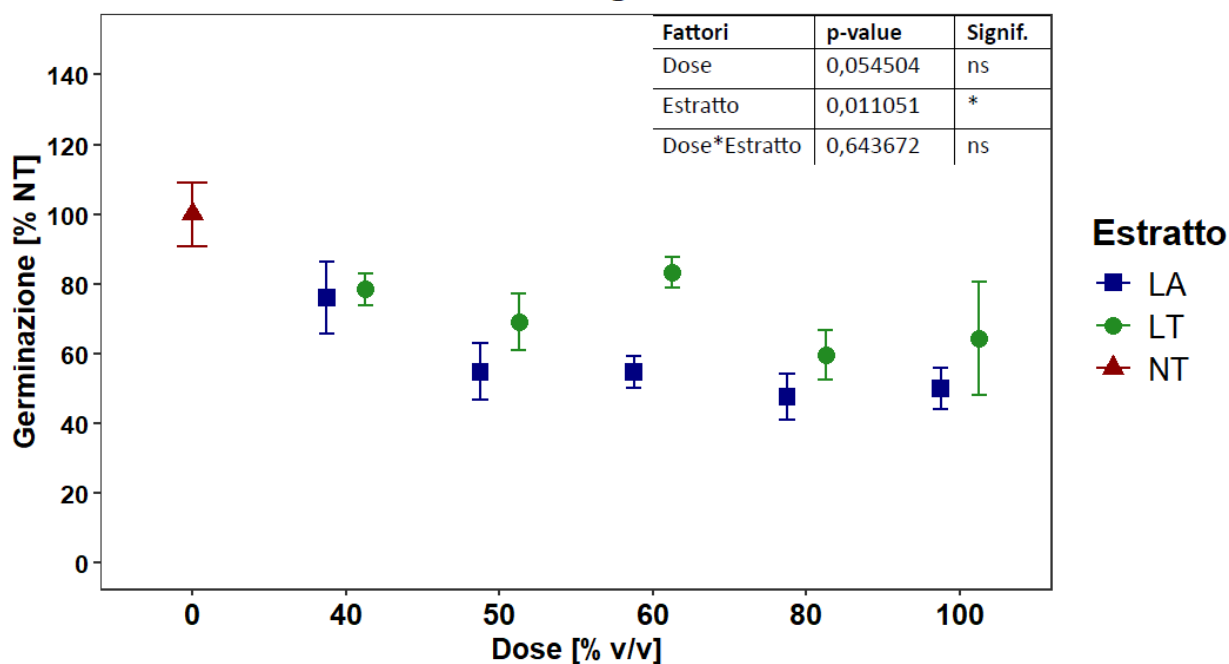


Figura 18 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla germinazione di *ECHCG*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

S. halepense

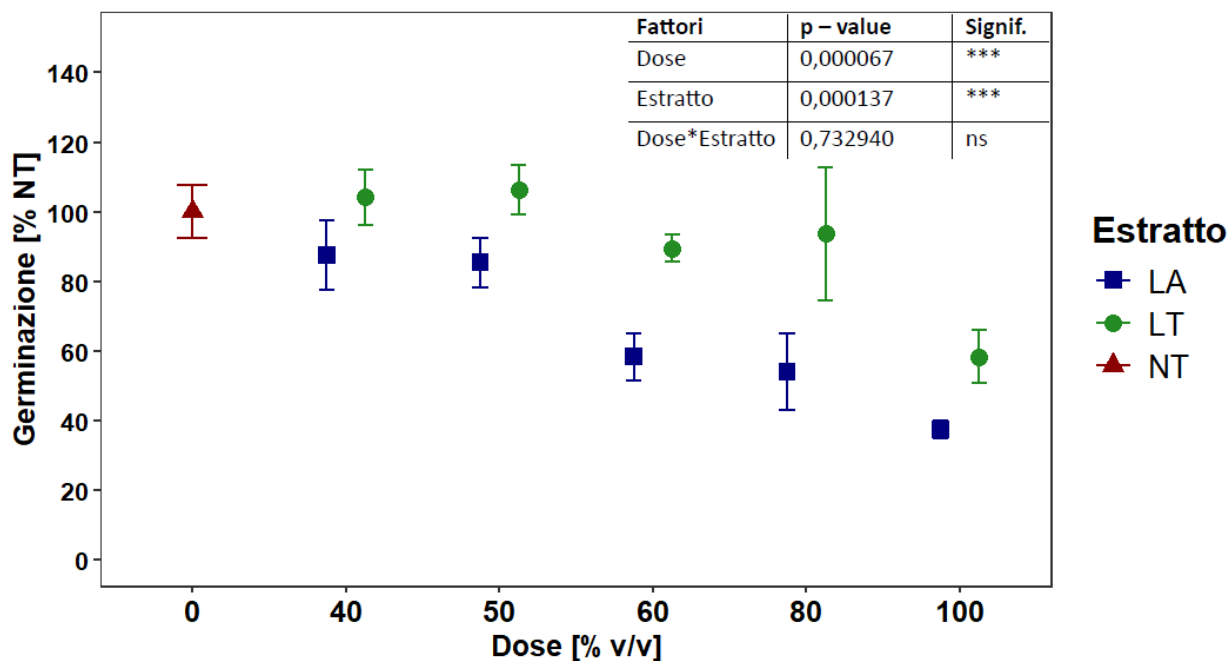


Figura 19 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla germinazione di *SORHA*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

EFFETTO SULLA LUNGHEZZA RADICALE (LT – LA)

In questa analisi è stato studiato l'effetto sulle lunghezze radicali delle infestanti, poiché è un parametro solitamente considerato per verificare l'allelopatia di una specie [54]. Si è potuto notare che per tutte le specie l'estratto LT risulta più efficace nella riduzione delle lunghezze radicali alle dosi minori rispetto a LA, ma all'aumentare della dose la differenza tra i due estratti diminuisce. Infatti, alla dose 100%, i due estratti hanno avuto effetti molto simili, ad esempio per la specie ABUTH la % di lunghezza radicale media sul controllo è risultata essere 27,0% per LT 100% e 30,4% per LA 100%; per la specie AMARE invece è risultata 17,6% per LT 100% e 16,2% per LA 100%; oppure ancora per il ECHCG è risultata essere 22,5% per LT 100% e 20,3% per LA 100%. Inoltre, l'effetto maggiore sulla lunghezza radicale è stato riscontrato per la specie SORHA con il valore di lunghezza radicale media di 11,3%, rispetto al controllo, per l'estratto LT 100%. La specie CHEAL è stata l'unica specie che ha presentato un allungamento delle lunghezze radicali alle dosi più basse dell'estratto LA. Per quanto riguarda l'analisi della varianza per tutte le specie sono risultati significativi entrambi i fattori e anche le interazioni. In questo caso la significatività dell'interazione indica che l'effetto dei livelli del fattore dose cambia a seconda del livello del fattore estratto. Infatti, per tutte le specie si evince un andamento decrescente dei dati, che dimostra una riduzione delle lunghezze radicali via via maggiore all'aumentare della dose, ed inoltre per tutte le specie la riduzione delle lunghezze radicali è stata maggiore con l'estratto LT. Nei confronti a posteriori realizzati con il test di Dunn sono state discusse soltanto le interazioni, le quali risultano essere l'esito di significatività più rilevante dell'analisi della varianza. I seguenti grafici in *Figura 20, 21, 22, 23, 24 e 25* rappresentano l'effetto combinato di dose ed estratto sulla lunghezza radicale delle specie infestanti.

A. theophrasti

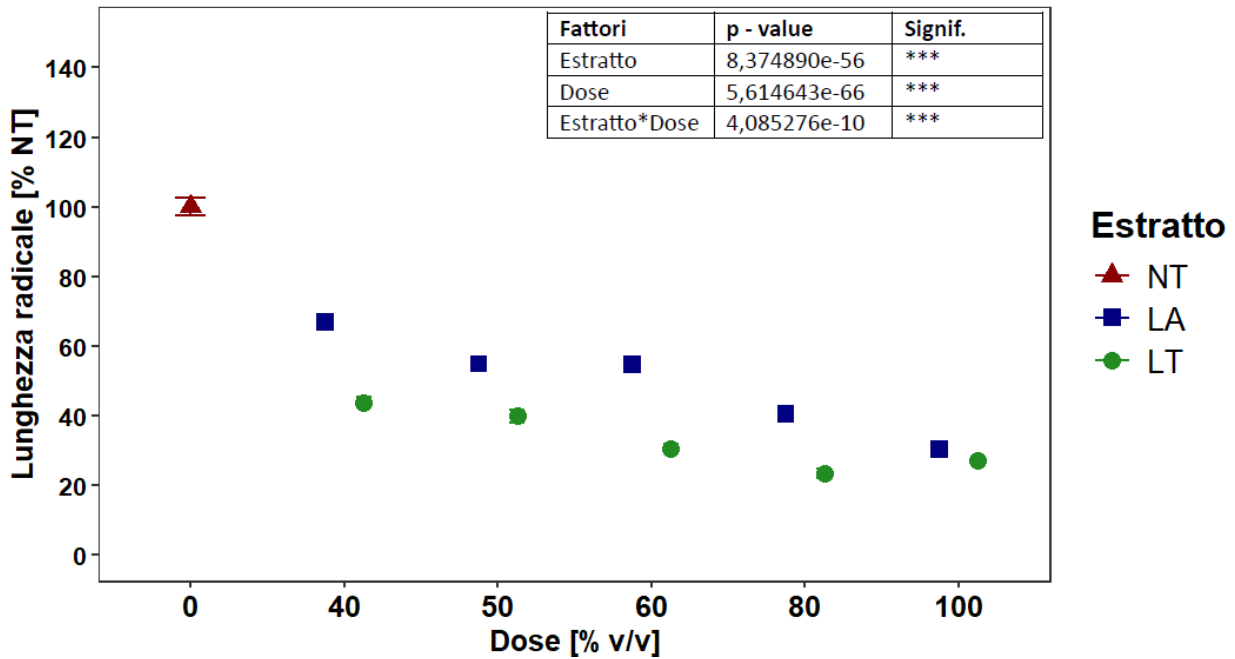


Figura 20 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e *terrestre* (LT) a dosi differenti sulla lunghezza radicale di *ABUTH*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

A. retroflexus

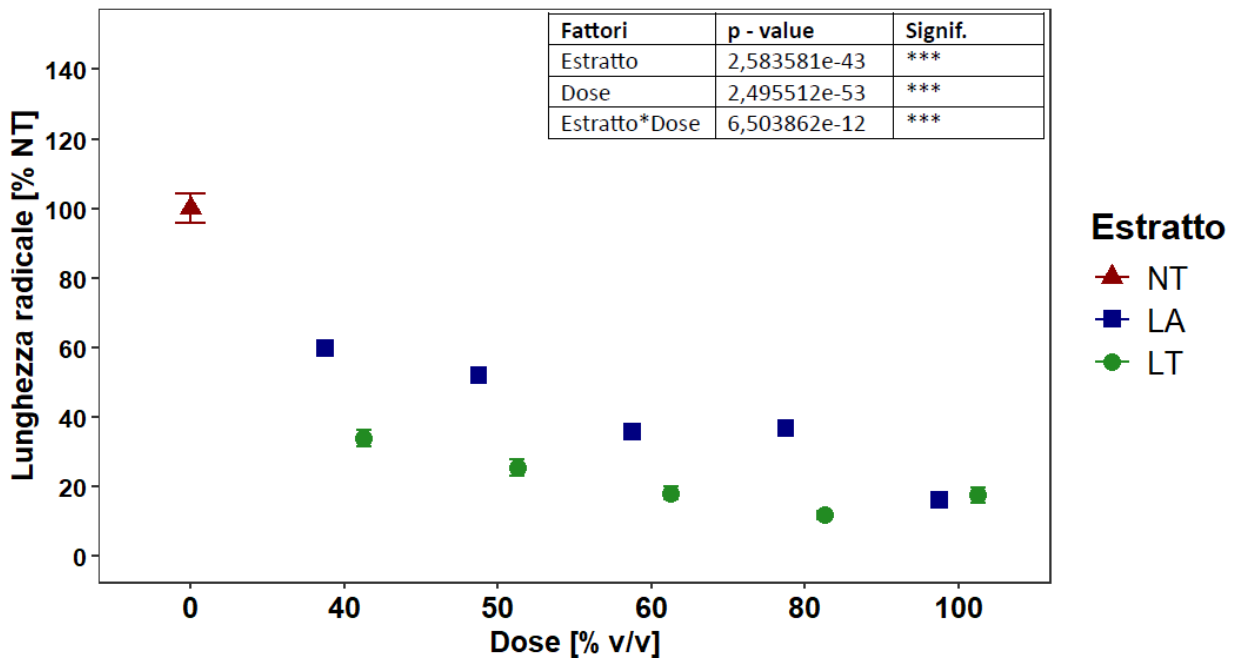


Figura 21 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e *terrestre* (LT) a dosi differenti sulla lunghezza radicale di *AMARE*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

C. album

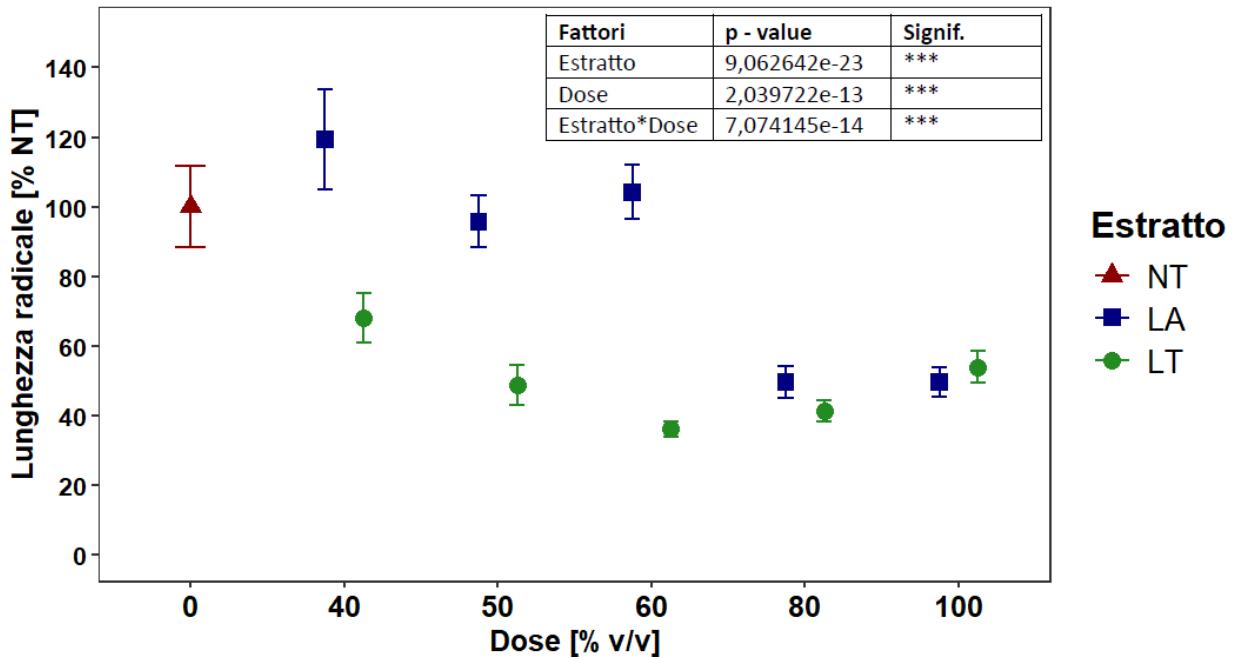


Figura 22 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla lunghezza radicale di CHEAL. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

D. sanguinalis

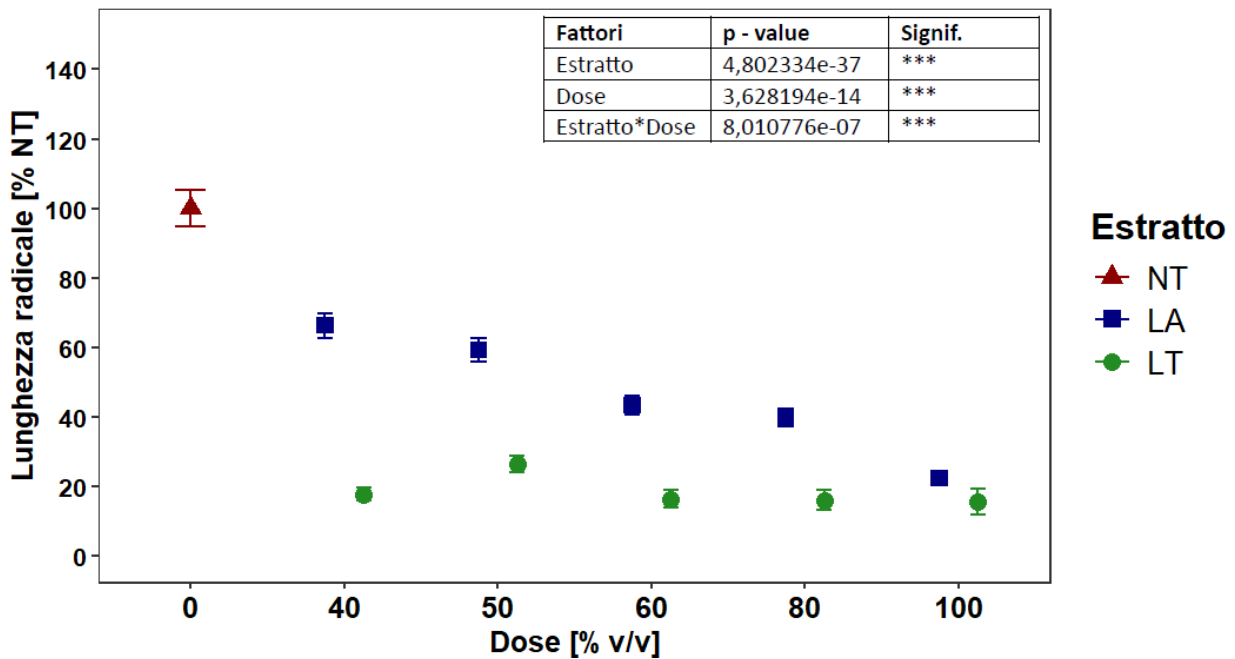


Figura 23 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla lunghezza radicale di DIGSA. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

E. crus-galli

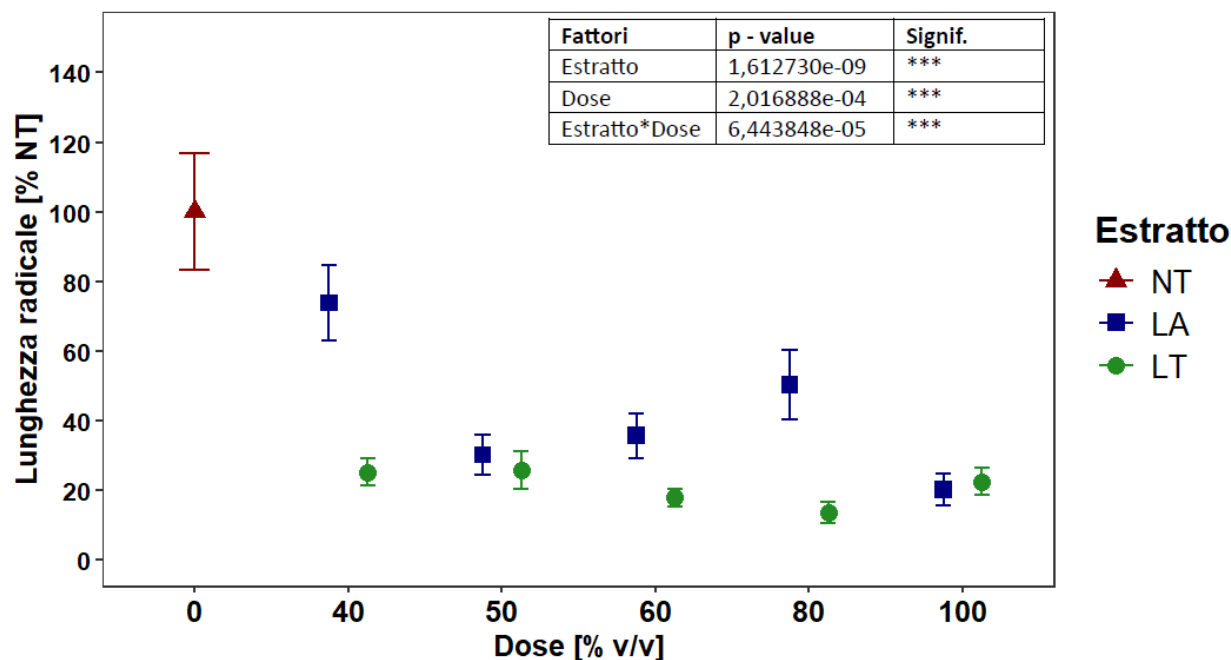


Figura 24 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla lunghezza radicale di *ECHCG*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

S. halepense

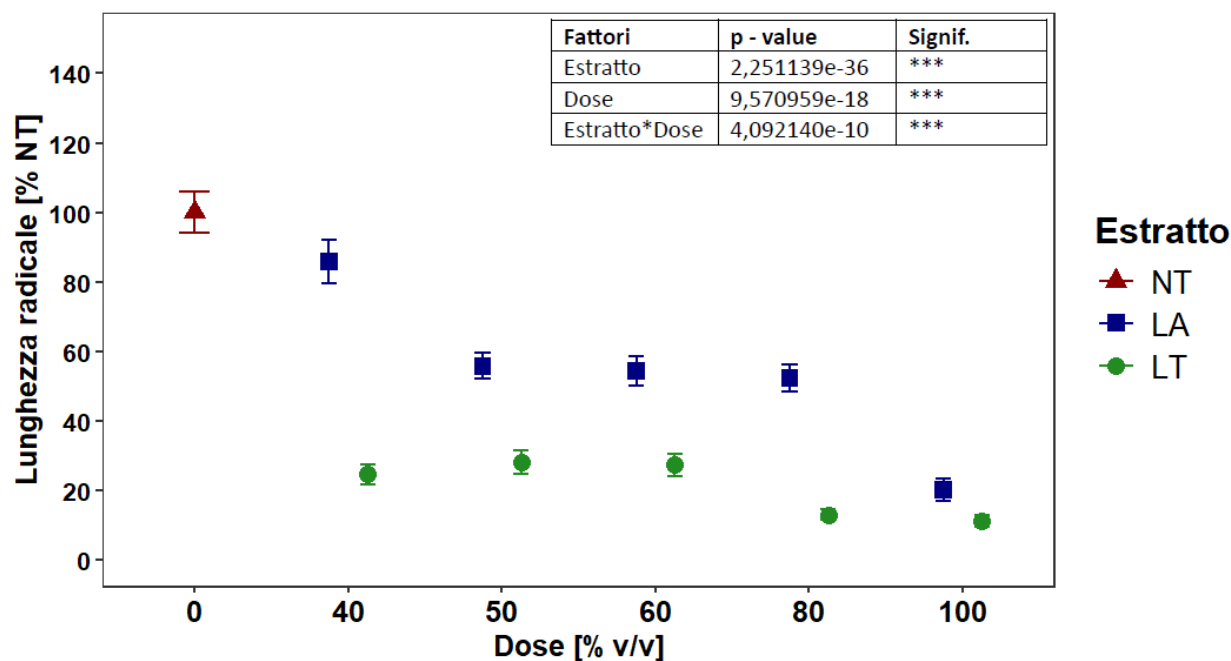


Figura 25 – Effetto degli estratti di *Ludwigia aquatica* (LA) e terrestre (LT) a dosi differenti sulla lunghezza radicale di *SORHA*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

EFFETTO SUL t50 (LT – LA)

Il ritardo della germinazione è stato studiato con il t50, ovvero il tempo necessario affinché avvenga il 50% della germinazione. Nei grafici in *Figura 26, 27, 28, 29, 30 e 31* sono riportati i valori del t50 in giorni, per ogni replica, alle dosi 0%, 40%, 50%, 60%, 80%, 100%, suddivisi per estratto, per ogni specie. Si può notare una grande variabilità tra le repliche per la medesima dose, questo comportamento disomogeneo è riconducibile al fatto che i semi delle infestanti non siano semi selezionati, bensì semi raccolti in campo, pertanto, caratterizzati dalla naturale variabilità che contraddistingue le infestanti. L'interazione tra il fattore dose e il fattore estratto è risultata significativa per le specie ABUTH, DIGSA, SORHA e CHEAL (*Tabella 7*). Questo significa che l'effetto del fattore estratto cambia a seconda del livello dell'altro fattore, ovvero della dose. Per questo motivo, con il test di Tukey per queste specie è stata analizzata solo l'interazione tra i fattori (*Tabella 8*). Nel caso di assenza di significatività del fattore interazione, si nota che il fattore estratto pur risultando significativo statisticamente sia per la specie AMARE che ECHCG, non ha prodotto una differenza sostanziale di effetto sul t50 tra LT e LA in termini agronomici. Infatti, i valori di t50 sono risultati molto simili per la specie AMARE che presenta un t50 pari a 3,4 giorni per LT e 3,0 per LA; invece, la specie ECHCG con l'estratto LT mostra un t50 di 3,8 giorni, e di 3,3 giorni con LA (*Tabella 8*). Anche l'effetto dose è risultato significativo per AMARE ed ECHCG, ma in questo caso si è evinto un aumento notevole del t50 per la specie AMARE passando da un t50 di 2,0 giorni nel controllo a un t50 di 4,0 giorni a dose 100. Invece per la specie ECHCG il fattore dose ha provocato la riduzione dei t50; pertanto, in questo caso si è verificata una stimolazione della germinazione rispetto al controllo, come in altri casi in letteratura [55].

A. theophrasti

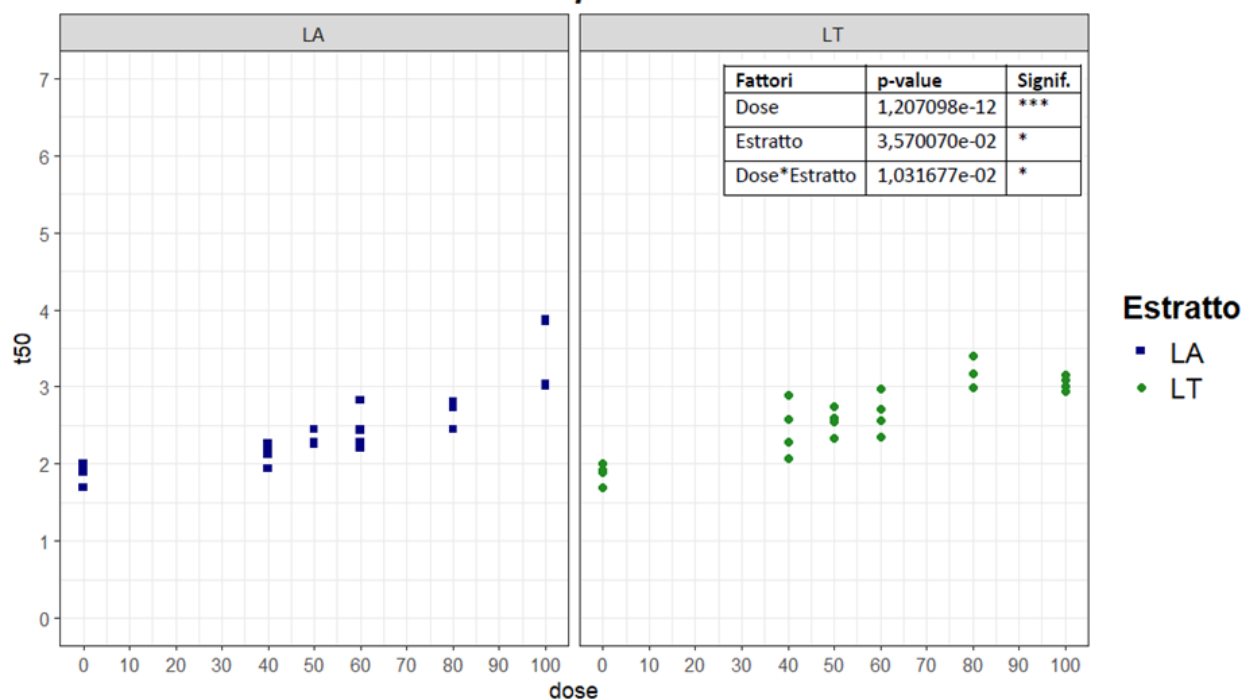


Figura 26 – Effetto sul t50 (LT – LA) di ABUTH in base alla dose e all'estratto

La specie ABUTH presenta un ritardo della germinazione, con un andamento quasi lineare, al crescere delle dosi per l'estratto LA. Tuttavia, una differenza significativa tra controllo e dosi di LA è stata rilevata solo a partire dalla dose 80% (Tabella 8). Mentre per l'estratto LT si nota una leggera diminuzione del t50 a dose 100% rispetto all'80%, ma in questo caso la differenza è significativa già alla dose 40% rispetto al controllo.

A. retroflexus

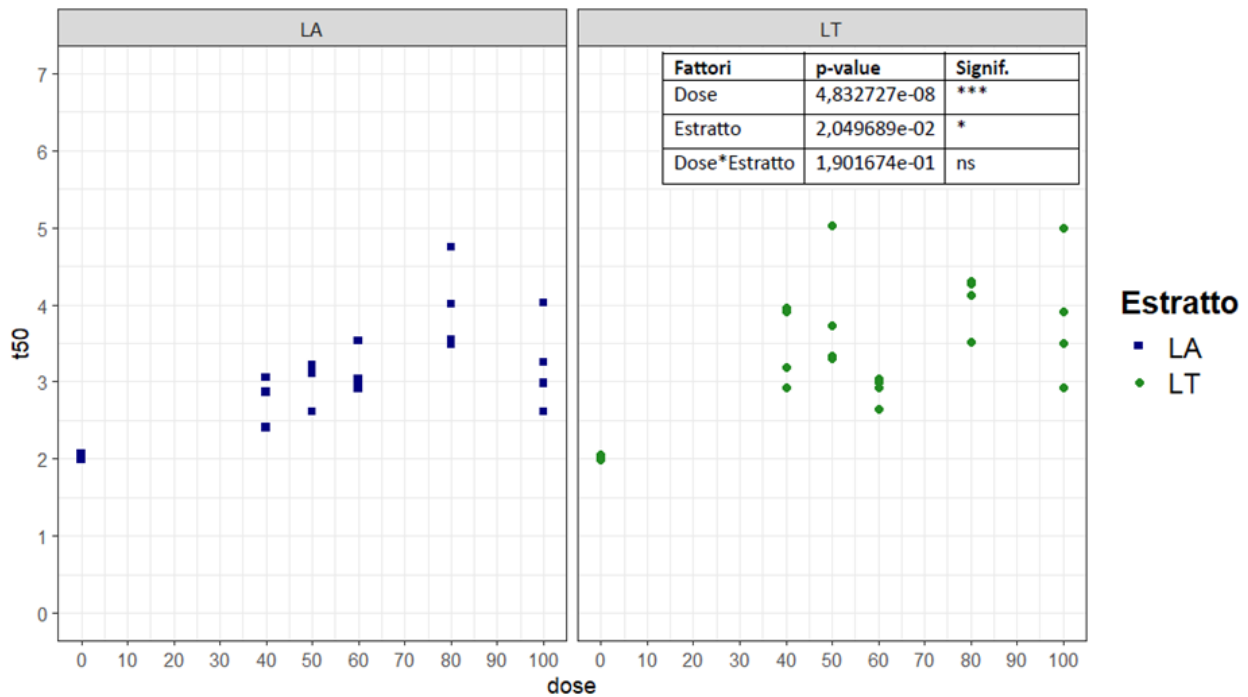


Figura 27 – Effetto sul t50 (LT – LA) di AMARE in base alla dose e all'estratto

Per la specie AMARE si ha un aumento quasi lineare del t50 fino alla dose 80% per l'estratto LA e una leggera decrescita a dose 100%. Invece per l'estratto LT c'è un andamento variabile, pur presentando dei valori del t50 superiori al controllo per tutte le dosi.

C. album

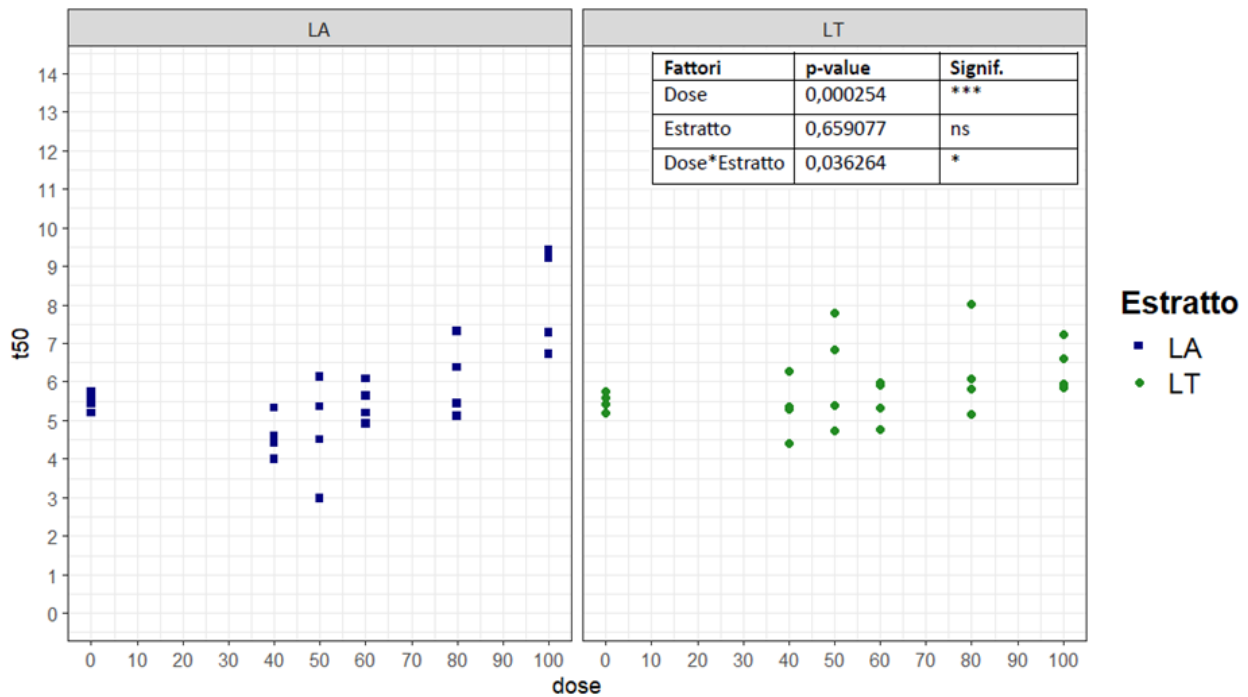


Figura 28 – Effetto sul t50 (LT – LA) di CHEAL in base alla dose e all'estratto

La specie CHEAL presenta un andamento lineare per LA se non viene considerato il controllo, infatti, ha la particolarità di presentare t50 inferiori al controllo alle dosi 40% e 50%. In particolare, l'estratto puro LA, presenta una differenza significativa del t50 rispetto alle dosi 40%, 50%, 60% e al controllo (*Tabella 8*). Per l'estratto LT non si nota un aumento significativo del t50 a dosi differenti.

D. sanguinalis

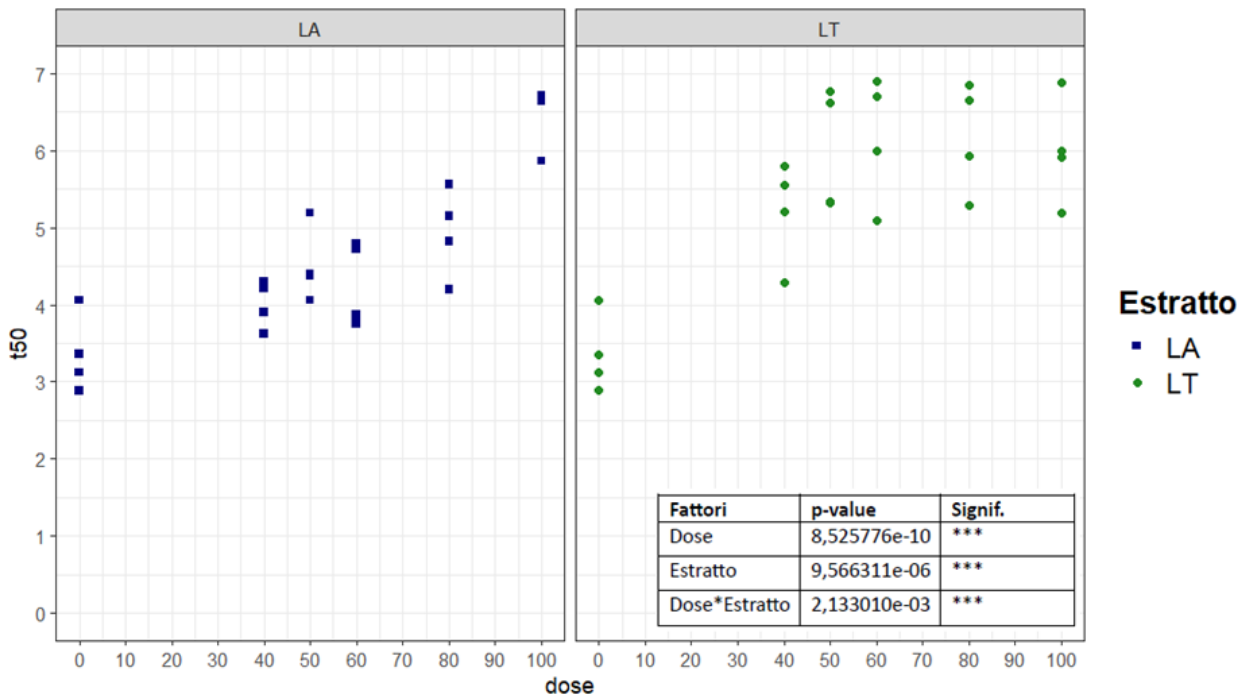


Figura 29 – Effetto sul t50 (LT – LA) di DIGSA in base alla dose e all'estratto

Per la specie DIGSA si ha un elevato ritardo delle emergenze già a dose 40, per l'estratto LT, infatti, la differenza risulta significativa già tra la dose 40% di LT ed il controllo (Tabella 8). Invece per l'estratto LA, la differenza con il controllo risulta significativa solo dalla dose 80% in poi.

E. crus-galli

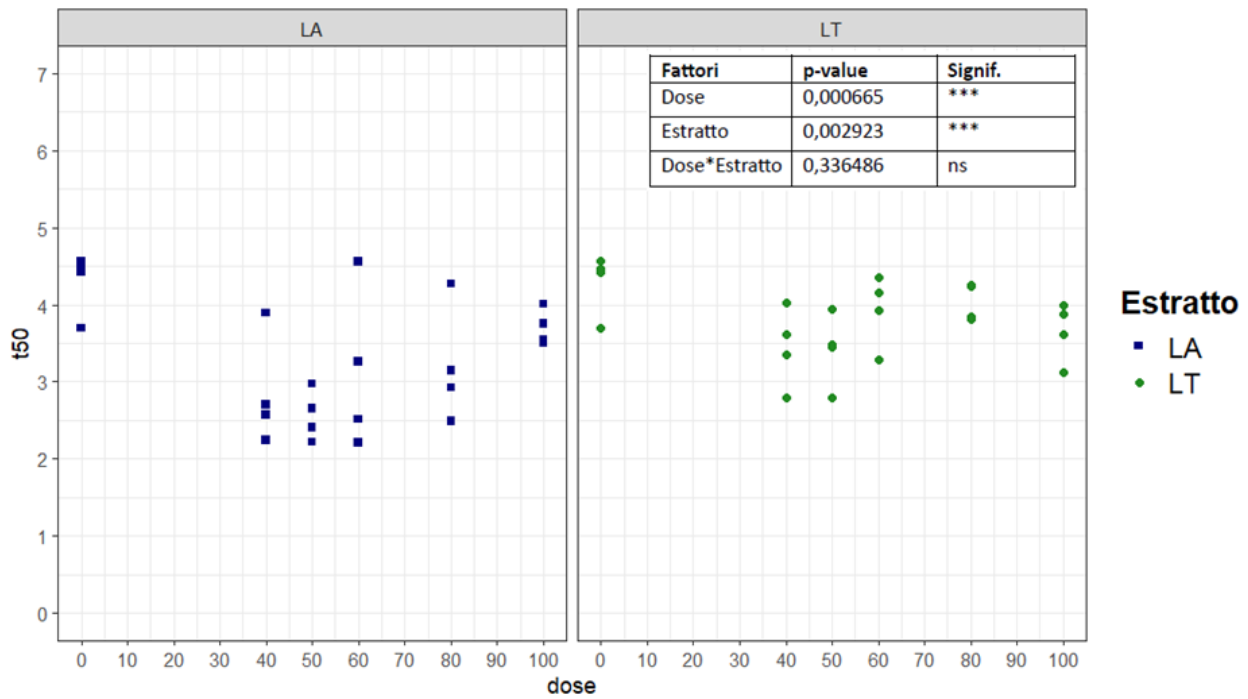


Figura 30 – Effetto sul t50 (LT – LA) di ECHCG in base alla dose e all'estratto

Per quanto riguarda ECHCG non c'è stato alcun ritardo di germinazione, bensì una stimolazione della germinazione per entrambi gli estratti a tutte le dosi

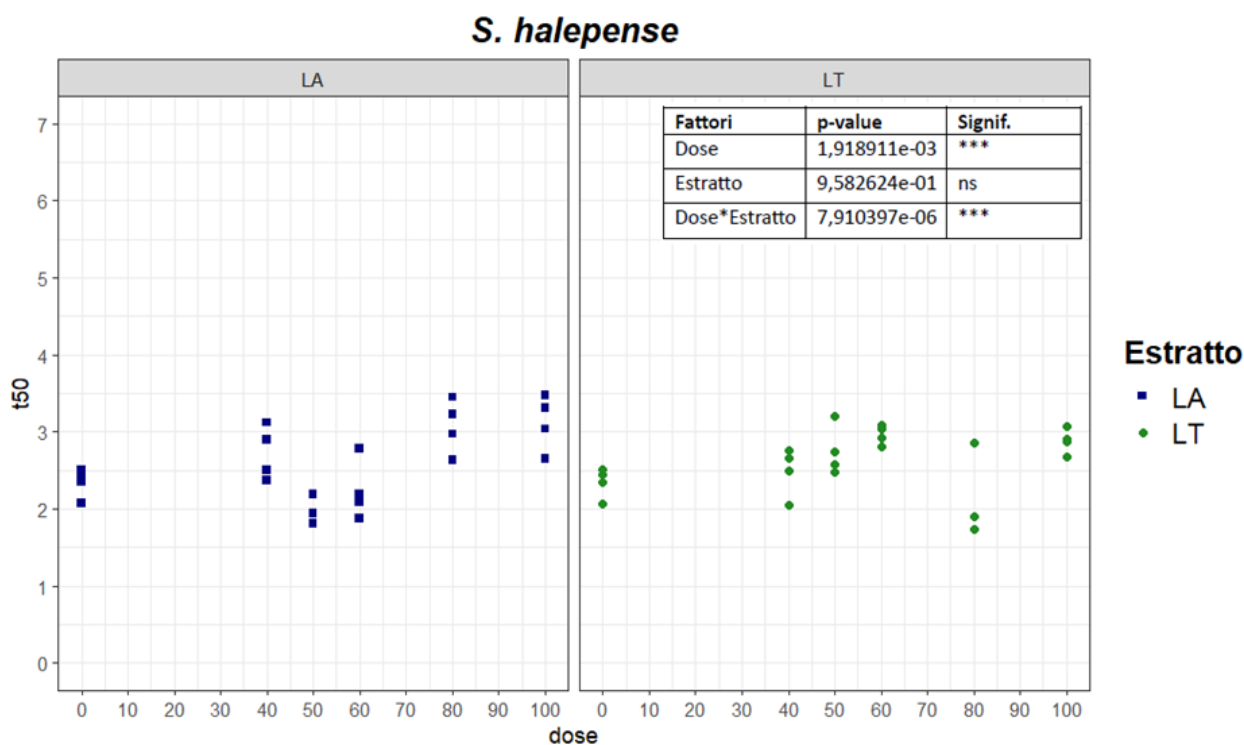


Figura 31 – Effetto sul t50 (LT – LA) di SORHA in base alla dose e all'estratto

Infine, per la specie SORHA si nota per alcune dosi un lieve ritardo della germinazione e per altre un leggera stimolazione. Tuttavia, a parte la dose 100% di LA, tutte le altre combinazioni di dose ed estratto non risultano significativamente diverse dal controllo (Tabella 8).

ESTRATTI ACQUOSI DI *DATURA STRAMONIUM*

EFFETTO SULLA GERMINAZIONE (DR – DS – DF)

Gli effetti allelopatici degli estratti acquosi di *Datura stramonium* foglie, steli e radici sono stati studiati attraverso lo studio della germinazione delle infestanti. In particolare, l'analisi della varianza a una via ha riscontrato significatività per il fattore estratto per tutte le specie, ovvero è stata riscontrata una differenza significativa tra gli effetti degli estratti. Pertanto, sono stati eseguiti i confronti a posteriori e nei grafici in Figura 32, 33, 34, 35, 36 e 37 sono state riportate le lettere dei gruppi ottenuti da quest'ultimi confronti. Per le specie ABUTH, AMARE e DIGSA l'estratto DR non ha avuto alcun effetto di riduzione della germinazione, invece gli estratti DS e DF hanno abbassato drasticamente la % di germinazione media rispetto al non trattato (Tabella 9). Per la precisione, l'estratto DR per la specie ABUTH ha

causato una stimolazione della germinazione. Invece per quanto riguarda CHEAL, ECHCG e SORHA è risultato più efficace l'estratto DF con una percentuale di germinazione da 0,0% a circa 2,0%; a seguire DS con una percentuale di germinazione da 12,5% a 26,5% e per ultimo l'estratto DR con una percentuale di germinazione da 37,5% a circa 55,0% (Tabella 9). Nel complesso l'estratto DF è stato il più efficace come dalla letteratura [48], infatti, ha causato una percentuale di germinazione media rispetto al controllo dello 0,0% per le specie AMARE, DIGSA, ECHCG e CHEAL.

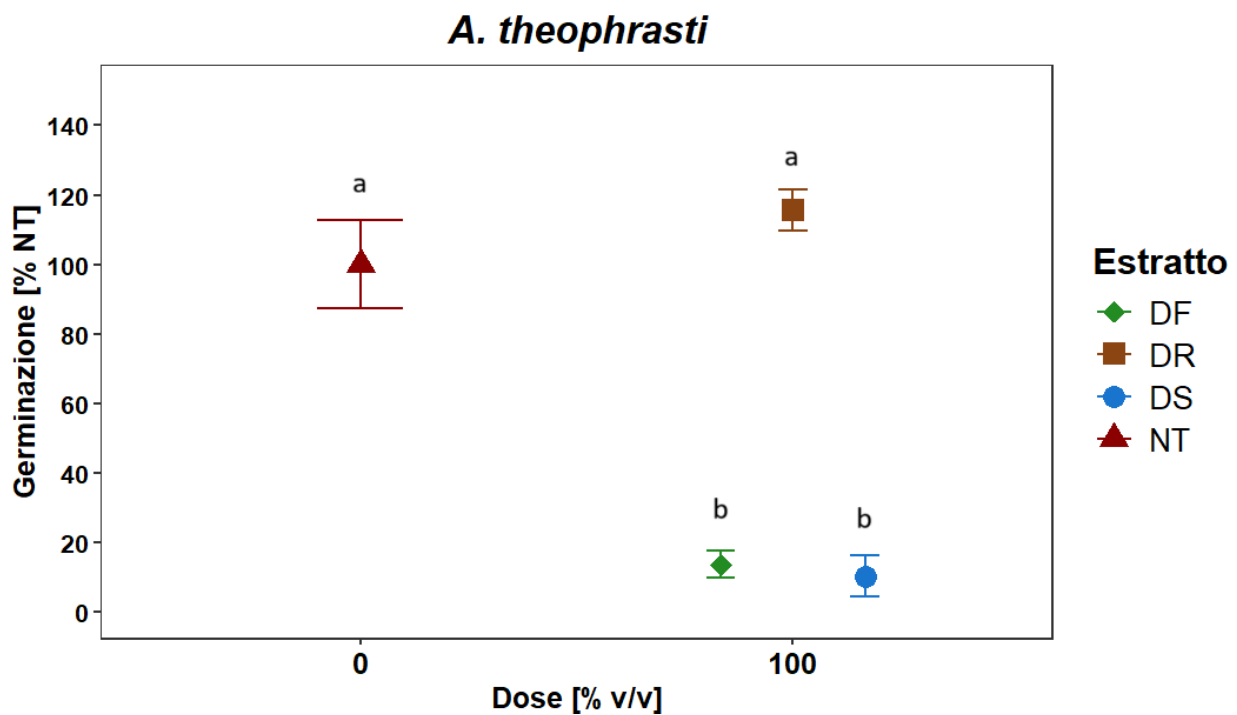


Figura 32 – Effetto degli estratti di *Datura* (DR – DS – DF) sulla germinazione di *ABUTH*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

A. retroflexus

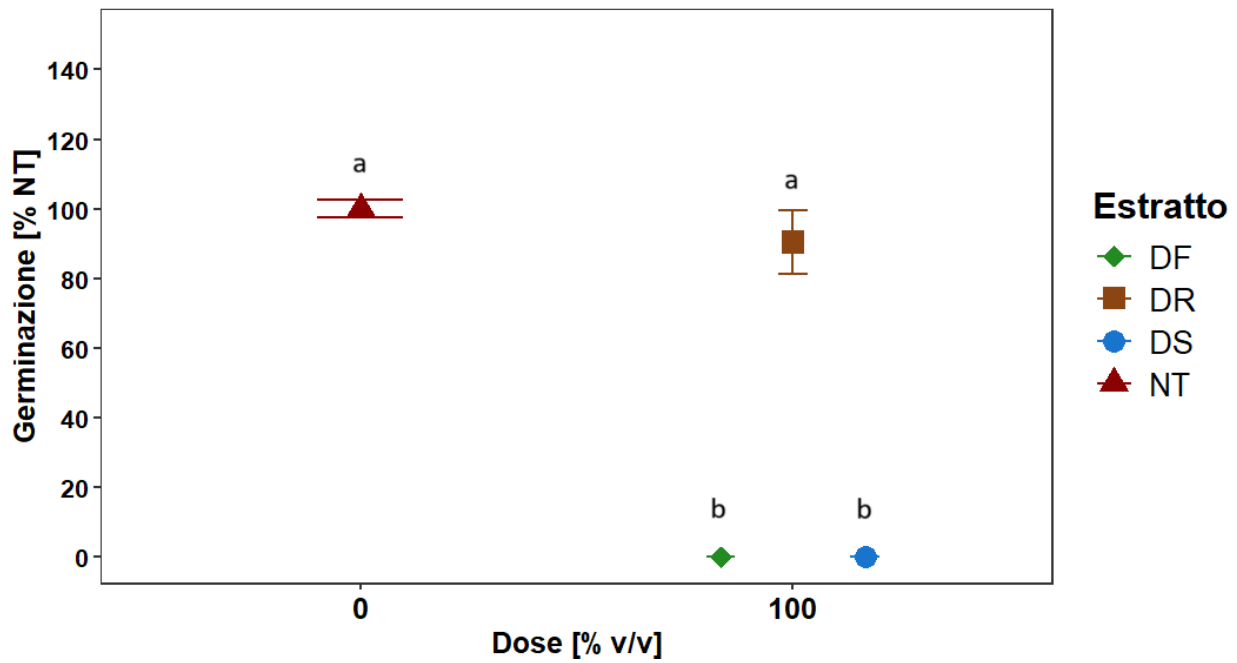


Figura 33 – Effetto degli estratti di *Datura* (DR – DS – DF) sulla germinazione di *AMARE*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

C. album

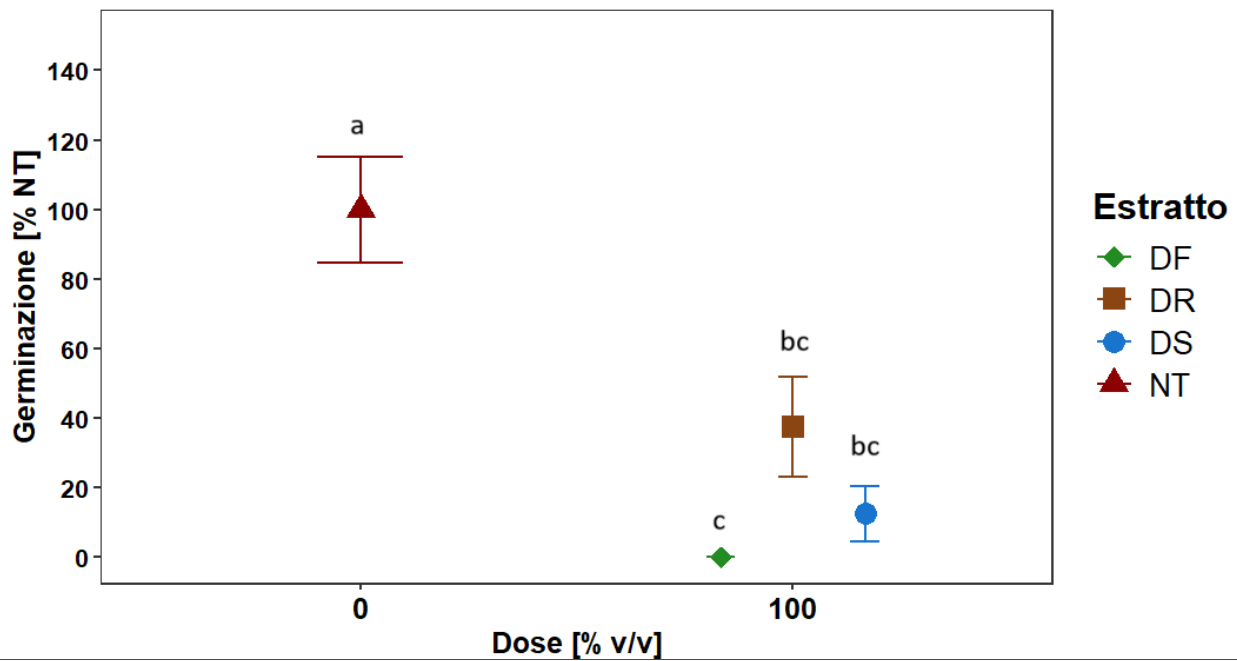


Figura 34 – Effetto degli estratti di *Datura* (DR – DS – DF) sulla germinazione di *CHEAL*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

D. sanguinalis

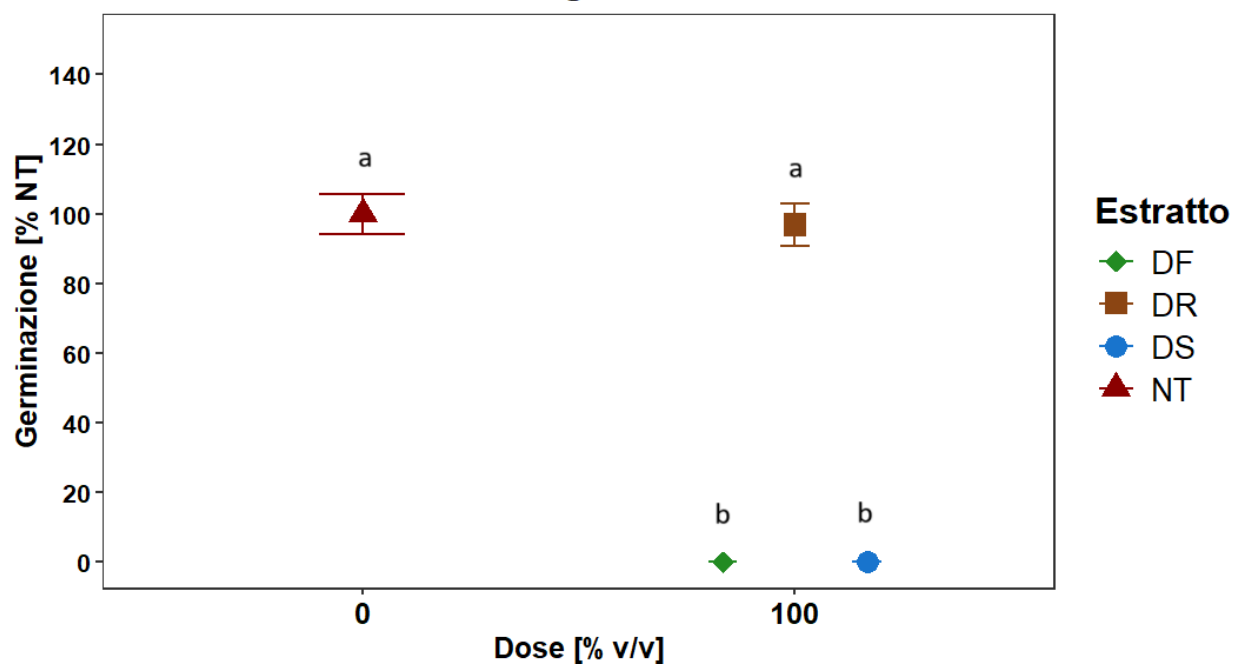


Figura 35 – Effetto degli estratti di *Datura* (DR – DS – DF) sulla germinazione di DIGSA. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

E. crus-galli

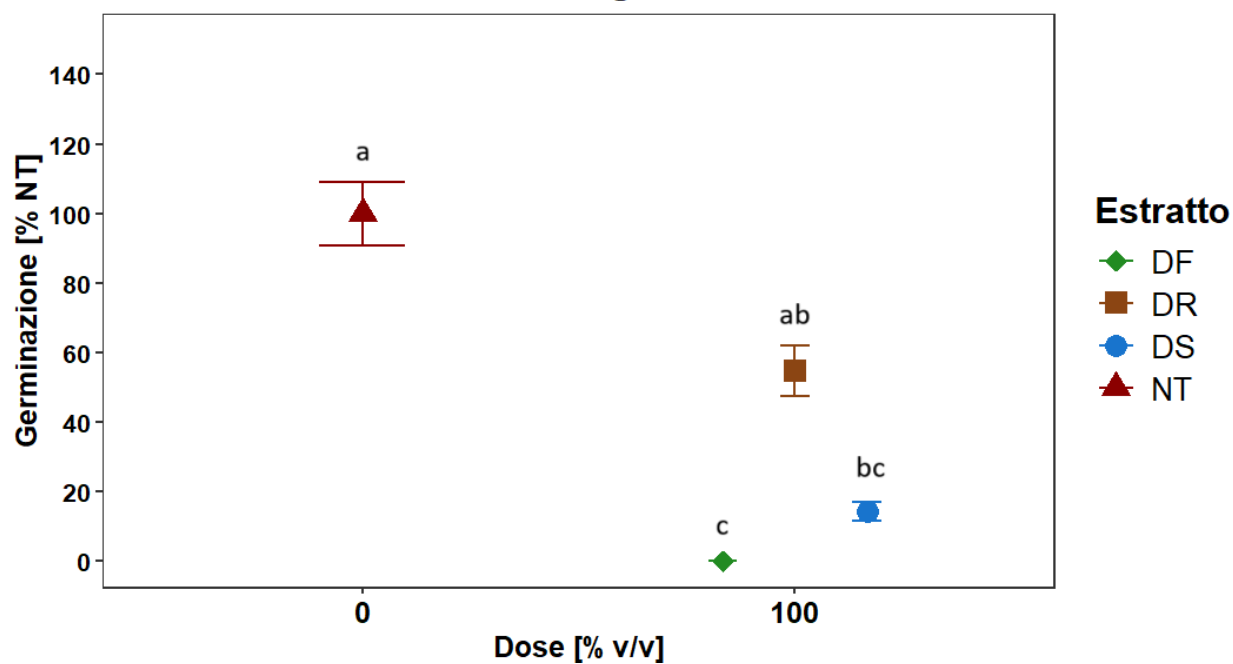


Figura 36 – Effetto degli estratti di *Datura* (DR – DS – DF) sulla germinazione di ECHCG. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

S. halepense

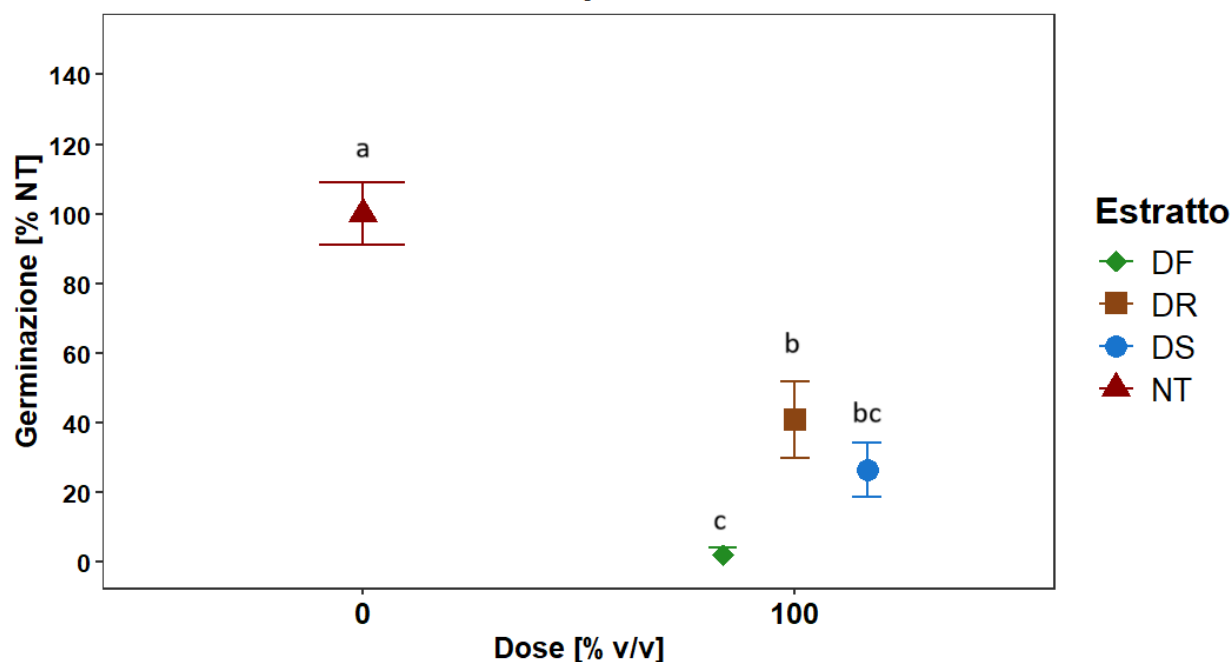


Figura 37 – Effetto degli estratti di *Datura* (DR – DS – DF) sulla germinazione di *SORHA*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

EFFETTO SULLA GERMINAZIONE (DF)

Nelle prove precedenti l'estratto di *Datura stramonium* foglie è risultato essere il più efficace nel ridurre la germinazione, per questa ragione è stato testato a diverse concentrazioni sulle infestanti. Dall'analisi della varianza il fattore dose è risultato significativo per tutte le specie. I grafici in *Figura 38, 39, 40, 41, 42 e 43* riassumono i risultati delle analisi svolte per ogni specie, infatti, rappresentano la % di germinazione media in base alla dose di DF, con l'indicazione dei gruppi individuati dai confronti a posteriori tra le medie. Il risultato migliore è stato ottenuto con la specie DIGSA, per la quale la % di germinazione media rispetto al controllo è scesa drasticamente già alla dose del 40% arrivando ad 1,6% ed in particolare per le dosi 60%, 80% e 100% la % di germinazione è stata pari allo 0,0%. Anche per AMARE, già al 40% è stata ottenuta una buona riduzione, del 76,7%, della percentuale di germinazione media rispetto al controllo e anche per questa specie alle dosi 60%, 80%, 100% la germinazione è stata pari allo 0,0%. In letteratura si trovano risultati analoghi, sull'efficacia degli estratti acquosi di foglie del genere *Datura* anche alle basse concentrazioni [56]. Per le specie ABUTH, ECHCG e SORHA la riduzione della germinazione è stata elevata già a partire dalla dose 50%. In particolare, la % di germinazione è risultata per ABUTH del 22,4%, per ECHCG del 9,5% e per SORHA del

12,2%. Infine, per la specie CHEAL si è registrata una riduzione elevata della germinazione solo a partire dalla dose 80%.

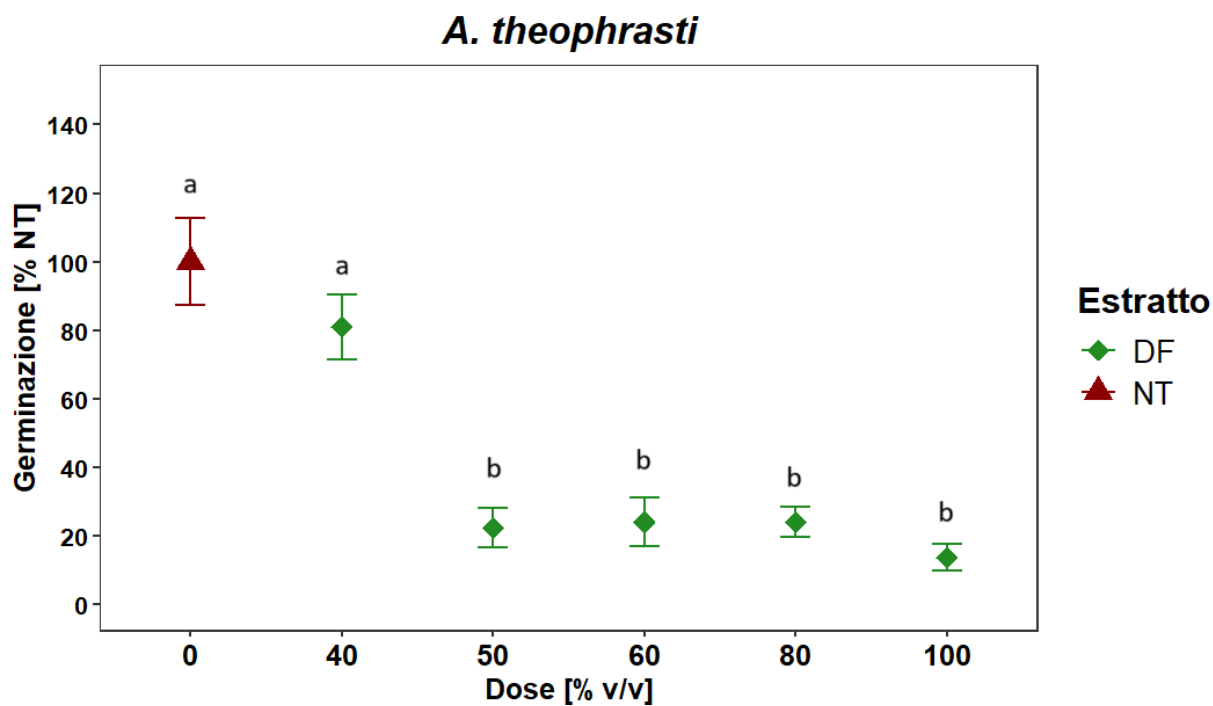


Figura 38 – Effetto degli estratti di *Datura foglie* (DF) a dosi diverse sulla germinazione di *ABUTH*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

A. retroflexus

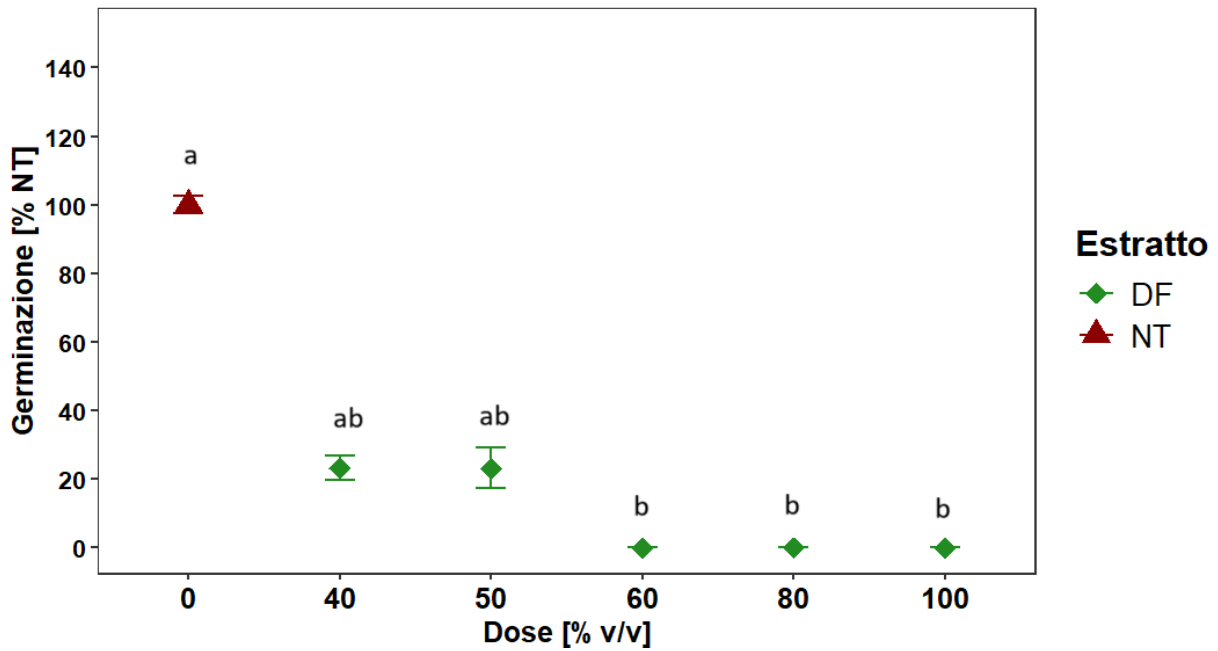


Figura 39 – Effetto degli estratti di *Datura foglie* (DF) a dosi diverse sulla germinazione di AMARE. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

C. album

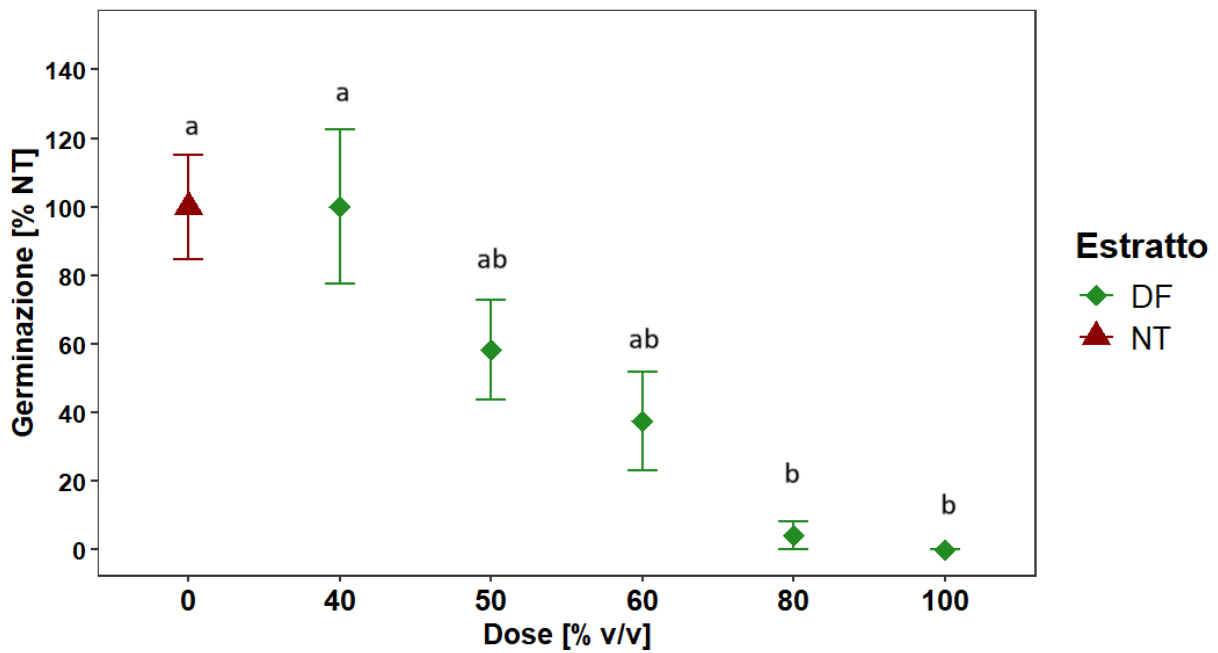


Figura 40 – Effetto degli estratti di *Datura foglie* (DF) a dosi diverse sulla germinazione di CHEAL. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

D. sanguinalis

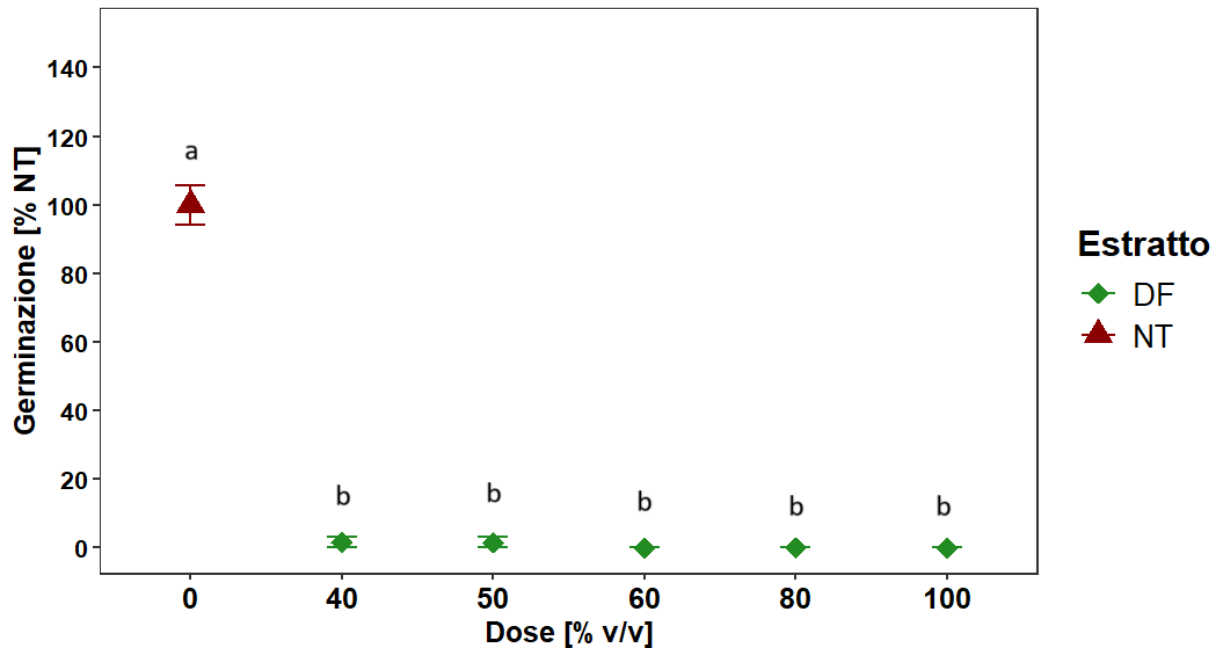


Figura 41 – Effetto degli estratti di *Datura foglie* (DF) a dosi diverse sulla germinazione di DIGSA. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

E. crus-galli

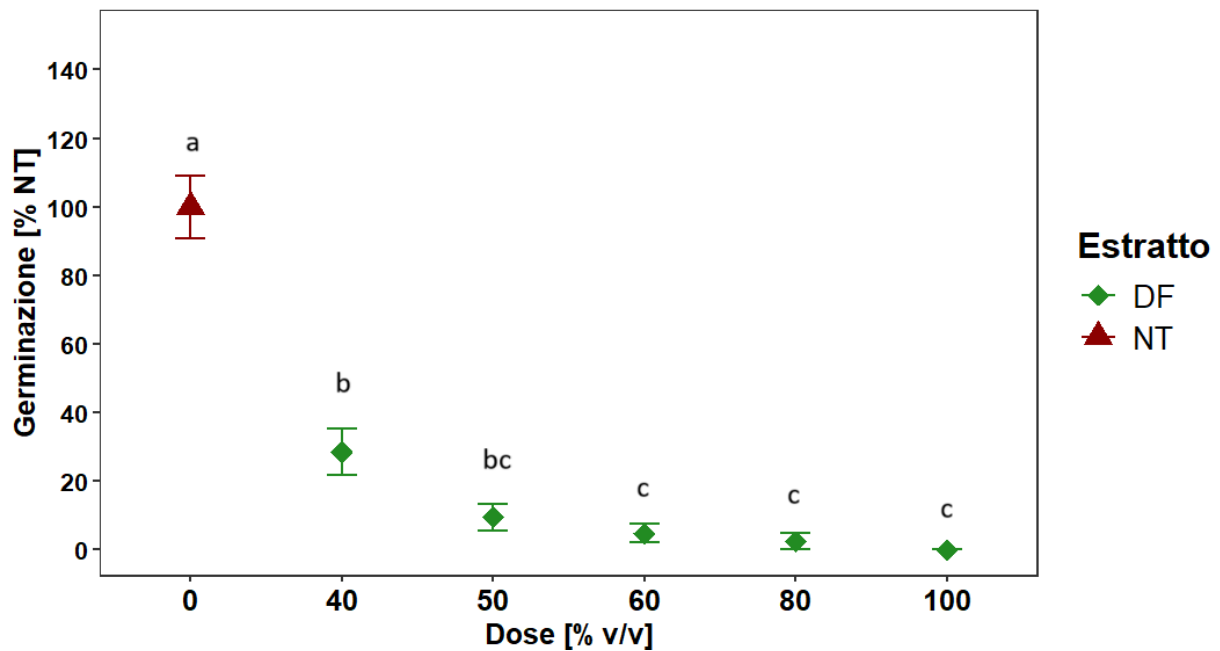


Figura 42 – Effetto degli estratti di *Datura foglie* (DF) a dosi diverse sulla germinazione di ECHCG. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

S. halepense

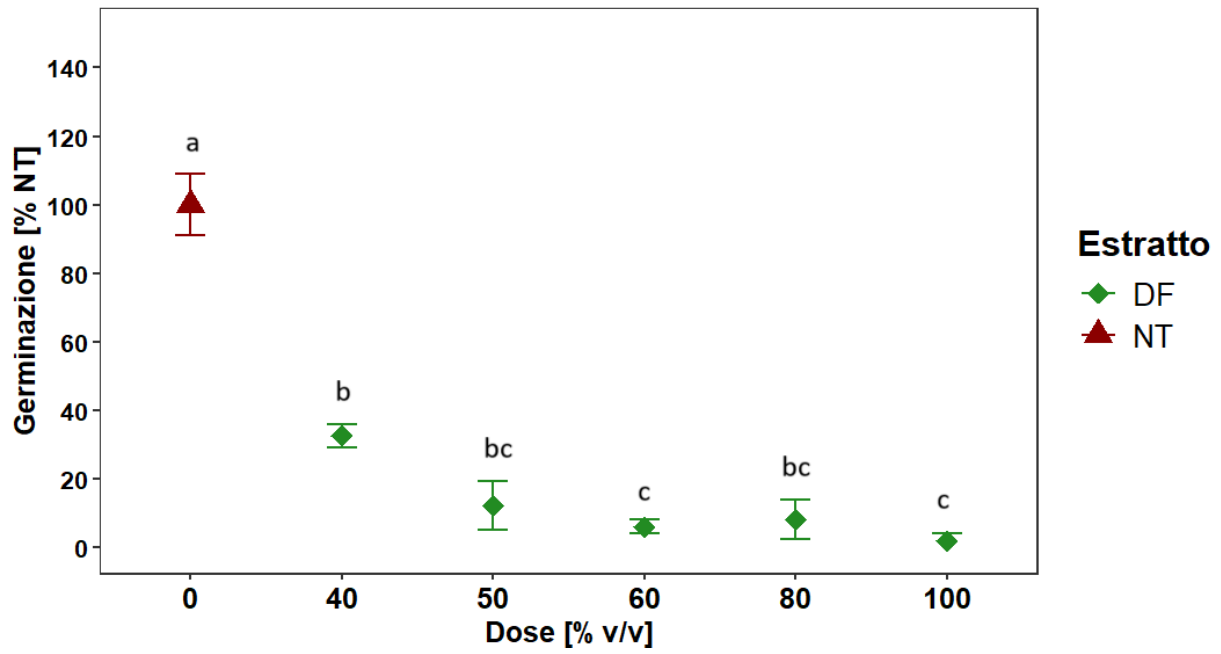


Figura 43 – Effetto degli estratti di *Datura foglie* (DF) a dosi diverse sulla germinazione di *SORHA*. I valori sono le medie espresse in % sul non trattato (NT) e le barre rappresentano l'errore standard.

BIOGAS

Il biogas è una miscela di gas prevalentemente costituita da metano (CH₄) e anidride carbonica (CO₂), prodotta tramite fermentazione anaerobica microbica di materia organica, di origine animale o vegetale. Il biogas rappresenta una fonte di energia rinnovabile in quanto consente di produrre elettricità, calore o carburanti per i trasporti a partire da materie prime rinnovabili [57]. In particolare, il biogas risulta particolarmente sostenibile quando offre la possibilità di valorizzare residui agro-zootecnici di scarto contribuendo così al principio di circolarità della riduzione dei rifiuti prodotti dalla filiera. Quando si realizza l'impiego di biomassa vegetale coltivata appositamente per essere destinata alla produzione di biogas, viene messa in discussione la sostenibilità e l'efficienza energetica del processo. Infatti, l'attività agricola prevede elevati consumi in termini di risorse ed energia, anche non rinnovabile, dando luogo ad emissioni, inquinamento e competizione con l'alimentazione umana [58]. Per questa ragione, è stata presa in considerazione la biomassa vegetale della specie *Ludwigia grandiflora* come possibile substrato per la produzione di biogas. Infatti, come detto in precedenza è una specie invasiva originaria dell'America centrale e meridionale che infesta i canali ed in generale i corsi d'acqua dolce a lento scorrimento. Pertanto, la biomassa della specie oltre ad essere presente in elevate quantità nel territorio a causa della sua invasività, ha anche origine spontanea, ovvero non viene adoperato alcun tipo di input per il suo sviluppo. Inoltre, sono già previste operazioni periodiche di eradicazione della specie dai canali in quanto la *Ludwigia grandiflora* è una minaccia per gli ecosistemi acquatici; dunque, in seguito a queste operazioni di manutenzione dei canali la sua biomassa sarebbe facilmente reperibile. In particolare, l'attenzione di questa indagine si è focalizzata maggiormente sulla forma acquatica della specie, poiché risulta essere la forma più presente in natura. Mentre la forma terrestre è limitata al primo metro dal livello dell'acqua alle sponde, lo sviluppo sopra agli argini sembrerebbe essere frutto dell'attività antropica, poiché durante le operazioni di eradicazione della forma acquatica, la vegetazione asportata e posta sulle rive riesce a radicarsi ove viene appoggiata grazie all'elevata plasticità fenotipica della specie.

MATERIALI E METODI

L'indagine preliminare sulla produzione di biogas tramite l'impiego della specie *Ludwigia grandiflora* ha previsto la realizzazione di diverse prove. Infatti, sono state realizzate quattro prove con differenti substrati realizzati con la specie con l'obiettivo di determinare il loro potenziale di metano biochimico (BMP), ovvero la quantità massima di metano che può essere prodotta attraverso la degradazione anaerobica di un substrato. La fase sperimentale ha previsto l'introduzione in bottigliette di vetro, entro cui far avvenire la digestione anaerobica, di uno dei substrati, di acqua distillata e dell'inoculo, ovvero un consorzio di microrganismi, nello specifico è stato impiegato l'inoculo granular sludge proveniente dalle acque reflue di produzione di un birrificio. Nella fattispecie, i quattro substrati consistono in *Ludwigia grandiflora* acquatica tal quale tritata grossolanamente con aggiunta di un 50% in peso di acqua distillata per facilitare l'operazione (LA tal quale); *Ludwigia grandiflora* acquatica essiccata e macinata (LA essiccata); residui essiccati di *Ludwigia grandiflora* acquatica derivanti dal processo di estrazione per la produzione degli estratti vegetali acquosi (LA residui essiccati); ed infine residui essiccati di *Ludwigia grandiflora* terrestre ottenuti dal processo di estrazione per la produzione degli estratti vegetali acquosi (LT residui essiccati). Nel caso degli ultimi due substrati le piante erano state precedentemente essiccate e macinate e poi sottoposte al processo di estrazione in acqua e successivamente i residui sono stati essiccati nuovamente. In tutti i casi sono state impiegate le piante nella loro interezza, ovvero includendo foglie, steli e radici. Inoltre, sono state realizzate due prove aggiuntive, il bianco ed il positivo. Il bianco o controllo negativo serve ad assicurare che la produzione di biogas non sia riconducibile a qualcosa di differente dal substrato vegetale, infatti, il bianco viene privato del substrato vegetale e pertanto non deve esserci produzione di biogas. Invece il positivo viene preparato sostituendo il substrato vegetale con dell'amido, e serve per assicurarsi che l'inoculo riesca ad effettuare la degradazione anaerobica, infatti, l'amido in quanto carboidrato dovrebbe venire degradato facilmente dai microrganismi e pertanto dovrebbe verificarsi sicuramente una produzione di biogas. Per ogni prova sono state realizzate quattro repliche per un totale di 24 bottigliette secondo il seguente schema sperimentale:

- 01-04 → Bianco: acqua distillata e inoculo granular sludge
- 05-08 → Positivo: amido, acqua distillata e inoculo granular sludge
- 09-12 → LA tal quale, acqua distillata e inoculo granular sludge
- 13-16 → LA essiccata, acqua distillata e inoculo granular sludge

- 17-20 → LA residui essiccati, acqua distillata e inoculo granular sludge
- 21-24 → LT residui essiccati, acqua distillata e inoculo granular sludge



Figura 44 – Bottigliette di tutte le prove e rispettive repliche in incubatore

Tutte le prove sono state realizzate inducendo una anaerobiosi spinta, ovvero dopo aver introdotto il necessario all'interno di ogni bottiglietta e averla richiusa con crimp cap, è stato effettuato il flussaggio con azoto gassoso (N_2) al fine di rimuovere tutto l'ossigeno (O_2) al loro interno. In seguito, le bottigliette sono state poste in incubatore a $42\text{ }^\circ\text{C}$ e dopo le prime 24 h è stata realizzata la prima misurazione del volume di gas prodotto (mL) e tramite micro gascromatografo la prima analisi sulla miscela dei gas prodotti. In particolare, i gas analizzati sono: metano (CH_4), anidride carbonica (CO_2), azoto (N_2), ossigeno (O_2) e idrogeno (H_2), per i quali vengono realizzati i cromatogrammi. Per quanto riguarda le prove contenenti substrato vegetale, affinché il substrato sia promettente per la produzione di biogas, ci si aspetta di rilevare percentuali elevate e simili per quanto riguarda metano e anidride carbonica. Inoltre, per una corretta riuscita delle prove si attende una percentuale di azoto conforme all'operazione di flussaggio e delle percentuali di ossigeno e idrogeno molto basse, in particolare una percentuale di ossigeno molto bassa permette di verificare la condizione di anaerobiosi. La misurazione del volume della miscela di gas e l'analisi delle percentuali di gas prodotti sono effettuate ogni giorno per tutta la prima settimana di sperimentazione e poi a seguire ogni due giorni per un mese o fin tanto che non termina la produzione di biogas.

RISULTATI

La sperimentazione è tuttora in corso, ma è stato possibile a quasi due settimane di distanza dall'inizio delle prove identificare una differenza tra i quattro substrati vegetali impiegati. Infatti, attualmente il substrato di *Ludwigia grandiflora* acquatica essiccata e macinata (LA essiccata) risulta essere il più promettente in termini di quantità di metano prodotto. Questo risultato era prevedibile in quanto il substrato LA tal quale presentava un contenuto maggiore in acqua a parità di peso e pertanto meno sostanza secca disponibile per la digestione anaerobica. Invece, per quanto riguarda i substrati LA e LT residui essiccati, avendo precedentemente subito un processo di estrazione sono stati depauperati di diverse sostanze che quindi sono state sottratte ai microrganismi per la degradazione anaerobica, risultando in una minore produzione di metano. Quindi la *Ludwigia grandiflora* acquatica dopo essiccazione e macinazione potenzialmente potrebbe essere impiegata in due ambiti, ovvero la produzione di biogas e la realizzazione di estratti vegetali acquosi. Tuttavia, sarebbe interessante quantificare la differenza in termini di produzione di biogas tra LA essiccata ed i residui essiccati LA ed LT. Infatti, se non fosse troppo elevata la differenza in termini di biogas prodotto potrebbe essere accettabile la perdita al fine di poter impiegare LA essiccata per entrambi i fini, prima per produrre gli estratti vegetali e poi il biogas. In questo modo si realizzerebbe un doppio recupero, il primo della biomassa vegetale di partenza per produrre gli estratti ed il secondo dei residui in seguito ad estrazione acquosa per produrre biogas. Per queste considerazioni è necessario condurre al termine la sperimentazione e svolgere ulteriore ricerca in merito ai potenziali impieghi di *Ludwigia grandiflora*.

CONCLUSIONE

I risultati ottenuti in questo progetto di tesi mostrano che l'estratto di *Ludwigia grandiflora* terrestre (LT) è nel complesso più efficace nella riduzione della germinazione delle infestanti rispetto a quello della forma acquatica (LA). Infatti, nei casi in cui l'inibizione della germinazione di una specie infestante è risultata maggiore sotto l'effetto dell'estratto LA, la differenza rispetto all'effetto di LT è stata modesta. Al contrario, quando LT ha mostrato un effetto superiore, la differenza rispetto a LA è stata significativa. Pertanto, si può concludere che, nel complesso, LT ha determinato una maggiore riduzione della germinazione. In generale, la germinazione delle monocotiledoni è stata inibita maggiormente. Per quanto riguarda gli effetti sulla lunghezza radicale delle piante germinate delle specie infestanti, in tutti i casi l'estratto LT è stato più efficace, soprattutto sulle monocotiledoni LT ha ridotto drasticamente le lunghezze radicali rispetto al controllo. Le analisi relative al t50 non mostrano un particolare effetto dell'estratto utilizzato sul ritardo della germinazione; solo per alcune specie LT è stato più efficace di LA nonostante la differenza non sia risultata rilevante in termini agronomici. Inoltre, non si è evinta una disuguaglianza di effetto tra monocotiledoni e dicotiledoni. I risultati parziali della sperimentazione sul potenziale di metano biochimico prodotto (BMP), che è tuttora in corso, rivelano essere più promettente il substrato essiccato e macinato di *Ludwigia grandiflora* acquatica, probabilmente perché più carico in nutrienti per i microrganismi che operano la degradazione anaerobica. Per la specie *Datura stramonium* invece è stato possibile concludere che l'estratto realizzato con le foglie (DF) inibisce maggiormente la germinazione delle infestanti, rispetto agli estratti di *Datura stramonium* steli (DS) e radici (DR). In particolare, DF nel complesso è stato più efficace sulle monocotiledoni, al contrario dell'estratto DS, il quale, ha inibito maggiormente la germinazione delle dicotiledoni. L'estratto DR ha avuto i minori effetti e similari tra monocotiledoni e dicotiledoni. In sintesi, le prove di laboratorio hanno permesso di verificare il potenziale erbicida degli estratti acquosi prodotti a partire da *Ludwigia grandiflora* [30] e *Datura stramonium* [47]. Infatti, è stato possibile concludere che entrambe le specie abbiano realmente degli effetti sulle infestanti, specialmente in termini di inibizione della germinazione, per quanto riguarda la *Datura stramonium*, ed in termini di riduzione delle lunghezze radicali per quanto riguarda la *Ludwigia grandiflora*. Gli effetti sul ritardo della germinazione studiati per *Ludwigia grandiflora* sono stati meno rilevanti. Inoltre, è possibile notare in generale una maggiore sensibilità agli estratti da parte delle monocotiledoni, che

potrebbe essere riconducibile ad una differenza di assorbimento dei semi e/o di fitotossicità delle sostanze allelopatiche contenute negli estratti per monocotiledoni e dicotiledoni. Invece, per quanto riguarda la dimensione dei semi non è stata riscontrata una dipendenza degli effetti allelopatici da questo parametro. I risultati migliori ottenuti con l'estratto LT di *Ludwigia grandiflora* potrebbero essere attribuiti proprio al fatto che la forma terrestre si sia sviluppata fuori dall'acqua [40]. La forma acquatica naturalmente subisce una maggiore diluizione delle sostanze idrofile in quanto immersa in acqua, a differenza della forma terrestre che ha modo di preservare più sostanze idrosolubili per gli estratti vegetali acquosi. Infatti, empiricamente è stata riscontrata una differenza di densità tra gli estratti, quelli LT risultavano più densi, ad indicare una maggiore concentrazione di soluti, dunque, un'estrazione in acqua più efficace di sostanze idrofile. Invece, per *Datura stramonium* la maggiore efficacia dell'estratto acquoso DF era un risultato atteso, in quanto da letteratura era già stato tratto questo risultato [48], ed era stato ricondotto ad una maggiore concentrazione nelle foglie delle sostanze allelopatiche, in particolare degli alcaloidi atropina e scopolamina nonostante la loro scarsa solubilità in acqua [59]. Poiché le prove sono state svolte in laboratorio in condizioni controllate, sono necessarie ulteriori ricerche sugli estratti in prove di campo. In particolare, è richiesto un approfondimento per quanto riguarda gli effetti legati alle monocotiledoni e dicotiledoni, alla dimensione del seme e alla tipologia di estratto. In questo caso sono stati utilizzati estratti acquosi, che richiedono tempi e costi inferiori rispetto ai prodotti di sintesi, sia nella fase di realizzazione che di commercializzazione. Tuttavia, sarebbe interessante studiare altri processi di estrazione, partendo dalle stesse specie *Ludwigia grandiflora* e *Datura stramonium*, come l'estrazione in etanolo o metanolo che hanno una capacità estrattiva maggiore rispetto all'acqua. Valutando quindi i risultati ottenuti, durante questo progetto di tesi sono state identificate caratteristiche riconducibili ad un bioerbicida per entrambe le specie, *Ludwigia grandiflora* e *Datura stramonium*. Gli estratti vegetali acquosi dalle proprietà allelopatiche possono contribuire alla lotta alle infestanti permettendo di ridurre l'impiego di fitofarmaci di sintesi. Anche l'indagine svolta sul biogas è riconducibile alla protezione ambientale, infatti, l'energia rinnovabile offre la possibilità di ridurre il consumo di combustibili fossili al fine di ridurre le emissioni di gas serra in atmosfera. In conclusione, il fine ultimo di questo elaborato di tesi concerne la tutela ambientale attraverso la ricerca di soluzioni basate sulla natura (NBS) per contrastare l'inquinamento ambientale di cui si rende artefice il settore agricolo, e il recupero di biomassa di scarto naturale e rinnovabile, seguendo i principi di circolarità e sostenibilità.

BIBLIOGRAFIA

- [1] R. L. Carson, *Primavera Silenziosa*, Seconda edizione. Giangiacomo Feltrinelli Editore Milano, 2024.
- [2] Lugaresi Nicola, *Diritto dell'ambiente*, Sesta edizione. Cedam, 2020.
- [3] A. Forouzesh, E. Zand, S. Soufizadeh, and S. Samadi Foroushani, "Classification of herbicides according to chemical family for weed resistance management strategies-an update," *Weed Res*, vol. 55, no. 4, pp. 334–358, Aug. 2015, doi: 10.1111/wre.12153.
- [4] A. G. Dexter, J. L. Gunsolus, and W. S. Curran, "Herbicide Mode of Action," 1994.
- [5] A. Lundkvist, "Effects of pre- and post-emergence weed harrowing on annual weeds in peas and spring cereals," *Weed Res*, vol. 49, no. 4, pp. 409–416, Aug. 2009, doi: 10.1111/j.1365-3180.2009.00718.x.
- [6] M. V. Bauer, C. Marx, F. V. Bauer, D. M. Flury, T. Ripken, and B. Streit, "Thermal weed control technologies for conservation agriculture—a review," Aug. 01, 2020, *Blackwell Publishing Ltd*. doi: 10.1111/wre.12418.
- [7] M. Vurro, M. Cristofaro, F. Casella, A. Boari, and M.C. Zonno, "Lotta biologica alle piante infestanti," 2008.
- [8] E. V. R. Campos, J. Ratko, N. Bidyarani, V. Takeshita, and L. F. Fraceto, "Nature-Based Herbicides and Micro-/Nanotechnology Fostering Sustainable Agriculture," *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 11, no. 27, pp. 9900–9917, Jul. 2023, doi: 10.1021/acssuschemeng.3c02282.
- [9] E. Navarro Stotz, O. Cruz, (Fio-Cruz), R. De Janeiro, and B. Rj, "I limiti dell'agricoltura convenzionale e le ragioni della sua persistenza: caso studio di Sumidouro, RJ," 2012.
- [10] A. Ferrero, T. Pozzi, S. Fogliatto, F. Vidotto, and M. Milan, "EFFICACIA DI DIVERSE STRATEGIE DI GESTIONE DELLE INFESTANTI NEL MAIS," 2016.
- [11] R. Saini and S. Singh, "Use of natural products for weed management in high-value crops: An Overview," 2018, doi: 10.20944/preprints201810.0737.v1.
- [12] P. Daninha and -Mg Viçosa, "Distribution of Environmental Compartments of Herbicides Used in the Cotton, Coffee and Citrus Cultures," 2009.
- [13] B. S. Ojelade, O. S. Durowoju, P. O. Adesoye, S. W. Gibb, and G. I. Ekosse, "Review of Glyphosate-Based Herbicide and Aminomethylphosphonic Acid (AMPA): Environmental and Health Impacts," Sep. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/app12178789.
- [14] Derouiche Samir, Rezzag Mohcem Om Selma, and Serouti Asma, "The Effect of Herbicide Metribuzin on Environment and Human: A Systematic Review," *Pharmaceutical and Biosciences Journal*, pp. 10–15, Jul. 2020, doi: 10.20510/ukjpb/8/i4/1593522789.
- [15] A. Ferrero, * -Silvia Fogliatto, G. Gariglio, and F. Vidotto, "La resistenza agli erbicidi nelle infestanti del riso: importanza e possibilità di gestione," 2017.
- [16] F. Roberto Saija, "Gli Organismi Geneticamente Modificati nel diritto dell'Unione Europea: il ruolo del principio di precauzione ed il controverso rapporto tra Autorità e Libertà," 2017.

- [17] Monquero PA, "Piante transgeniche resistenti agli erbicidi: situazione e prospettive," 2005.
- [18] United Nations, "Report of the World Commission on Environment and Development: Our Common Future," 1987.
- [19] M. Barzman *et al.*, "Eight principles of integrated pest management," Oct. 01, 2015, *Springer-Verlag France*. doi: 10.1007/s13593-015-0327-9.
- [20] P. Zwaenepoel, J. M. Le Bars, and J. M. Le, "L'agriculture de précision," 2010. [Online]. Available: <https://hal.science/hal-00461080v1>
- [21] C. Vasilikiotis, "Can Organic Farming 'Feed the World'?" 2000.
- [22] M. Hasan, M. S. Ahmad-Hamdani, A. M. Rosli, and H. Hamdan, "Bioherbicides: An eco-friendly tool for sustainable weed management," Jun. 01, 2021, *MDPI AG*. doi: 10.3390/plants10061212.
- [23] V. Prieto-Sandoval, C. Jaca, and M. Ormazabal, "Circular economy: Relationship with the evolution of the concept of sustainability and strategies for its implementation," *Memoria Investigaciones en Ingeniería*, p. 15, 2017.
- [24] M. Kostina-Bednarz, J. Płonka, and H. Barchanska, "Allelopathy as a source of bioherbicides: challenges and prospects for sustainable agriculture," Jun. 01, 2023, *Springer Science and Business Media B.V.* doi: 10.1007/s11157-023-09656-1.
- [25] S. Vitalini *et al.*, "Phytotoxicity, nematocidal activity and chemical constituents of *Peucedanum ostruthium* (L.) W.D.J.Koch (Apiaceae)," *Ind Crops Prod*, vol. 166, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113499.
- [26] J. Calle, "Fungicidas a partir de extractos vegetales una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos," 2019.
- [27] J. S. RODRIGUES, M. G. G. DA SILVA, R. M. DE CASTRO, and D. DA SILVA, "Atividade inseticida de extratos vegetais e seletividade a insetos benéficos," *Revista Semiárido De Visu*, vol. 5, no. 3, pp. 138–148, Dec. 2017, doi: 10.31416/rsdv.v5i3.122.
- [28] M. Fracchiolla and P. Montemurro, "Sostanze di origine naturale ad azione erbicida," 2007. [Online]. Available: www.weedscience.com
- [29] H. Rani, S. Sharma, and M. Bala, "Technologies for extraction of oil from oilseeds and other plant sources in retrospect and prospects: A review," Nov. 01, 2021, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1111/jfpe.13851.
- [30] S. Dandelot, C. Robles, N. Pech, A. Cazaubon, and R. Verlaque, "Allelopathic potential of two invasive alien *Ludwigia* spp.," *Aquat Bot*, vol. 88, no. 4, pp. 311–316, May 2008, doi: 10.1016/j.aquabot.2007.12.004.
- [31] B. Ruaux, S. Greulich, J. Haury, and J. P. Berton, "Sexual reproduction of two alien invasive *Ludwigia* (Onagraceae) on the middle Loire River, France," *Aquat Bot*, vol. 90, no. 2, pp. 143–148, Feb. 2009, doi: 10.1016/j.aquabot.2008.08.003.
- [32] A. Hussner, M. Windhaus, and U. Starfinger, "From weed biology to successful control: an example of successful management of *Ludwigia grandiflora* in Germany," *Weed Res*, vol. 56, no. 6, pp. 434–441, Dec. 2016, doi: 10.1111/wre.12224.

- [33] S. Nehring and D. Kolthoff, "The invasive water primrose *Ludwigia grandiflora* (Michaux) greuter & burdet (Spermatophyta: Onagraceae) in Germany: First record and ecological risk assessment," *Aquat Invasions*, vol. 6, no. 1, pp. 83–89, Mar. 2011, doi: 10.3391/ai.2011.6.1.10.
- [34] S. Hieda, Y. Kaneko, M. Nakagawa, and N. Noma, "Ludwigia grandiflora (Michx.) greuter & burdet subsp. hexapetala (hook. & arn.) g. l. nesom & kartesz, an invasive aquatic plant in lake biwa, the largest lake in japan," *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, vol. 71, no. 1, pp. 65–71, 2020, doi: 10.18942/apg.201911.
- [35] A. Hussner, "Growth response and root system development of the invasive *Ludwigia grandiflora* and *Ludwigia peploides* to nutrient availability and water level," *Fundamental and Applied Limnology*, vol. 177, no. 3, pp. 189–196, Jul. 2010, doi: 10.1127/1863-9135/2010/0177-0189.
- [36] Z. Shan, S. Zhou, A. Shah, Y. Arafat, S. Arif Hussain Rizvi, and H. Shao, "Plant Allelopathy in Response to Biotic and Abiotic Factors," Sep. 01, 2023, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/agronomy13092358.
- [37] A. Scavo, A. Restuccia, G. Pandino, A. Onofri, and G. Mauromicale, "Allelopathic effects of *Cynara cardunculus* L. Leaf aqueous extracts on seed germination of some mediterranean weed species," *Italian Journal of Agronomy*, vol. 13, no. 2, pp. 119–125, Jan. 2018, doi: 10.4081/ija.2018.1021.
- [38] L. Thouvenot, J. Haury, and G. Thiebaut, "A success story: Water primroses, aquatic plant pests," *Aquat Conserv*, vol. 23, no. 5, pp. 790–803, Oct. 2013, doi: 10.1002/aqc.2387.
- [39] A. M. Mangao, S. L. B. Arreola, E. V. San Gabriel, and K. C. Salamanez, "Aqueous extract from leaves of *Ludwigia hyssopifolia* (G. Don) Exell as potential bioherbicide," *J Sci Food Agric*, vol. 100, no. 3, pp. 1185–1194, Feb. 2020, doi: 10.1002/jsfa.10128.
- [40] K. Billet, J. Genitoni, M. Bozec, D. Renault, and D. Barloy, "Aquatic and terrestrial morphotypes of the aquatic invasive plant, *Ludwigia grandiflora*, show distinct morphological and metabolomic responses," *Ecol Evol*, vol. 8, no. 5, pp. 2568–2579, Mar. 2018, doi: 10.1002/ece3.3848.
- [41] S. E. Weaver and S. L. Warwick, "THE BIOLOGY OF CANADIAN WEEDS - *Datura stramonium* L."
- [42] A. Touwaide, "Datura stramonium L.: Old or New World?" 1997.
- [43] M. van Kleunen, M. Fischer, and S. D. Johnson, "Reproductive assurance through self-fertilization does not vary with population size in the alien invasive plant *Datura stramonium*," *Oikos*, vol. 116, no. 8, pp. 1400–1412, Aug. 2007, doi: 10.1111/j.2007.0030-1299.16004.x.
- [44] A. Sayyed, M. Shah, and C. Aqib Sayyed, "Phytochemistry, pharmacological and traditional uses of *Datura stramonium* L. review," ~ 123 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 2, no. 5, pp. 123–125, 2014.
- [45] A. Desachy, B. François, P. Vignon, J. Roustan, and R. Gay, "Une intoxication rare au *Datura stramonium*," 1997.
- [46] D. Sanjita and P. ku mar, "PHYTOCONSTITUENTS AND THERAPEUTIC POTENTIALS OF DATURA STRAMONIUM LINN," *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, vol. 2012, no. 3, pp. 4–7, 2011, [Online]. Available: <http://jddtonline.info>

- [47] F. Elisante, M. T. Tarimo, and P. A. Ndakidemi, "Allelopathic Effect of Seed and Leaf Aqueous Extracts of *Datura stramonium* on Leaf Chlorophyll Content, Shoot and Root Elongation of *Cenchrus ciliaris* and *Neonotonia wightii*," *Am J Plant Sci*, vol. 04, no. 12, pp. 2332–2339, 2013, doi: 10.4236/ajps.2013.412289.
- [48] Ş. Ramona, I. Maria, G. Ioana, and V. Ana Maria, "Allelopathic influence of *Datura stramonium* extracts on the germination and growing of soy plants," 2018. [Online]. Available: www.journal-hfb.usab-tm.ro
- [49] S. Vitalini, F. Orlando, V. Vaglia, S. Bocchi, and M. Iriti, "Potential role of *lolium multiflorum* lam. In the management of rice weeds," *Plants*, vol. 9, no. 3, Mar. 2020, doi: 10.3390/plants9030324.
- [50] A. F. Orozco-Cardona, N. Franco-Herrera, and L. A. Taborda-Beltran, "Evaluation of scarification methods for seeds of Algarrobo (*Hymenaea Courbaril* L.)," 2010.
- [51] L. A. Elkin, M. Kay, J. J. Higgins, and J. O. Wobbrock, "An Aligned Rank Transform Procedure for Multifactor Contrast Tests," Feb. 2021, [Online]. Available: <http://arxiv.org/abs/2102.11824>
- [52] R. Andreani Junior, M. Otero, and M. Silva, "EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS AQUOSOS SOBRE A GERMINAÇÃO DE PLANTAS DANINHAS," *Enciclopédia Biosfera*, vol. 15, no. 27, pp. 188–197, Jun. 2018, doi: 10.18677/encibio_2018a41.
- [53] A. Onofri, P. Benincasa, M. B. Mesgaran, and C. Ritz, "Hydrothermal-time-to-event models for seed germination," *European Journal of Agronomy*, vol. 101, pp. 129–139, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.eja.2018.08.011.
- [54] G. Thiébaud, L. Thouvenot, and H. Rodríguez-Pérez, "Allelopathic effect of the invasive *ludwigia hexapetala* on growth of three macrophyte species," *Front Plant Sci*, vol. 871, 2018, doi: 10.3389/fpls.2018.01835.
- [55] G. C. H, "ALLELOPATHIC EFFECT OF *Nicotiana tabacum* AND *Eucalyptus grandis* EXTRACTS ON THE GERMINATION OF THREE VEGETABLES SPECIES," 2004.
- [56] R. A, "Allelopathic Effects of Aqueous Leaf Extracts of *Datura metel* L. on *Parthenium hysterophorus* L.," *Agric Res Technol*, vol. 10, no. 1, Aug. 2017, doi: 10.19080/artoaj.2017.10.555779.
- [57] M. K. Jameel *et al.*, "Biogas: Production, properties, applications, economic and challenges: A review," Jan. 01, 2024, *Elsevier B.V.* doi: 10.1016/j.rechem.2024.101549.
- [58] M. Alice, O. Corigliano, and P. Fragiaco, "Energetic-Environmental Enhancement of Waste and Agricultural Biomass by Anaerobic Digestion Process," *Energy Technology & Policy*, vol. 1, no. 1, pp. 59–69, Jan. 2014, doi: 10.1080/23317000.2014.969452.
- [59] M. Butnariu *et al.*, "Analytical and in silico study of the inclusion complexes between tropane alkaloids atropine and scopolamine with cyclodextrins," *Chemical Papers*, vol. 75, no. 10, pp. 5523–5533, Oct. 2021, doi: 10.1007/s11696-021-01742-4.

ALLEGATI

LUDWIGIA GRANDIFLORA (LT – LA)

Analisi statistica sulla germinazione % rispetto al controllo

Tabella 1: Media della germinazione % rispetto al controllo ed errore standard, per specie, dose ed estratto

Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
ABUTH	0	NT	100,0	12,75
ABUTH	40	LA	101,7	13,90
ABUTH	50	LA	105,2	4,34
ABUTH	60	LA	100,0	4,45
ABUTH	80	LA	91,4	8,62
ABUTH	100	LA	87,9	12,71
ABUTH	40	LT	98,3	5,17
ABUTH	50	LT	101,7	11,74
ABUTH	60	LT	91,4	11,39
ABUTH	80	LT	96,6	4,88
ABUTH	100	LT	106,9	5,97
Specie				
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
AMARE	0	NT	100,0	2,62
AMARE	40	LA	105,5	1,37
AMARE	50	LA	97,3	2,62
AMARE	60	LA	90,4	7,25
AMARE	80	LA	75,3	8,48
AMARE	100	LA	64,4	6,08
AMARE	40	LT	64,4	7,55
AMARE	50	LT	57,5	11,30
AMARE	60	LT	38,4	8,95
AMARE	80	LT	38,4	4,47
AMARE	100	LT	34,2	8,48
Specie				
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
DIGSA	0	NT	100,0	5,71
DIGSA	40	LA	107,8	5,92
DIGSA	50	LA	110,9	3,93
DIGSA	60	LA	104,7	2,99
DIGSA	80	LA	89,1	13,10

DIGSA	100	LA	65,6	5,41
DIGSA	40	LT	84,4	5,41
DIGSA	50	LT	46,9	1,80
DIGSA	60	LT	50,0	12,24
DIGSA	80	LT	32,8	5,34
DIGSA	100	LT	15,6	5,41
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
ECHCG	0	NT	100,0	9,12
ECHCG	40	LA	76,2	10,29
ECHCG	50	LA	54,8	8,13
ECHCG	60	LA	54,8	4,56
ECHCG	80	LA	47,6	6,73
ECHCG	100	LA	50,0	5,99
ECHCG	40	LT	78,6	4,56
ECHCG	50	LT	69,0	8,13
ECHCG	60	LT	83,3	4,56
ECHCG	80	LT	59,5	7,14
ECHCG	100	LT	64,3	16,21
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
SORHA	0	NT	100,0	7,61
SORHA	40	LA	87,5	9,92
SORHA	50	LA	85,4	7,12
SORHA	60	LA	58,3	6,80
SORHA	80	LA	93,8	19,06
SORHA	100	LA	37,5	2,41
SORHA	40	LT	104,2	7,98
SORHA	50	LT	106,3	7,12
SORHA	60	LT	89,6	3,99
SORHA	80	LT	54,2	11,02
SORHA	100	LT	58,3	7,61
CHEAL				
Specie	dose	estratto	Media [%/%NT]	Errore standard
CHEAL	0	NT	100,0	12,53
CHEAL	40	LA	92,1	15,72
CHEAL	50	LA	94,7	16,64
CHEAL	60	LA	121,1	9,12
CHEAL	80	LA	100,0	9,12
CHEAL	100	LA	86,8	8,99

CHEAL	40	LT	113,2	13,84
CHEAL	50	LT	84,2	18,23
CHEAL	60	LT	107,9	17,91
CHEAL	80	LT	97,4	18,92
CHEAL	100	LT	113,2	13,84

Tabella 2: ANOVA fattoriale a due vie (fattori: dose ed estratto) per specie

Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
ABUTH	dose	444,709	4	0,338	0,8499	ns
ABUTH	estratto	29,727	1	0,091	0,7657	ns
ABUTH	Dose*Estratto	939,358	4	0,715	0,5885	ns
ABUTH	Residuo	9857,313	30			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
AMARE	dose	6811,034	4	8,083	1,5131e-04	***
AMARE	estratto	16000,0	1	75,948	1,0169e-09	***
AMARE	Dose*Estratto	505,911	4	0,600	0,6653	ns
AMARE	Residuo	6320,135	30			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
DIGSA	dose	14048,828	4	17,544	1,6084e-07	***
DIGSA	estratto	24688,477	1	123,322	3,7718e-12	***
DIGSA	Dose*Estratto	1927,734	4	2,407	0,0714	ns
DIGSA	Residuo	6005,859	30			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
ECHCG	dose	2916,100	4	2,621	0,0545	ns
ECHCG	estratto	2040,816	1	7,337	0,0111	*
ECHCG	Dose*Estratto	702,948	4	0,632	0,6437	ns
ECHCG	Residuo	8344,671	30			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
SORHA	dose	12579,861	4	8,998	0,0001	***
SORHA	estratto	6673,611	1	19,093	0,0001	***
SORHA	Dose*Estratto	704,861	4	0,504	0,7329	ns
SORHA	Residuo	10486,111	30			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
CHEAL	dose	2587,258	4	0,747	0,5679	ns
CHEAL	estratto	177,285	1	0,205	0,6542	ns
CHEAL	Dose*Estratto	2675,900	4	0,772	0,5518	ns
CHEAL	Residuo	25983,380	30			

Tabella 3: Gruppi individuati dal confronto multiplo tra le medie con il post – hoc di Tukey

Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
--------	---------	---------	--------------	--------

AMARE	Dose	40	84,9	a
AMARE	Dose	50	77,4	ab
AMARE	Dose	60	64,4	abc
AMARE	Dose	80	56,8	bc
AMARE	Dose	100	49,3	c
AMARE	Estratto	LA	86,6	a
AMARE	Estratto	LT	46,6	b
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
DIGSA	Dose	40	96,1	a
DIGSA	Dose	50	78,9	ab
DIGSA	Dose	60	77,3	ab
DIGSA	Dose	80	60,9	bc
DIGSA	Dose	100	40,6	c
DIGSA	Estratto	LA	95,6	a
DIGSA	Estratto	LT	45,9	b
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
ECHCG	Estratto	LT	71,0	a
ECHCG	Estratto	LA	56,7	b
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Germinazione % NT	Gruppi
SORHA	Dose	40	95,8	a
SORHA	Dose	50	95,8	a
SORHA	Dose	60	74,0	ab
SORHA	Dose	80	74,0	ab
SORHA	Dose	100	47,9	b
SORHA	Estratto	LT	90,4	a
SORHA	Estratto	LA	64,6	b

Analisi statistica sulla lunghezza radicale % rispetto al controllo

Tabella 4: Media della lunghezza % rispetto al controllo ed errore standard, per specie, dose ed estratto

Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
ABUTH	0	NT	100,0	2,56
ABUTH	40	LA	66,8	1,92
ABUTH	50	LA	54,9	1,63
ABUTH	60	LA	54,8	1,56
ABUTH	80	LA	40,5	1,87
ABUTH	100	LA	30,4	2,06
ABUTH	40	LT	43,8	1,56
ABUTH	50	LT	40,0	1,88
ABUTH	60	LT	30,5	1,51
ABUTH	80	LT	23,5	1,31
ABUTH	100	LT	27,0	1,16
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
AMARE	0	NT	100,0	4,29
AMARE	40	LA	60,0	2,06
AMARE	50	LA	52,0	2,05
AMARE	60	LA	35,7	1,33
AMARE	80	LA	36,9	1,86
AMARE	100	LA	16,2	1,26
AMARE	40	LT	34,0	2,28
AMARE	50	LT	25,5	2,48
AMARE	60	LT	18,1	1,85
AMARE	80	LT	11,8	1,10
AMARE	100	LT	17,6	2,30
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
DIGSA	0	NT	100,0	5,22
DIGSA	40	LA	66,4	3,55
DIGSA	50	LA	59,3	3,22
DIGSA	60	LA	43,4	2,58
DIGSA	80	LA	39,9	2,61
DIGSA	100	LA	22,5	2,12
DIGSA	40	LT	17,8	1,82
DIGSA	50	LT	26,6	2,38
DIGSA	60	LT	16,5	2,48
DIGSA	80	LT	16,1	2,90
DIGSA	100	LT	15,6	3,81
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
ECHCG	0	NT	100,0	16,67
ECHCG	40	LA	73,8	10,71
ECHCG	50	LA	30,2	5,62
ECHCG	60	LA	35,7	6,52
ECHCG	80	LA	50,3	9,90

ECHCG	100	LA	20,3	4,52
ECHCG	40	LT	25,3	3,95
ECHCG	50	LT	25,8	5,45
ECHCG	60	LT	18,0	2,52
ECHCG	80	LT	13,8	3,03
ECHCG	100	LT	22,5	3,85
Specie				
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
SORHA	0	NT	100,0	6,00
SORHA	40	LA	86,0	6,22
SORHA	50	LA	55,9	3,67
SORHA	60	LA	54,4	4,36
SORHA	80	LA	52,4	3,85
SORHA	100	LA	20,2	3,07
SORHA	40	LT	24,7	2,92
SORHA	50	LT	28,1	3,33
SORHA	60	LT	27,4	3,24
SORHA	80	LT	13,1	1,44
SORHA	100	LT	11,3	1,66
Specie				
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
CHEAL	0	NT	100,0	11,62
CHEAL	40	LA	119,4	14,26
CHEAL	50	LA	95,8	7,49
CHEAL	60	LA	104,2	7,75
CHEAL	80	LA	49,7	4,47
CHEAL	100	LA	49,7	4,26
CHEAL	40	LT	68,1	7,13
CHEAL	50	LT	48,7	5,70
CHEAL	60	LT	36,2	2,27
CHEAL	80	LT	41,5	3,08
CHEAL	100	LT	54,0	4,52

Tabella 5: ANOVA non parametrica fattoriale a due vie (fattori: dose ed estratto) per specie

Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
ABUTH	Estratto	5478359	1	311,951	8,3749e-56	***
ABUTH	Dose	6501973	4	103,608	5,6146e-66	***
ABUTH	Estratto*Dose	1299925	4	12,982	4,0853e-10	***
ABUTH	Residuo	10860260,3	559			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
AMARE	Estratto	3117491	1	234,416	2,5836e-43	***
AMARE	Dose	3793044	4	82,812	2,4955e-53	***
AMARE	Estratto*Dose	1097557	4	15,480	6,5039e-12	***
AMARE	Residuo	6739461,3	476			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
DIGSA	Estratto	2198016,3	1	195,415	4,8023e-37	***

DIGSA	Dose	1072946,8	4	18,631	3,6282e-14	***
DIGSA	Estratto*Dose	563817,4	4	8,773	8,0108e-07	***
DIGSA	Residuo	6159460	443			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
ECHCG	Estratto	208774,0	1	39,165	1,6127e-09	***
ECHCG	Dose	127633,6	4	5,715	2,0169e-04	***
ECHCG	Estratto*Dose	141142,4	4	6,390	6,4438e-05	***
ECHCG	Residuo	1413519,7	258			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
SORHA	Estratto	1460740,5	1	199,403	2,2511e-36	***
SORHA	Dose	893737,7	4	24,177	9,5710e-18	***
SORHA	Estratto*Dose	538611,8	4	13,291	4,0921e-10	***
SORHA	Residuo	3221596,7	362			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
CHEAL	Estratto	956565,6	1	110,217	9,0626e-23	***
CHEAL	Dose	670402,5	4	17,839	2,0397e-13	***
CHEAL	Estratto*Dose	710759,4	4	18,489	7,0741e-14	***
CHEAL	Residuo	3451383	374			

Tabella 6: Gruppi individuati dal confronto multiplo tra le medie con il post – hoc di Dunn

Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
ABUTH	Estratto*Dose	LA-40	66,8	c
ABUTH	Estratto*Dose	LA-50	54,9	c
ABUTH	Estratto*Dose	LA-60	54,8	c
ABUTH	Estratto*Dose	LA-80	40,5	ad
ABUTH	Estratto*Dose	LA-100	30,4	ab
ABUTH	Estratto*Dose	LT-40	43,8	d
ABUTH	Estratto*Dose	LT-50	40,0	ad
ABUTH	Estratto*Dose	LT-60	30,5	ab
ABUTH	Estratto*Dose	LT-80	23,5	b
ABUTH	Estratto*Dose	LT-100	27,0	b
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
AMARE	Estratto*Dose	LA-40	60,0	c
AMARE	Estratto*Dose	LA-50	52,0	c
AMARE	Estratto*Dose	LA-60	35,7	d
AMARE	Estratto*Dose	LA-80	36,9	d
AMARE	Estratto*Dose	LA-100	16,2	ab
AMARE	Estratto*Dose	LT-40	34,0	d
AMARE	Estratto*Dose	LT-50	25,5	ad
AMARE	Estratto*Dose	LT-60	18,1	ab
AMARE	Estratto*Dose	LT-80	11,8	b
AMARE	Estratto*Dose	LT-100	17,6	ab
Specie	Fattore	Livello	Lunghezza radicale % NT	Gruppi

DIGSA	Estratto*Dose	LA-40	100,0	b
DIGSA	Estratto*Dose	LA-50	66,4	bc
DIGSA	Estratto*Dose	LA-60	59,3	cd
DIGSA	Estratto*Dose	LA-80	43,4	cde
DIGSA	Estratto*Dose	LA-100	39,9	a
DIGSA	Estratto*Dose	LT-40	22,5	a
DIGSA	Estratto*Dose	LT-50	17,8	ade
DIGSA	Estratto*Dose	LT-60	26,6	a
DIGSA	Estratto*Dose	LT-80	16,5	a
DIGSA	Estratto*Dose	LT-100	16,1	ae
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
ECHCG	Estratto*Dose	LA-40	73,8	a
ECHCG	Estratto*Dose	LA-50	30,2	bc
ECHCG	Estratto*Dose	LA-60	35,7	bc
ECHCG	Estratto*Dose	LA-80	50,3	ab
ECHCG	Estratto*Dose	LA-100	20,3	bc
ECHCG	Estratto*Dose	LT-40	25,3	bc
ECHCG	Estratto*Dose	LT-50	25,8	bc
ECHCG	Estratto*Dose	LT-60	18,0	bc
ECHCG	Estratto*Dose	LT-80	13,8	c
ECHCG	Estratto*Dose	LT-100	22,5	bc
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
SORHA	Estratto*Dose	LA-40	86,0	b
SORHA	Estratto*Dose	LA-50	55,9	b
SORHA	Estratto*Dose	LA-60	54,4	b
SORHA	Estratto*Dose	LA-80	52,4	b
SORHA	Estratto*Dose	LA-100	20,2	a
SORHA	Estratto*Dose	LT-40	24,7	a
SORHA	Estratto*Dose	LT-50	28,1	a
SORHA	Estratto*Dose	LT-60	27,4	a
SORHA	Estratto*Dose	LT-80	13,1	a
SORHA	Estratto*Dose	LT-100	11,3	a
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
CHEAL	Estratto*Dose	LA-40	119,4	c
CHEAL	Estratto*Dose	LA-50	95,8	c
CHEAL	Estratto*Dose	LA-60	104,2	c
CHEAL	Estratto*Dose	LA-80	49,7	ab
CHEAL	Estratto*Dose	LA-100	49,7	ab
CHEAL	Estratto*Dose	LT-40	68,1	ac
CHEAL	Estratto*Dose	LT-50	48,7	ab
CHEAL	Estratto*Dose	LT-60	36,2	b
CHEAL	Estratto*Dose	LT-80	41,5	ab
CHEAL	Estratto*Dose	LT-100	54,0	ab

Analisi statistica sul t50

Tabella 7: ANOVA parametrica a due vie (fattori: dose ed estratto) per specie

Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
ABUTH	Estratto	0,261	1	4,762	3,5701e-02	*
ABUTH	Dose	9,254	5	33,824	1,2071e-12	***
ABUTH	Estratto*Dose	0,972	5	3,553	1,0317e-02	*
ABUTH	Residuo	1,970	36			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
AMARE	Estratto	1,363	1	5,876	2,0497e-02	*
AMARE	Dose	17,668	5	15,229	4,8327e-08	***
AMARE	Estratto*Dose	1,835	5	1,581	1,9017e-01	ns
AMARE	Residuo	8,353	36			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
DIGSA	Estratto	9,635	1	26,497	9,5663e-06	***
DIGSA	Dose	38,312	5	21,072	8,5258e-10	***
DIGSA	Estratto*Dose	8,521	5	4,687	2,1330e-03	***
DIGSA	Residuo	13,091	36			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
ECHCG	Estratto	3,041	1	10,195	0,0029	***
ECHCG	Dose	8,318	5	5,577	0,0007	***
ECHCG	Estratto*Dose	1,765	5	1,184	0,3365	ns
ECHCG	Residuo	10,739	36			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
SORHA	Estratto	0,0003	1	0,003	9,5826e-01	ns
SORHA	Dose	2,285	5	4,766	1,9189e-03	***
SORHA	Estratto*Dose	4,540	5	9,468	7,9104e-06	***
SORHA	Residuo	3,452	36			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
CHEAL	Estratto	0,167	1	0,198	0,6591	ns
CHEAL	Dose	26,737	5	6,348	0,0003	***
CHEAL	Estratto*Dose	11,342	5	2,693	0,0363	*
CHEAL	Residuo	30,326	36			

Tabella 8: Gruppi individuati dal confronto multiplo tra le medie con il post – hoc di Tukey

Specie	Fattore	Livello	Media	Gruppi
ABUTH	Estratto*Dose	LA-0	1,9	e
ABUTH	Estratto*Dose	LA-40	2,1	de
ABUTH	Estratto*Dose	LA-50	2,3	de
ABUTH	Estratto*Dose	LA-60	2,4	de
ABUTH	Estratto*Dose	LA-80	2,7	bcd
ABUTH	Estratto*Dose	LA-100	3,4	a

ABUTH	Estratto*Dose	LT-0	1,9	e
ABUTH	Estratto*Dose	LT-40	2,5	d
ABUTH	Estratto*Dose	LT-50	2,6	cd
ABUTH	Estratto*Dose	LT-60	2,6	bcd
ABUTH	Estratto*Dose	LT-80	3,2	ab
ABUTH	Estratto*Dose	LT-100	3,0	abc
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media	Gruppi
AMARE	Dose	0	2,0	c
AMARE	Dose	40	3,2	b
AMARE	Dose	50	3,4	ab
AMARE	Dose	60	3,0	b
AMARE	Dose	80	3,5	ab
AMARE	Dose	100	4,0	a
AMARE	Estratto	LT	3,4	a
AMARE	Estratto	LA	3,0	b
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media	Gruppi
DIGSA	Estratto*Dose	LA-0	3,4	d
DIGSA	Estratto*Dose	LA-40	4,0	cd
DIGSA	Estratto*Dose	LA-50	4,5	cd
DIGSA	Estratto*Dose	LA-60	4,3	cd
DIGSA	Estratto*Dose	LA-80	4,9	bc
DIGSA	Estratto*Dose	LA-100	6,5	a
DIGSA	Estratto*Dose	LT-0	3,4	d
DIGSA	Estratto*Dose	LT-40	5,2	abc
DIGSA	Estratto*Dose	LT-50	6,0	ab
DIGSA	Estratto*Dose	LT-60	6,2	ab
DIGSA	Estratto*Dose	LT-80	6,2	ab
DIGSA	Estratto*Dose	LT-100	6,0	ab
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media	Gruppi
ECHCG	Dose	0	4,3	a
ECHCG	Dose	40	3,0	b
ECHCG	Dose	50	3,1	b
ECHCG	Dose	60	3,5	ab
ECHCG	Dose	80	3,6	ab
ECHCG	Dose	100	3,7	ab
ECHCG	Estratto	LT	3,8	a
ECHCG	Estratto	LA	3,3	b
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media	Gruppi
SORHA	Estratto*Dose	LA-0	2,3	bcde
SORHA	Estratto*Dose	LA-40	2,7	abcde
SORHA	Estratto*Dose	LA-50	2,0	e
SORHA	Estratto*Dose	LA-60	2,2	cde
SORHA	Estratto*Dose	LA-80	3,1	ab
SORHA	Estratto*Dose	LA-100	3,1	a
SORHA	Estratto*Dose	LT-0	2,3	bcde

SORHA	Estratto*Dose	LT-40	2,5	abcde
SORHA	Estratto*Dose	LT-50	2,8	abcd
SORHA	Estratto*Dose	LT-60	3,0	abc
SORHA	Estratto*Dose	LT-80	2,1	de
SORHA	Estratto*Dose	LT-100	2,9	abc
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media	Gruppi
CHEAL	Estratto*Dose	LA-0	5,5	b
CHEAL	Estratto*Dose	LA-40	4,6	b
CHEAL	Estratto*Dose	LA-50	4,7	b
CHEAL	Estratto*Dose	LA-60	5,5	b
CHEAL	Estratto*Dose	LA-80	6,1	ab
CHEAL	Estratto*Dose	LA-100	8,2	a
CHEAL	Estratto*Dose	LT-0	5,5	b
CHEAL	Estratto*Dose	LT-40	5,3	b
CHEAL	Estratto*Dose	LT-50	6,2	ab
CHEAL	Estratto*Dose	LT-60	5,5	b
CHEAL	Estratto*Dose	LT-80	6,3	ab
CHEAL	Estratto*Dose	LT-100	6,4	ab

DATURA STRAMONIUM (DR – DS – DF)

Analisi statistica sulla germinazione % rispetto al controllo

Tabella 9: Media della germinazione % rispetto al controllo ed errore standard, per specie, dose ed estratto

Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
ABUTH	0	NT	100,0	12,75
ABUTH	100	DF	13,8	3,98
ABUTH	100	DR	115,5	5,89
ABUTH	100	DS	10,3	5,97
Specie				
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
AMARE	0	NT	100,0	2,62
AMARE	100	DF	0,0	0,00
AMARE	100	DR	90,4	9,09
AMARE	100	DS	0,0	0,00
Specie				
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
DIGSA	0	NT	100,0	5,71
DIGSA	100	DF	0,0	0,00
DIGSA	100	DR	96,9	5,98
DIGSA	100	DS	0,0	0,00
Specie				
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
ECHCG	0	NT	100,0	9,12
ECHCG	100	DF	0,0	0,00
ECHCG	100	DR	54,8	7,14
ECHCG	100	DS	14,3	2,75
Specie				
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
SORHA	0	NT	100,0	9,05
SORHA	100	DF	2,0	2,04
SORHA	100	DR	40,8	11,05
SORHA	100	DS	26,5	7,73
Specie				
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
CHEAL	0	NT	100,0	15,22
CHEAL	100	DF	0,0	0,00
CHEAL	100	DR	37,5	14,23
CHEAL	100	DS	12,5	7,98

Tabella 10: ANOVA parametrica e non parametrica a una via (fattore: estratto) per specie

Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif,
ABUTH	Estratto	37131,391	3	49,765	4,8118e-07	***
ABUTH	Residuo	2984,542	12			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif,
AMARE	Estratto	258	3	29,486	8,0721e-06	***
AMARE	Residuo	25	12			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif,
DIGSA	Estratto	257,125	3	26,801	1,3260e-05	***
DIGSA	Residuo	38,375	12			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif,
ECHCG	Estratto	320	3	98,462	1,0206e-08	***
ECHCG	Residuo	13	12			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif,
SORHA	Estratto	20803,832	3	25,881	1,5877e-05	***
SORHA	Residuo	3215,327	12			
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif,
CHEAL	Estratto	239,375	3	13,368	0,0004	***
CHEAL	Residuo	71,625	12			

Tabella 11: Gruppi individuati dal confronto multiplo tra le medie con i post – hoc di Tukey e Dunn

Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
ABUTH	Estratto	NT	100,0	a
ABUTH	Estratto	DR	115,5	a
ABUTH	Estratto	DF	13,8	b
ABUTH	Estratto	DS	10,3	b
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
AMARE	Estratto	NT	100,0	a
AMARE	Estratto	DR	90,4	a
AMARE	Estratto	DF	0,0	b
AMARE	Estratto	DS	0,0	b
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
DIGSA	Estratto	NT	100,0	a
DIGSA	Estratto	DR	96,9	a
DIGSA	Estratto	DF	0,0	b
DIGSA	Estratto	DS	0,0	b
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
ECHCG	Estratto	NT	100,0	a

ECHCG	Estratto	DR	54,8	ab
ECHCG	Estratto	DF	0,0	c
ECHCG	Estratto	DS	14,3	bc
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
SORHA	Estratto	NT	100,0	a
SORHA	Estratto	DR	40,8	b
SORHA	Estratto	DF	2,0	c
SORHA	Estratto	DS	26,5	bc
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
CHEAL	Estratto	NT	100,0	a
CHEAL	Estratto	DR	37,5	ab
CHEAL	Estratto	DF	0,0	b
CHEAL	Estratto	DS	12,5	ab

DATURA STRAMONIUM (DF)

Analisi statistica sulla germinazione % rispetto al controllo

Tabella 12: Media della germinazione % rispetto al controllo ed errore standard, per specie, dose ed estratto

Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
ABUTH	0	NT	100,0	12,75
ABUTH	40	DF	81,0	9,50
ABUTH	50	DF	22,4	5,89
ABUTH	60	DF	24,1	7,18
ABUTH	80	DF	24,1	4,45
ABUTH	100	DF	13,8	3,98
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
AMARE	0	NT	100,0	2,62
AMARE	40	DF	23,3	3,45
AMARE	50	DF	23,3	6,08
AMARE	60	DF	0,0	0,00
AMARE	80	DF	0,0	0,00
AMARE	100	DF	0,0	0,00
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
DIGSA	0	NT	100,0	5,71
DIGSA	40	DF	1,6	1,56
DIGSA	50	DF	1,6	1,56
DIGSA	60	DF	0,0	0,00
DIGSA	80	DF	0,0	0,00
DIGSA	100	DF	0,0	0,00
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
ECHCG	0	NT	100,0	9,12
ECHCG	40	DF	28,6	6,73
ECHCG	50	DF	9,5	3,89
ECHCG	60	DF	4,8	2,75
ECHCG	80	DF	2,4	2,38
ECHCG	100	DF	0,0	0,00
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
SORHA	0	NT	100,0	9,05
SORHA	40	DF	32,7	3,33
SORHA	50	DF	12,2	7,07
SORHA	60	DF	6,1	2,04
SORHA	80	DF	8,2	5,77
SORHA	100	DF	2,0	2,04
Specie	dose	estratto	Media [% NT]	Errore standard
CHEAL	0	NT	100,0	15,22
CHEAL	40	DF	100,0	22,57

CHEAL	50	DF	58,3	14,43
CHEAL	60	DF	37,5	14,23
CHEAL	80	DF	4,2	4,17
CHEAL	100	DF	0,0	0,00

Tabella 13: ANOVA parametrica e non parametrica a una via (fattore: dose) per specie

Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
ABUTH	Dose	26698,375	5	21,384	5,3632e-07	***
ABUTH	Residuo	4494,649	18			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
AMARE	Dose	961,125	5	78,862	1,3381e-11	***
AMARE	Residuo	43,875	18			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
DIGSA	Dose	510	5	11,845	3,5193e-05	***
DIGSA	Residuo	155	18			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
ECHCG	Dose	876,125	5	17,633	2,2284e-06	***
ECHCG	Residuo	178,875	18			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
SORHA	Dose	27968,902	5	45,442	1,3779e-09	***
SORHA	Residuo	2215,743	18			
Specie						
Specie	Fattori	Devianza	GdL	F value	p - value	Signif.
CHEAL	Dose	27968,902	5	45,442	1,3779e-09	***
CHEAL	Residuo	2215,743	18			

Tabella 14: Gruppi individuati dal confronto multiplo tra le medie con i post – hoc di Tukey e Dunn

Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
ABUTH	Dose	0	100,0	a
ABUTH	Dose	40	81,0	a
ABUTH	Dose	50	22,4	b
ABUTH	Dose	60	24,2	b
ABUTH	Dose	80	24,2	b
ABUTH	Dose	100	13,8	b
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
AMARE	Dose	0	100,0	a
AMARE	Dose	40	23,3	ab
AMARE	Dose	50	23,3	ab
AMARE	Dose	60	0,0	b
AMARE	Dose	80	0,0	b

AMARE	Dose	100	0,0	b
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
DIGSA	Dose	0	100,0	a
DIGSA	Dose	40	1,6	b
DIGSA	Dose	50	1,6	b
DIGSA	Dose	60	0,0	b
DIGSA	Dose	80	0,0	b
DIGSA	Dose	100	0,0	b
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
ECHCG	Dose	0	100,0	a
ECHCG	Dose	40	28,6	b
ECHCG	Dose	50	9,5	bc
ECHCG	Dose	60	4,8	c
ECHCG	Dose	80	2,4	c
ECHCG	Dose	100	0,0	c
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
SORHA	Dose	0	100,0	a
SORHA	Dose	40	32,7	b
SORHA	Dose	50	12,2	bc
SORHA	Dose	60	6,1	c
SORHA	Dose	80	8,2	bc
SORHA	Dose	100	2,0	c
Specie				
Specie	Fattore	Livello	Media [% NT]	Gruppi
CHEAL	Dose	0	100,0	a
CHEAL	Dose	40	100,0	a
CHEAL	Dose	50	58,3	ab
CHEAL	Dose	60	37,5	ab
CHEAL	Dose	80	4,2	b
CHEAL	Dose	100	0,0	b