



**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO**

**CORSO DI LAUREA in Scienze Farmaceutiche Applicate**

**TESI DI LAUREA**

**Determinazione della risposta di Biostimolanti in catalogne sottoposte a stress abiotico e salino**

RELATORE: Prof. Mirella\_Zancato

CORRELATORE: Dott.Cristina\_Sudiro

LAUREANDO: Giacomo Rasi  
ANNO ACCADEMICO 2021-202



## Sommario

<i>ABSTRACT</i> .....	5
<i>INTRODUZIONE</i> .....	6
<i>STRESS ABIOTICO E SALINO</i> .....	7
<i>BIOSTIMOLANTI</i> .....	8
1 Estratti di alghe.....	8
2 Sostanze umiche.....	8
3 Idrolizzati proteici.....	9
<i>CICORIA</i> .....	10
4 Descrizione.....	10
5 Attività.....	11
<i>SCOPO DELLA TESI</i> .....	11
<i>MATERIALI</i> .....	12
6 Catalogne.....	12
7 Miscela di macro-micronutrienti (Hoagland).....	12
8 pHmetro da banco + sonda EC (HANNA).....	12
9 SPAD (SPAD-502).....	12
10 Bilancia elettronica (SOCEPI – VEVOR – GRAM).....	13
11 Congelatore (Samsung).....	13
12 Stufetta (HOLITY).....	13
13 Soluzioni (SIGMA).....	13
14 Bagnetto termico (MPM).....	14
15 Spettrofotometro (AUXILAB).....	14
16 Programmi Computer (Exel ed Anova).....	14
<i>METODI</i> .....	14
17 Fase Preparatoria.....	14
18 Trattamenti.....	15
19 Fine Prova.....	16
<i>ANALISI</i> .....	17

<i>STATISTICA</i> .....	18
<i>RISULTATI E DISCUSSIONE</i> .....	19
20 Morfologici.....	19
21 Fenotipici.....	21
<i>CONCLUSIONE</i> .....	23
<i>BIBLIOGRAFIA</i> .....	25

## ABSTRACT

Questa prova prevede l'impiego di catalogne in coltura idroponica. La prova è suddivisa in 6 gruppi da 4 repliche contenenti 3 piante per un totale di 72 piante. La prova, in coltura idroponica, viene così suddivisa in: controllo (UTC), trattamento fogliare (LL002) e trattamento suolo (LL004). Il substrato di crescita invece prevede una soluzione contenente una miscela di macro e micronutrienti, divisa poi in due soluzioni: una con presenza di sale da cucina (NaCl) ed una in assenza.

COD	Entry	Product	Dosage (L/ha o Kg/ha)
1	UTC		
2	UTC, NaCl		
3	LL004	LL004	40
4	LL004, NaCl	LL004	40
5	LL002	LL002	19
6	LL002, NaCl	LL002	19

Figura 1: Rappresentazione delle tesi e degli biostimolanti

Questa prova viene eseguita per osservare il comportamento delle piante sottoposte a stress abiotico e in particolar modo a stress salino. Inoltre si vuole andare a vedere come i trattamenti aiutino o meno la pianta a fronteggiare questo stato di stress. Il comportamento sotto stress è dato da delle vie metaboliche dove le piante producono metaboliti (in questo caso prolina) i quali sono in grado di trattenere l'acqua permettendo così alla pianta di ridurre lo stato di stress. Ci interessa quindi fornire dei risultati fenotipici, come il quantitativo di prolina o presentare dei risultati morfologici come il peso fresco e secco delle piante.

## INTRODUZIONE

La tesi prevede l'impiego di Catalogne in coltura idroponica, le quali verranno sottoposte a stress abiotico e in particolar modo salino. Lo scopo della tesi prevede di trattare queste Catalogne con due trattamenti ad applicazione differente. Viene registrato poi la reazione di queste specie allo stato di stress attraverso diverse misurazioni, le quali riguardano sia aspetti fisici della pianta che aspetti chimici. In laboratorio con opportuno metodo estrattivo, viene isolato e misurato il quantitativo effettivo di Prolina, il quale ci fornisce delle indicazioni sullo stato di salute e stress delle nostre piante. Ciò viene utilizzato per capire la funzionalità dei prodotti testati. La prolina infatti può aumentare la crescita in quanto aiuta la pianta a tollerare lo stress dell'ambiente di coltura (**László Szabados e Arnould Saviouré, 2010**).

## STRESS ABIOTICO E SALINO

Lo stress abiotico è una qualunque pressione ambientale in grado di ridurre la produttività potenziale di una pianta (**Gli stress dei vegetali: un problema planetario, ILSA GROUP**). In particolare lo stress salino è un tipo stress caratterizzato da alte concentrazioni di sale, i quali provocano un ridotto apporto idrico con conseguenti danni cellulari. Questo tipo di stress solitamente è più presente in quei terreni dove l'evaporazione supera le precipitazioni. Un alta concentrazione salina quindi determina un forte stress idrico ed osmotico, sia a livello cellulare che sistemico. Una prolungata esposizione a questo tipo di stress può comportare danni cellulari o molecolari, inibizione della crescita, fino ad arrivare alla morte dell'esemplare. Le piante rispondono a questo stress attraverso due fasi:

1. Fase rapida osmotica
2. Fase lenta ionica

Strategie usate dalle piante per fronteggiare lo stress salino prevedono:

- Omeostasi
- Detossificazione dopo accumulo cellulare di Na e Cl
- Meccanismo di esclusione cellulare di Na e Cl

# BIOSTIMOLANTI

La definizione di Biostimolante nata da EBIC (European biostimulant industry council) nel 2013 afferma che i biostimolanti sono sostanze e/o microrganismi che applicati alla pianta o alla rizosfera stimolano i processi naturali che migliorano l'efficienza d'assorbimento e d'assimilazione dei nutrienti, la tolleranza a stress abiotici e la qualità del prodotto (<http://www.biostimulants.eu>). I biostimolanti non hanno effetti diretti su parassiti e patogeni e quindi non rientrano nella categoria dei pesticidi. Solitamente i biostimolanti vengono prodotti a partire da: (**Patrick du jardin, Plant 2015**)

## **Estratti di alghe**

I meccanismi alla base della maggiore tolleranza a stress abiotici indotta da applicazioni di estratti di alghe sono molteplici e non ancora completamente noti. Tra questi ricordiamo l'aumento dello sviluppo radicale e soprattutto del rapporto radici/parte aerea, il miglioramento dello stato nutrizionale della coltura, contribuisce a mantenere il turgore cellulare, a ridurre l'attività dei radicali liberi, e l'incremento dell'attività degli enzimi di difesa dagli stress ossidativi.

## **Sostanze umiche**

Esplicano un'azione di stimolo della crescita delle piante per via diretta e indiretta. Le sostanze umiche esercitano un effetto diretto sulla pianta stimolando la rizogenesi. Inoltre, è stato riscontrato un effetto positivo delle sostanze umiche sull'attività dei trasportatori radicali coinvolti nell'assorbimento dell'azoto nitrico con un notevole incremento, e sull'attività degli enzimi coinvolti nell'assimilazione dell'azoto nitrico.



Il maggior sviluppo radicale e la più elevata attività dei trasportatori radicali del nitrato si traducono in una maggiore efficienza d'assorbimento e di assimilazione dell'azoto inorganico da parte della coltura. Le sostanze umiche influenzano positivamente anche il metabolismo secondario, favorendo l'accumulo di antiossidanti e l'attività degli enzimi di difesa dallo stress ossidativo causato da radicali liberi che si generano a seguito di stress ambientali. L'azione indiretta delle sostanze umiche si esplica nel suolo attraverso un miglioramento della fertilità. Infatti, le sostanze umiche nel suolo cementano le particelle inorganiche degli aggregati, che risultano più stabili, aumentano la CSC (capacità di scambio cationico) ed esercitano un effetto tampone sul pH, incrementando la biodisponibilità degli elementi nutritivi e riducendo le perdite per lisciviazione.

### **Idrolizzati proteici**

Divisi in due categorie in base alla loro origine. Troviamo gli idrolizzati proteici vegetali o idrolizzati proteici animali. Gli idrolizzati proteici presentano proprietà biostimolanti, migliorando l'assorbimento e l'assimilazione dei nutrienti (es. azoto nitrico e ferro), la tolleranza a stress ambientali (salinità, siccità, temperature estreme) e la qualità del prodotto. È stato anche evidenziato che gli idrolizzati proteici possono stimolare le risposte di difesa della pianta agli stress. Gli idrolizzati proteici possono esercitare anche un'azione auxino-simile per la presenza di specifici peptidi che fungono da molecole-segnale e attivano i geni della biosintesi delle auxine nella pianta. Gli idrolizzati proteici possono anche influenzare la crescita delle piante per via indiretta stimolando la microflora tellurica.

# CICORIA



## Descrizione

La cicoria è una specie perenne o annuale, la quale può raggiungere i 15-20 cm d'altezza in base alla varietà (**Michel Chauvet, , Belin, 2018**). Questa pianta che si può trovare ovunque, non richiede un substrato specifico mentre il pH del terreno dev'essere basico. La parte epigea della pianta consiste in un rizoma ricco in canali lattiniferi amari, il quale termina in una radice a fittone affusolato. La parte ipogea della pianta invece presenta una sezione aerea cava, dall'andamento eretto o zigzagante. Il fusto è ricoperto da peli setosi rivolti verso il basso. Presenta due tipi di foglie, quelle Cauline hanno sempre forma lanceolata con margine dentato-lobato, sono piccole, sessili e hanno disposizione alternata lungo il fusto. Le foglie Basali invece vanno a disporsi a formare una rosetta, sono oblanceolate con margine roncinato. Presenta un'infiorescenza formata da fiori riuniti in capolini che si inseriscono a livello dell'ascella fogliare.

Presentano un peduncolo il quale sorregge un involucro di 10-15 bratee che proteggono un ricettacolo piatto e butterato. La Cicoria possiede dei fiori ligulati, sono assenti invece quelli Tubulosi. **(Francois Couplan, , 1994)**

### **Attività**

La Cicoria stimola le funzioni, tramite depurazione e disintossicazione, dell'intestino, del fegato e dei reni grazie alle proprietà digestive, ipoglicemizzanti, lassative, colagoghe (facilita la secrezione biliare verso l'intestino), ed è cardiotonica (regola la frequenza cardiaca). Dai fiori si possono estrarre dei liquidi utili per curare alcuni tipi di oftalmie. La polpa della radice può essere utile per alcune infiammazioni (proprietà antiflogistica). Contiene tre tipi di zuccheri differenti (Destrosio, Levulosio e Pentosipentosio) oltre a numerosi derivati dell'acido caffeico. **(Roberto Chej, Piante medicinali, 1982. )**

## **SCOPO DELLA TESI**

Lo scopo della tesi prevede il trattamento delle Catalogne, fornite da un vivaio locale, con due soluzioni. Una ad applicazione fogliare, l'altra applicata al suolo. Queste Catalogne vengono sottoposte a stress abiotico e salino. Si vuole quindi, attraverso una serie di misurazioni delle loro caratteristiche morfologiche e del loro contenuto in Prolina, osservare gli effettivi benefici che questi trattamenti portano alle piante, rispetto alle piante non trattate.

# MATERIALI

- Catalogne

La Cicoria catalogna o cicoria asparago è un ortaggio appartenente alla famiglia delle Asteraceae ed al Genere Cichorium; la sua nomenclatura binomiale è *Cichorium intybus* L. (Michel Chauvet, **Enciclopedia delle piante alimentari, Belin, 2018**) Questa è una specie principalmente autunnale-invernale, la quale si presenta con un cespo a costa di lunghezza variabile, caratterizzate dallo scapo florale edule, dalla tipica colorazione verde e da un gusto amaro il quale dipende dalla varietà. Questo è un ortaggio ricco d'acqua che ha dunque una buona azione diuretica. Ricca di vitamine (soprattutto A e C) e sali minerali come calcio e potassio, ha un ottimo potere rimineralizzante. (Roberto Chej, **Piante medicinali, 1982**)

- Miscela di macro-micronutrienti (Hoagland)
- pHmetro da banco + sonda EC (HANNA)
- SPAD (SPAD-502)



La tecnica di misura non è invasiva, è sufficiente pinzare lo strumento su una foglia o un tessuto vegetale, per ottenere una lettura indicizzata (da 0 a 99.9) del contenuto di clorofilla ([honortestequipment.com](http://honortestequipment.com)). L'assorbimento della clorofilla ha un picco nella regione blu (400-500 nm) e nella regione rossa (600-700 nm), ma non assorbe nella regione del vicino infrarosso, utilizzando questa caratteristica di assorbimento della clorofilla lo SPAD-502 misura il tasso di assorbimento delle foglie nelle regioni del rosso e del vicino infrarosso. Attraverso il tasso di assorbimento di queste due aree, viene calcolato un valore di SPAD, che utilizza numeri per rappresentare i parametri correnti corrispondenti al contenuto di clorofilla nelle foglie. Il contenuto di clorofilla nelle foglie è correlato allo stato nutrizionale attuale della coltura. Il valore di SPAD aumenta in presenza di livelli crescenti di azoto nelle foglie. **(Zulini Luca, Vecchione Antonella, 2012)**

- Bilancia elettronica (SOCEPI – VEVOR – GRAM)
- Congelatore (Samsung)
- Stufetta (HOLITY)
- Soluzioni (SIGMA)

La prima soluzione al 3%, formata da 0,24 g di Acido Sulfosalicilico solubilizzati in 8 ml di acqua deionizzata.

La seconda soluzione (reagente) 0,25 g di Ninidrina pura al 99%, fatti solubilizzare in 12 ml di acido acetico glaciale, si aggiungono 8ml di acido Ortofosforico 6M

La terza soluzione formata da 0,115 g di Prolina pura, la quale viene fatta solubilizzare in 2 ml della soluzione di acido Sulfosalicilico

- Bagnetto termico (MPM)
- Spettrofotometro (AUXILAB)
- Programmi Computer (excel ed Anova)

## **METODI**

### ***Fase Preparatoria***

La fase preparatoria prevede il lavaggio delle radici delle catalogne, le quali ci sono state precedentemente fornite dal vivaio. Sono stati quindi presi dei secchi d'acqua fredda adoperati per eliminare il substrato, ottenendo così delle radici pulite. In caso di agglomerati ci si aiuta con un bastoncino, sempre prestando la massima attenzione, in modo da non recidere eventuali radici. Successivamente sono stati presi dei contenitori in plastica da un litro, dove sono stati fissati dei supporti in polistirolo. Questi supporti servono a tenere separato il corpo della piante dall'apparato radicale, il quale invece si trova immerso in una soluzione, contenente 1/5 di una miscela di macro-micronutrienti detta Hoagland, ottenendo una coltura di tipo idroponico. In questo modo si conosce sempre il contenuto del substrato in termini di molecole, di molarità e di pH. Le piante una volta pronte sono state depositate in camera di crescita, dove i parametri ambientali vengono tenuti rigorosamente controllati. Questo permette di ridurre al minimo tutte quelle variabili ambientali che possono influire sulla prova.

## Trattamenti

Nei primi 4 giorni di prova le piante sono rimaste immerse in 1/5 della miscela di macro-micronutrienti, la quale allo scadere dei giorni precedentemente riportati, è stata eliminata. I recipienti sono stati successivamente puliti per eliminare l'insorgenza di alghe verdi. I recipienti sono stati poi riempiti nuovamente, con una soluzione costituita da 1/2 della miscela di macro-micronutrienti (Hoagland), così composta:

Nome composto	Formula chimica	1/5 Hoagland per 65,5 L	1/2 Hoagland per 65,6 L
Calcium Nitrate tetrahydrate	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O	12,37	31,17
Magnesium Sulphate eptahydrate	MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	6,46	16,27
Potassium Nitrate	KNO <sub>3</sub>	3,97	10,01
Potassium Phosphate	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,57	8,98
Microelements stock 1000x		13,1	33

Figura 2: Composizione del concime Hoagland

Lo stock dei micronutrienti 1000x è composto da:

Nome composto	Formula chimica	1000x (1L)
Boric Acid	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,844
Manganese Sulphate	MnSO <sub>4</sub> *H <sub>2</sub> O	2,008
Zinc Sulphate	ZnSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	0,201
Copper Sulfate	CuSO <sub>4</sub> *5H <sub>2</sub> O	0,075
Ammonium Molibdate	NH <sub>4</sub> MoO <sub>4</sub> *4H <sub>2</sub> O	0,025
Iron sodium-EDTA	FeNaEDTA	8,808

Figura 3: Composizione dello stock dei micronutrienti

In concomitanza alla nostra Hoagland sono stati utilizzati due tipologie differenti di biostimolante. Il primo è stato applicato a livello fogliare (LL002), tramite apposito spruzzino, il quale nebulizza la soluzione. In questo modo si usano quantità di prodotto ridotte in quanto le goccioline depositate sulle foglie vengono interamente assorbite, evitando così possibili interazioni col terreno. L'altro biostimolante è stato applicato al suolo (LL004), tramite P1000. Questa procedura è stata ripetuta per altre 2 volte con un intervallo di 7 giorni. Dopo n giorni da inizio prova invece è stato provocato lo stress salino nelle piante con tesi a numero pari, andandole a rifornire con una soluzione di Hoagland in presenza di NaCl, ottenendo una soluzione 50 mM. Le piante sono rimaste sotto stress per 15 giorni.

### **Fine Prova**

A prova conclusa sono stati registrati dei parametri successivamente utilizzati per osservare il comportamento dei nostri biostimolanti rispetto a quelle piante che fungono da controllo. Come primo passo è stato effettuato lo SPAD, il quale misura la concentrazione di clorofilla della pianta e quindi ci fornisce una indicazione sullo stato di salute della pianta. Successivamente sono stati presi dei campioni fogliari per le analisi future, i quali sono stati pesati ed impacchettati riportando il numero della pianta corrispondente. Altra determinazione è stata quella della biomassa fresca, separando il peso delle radici da quello delle foglie. I campioni fogliari sono stati poi depositati in congelatore a -60°C, mentre le biomasse sono state lasciate in stufetta a 65°C fino a completa essiccazione. Una volta essiccate è stato riportato il peso secco di radici e foglie.



## ANALISI

Come primo passo sono state preparate le soluzioni.

Il primo preparato prevede una soluzione al 3%, formata da 0,24g di Acido Sulfosalicilico solubilizzati in 8 mL di acqua deionizzata.

La seconda soluzione (reagente) viene preparata a partire da 0,25 g di Ninidrina pura al 99%, solubilizzata in 12 mL di acido acetico glaciale. Una volta solubilizzata la soluzione acquista una colorazione azzurra, a questo punto si aggiungono 8 mL di acido Ortofosforico 6M il quale provoca un viraggio della soluzione, la quale acquista una colorazione giallo paglierino.

La terza soluzione invece serve per costruire la retta di taratura. Prevede la dissoluzione di 0,115 g di Prolina pura, la quale viene fatta solubilizzare in 2,00 mL della soluzione di acido Sulfosalicilico, ottenendo una soluzione madre 500,00 mM. Da quest'ultima vengono prelevati 0,2 ml di soluzione, solubilizzati in 1,8 mL di acido Sulfosalicilico, ottenendo una soluzione madre 50 mM.

Successivamente partendo da questa soluzione madre è stata ripetuta la stessa diluizione ottenendo una soluzione finale (5mM).

Sono stati preparati a questo punto le diluizioni per la retta di taratura:

Concentrazione mM	Vol. soluzione Prolina (ml)	Vol. sol. Acido sulfosalicilico (ml)
0,7	0,28	1,72
0,5	0,2	1,8
0,3	0,12	1,88
0,1	0,04	1,96
0,07	0,03	1,97
0,05	0,02	1,98

Figura 4: Retta di taratura

Per la reazione finale sono state preparate delle diluizioni da 1,5 mL, le quali contengono 0,5 mL della soluzione di Ninidrina e 0,5 mL del campione precedentemente scongelato oppure la soluzione madre 5 mM. Le diluizioni pronte vengono poi lasciate agitare in bagnetto termico a 95°C per 1h. Successivamente vengono fatte riposare per 10 minuti in acqua fredda. I campioni pronti a questo punto vengono travasati in cuvette in policarbonato. La lettura avviene ad una lunghezza d'onda pari a 520 nm attraverso spettrofotometro UV-VIS

## STATISTICA

Tutti i dati raccolti sono stati riportati su un apposito file excel e successivamente elaborati con un programma di statistica. In questo programma sono stati copiati i dati raccolti, elaborati con Anova a via singola. Questa modalità viene usata per confrontare il nostro parametro di interesse con un'unica variabile.

I parametri vengono confrontati tra loro usando il test Duncan in post-hoc (alfa = 0,05) per ottenere dei gruppi omogenei. Vengono così creati dei grafici in 2D. Per fare ciò viene adoperato il box plot (Wisker). Si ottengono così dei grafici dove è possibile notare quei dati definiti outlier ossia quei dati che si distaccano dalla media degli altri dati. Trovati questi dati, quest'ultimi vengono eliminati e viene riprodotta una nuova statistica con dei nuovi grafici, ottenendo dei dati più lineari.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

### *Morfologici*

Entry	FB shoot (g)		DB shoot (g)	
UTC, NaCl	32,63	a	2,73	a
LL004, NaCl	33,21	a	2,84	a
LL002, NaCl	33,55	a	2,32	a
LL004	44,64	b	2,83	a
UTC	45,76	b	2,77	a
LL002	45,97	b	3,07	a

Figura 5: Comparazione tra biomassa fresca delle foglie e biomassa secca

Da questi primi risultati possiamo osservare come le Catalogne che sono state trattate in assenza di sale presentano una biomassa fresca maggiore, ciò è dovuto alla mancanza di stress, ciò permette alle piante di crescere in condizioni ottimali permettendo uno sviluppo maggiore. Inoltre possiamo notare come i trattamenti non siano andati ad influire sulla biomassa mantenendo una variabilità ridotta.

Entry	FB root (g)		DB root (g)	
UTC	7,58	a	0,47	a
LL002, NaCl	7,61	a	0,48	a
LL004	7,67	a	0,45	a
UTC, NaCl	7,73	a	0,50	a
LL002	7,89	a	0,51	a
LL004, NaCl	7,99	a	0,55	a

Figura 6: Comparazione tra biomassa fresca delle radici e biomassa secca

Anche in questo caso possiamo osservare una scarsa variabilità nei dati raccolti. Ci viene difatti confermato come i biostimolanti non siano andati ad influenzare lo sviluppo delle radici della pianta.

Entry	FB shoot+root		DB shoot+root	
UTC, NaCl	32,31	a	3,22	a
LL002, NaCl	32,47	a	2,80	a
LL004, NaCl	32,65	a	3,38	a
LL004	43,59	b	3,28	a
UTC	45,28	b	3,23	a
LL002	45,89	b	3,58	a

Figura 7: Comparazione tra la somma della biomassa fresca e biomassa secca

In questa tabella abbiamo un riassunto finale delle due tabelle precedenti. Notiamo come anche in questo caso ci viene confermata la differenza tra le Catalogne che si trovano in presenza di NaCl, le quali presentano biomasse ridotte confronto alle Catalogne in assenza di NaCl.

Possiamo quindi affermare che i biostimolanti non influiscano sullo sviluppo della pianta.

Entry	% Dry shoot	
LL004	5,75	a
UTC	6,11	a
LL002	6,54	a
LL002, NaCl	7,07	ab
UTC, NaCl	8,09	bc
LL004, NaCl	8,71	c

Figura 8: Percentuale di evaporazione

In questo caso invece ci viene mostrato che le Catalogne in assenza di NaCl siano pressoché simili, mentre le tesi in presenza di NaCl presentino un variabile maggiore. Non a caso possiamo apprezzare come il biostimolante LL004 abbia aumentato il quantitativo di acqua perso, mentre il biostimolante LL002 abbia un quantitativo di acqua perso minore al LL004 e alla tesi di controllo (UTC).

### Fenotipici

Entry	SPAD	
LL004	55,81	a
UTC	57,58	ab
LL002	58,11	bc
UTC, NaCl	58,58	bc
LL002, NaCl	60,10	c
LL004, NaCl	60,13	c

Figura 9: Valori inerenti allo SPAD

Dato interessante lo ricaviamo dallo SPAD. In questo caso notiamo come le Catalogne in assenza di NaCl, quindi in assenza di uno stato di stress, presentino i valori più alti. Ciò sta a significare che in particolar modo, i biostimolanti siano andati a ridurre lo stress nelle piante, confermando la loro azione benefica a livello metabolico.

Entry	prolina mg/g FB		prolina mg/g DB	
LL004	0,11	a	2,00	a
LL002	0,12	a	1,86	a
UTC	0,13	a	2,23	a
LL004, NaCl	0,36	b	4,20	b
UTC, NaCl	0,38	bc	4,94	b
LL002, NaCl	0,44	c	6,82	c

Figura 10: Quantitativo di Prolina comparato tra biomassa fresca e secca

Con questa ultima tabella possiamo approcciarci ai dati di maggior interesse, ossia il quantitativo di Prolina. Una prima conferma ci viene fornita dalle tesi in presenza di NaCl, le quali ci confermano che in stato di stress le piante aumentino la produzione di questo metabolita. Inoltre possiamo anche apprezzare come il biostimolante fogliare abbia aumentato la Prolina prodotta, dimostrandosi il più efficace dei due. Infine possiamo anche sottolineare il come questi biostimolanti in assenza di stress non esprimano le loro potenzialità.

## CONCLUSIONE

Questa prova è stata condotta per osservare il comportamento delle piante, dopo che quest'ultime sono state sottoposte ad uno stato di stress abiotico ed in particolare dopo stress salino. Inoltre sono stati testati degli biostimolanti ad applicazione differente (uno a suolo, uno fogliare), per osservare una eventuale alterazione nel comportamento delle piante e quindi per comprendere anche il loro meccanismo d'azione. Ci si aspetta una riduzione di massa nelle piante sottoposte a stress ed uno stato di salute migliore per quelle prove che non vengono sottoposte a stress. Inoltre per quelle piante sotto stress si dovrebbe notare un aumento nella produzione della Prolina, usata per fronteggiare proprio lo stress salino.

Per i biostimolanti invece, dopo loro applicazione, si prevede una riduzione dello stato di stress per le catalogne ed un aumento della produzione del metabolita (prolina). Si riceve una confermata dalla reazione delle piante in stress, le quali aumentano la produzione di prolina, ma riducono la loro crescita. Le piante in presenza di sale presentano uno stato di salute migliore rispetto alle prove in assenza di NaCl, ciò sta a significare che i biostimolanti abbiano agito in maniera più ottimale proprio per quelle prove sotto stress, mentre in assenza di stress sembra che non esercitino la loro attività. In particolare poi è stato dimostrato come il biostimolante ad applicazione fogliare LL002 non sia andato ad alterare la fase di crescita della pianta, bensì ad agire a livello metabolico, aumentando la produzione di Prolina. Ciò ha permesso alle piante di sopravvivere in

condizioni di stress. Infatti i biostimolanti ad applicazione fogliare vengono usati soprattutto per prodotti utili a funzioni fisiologiche della pianta, quali fotosintesi, risposta agli stress abiotici e trasporto dei nutrienti. Per il biostimolante LL004 invece non sono stati registrati risultati che ci consentano di delineare la funzione di quest'ultimo. Questa tipologia di applicazione è preferibile per quei biostimolanti destinati all'incremento di crescita radicale, di assorbimento di nutrienti e di attività microbica del suolo. Possiamo quindi concludere affermando che le piante trovano sempre un modo di fronteggiare uno stato di stress fino ad un valore soglia oltre al quale la pianta non sarà più in grado di riprendersi. Un modo innovativo per aiutare le piante in queste condizioni è l'impiego di questi estratti naturali definiti biostimolanti i quali non alterano il metabolismo o la crescita di piante in condizioni standard ma bensì si attivano in caso di stress, riducendolo e facilitando una fase di ripresa per la nostra specie vegetale.



# BIBLIOGRAFIA

- László Szabados e Arnould Savouré, *Proline: a multifunctional amino acid*, in Trends in Plant Science, vol. 15, n. 2, 2010-02, pp. 89–97
- Gli stress dei vegetali: un problema planetario | ILSA GROUP
- <http://www.biostimulants.eu>
- Patrick du jardin, Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation, Scientia Horticulturae, 30 November 2015
- Michel Chauvet, *Enciclopedia delle piante alimentari, 700 specie provenienti da tutto il mondo, 1700 disegni*, Belin, 2018
- Francois Couplan, Eva Styner, *Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques*, Delachaux et Niestlé, 1994
- Roberto Chej, *Piante medicinali*, Milano, Arnoldo Mondadori Editore, 1982.
- [honortestequipment.com](http://honortestequipment.com)
- Zulini Luca, Vecchione Antonella, Studio della correlazione tra il contenuto di clorofilla e l'indice SPAD in foglie di vite, 2012
- Michel Chauvet, *Enciclopedia delle piante alimentari, 700 specie provenienti da tutto il mondo, 1700 disegni*, Belin, 2018
- Roberto Chej, *Piante medicinali*, Milano, Arnoldo Mondadori Editore, 1982.