



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

**I biostimolanti:  
caratteristiche generali e applicazioni nella melicoltura**

*Biostimulants:  
characteristics and applications in apple growing*

TIPO TESI: compilativa

Studente:  
FEDERICO MAMMARELLA

Relatore:  
PROF. FRANCO CAPOCASA

ANNO ACCADEMICO 2020-2021

# SOMMARIO

SOMMARIO .....	
ELENCO DELLE FIGURE .....	
INTRODUZIONE .....	
CAPITOLO 1 LA STORIA DEI BIOSTIMOLANTI.....	1
CAPITOLO 2 INQUADRAMENTO NORMATIVO.....	2
2.1 Definizione di biostimolante per le piante.....	2
2.2 Inquadramento normativo europeo.....	2
CAPITOLO 3 CLASSIFICAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI .....	12
3.1 Acidi umici e fulvici .....	12
3.2 Idrolizzati proteici e altri composti contenenti azoto.....	14
3.3 Estratti di alghe marine e botaniche.....	15
3.4. Chitosano e altri biopolimeri.....	18
3.5 Composti inorganici.....	20
3.6 Funghi benefici .....	22
3.7 Batteri benefici.....	24
CAPITOLO 4 APPLICAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI NELLA MELICOLTURA .....	26
4.1 La coltivazione del melo in Italia.....	26
4.2 Caratteristiche generali del melo.....	26
4.3 Effetto dei biostimolanti sulla qualità dei frutti di melo in raccolta e in post raccolta	29
4.3.1 <i>Introduzione</i> .....	29
4.3.2 <i>Descrizione della prova sperimentale</i> .....	29
4.3.3 <i>Metodologia sperimentale e materiale utilizzato</i> .....	31
4.3.4 <i>Risultati della sperimentazione</i> .....	32
4.3.5. <i>Conclusioni</i> .....	36
4.4 Utilizzo degli estratti di alghe per la mitigazione dell'alternanza di produzione.....	37
4.4.1 <i>Introduzione</i> .....	37
4.4.2 <i>Materiale e metodi</i> .....	38

4.4.3 Risultati della sperimentazione.....	38
4.4.4 Conclusioni .....	42
4.5 Effetti dei biostimolanti in vivaio sulla crescita di astoni di melo in vivaio .....	43
4.5.1 Introduzione .....	43
4.5.2. Materiali e metodi.....	44
4.5.3 Risultati della sperimentazione.....	45
4.5.4. Conclusioni .....	47
CONCLUSIONI .....	48
BIBLIOGRAFIA .....	50
RINGRAZIAMENTI .....	53

## ELENCO DELLE FIGURE

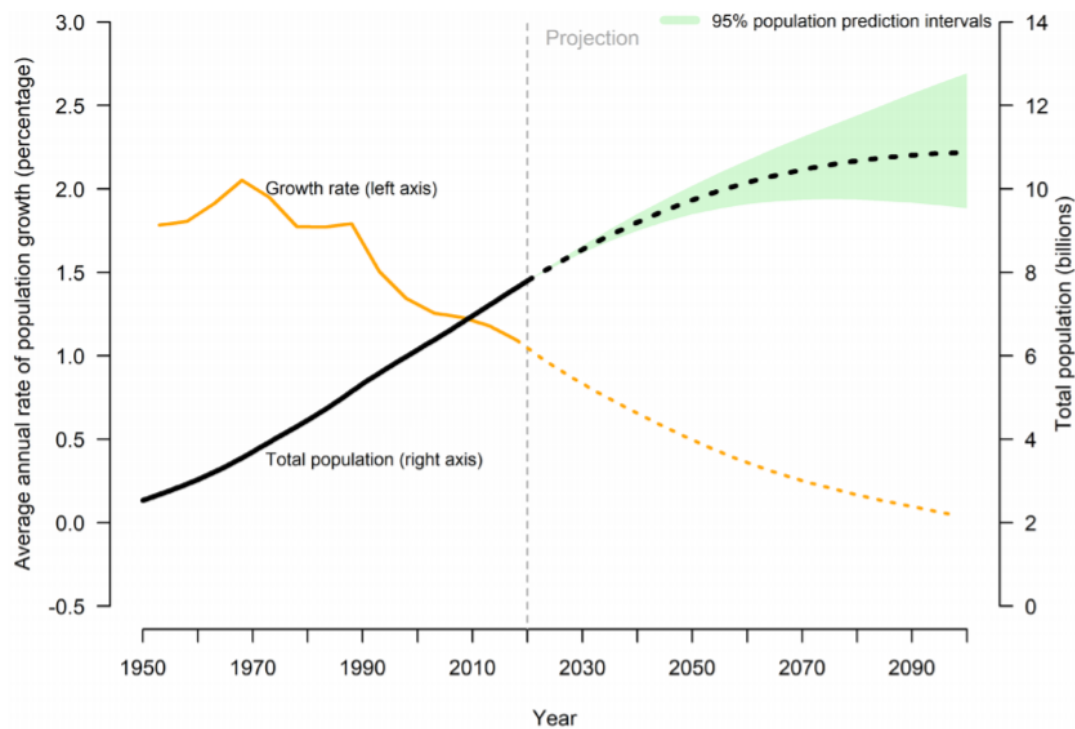
Figura 1.- Previsioni di aumento demografico mondiale.....	5
Figura 2. I Limiti massimi della presenza di patogeni in un biostimolante microbico. ....	5
Figura 3. I Limiti massimi della presenza di patogeni in un biostimolante non microbico. .....	5
Figura 4. Allegato 2 decreto 6793 del 18/07/18.....	7
Figura 5 Allegato 6 D.Lgs. 75/2010 .....	10
Figura 6. Schema del processo di colonizzazione delle radici da parte dei funghi micorrizici .....	23
Figura 7. Schema dei principali processi di scambio di nutrienti derivanti dall'attività simbiotico.....	24
Figura 8 meli Jonathan/M9 di cinque anni.....	30
Figura 9. Alberi di melo cv Jonathan di 42 anni innestati su franco.....	30
Figura 10. Sviluppo di macchie nei frutti di melo cv. Jonathan affetto dalla fisiopatia 'butteratura amara' .....	32
Figura 11. Effetto dei biostimolanti sul numero di frutti per pianta .....	33
Figura 12. Aumento della colorazione rossa a seguito all'applicazione di alghe .....	34
Figura 13 Effetto dei biostimolanti sul contenuto di rame e zinco nelle mele .....	35
Figura 14. Incidenza della fisiopatia "butteratura amara".....	36
Figura 15. Crescita vegetativa in meli interessati da quattro diversi trattamenti.....	44
Figura 16. contenuto di clorofilla presente nelle foglie in base ai differenti trattamenti effettuati.....	45
Figura 17. Comportamento dell'allegagione e ritorno della fioritura in meli sottoposti a quattro diversi trattamenti.....	46
Figura18. Effetto dei diversi trattamenti sui principali parametri che caratterizzano la qualità del frutto.....	47
Figura19. Parametri di crescita di meli sottoposti a differenti trattamenti.....	51
Figura 20 Parametri fisiologici dei meli a seconda del trattamento e della cultivar. ....	47

## INTRODUZIONE

Sin dall'inizio dei tempi, con la metamorfosi dell'uomo da nomade a sedentario mediante la scoperta dell'agricoltura e dell'allevamento, l'essere umano ha cercato sempre di più di ottimizzare quelle che sono le rese produttive.

Si è passato così a scoprire differenti tipologie di tecniche colturali, l'adozione di colture utilizzate in modo intensivo, la selezione sempre più spinta dal punto di vista del miglioramento genetico etc.. tutto questo fino ad arrivare alla realtà odierna dove possiamo definire il comparto agricolo altamente specializzato.

Questo però ad oggi non basta in quanto siamo tutti a conoscenza dell'enorme fabbisogno mondiale di cibo e, sappiamo anche che l'aumento repentino dell'urbanizzazione (secondo i dati ONU (del 14/02/2020), la popolazione arriverà a circa 11-12 miliardi entro la fine del secolo rispetto alle attuali 7,7 miliardi (figura 1) porterà in maniera diretta a un aumento dei fabbisogni alimentari e in contemporanea la diminuzione delle superfici agricole coltivabili.



Data source: United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2019). *World Population Prospects 2019*.

**Figura 1.- Previsione aumento demografico mondiale (ONU)**

Sappiamo già che ad oggi le risorse alimentari scarseggiano; infatti, secondo l'ultima pubblicazione redatta dalla FAO (23/03/2021); si afferma che nel mondo ci sono circa 34 milioni di persone che si trovano in condizioni di fame acuta e questo fenomeno tenderà sempre di più ad incrementare.

Tutte queste problematiche devono essere risolte andando ad aumentare i quantitativi di cibo messi a disposizione dell'intera umanità.

Tale obiettivo può essere soddisfatto in due modi: DIMINUENDO GLI SPRECHI ALIMENTARI ma soprattutto AUMENTANDO LE PRODUZIONI; quest'ultimo punto può essere soddisfatto solo mediante una continua ricerca e innovazione nel comparto agricolo.

Queste condizioni però devono essere soddisfatte andando a rispettare i sottili equilibri naturali senza aumentare l'impatto ambientale (il quale ad oggi rappresenta un problema importante) che l'agricoltura ha nei confronti di tutto ciò che ci circonda.

L'innovazione in campo agronomico è divisa in differenti comparti, ad oggi, uno di questi (tra i più innovativi) è quello dei BIOSTIMOLANTI.

# Capitolo 1

## LA STORIA DEI BIOSTIMOLANTI

I biostimolanti, anche se innovativi, vennero individuati in ambito scientifico in tempi remoti; in particolare negli anni 30 del 20° secolo da un medico russo V.P. Filatov il quale introdusse la teoria che “i materiali biologici derivanti da vari organismi, piante incluse, se esposti a condizioni sfavorevoli ma non letali, influirebbero sui processi metabolici ed energetici di esseri umani, animali e piante”.

I primi studi sulle piante, vennero fatte da Blagoveshchensky negli anni 50; il quale studiò in particolar modo gli acidi organici, vedendo il loro effetto stimolante che consisteva in un aumento dell'attività enzimatica nelle piante.

Gli studi continuarono grazie a Zahang e Schmidt; i quali definirono i biostimolanti come “sostanze che usate in minime quantità promuovono la crescita delle piante”.

I biostimolanti però non vennero chiamati inizialmente in questa maniera, bensì presero il nome riduttivo di “prodotti contenenti ormoni”.

Le sperimentazioni riguardarono l'impiego di acidi umici e di alghe nei confronti di tappeti erbosi per superare gli stress abiotici in particolar modo quelli derivanti dalla siccità.

Nel 2007 Kauffman riprese gli studi di Zahanh e Schidt e andò a classificare questi “prodotti contenenti ormoni” utilizzando per la prima volta il termine biostimolante e classificandoli in 3 grandi gruppi: prodotti contenenti ormoni (HS), prodotti contenenti sostanze umiche (HCP) e prodotti contenenti amminoacidi (AACP). Successivamente si è visto che questa azione biostimolante veniva ad essere svolta anche da batteri e funghi, quindi venne ad essere introdotto anche il gruppo di PGRP (plant growth- promoting rhizobacteria).

Nel 2012 Patrick Du Jardin si occupò di dare una prima definizione e classificazione: “I biostimolanti sono sostanze e materiali con l'eccezione di nutrienti e pesticidi, che quando applicati alla pianta, semi o substrato di crescita in formulazioni specifiche hanno la capacità di modificare i processi fisiologici delle piante migliorando la crescita, lo sviluppo e/o la risposta agli stress.” (Mariani, 2019).

## Capitolo 2

# INQUADRAMENTO NORMATIVO

### 2.1 Definizione di biostimolante per le piante.

La parola “biostimolante” è stata coniata per la prima volta per descrivere una serie di sostanze che promuovono la crescita non appartenenti alla categoria dei nutrienti, ammendanti o agrofarmaci. Questa definizione venne data da Du Jardin nel 2012. (Du Jardin., 2012)

Questa definizione venne ad essere presa in considerazione nel momento in cui l’UE ha dovuto stilare il nuovo regolamento (UE) 2019/1009, infatti, dal punto di vista legislativo un biostimolante viene ad essere definito come: *“un prodotto fertilizzante dell’UE con la funzione di stimolare i processi nutrizionali delle piante indipendentemente dal tenore di nutrienti di un prodotto, con l’unico obiettivo di migliorare una o più delle seguenti caratteristiche delle piante o della rizosfera: a) efficienza dell’uso di nutrienti; b) tolleranza allo stress abiotico; c) caratteristiche qualitative; o d) disponibilità di nutrienti contenuti nel suolo o nella rizosfera.”* (Reg. (UE) 2019/1009).

### 2.2 Inquadramento normativo europeo

Oggi giorno nei paesi facente parte dell’UE vige ancora il REGOLAMENTO (CE) del 2003/2003 inerente al settore dei fertilizzanti. Questo regolamento però ad oggi viene considerato obsoleto per una serie di motivi:

- 1) Il regolamento in vigore riguarda solo ed esclusivamente i fertilizzanti prodotti con materiali inorganici.

Questo è un grande limite perché oggi l’utilizzo di fertilizzanti organici sono molto frequenti e la loro diffusione sta subendo un incremento in maniera esponenziale. Per fortuna, queste sostanze sono regolamentate da specifiche norme di carattere nazionale.

- 2) Dal punto di vista della sicurezza, la normativa in attuale, non prevede limiti relativi all’eventuale presenza di sostanza indesiderate come, ad esempio, i metalli pesanti.



- 3) L'ultimo punto riguarda il processo tecnologico in quanto questo regolamento, permette la commercializzazione dei prodotti una volta aver individuato la cosiddetta "denominazione di tipo".

Questo approccio richiede molto tempo per la valutazione dei nuovi tipi di prodotti per includerli negli allegati del regolamento preso in questione; questo porta ad avere un rallentamento dell'immissione sul mercato di nuove sostanze per la fertilizzazione.

Tutte queste serie di problematiche hanno portato alla necessità di creare un nuovo riferimento normativo in ambito europeo; così è stato creato il REGOLAMENTO (UE) 2019/1009, il quale è entrato in vigore il 15 luglio 2019 e raggiungerà la sua piena applicazione il 16 luglio 2022 e che abrogherà il regolamento precedentemente nominato.

Con il nuovo regolamento, il legislatore ha modificato l'approccio normativo; in quanto questo non sarà più basato sulla denominazione del tipo, ma sul rispetto delle prescrizioni in termini di qualità, sicurezza ed etichettatura. Questo è stato fatto per dare la possibilità ai differenti produttori europei di utilizzare la marcatura "CE" in etichetta.

Questo nuovo regolamento rappresenta un punto di arrivo importante in quanto ha permesso sia di riconoscere questa categoria di prodotti (che sono sempre più utilizzati e prodotti) ma ha creato un confine tra i biostimolanti e i fertilizzanti o gli agrofarmaci.

Bisogna dire inoltre, questo testo, è stato fatto al passo con i tempi se andiamo a prendere in considerazione le norme vigenti in ambito extra-europeo. Infatti, la prima nazione che ha redatto una normativa in tema di biostimolanti sono stati gli USA nel 2018 (FARM BILL, 2018).

La creazione di tale testo, è stato fatto dall'apposita commissione europea ai quali hanno collaborato importanti esponenti in ambito internazionale ma soprattutto l'EBIC (European Biostimulant Industry Council) ovvero un'associazione costituita dalle principali industrie produttrici di biostimolanti vegetali che è stata costituita nel 2011.

L'EBIC ha l'obiettivo di:

- a) Creare un vero e proprio mercato europeo di biostimolanti ad uso agronomico.
- b) Assicurare un quadro normativo che garantisca agli agricoltori che i biostimolanti immessi sul mercato siano efficaci, sicuri e redditizi.
- c) Favorire la domanda di biostimolanti per le colture.
- d) Definire una chiara differenza tra un prodotto biostimolante e un prodotto fitosanitario.

- e) Far sì che le aziende che ne fanno parte rispettino un codice deontologico e di condotta sul loro operato e sul modo con cui pubblicizzano i propri prodotti.

Bisogna dire infine, che a questa associazione appartengono molte aziende italiane (le quali rappresentano un valore aggiunto molto importante per tutto il paese) che si occupano di ricerca e sviluppo di nuovi prodotti.

Il nuovo REGOLAMENTO (UE) 2019/1009 è costituita da cinque allegati:

- 1) L'allegato 1 è relativo alle "PFC product function categories" (categorie funzionali di prodotto) dove vi sono inseriti le diverse tipologie di prodotti fertilizzanti (concimi; ammendanti; biostimolanti).

Per ciascuna categoria, sono definiti i requisiti qualitativi.

In questo allegato sostanzialmente viene ad essere data la definizione di biostimolante (riportata nel cap. 3.1.); vengono ad essere indicati i quantitativi massimi di agenti contaminanti che possono essere presenti nei differenti composti e viene ad essere effettuata una macro-classificazione dei biostimolanti.

In particolar modo, queste sostanze vengono ad essere classificate in:

- **Biostimolante microbico delle piante:** appartiene alla classificazione PFC6 (A); questa categoria viene ad essere definita come " un prodotto che può contenere microrganismi, ivi compresi microrganismi morti o costituiti da cellule vuote, ed elementi residui innocui dei mezzi in cui si sono sviluppati, che a) non abbiano seguito trattamenti diversi dalla liofilizzazione e che b) siano riportati nella seguente tabella: *Azotobacter spp.*; *funghi micorrizici*; *Rhizobium spp.*; *Azospirillum spp.*

Nella normativa riguardante questa categoria viene ad essere anche indicato i limiti dal punto di vista della presenza di determinati patogeni. (figura. 2)

Microorganismi/loro tossine, metaboliti	Piani di campionamento		Limite
	N	c	
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	Assente in 25 g o 25 ml
<i>Escherichia coli</i>	5	0	Assente in 1 g o 1 ml
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Assente in 25 g o 25 ml
<i>Vibrio</i> spp.	5	0	Assente in 25 g o 25 ml
<i>Shigella</i> spp.	5	0	Assente in 25 g o 25 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	Assente in 25 g o 25 ml
Enterococcaceae	5	2	10 UFC/g
Conteggio anaerobico in piastra a meno che il biostimolante microbico delle piante sia un batterio aerobico	5	2	10 <sup>3</sup> UFC/g o ml
Conteggio dei lieviti e delle muffe a meno che il biostimolante microbico delle piante sia un fungo	5	2	1 000 UFC/g o ml

dove:

n = numero di unità che costituiscono il campione,

c = numero di unità campionarie i cui valori sono superiori al limite definito.

**Figura 2. Limiti massimi della presenza di patogeni in un biostimolante microbico. (regolamento (ue) 2019/1009)**

- **Biostimolante non microbico delle piante:** appartiene alla classificazione PFC6 (B); a questa categoria appartengono tutti biostimolanti non appartenenti alle PFC6 (A).

Anche in questa normativa vengono ad essere anche indicati i limiti dal punto di vista della presenza di determinati patogeni. (figura 3)

Microorganismi da sottoporre a prova	Piani di campionamento			Limite
	n	c	m	
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0	Assente in 25 g o 25 ml
<i>Escherichia coli</i> o Enterococcaceae	5	5	0	1 000 in 1 g o 1 ml

dove:

n = numero di campioni da sottoporre a prova,

c = numero di campioni il cui numero di batteri, espresso in UFC, è compreso tra m e M,

m = valore soglia per il numero di batteri, espresso in UFC, che è considerato soddisfacente,

M = valore massimo del numero di batteri, espresso in UFC.

**Figura 3. Limiti massimi della presenza di patogeni in un biostimolante non microbico. (regolamento (ue) 2019/1009)**

- 2) L'allegato 2 è relativo alle "CMC component material categories" (categorie di materiali costituenti); dove vi sono indicati tutti i differenti materiali e le sostanze che

vengono ad essere usati come componenti per la fabbricazione dei prodotti fertilizzanti; per ciascun componente vengono ad essere indicati: Requisiti specifici in termini di qualità, sicurezza e rispetto delle altre normative comunitarie vigenti; vengono ad essere indicati se questi materiali o sostanze rientrano in altri quadri legislativi.

In questa normativa, vengono ad essere identificati le differenti tipologie di categorie di materiali:

- CMC 1: Sostanze e miscele a base di materiale grezzo
- CMC 2: Piante, parti di piante o estratti di piante
- CMC 3: Compost
- CMC 4: Digestato di colture fresche
- CMC 5: Digestato diverso da quello di colture fresche
- CMC 6: Sottoprodotti dell'industria alimentare
- CMC 7: Microrganismi
- CMC 8: Polimeri nutrienti
- CMC 9: Polimeri diversi dai polimeri nutrienti
- CMC 10: Prodotti derivati ai sensi del regolamento (CE) n. 1069/2009
- CMC 11: Sottoprodotti ai sensi della direttiva 2008/98/CE

3) L'allegato 3 è relativo all'etichettature e alle tolleranze.

Qui vengono ad essere descritti i criteri con il quale deve essere costituita l'etichetta di un qualsiasi formulato e quali sono gli scostamenti consentiti tra i valori dichiarati e i valori reali.

Per quanto riguarda i biostimolanti, l'etichetta deve riportare:

- a) Forma fisica
  - b) Data di produzione e data di scadenza
  - c) Metodi di applicazione
  - d) Effetto dichiarato per ogni bersaglio
  - e) Qualsiasi istruzione pertinente all'efficacia del prodotto, comprese le varie pratiche agronomiche che favoriscono l'azione del composto in questione.
  - f) Incompatibilità con altre sostanze
  - g) La dimensione degli ugelli irroratori
  - h) La pressione dell'irroratrice
- 4) L'allegato 4 è relativo alle procedure di valutazione della conformità.

In questo allegato sono presenti i differenti moduli che le aziende produttrici devono compilare per far sì che avvenga una valutazione da parte degli enti europei responsabili dell'immissione di nuovi prodotti all'interno del mercato.

5) Nell'allegato 5 viene ad essere riportato un fac-simile della dichiarazione UE di conformità che dovrà accompagnare il prodotto, una volta ottenuto il marchio (CE).

Nel REGOLAMENTO (UE) 2019/1009 viene ad essere preso in considerazione anche altre tipologie di sostanze biologicamente attive che però non appartengono alla classe dei biostimolanti; c'è un cenno, infatti, sui corroboranti e sugli induttori di resistenza.

Per corroborante, infatti, si intende un prodotto che di origine naturale che migliora la resistenza delle piante nei confronti degli organismi nocivi, proteggendo da danni non provocati da parassiti.

Nel 18 luglio 2018, mediante il decreto n. 6793 sull'agricoltura biologica, il ministero delle politiche agricole, alimentari e forestali e del turismo italiano, nell'allegato 2, ha ufficializzato l'elenco di 14 corroboranti utilizzabili in agricoltura. (fig. 4)

Denominazione della tipologia di prodotto	Descrizione, composizione quali-quantitativa e/o formulazione commerciale	Modalità e precauzioni d'uso
1. Propolis	È il prodotto costituito dalla raccolta, elaborazione e modificazione, da parte delle api, di sostanze prodotte dalle piante. Si prevede l'estrazione in soluzione acquosa od idroalcolica od oleosa (in tal caso emulsionata esclusivamente con prodotti presenti in questo allegato). L'etichetta deve indicare il contenuto in flavonoidi, espressi in galangine, al momento del confezionamento. Rapporto percentuale peso/peso o peso/volume di propoli sul prodotto finito.	
2. Polvere di pietra o di roccia	Prodotto ottenuto tal quale dalla macinazione meccanica di vari tipi di rocce, la cui composizione originaria deve essere specificata.	Esente da elementi inquinanti
3. Bicarbonato di sodio	Il prodotto deve presentare un titolo minimo del 99,5% di principio attivo.	
4. Gel di silice	Prodotto ottenuto dal trattamento di silicati amorfi, sabbia di quarzo, terre diatomacee e similari.	
5. Preparati biodinamici	Preparazioni previste dal regolamento CE n. 834/07, art. 12, lettera c.	
6. Oli vegetali alimentari (arachide, cartamo, cotone, girasole, lino, mais, olivo, palma da cocco, senape, sesamo, soia, vinacciolo, argan, avocado, semi di canapa <sup>(1)</sup> , borragine, cumino nero, enotera, mandorlo, macadamia, nocciolo, papavero, noce, riso, zucca.)	Prodotti ottenuti per spremitura meccanica e successiva filtrazione e diluizione in acqua con eventuale aggiunta di co-formulante alimentare di origine naturale. Nel processo produttivo non intervengono processi di sintesi chimica e non devono essere utilizzati OGM. L'etichetta deve indicare la percentuale di olio in acqua. È ammesso l'impiego del Polisorbato 80 (Tween 80) come emulsionante. <sup>(1)</sup> L'olio di canapa deve derivare esclusivamente dai semi e rispettare quanto stabilito dal reg. (CE) n. 1122/2009 e dalla circolare del Ministero della salute n. 15314 del 22 maggio 2009.	
7. Lecitina	Il prodotto commerciale per uso agricolo deve presentare un contenuto in fosfolipidi totali non inferiore al 95% ed in fosfatidilcolina non inferiore al 15%	
8. Aceto	Di vino e frutta.	
9. Sapone molle e/o di Marsiglia	Utilizzabile unicamente tal quale	
10. Calce viva	Utilizzabile unicamente tal quale	
11. Estratto integrale di castagno a base di tannino	Prodotto derivante da estrazione acquosa di legno di castagno ottenuto esclusivamente con procedimenti fisici. L'etichetta deve indicare il contenuto percentuale in tannini.	
12. Soluzione acquosa di acido ascorbico	Prodotto derivante da idrolisi enzimatica di amidi vegetali e successiva fermentazione. Il processo produttivo non prevede processi di sintesi chimica e nella fermentazione non devono essere utilizzati OGM. Il prodotto deve presentare un contenuto di acido ascorbico non inferiore al 2%.	Il prodotto è impiegato esclusivamente in post-raccolta su frutta e ortaggi per ridurre e ritardare l'imbrunimento dovuto ai danni meccanici.
13. Olio vegetale trattato con ozono	Prodotto derivato dal trattamento per insufflazione con ozono di olio alimentare (olio di oliva e/o olio di girasole)	Trattamento ammesso sulla coltura in campo
14. Estratto glicolico a base di flavonoidi	Prodotto derivato dalla estrazione di legname non trattato chimicamente con acqua e glicerina di origine naturale. Il prodotto può contenere lecitina (max 3%) non derivata da OGM quale emulsionante	Trattamento ammesso sulla coltura in campo

**Figura 4. Allegato 2 decreto 6793 del 18/07/18**

Gli induttori di resistenza vengono ad essere invece definiti come prodotti al limite tra i fitoregolatori e prodotti fitosanitari. L'utilizzo di questi prodotti porta ad un aumento della resistenza che può essere localizzata o sistemica.

Questi composti vengono generalmente distribuiti nella parte aerea e scatenano meccanismi biochimici in grado di conferire una maggiore tolleranza a determinati patogeni.

Al momento però, non ancora si è riusciti a stilare un elenco dettagliato di questi prodotti.

È molto importante dire che prima della creazione del REGOLAMENTO (CE) 2019/1009, le normative inerenti ai biostimolanti venivano ad essere redatti dalle singole nazioni.

### **2.3 Inquadramento normativo in Italia**

I biostimolanti per uso agricolo rientrano in Italia nella classificazione dei "fertilizzanti" e sono normati mediante il decreto legislativo n75 del 29 aprile 2010 (D. Lgs. 75/2010).

Questi prodotti appartengono alla categoria "prodotti ad azione specifica" e vengono ad essere definiti come "prodotti che aggiunti ad un altro fertilizzante o al suolo o alla pianta, i quali favoriscono o regolano l'assorbimento degli elementi nutritivi o correggono determinate anomalie di tipo fisiologico"

Tutti i prodotti ad azione biostimolante vengono riportati nell'allegato 6 del suddetto decreto. (Figura 5)

N.	Denominazione del tipo	Modo di preparazione e componenti essenziali	Titolo minimo in elementi e/o sostanze utili. Criteri concernenti la valutazione. Altri requisiti richiesti	Altre indicazioni concernenti la denominazione e del tipo	Elementi e/o sostanze utili il cui titolo deve essere dichiarato. Caratteristiche diverse da dichiarare. Altri requisiti richiesti	Note
1	2	3	4	5	6	7
1.	Idrolizzato proteico di erba medica	Prodotto ottenuto per idrolisi enzimatica di un estratto proteico di erba medica a base di amminoacidi e peptidi	15% C organico 4,5% N organico 28% amminoacidi totali 3,5% amminoacidi liberi	---	C organico N organico Amminoacidi totali Amminoacidi liberi	Il rapporto (Alanina + Glicina)/(Prolina + acido glutammico) non deve discostarsi sensibilmente dall'unità.
2.	Epitelio animale idrolizzato (solido o fluido)	Residui di epitelio animale provenienti da concerie e da macelli, idrolizzati con acidi minerali	4% N Azoto valutato come azoto organico di cui almeno 1% azoto organico solubile 15% C organico Rapporto C/N: non superiore a 6	---	Azoto organico Azoto organico solubile C organico Rapporto C/N	Peso molecolare medio degli idrolizzati proteici. Rapporto glicina/(prolina+idrossiprolina)=1,1 Grado di idrolisi sul secco > 330 Amminoacidi liberi > 10%
3.	Estratto liquido di erba medica, alghe e melasso	Prodotto ottenuto per reazione tra l'estratto di erba medica, l'estratto di alghe <i>Ascophyllum nodosum</i> e il melasso di barbabietola	Azoto organico 1% Carbonio organico 10% Ossido di potassio 6% Betaine (Sommatore di glicina betaina + betaina dell'acido $\gamma$ -amminobutirrico + betaina dell'acido $\delta$ -amminovalerico) 1%	---	Azoto organico Carbonio organico Ossido di potassio Betaine	Il prodotto favorisce l'assorbimento degli elementi nutritivi
4.	Estratto solido di erba medica, alghe e melasso	Prodotto ottenuto per reazione tra l'estratto di erba medica, l'estratto di alghe <i>Ascophyllum nodosum</i> e il melasso di barbabietola	Carbonio organico 2% Ossido di potassio 1,5% Betaine (Sommatore di glicina betaina + betaina dell'acido $\gamma$ -amminobutirrico + betaina dell'acido $\delta$ -amminovalerico) 0,2%	---	Carbonio organico Ossido di potassio Betaine	Il prodotto favorisce l'assorbimento degli elementi nutritivi
5.	Estratto acido di alghe della Famiglia "Fucales"  (segue)	Prodotto ottenuto per estrazione di alghe della Famiglia "Fucales" in soluzione acquosa acida.	Sostanza secca: 4-9% pH 5,0-7,0 4% C organico sul secco 1% N organico sul secco 2% K <sub>2</sub> O sul secco 2% SO <sub>3</sub> sul secco 5,5% Glicina-betaina	---	Sostanza secca pH C organico sul secco N organico sul secco K <sub>2</sub> O sul secco SO <sub>3</sub> sul secco Glicina-betaina sul secco Isopenteniladenina e suoi derivati sul secco	Il prodotto presenta proprietà biostimolanti

	Estratto acido di alghe della Famiglia "Fuciales"		sul secco 0,06 mg/kg Isopenteniladenina e suoi derivati sul secco			
6.	Inoculo di funghi micorrizici	Riproduzione in condizioni di sterilità di inoculi di funghi endomicorrizici su radici di sorgo, in substrato formato da ammendante organico e da batteri della rizosfera	(1) Funghi endomicorrizici i capaci di formare punti di ingresso nelle radici della pianta ospite $\geq 30\%$ (2) Batteri ( <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Streptomyces</i> sp.) $\geq 5 \times 10^6$ unità formanti colonie	---	Matrice organica, micorrize, batteri della rizosfera, trichoderma	Il prodotto non deve contenere organismi geneticamente modificati ed organismi patogeni quali salmonella, coliformi fecali, mesofili aerobici e uova di nematodi

**Figura 5 Allegato 6 D.Lgs. 75/2010**

Il decreto in questione non si occupa solo di classificare i differenti prodotti ma anche a indicare i criteri di commercializzazione e vigilanza sul mercato.

In particolare, vi è indicato che i prodotti immessi sul mercato non devono rappresentare nessun rischio per l'ambiente o la pubblica sicurezza; i controlli vengono ad essere effettuati seguendo il regolamento europeo (REGOLAMENTO n 2003/2003 e il REGOLAMENTO n 2019/1009) e italiano (D. Lgs. 75/2010).

È molto importante dire che la clausola di salvaguarda nominata nell'articolo 5, dà la possibilità allo stato italiano di vietare la commercializzazione di un determinato prodotto, purché tale decisione venga ad essere motivata in commissione europea.

La legislazione italiana, prevede che le misure di controllo vengano ad essere attuate dall'ICQRF (ispettorato centrale della tutela della qualità e della repressione delle frodi dei prodotti agroalimentari), che fa capo al ministero delle politiche agricole alimentari, forestali.

Il non rispetto delle norme, prevede una sanzione amministrativa pecuniaria.

Il D.Lgs 75/2010 offre attenzione anche alla tracciabilità dei prodotti, infatti il fabbricante prima dell'immissione in commercio di un prodotto, deve effettuare richiesta di iscrizione al registro dei fabbricanti e deve iscrivere il prodotto da commercializzare nel "registro dei fertilizzanti" che è stato creato dal Mipaaf. In passato tale richiesta veniva ad essere effettuato



mediante una modulistica cartacea mentre ad oggi, tutto questo viene ad essere effettuato via telematica.

Il registro dei fertilizzanti ad oggi è consultabile online attraverso il SIAN (sistema informativo agricolo nazionale); questo permette di raccogliere svariate informazioni su tutti i prodotti commercializzati in Italia andando ad individuare informazioni specifiche sul prodotto ma anche sul suo fabbricante.

## Capitolo 3

### CLASSIFICAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI

La classificazione dei biostimolanti non viene ad essere effettuata prendendo in considerazione la modalità di azione, bensì la suddivisione avviene in base alle tipologie di materiali di cui sono costituiti. (Ciavatta et al.,2019)

#### 3.1 Acidi umici e fulvici

Le sostanze umiche (HS) sono costituenti naturali del suolo e rappresentano quella parte di materia organica che deriva dalla decomposizione di residui animali, vegetali, microbici ma anche derivanti dall'attività metabolica di microrganismi presenti all'interno del suolo.

Queste vengono ad essere classificate in base ai pesi molecolari, alla solubilità e al loro contenuto di acidi umici e fulvici.

Per quanto riguarda gli HS, bisogna dire che tanto minore sarà il peso molecolare e tanto maggiore sarà la velocità di assorbimento all'interno delle cellule della pianta (in quanto questo avverrà mediante un meccanismo di trasporto attivo). Questo non significa però che un buon formulato biostimolante debba contenere solo HS a basso peso molecolare ma bensì dobbiamo avere un buon rapporto tra acidi umici ad alto e basso peso molecolare.

Questi composti mostrano un'attività di associazione / dissociazione nei confronti dei colloidi presenti nel terreno. Il tipo di interazione viene ad essere influenzato dalle radici delle piante mediante il rilascio di protoni ed essudati.

Per ottenere buoni risultati mediante l'utilizzo di queste sostanze, bisogna fare sì che tali interazioni siano ottimali.

Numerose sperimentazioni, hanno dimostrato che l'impiego di HS può portare anche a risultati sorprendenti dal punto di vista dell'aumento del residuo secco, infatti sono stati osservati incrementi pari al  $22 \pm 4\%$  per germogli e del  $21 \pm 6\%$  per le radici.

Questi risultati possono subire delle mitigazioni in base a differenti variabili come: alla fonte di HS; alle condizioni ambientali, alla dose di applicazione, alla tipologia di impianto, alla tipologia di specie e alla fase fenologica di somministrazione.

Le fonti di approvvigionamento di HS sono molteplici, infatti possono derivare da:

- 1) estratti da materia organica umidificata naturalmente (ad es. da terreni di torba o vulcanici)
- 2) compost o vermicompost
- 3) da depositi minerali (leonardite, una forma di ossidazione della lignite)
- 4) sottoprodotti agricoli che vengono ad essere decomposti o mediante compostaggio naturale oppure tramite processi ossidativi.

Le sostanze umiche contribuiscono alla fertilità del suolo agendo su fattori fisici, fisico-chimici e sulle proprietà chimiche e biologiche del suolo.

Entrando nello specifico, le HS agiscono:

- **migliorando la nutrizione a livello radicale;** questo viene ad essere effettuato attraverso differenti meccanismi quali:
  - 1) aumento della capacità di scambio cationico in modo tale da aumentare anche i quantitativi di macro e micronutrienti assimilabili.
  - 2) stimolazione della H<sup>+</sup>-ATP sintetasi della membrana plasmatica che permette di aumentare l'entità di importazione di nitrati e altri nutrienti mediante la conversione dell'energia libera rilasciata dall'idrolisi dell'ATP in un potenziale elettrochimico transmembrana.
- **Influenzando il pompaggio di protoni:** questo avviene mediante l'azione dell'ATPasi presente nella membrana plasmatica che portano ad un allentamento della parete cellulare con consecutivo allargamento cellulare e quindi una maggiore crescita degli organi.
- **Miglioramento della respirazione;** in quanto abbiamo una maggiore fornitura di carbonio ai substrati.
- **Effetti ormonali:** in questi prodotti sono contenuti gruppi funzionali che inducono alle piante tali effetti.
- **Aumentando la resistenza agli stress:** in particolare, queste sostanze interferiscono nel metabolismo del felilpropanide provocandone un aumento. Questo porta ad un aumento della produzione di composti fenolici che sono coinvolti nel metabolismo secondario e in un'ampia gamma di risposte allo stress.

Questi prodotti in genere vengono applicati mediante somministrazione fogliare o fertirrigazione in quanto vanno ad esplicare le loro funzioni a livello della rizosfera. (Du Jardin, 2015)

### 3.2 Idrolizzati proteici e altri composti contenenti azoto

Gli idrolizzati proteici sono costituiti da peptidi a catena più o meno lunga e L-amminoacidi liberi; questi sono molecole formate da amminoacidi legati tra loro (mediante legame peptidico) in modo tale da andare a formare una catena costituita da un numero più o meno elevato; in base al numero di aminoacidi ad esso legato, possiamo avere dei glicopeptidi o dei polipeptidi.

La qualità di queste sostanze dipende da come sono costituiti e qual è il processo d'idrolisi per la produzione di questi biostimolanti; tale produzione può avvenire per

- Idrolisi chimica: viene ad essere effettuata mediante un agente chimico ad elevata temperatura e a pH alcalino o acido;
- Idrolisi enzimatica: viene ad essere effettuata mediante l'utilizzo di enzimi, bassa temperatura e pH prossimi alla neutralità;
- idrolisi mista: che prevede l'utilizzo di entrambe le tecniche in successione.

Le differenti tipologie di tecniche di idrolisi e la natura della materia prima, conferiscono differenti caratteristiche al biostimolante.

I prodotti di partenza da cui si ottengono i biostimolanti sono:

- sottoprodotti agroindustriali,
- fonti vegetali (residui colturali)
- residui animali (ad es. collagene, tessuti epiteliali)

Una piccola parentesi deve essere fatta per quanto riguarda l'utilizzo di idrolizzati proteici di origine animale. Molte discussioni su questi tipi di prodotti riguardano la loro sicurezza in termini di genotossicità, ecotossicità o fitotossicità.

Differenti studi, hanno provato che l'affermazione di queste ipotesi è senza fondamento in quanto sono state fatte sperimentazioni sia su piante che su lieviti, le quali hanno scongiurato queste ipotesi; quindi, gli idrolizzati proteici di origine animali sono prodotti che non apportano problematiche alla comunità.

I parametri che si devono prendere in considerazione nella scelta di un prodotto biostimolante appartenente a questa categoria sono:

1. Quantità di aminoacidi liberi e totali: un buon prodotto deve avere un numero di aminoacidi liberi maggiore rispetto ai totali in quanto questi vanno ad essere assorbiti velocemente dalla pianta.
2. Peso molecolare: minore è questo parametro, maggiore sarà l'assorbimento da parte delle piante.

Questi composti hanno dimostrato di svolgere molteplici ruoli per la crescita delle piante. L'utilizzo degli idrolizzati proteici inducono effetti diretti e indiretti.

Gli effetti diretti sulle piante includono:

1. modulazione dell'assorbimento e dell'assimilazione di azoto: grazie alla regolazione di enzimi coinvolti nell'assimilazione di azoto (N) e alla produzione dei loro geni strutturali, e agendo come molecole di segnalazione per l'acquisizione di N nelle radici.
2. regolazione gli enzimi del ciclo di krebs
3. attività ormonali
4. effetti chelanti: che vengono ad essere svolti da alcuni aminoacidi acidi (come la prolina), i quali possono proteggere le piante dai metalli pesanti ma contribuiscono anche alla mobilità e all'acquisizione dei micronutrienti.
5. attività antiossidante: grazie all'eliminazione dei radicali liberi grazie all'azione di alcuni composti azotati come la glicina e la betaina
6. mitigazione degli stress ambientali mediante all'azione della prolina

Effetti indiretti sulle piante inducono:

1. aumento di biomassa e attività microbica, respirazione del suolo e, in generale, fertilità del suolo.
2. aumento della disponibilità di nutrienti e acquisizione per radici.

Tutti questi aspetti, ci permettono di dire che l'utilizzo di idrolizzati proteici e degli altri composti contenenti azoto, apportano miglioramenti significativi in termini di resa e qualità.

Questi prodotti possono essere distribuiti direttamente sulla pianta (in quanto sono in grado di oltrepassare la membrana plasmatica) oppure apportati al suolo mediante fertirrigazione (aumentando le dosi di impiego in quanto i microrganismi terricoli utilizzano queste sostanze per la nutrizione). (Du Jardin., 2015; Cardarelli et al. 2019)

### **3.3 Estratti di alghe marine e botaniche**

Oggi giorno, l'uso commerciale di estratti di alghe marine stanno prendendo sempre più piede all'interno del mondo dei biostimolanti.

Gli estratti di alghe, vengono ottenute mediante differenti modalità di estrazione, le quali vengono ad essere applicate in base alla tipologia di alga; bisogna dire inoltre, che il processo di lavorazione influenza le caratteristiche dell'estratto.

Le differenti metodologie di estrazione sono:

- Estrazione a base di acqua: avviene andando ad idratare l'essiccato di alghe mediante appunto l'utilizzo di acqua. Una volta creata questa miscela, si effettua una filtrazione che varia a seconda dell'uso finale del biostimolante da produrre. I prodotti creati con questa metodologia, sono ricchi di attività simile ai fitormoni.
- Idrolisi acida: avviene andando ad effettuare una triturazione dell'alga e messa a contatto con acido solforico o acido cloridrico a 40-50 °C per un periodo di tempo di 30 minuti. Questo metodo permette di ottenere un estratto contenente numerose classi di composti bioattivi che vanno a promuovere la crescita delle piante.
- Idrolisi alcalina: avviene andando a trattare la biomassa con NaOH o KOH a 70-100 °C.
- Estrazione assistita da microonde: avviene andando a trattare la miscela (di acqua e alghe essiccate) con microonde che ne permettono il riscaldamento. Questo metodo è uno dei più ecologici e permette di ottenere ottimi risultati in termini di estrazione di sostanze quali: carboidrati, proteine e altre molecole bioattive.
- Estrazione assistita da ultrasuoni: è un metodo innovativo, ecologico ed economico che facilita il rilascio di composti bioattivi dall'alga al solvente di estrazione.
- Estrazione assistita da enzimi: è un metodo ecologico ed efficiente in quanto non necessita di solventi. Abbiamo numerose tipologie di enzimi (che variano in base al genere di alga su cui fare l'estrazione) che permettono di effettuare l'estrazione di composti biologicamente attivi rendendolo idrosolubili in acqua. I composti ottenuti mediante questo metodo hanno mostrato una maggiore attività antiossidante e quindi una maggiore capacità nell'indurre una maggiore resistenza agli stress nei confronti delle piante trattate.
- Estrazione fluida super critica: avviene andando ad utilizzare solventi non tossici per l'alga; questo permette di avere una maggiore protezione dei prodotti bioattivi estratti (che possono subire processi di degradazione). I solventi utilizzati sono organici supercritici (il più utilizzato è la CO<sub>2</sub>.)
- Estrazione di liquidi pressurizzati: avviene utilizzando alte pressioni (3,5-20 Mpa) e alte temperature (50-200 °C) che conferiscono una maggiore solubilizzazione dei composti estratti. Questo metodo permette di diminuire in modo drastico i tempi di estrazione, questo però a discapito della qualità del prodotto in quanto le biomolecole possono subire una degradazione.

Il loro utilizzo, in senso generico, è improntato sulla promozione della crescita; queste sostanze includono micro e macronutrienti, steroli, composti contenenti N come le betaine e gli ormoni

Molti composti presenti all'interno degli estratti sono unicamente caratteristici delle alghe; questo spiega l'incremento delle sperimentazioni e degli studi che vengono ad essere ad oggi effettuati.

Maggior parte delle specie algali utilizzate, appartengono al phylum delle alghe brune; dove i generi principali sono *Ascophyllum*, *Fucus*, *Laminaria*; vengono ad essere utilizzati anche le alghe appartenenti al phylum delle alghe rosse come il genere *Chondrus* (da cui si estrae la carragine).

Le alghe agiscono sul suolo e sulle piante; possono essere applicati sui terreni o come trattamenti fogliari.

L'applicazione nei terreni induce:

- 1) formazione di gel: contribuiscono all'aumento del potere di ritenzione idrico e all'areazione dei suoli; questo viene ad essere effettuato grazie ai polisaccaridi di cui gli estratti di alghe sono composti;
- 2) aumento della capacità di scambio cationico (CSC) e fissazione di metalli pesanti: questo avviene in quanto queste sostanze sono costituite da gruppi polianionici (ovvero gruppi che presentano numerose molecole cariche negativamente) che effettuano un'azione di fissazione dei cationi ma anche dei metalli presenti nel suolo;
- 3) aumento della presenza di batteri: che promuovono la crescita delle piante ma anche degli antagonisti dei patogeni presenti nel terreno.

L'applicazione nelle piante induce:

- 1) funzione nutritiva: mediante il rilascio di macro e micronutrienti.
- 2) attività ormonali: andando così ad influire sulla germinazione, sull'insediamento, sullo sviluppo e sulla crescita delle piante.

Quest'ultimo punto rappresenta la manifestazione di maggiore entità nell'utilizzo di questi prodotti.

Numerosi studi, hanno rilevato importanti quantitativi di sostanza ormonali (auxine, citochinine, gibberelline e acido abscissico) o sostanze simili agli ormoni (steroli, poliammine).

- 3) Resistenza agli stress: grazie alla presenza in questi composti di sostanze antiossidanti che fungono da regolatori di geni endogeni che permettono di avere una risposta ottimale agli stress.

(Shukla et al., 2019; du Jardin, 2015; Mariani, 2019)

### 3.4. Chitosano e altri biopolimeri

Il chitosano è una molecola derivata dalla chitina, prodotta naturalmente (dai gusci dei crostacei o dagli esoscheletri degli insetti) e industrialmente. Questa molecola viene ad essere utilizzata in moltissimi settori compreso quello agricolo.

Gli effetti fisiologici del chitosano nelle piante sono dati dalla capacità di questo composto di legare un'ampia gamma di componenti cellulari, compreso il DNA, costituenti della membrana plasmatica e della parete cellulare, ma anche per legare recettori specifici coinvolti nell'attivazione di geni come elicitori che permettono di attivare differenti modalità di difesa della pianta.

Il chitosano, si va a legare a recettori cellulari specifici che causano grandi cambiamenti fisiologici, in quanto questi sono delle vere e "proprie chiavi di segnalazione" in risposta agli stress e alla regolamentazione dello sviluppo.

Il chitosano è un prodotto che è stato sviluppato nel corso degli anni, applicato principalmente sulla protezione della pianta contro gli agenti patogeni fungini. La tipologia di protezione che è stata riscontrata nell'utilizzo di questa molecola è di tipo sistemica ma anche locale; le modalità di azione possono essere differenti:

- Creazione di una barriera fisica: l'utilizzo di questo prodotto, induce un isolamento delle zone attaccate da agenti patogeni impedendone quindi l'ulteriore sviluppo grazie alla produzione di  $H_2O_2$  che contribuisce nella fortificazione delle pareti cellulari e svolge un'azione di segnalazione per le parti sane della pianta.
- Chelazione di nutrienti, minerali e micotossine: l'effetto chelante viene ad essere svolto per prevenire l'attacco di patogeni in quanto i prodotti a base di chitosano, nel momento in cui vengono ad essere distribuiti si vanno a legare ai nutrienti utilizzati dai patogeni quali Fe e Cu impedendone così lo sviluppo.

Un'altra azione di chelazione si è riscontrata nei confronti delle micotossine prodotti dai patogeni; tale azione, contrasta il verificarsi dei danni agli ospiti dovuti dall'azione delle tossine.

- Influenza della produzione di molecole segnale: le molecole che vengono prodotte a seguito dell'utilizzo di chitosano servono ad aumentare le difese naturali della pianta mediante un aumento della produzione di: fitoalessine (ovvero una sostanza fenolica tossica nei confronti di malattie crittogame), proteine PR (ovvero proteine che



attaccano la parete cellulare di un fungo) e callosio (sostanza polisaccaridica che svolge l'azione di isolamento del patogeno all'interno dell'organo attaccato). (Hadrami et al.,2010, Du Jardin, 2015)

Numerose sperimentazioni, hanno portato anche alla scoperta della capacità di questa molecola nell'indurre una tolleranza agli stress abiotici come:

- Siccità: si è visto che l'utilizzo di chitosano, provoca una produzione di acido abscissico (ABA) che induce una chiusura stomatica in modo tale da diminuire i fenomeni di traspirazione e quindi abbassare i fabbisogni idrici delle colture. Un altro fattore di rilevante importanza è dato dall'aumento della capacità antiossidante a seguito di un aumento della produzione di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
- Stress termico: questo è sempre associato all'ABA che induce una sovra espressione del gene ABF3 il quale, conferisce questo tipo di resistenza.
- Stress salino: mediante la produzione di sostanze antiossidanti che permettono di neutralizzare i composti che si formano a seguito di uno stress ossidativo. (Sharif et al., 2018., Du Jardin, 2015)

Si è visto inoltre, che questa molecola influenza in parte i metabolismi primari e secondari.

Quando si parla di biopolimeri invece, si prende in considerazione quei composti come peptidi e lignosolfonati che ad oggi stanno prendendo sempre più piede nel mondo orticolo.

Numerose sperimentazioni hanno dimostrato che l'utilizzo di queste sostanze esplicano una funzione ormono-simile poiché sono in grado di promuovere la formazione dei peli radicali delle radici ma intervengono anche all'aumento della produzione di biomassa a seguito di un'ottimizzazione dell'assorbimento degli elementi nutritivi (in particolare l'azoto) mediante la stimolazione di enzimi come la glutammato sintasi e la glutammina sintetasi.

Importanti risultati sono stati osservati anche sull'attività fotosintetica in quanto queste sostanze sono capaci di stimolare l'attività enzimatica della RUBISCO (ovvero l'enzima chiave per la fissazione del carbonio organico sul RuDP) ma anche di aumentare la produzione di clorofilla negli organi fotosintetizzanti.

Su quest'ultima tipologia di molecole però, non ancora è chiaro quali possano essere le molecole bersaglio su cui agiscono. (Lucini, 2018)

### 3.5 Composti inorganici

Ci sono degli elementi chimici che possono avere degli effetti biostimolanti; queste sostanze possono essere fondamentali per alcuni ordini tassonomici ma non sono richiesti da tutte le piante.

Questi elementi sono chiamati ‘‘elementi benefici’’ e sono rappresentati da: Alluminio (Al), Cobalto (Co), Sodio (Na), Selenio (Se) e Silicio (Si); essi possono essere presenti nel terreno e nelle piante sotto differenti forme di sali inorganici.

Queste sostanze effettuano differenti tipologie di azioni che vanno ad influenzare la crescita delle piante, la qualità delle produzioni ma anche la risposta a differenti tipologie di stress abiotici.

Molte di questi composti sono presenti all’interno di biostimolanti complessi come possono essere estratti di alghe, residui colturali o scarti di animali.

Questi composti devono essere applicati a basse dosi; al contrario, se si effettua una sovradosaggio, ci sono altre provabilità di riscontrare fenomeni di tossicità. (Du Jardin.,2015)

Andiamo a parlare dei differenti composti e delle loro funzioni:

- Alluminio (Al): è un composto che deve essere presenti nei terreni in piccole concentrazioni in quanto un’eccessiva presenza provoca un’inibizione della crescita delle radici mediante l’alterazione dell’architettura radicale con conseguente interruzione dell’allungamento delle radici.

Questo elemento, se invece presente in piccole quantità è capace di portare numerose attività benefiche:

- 1) aumento della crescita delle piante a seguito di un maggior assorbimento di fosforo (il quale incremento è stato riscontrato a livello fogliare);
- 2) previene l’attività di tossicità del ferro;
- 3) effettua un’azione repellente nei confronti di animali erbivori in quanto la sua presenza nelle foglie permette di renderle incommestibili.

- Cobalto (Co): questo è un altro elemento che è presente in piccole concentrazioni nel suolo; il suo assorbimento avviene mediante un trasporto passivo grazie alla sua capacità di legarsi fortemente alle radici.

L’utilizzo di questo elemento ha apportato numerosi vantaggi nelle piante appartenenti al gruppo delle leguminose; in particolare, è stato riscontrato un aumento: della crescita; del numero di noduli; del peso secco; dell’assorbimento dei nutrienti; delle rese e della qualità del seme. Questi fattori positivi sono da attribuire a una migliore attività dei microrganismi simbiotici che sono presenti all’interno dei noduli delle radici.

È stato riscontrato anche una capacità ritardante l'induzione alla senescenza fogliare infatti, il cobalto, è capace di inibire i processi biochimici che portano alla produzione dell'etilene.

Infine, è molto importante fare presente che questo elemento è di fondamentale importanza per i mammiferi, da questa affermazione possiamo dire che una buona presenza di cobalto permette di aumentare la qualità nutritiva del prodotto finale (come, ad esempio, il foraggio).

- Sodio (Na): questo elemento generalmente viene ad essere studiato per i suoi effetti negativi se presente in eccesso (stress salino) ma se questo è presente in piccole dosi, induce numerosi effetti positivi:
  - 1) ripristino del fosfoenolpiruvato (PEP) (partendo dal piruvato) nelle piante la cui organizzazione del carbonio avviene mediante i processi fotosintetici C4/CAM.
  - 2) Induce una crescita della pianta in senso generico: il sodio dal punto di vista chimico è simile al  $K^+$  e per questo può sostituirlo per svolgere le azioni di cofattori enzimatici nei processi di movimentazione stomatica ed espansione cellulare.
  - 3) Aumento del potenziale idrico: per le piante alofite (ovvero piante che amano il sale), questo elemento si va a concentrare in quantità molto elevate all'interno dei vacuoli così portando a un aumento del potenziale idrico.
  - 4) Aumento della qualità nutrizionale del prodotto finale: come per il cobalto, anche il sodio è un elemento essenziale per la sopravvivenza degli animali; ecco perché concimazioni ponderate di questo elemento inducono un aumento qualitativo del foraggio.
- Selenio (Se): questo elemento, anche se studiato in maniera non del tutto approfondita come gli elementi precedentemente elencati; si è riscontrato che una discreta presenza di questo elemento porti differenti effetti benefici sulle piante:
  - 1) aumento della crescita
  - 2) resistenza alle radiazioni ultraviolette: mediante le capacità antiossidanti che questo elemento è capace di apportare.
  - 3) Aumento della resistenza dei confronti di microrganismi abiotici come funghi ed erbivori.
- Silicio (Si): è uno dei microelementi più importanti, infatti, viene ad essere definito come un elemento "quasi essenziale" in quanto carenze portano anomalie dal punto di vista della crescita, sviluppo, e produzione. Gli effetti benefici sull'utilizzo di questo componente, porta a:
  - 1) aumento della crescita

- 2) aumento delle rese
- 3) miglioramento dell'esposizione solare delle foglie: in quanto permette di far mantenere una posizione eretta alle foglie che sono soggette ad ombreggiamento.
- 4) Miglior sviluppo dell'apparato radicale: in quanto conferisce una maggiore elasticità delle pareti cellulari delle cellule che compongono le radici durante la fase di allungamento.
- 5) Allevia i sintomi di tossicità da metalli pesanti.
- 6) Aumento della tolleranza alle malattie crittogamiche: mediante due tipologie di meccanismi; il primo consiste nell'aumentare la resistenza delle pareti cellulari in modo tale da contrastare i fenomeni di penetrazione del micelio; il secondo consiste nella creazione di un segnale che induce la pianta ad attivare i suoi meccanismi di difesa (come la produzione di fitoalessine, composti fenolici etc.).
- 7) Aumento della resistenza allo stress salino: mediante l'espulsione di sodio dalla pianta.

(Pilon-Smits et al., 2009)

### 3.6 Funghi benefici

I funghi sono dei microrganismi presenti nel suolo; alcuni di essi effettuano un'interazione con le radici delle piante stabilendo così una simbiosi mutualistica (ovvero una relazione in cui entrambi i microrganismi traggono vantaggi dall'altro).

Il gruppo di funghi che effettua questa tipologia di interazione è rappresentato dai funghi micorrizici i quali sono in grado di sviluppare interazioni con circa il 90% di specie vegetali presenti in tutto in mondo.

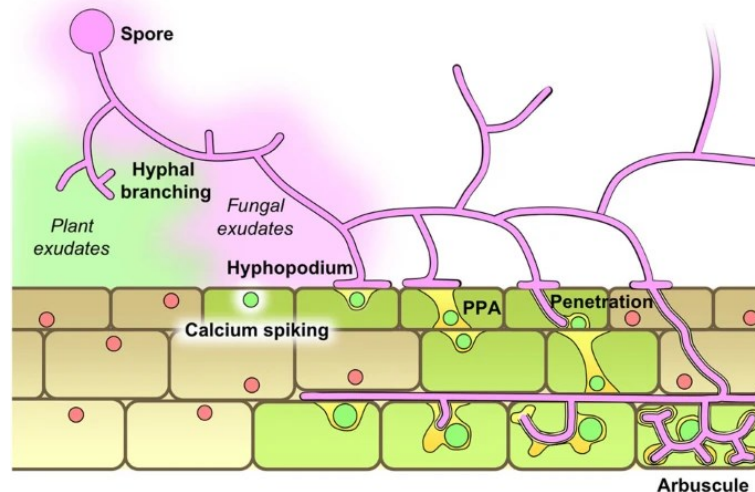
Il gruppo tassonomico più diffuso è quello delle micorrize arbuscolari che spesso vengono associate a numerose piante coltivate come le orticole.

L'attività endosimbiotica viene ad essere svolta dalle ife fungine (generalmente il phylum più utilizzato è il Glomeromycota) che penetrano nelle cellule corticali radicali e formano strutture ramificate che prendono il nome di arbuscoli. (Du Jardin,2015)

La modalità di penetrazione è molto complessa. Tutto comincia dalla germinazione delle spore (presenti nel terreno) che portano alla formazione di un breve micelio esplorativo. La movimentazione del micelio avviene seguendo gli essudati che vengono ad essere rilasciati dalla radice ospite; una volta individuate queste sostanze, avviene una ramificazione in modo tale da aumentare le probabilità di contatto tra i due simbionti; nel momento in cui

questi entrano in contatto, si forma un apparato di penetrazione che permette appunto l'entrata dell'ifa all'interno della radice e comincia la colonizzazione (figura 6).

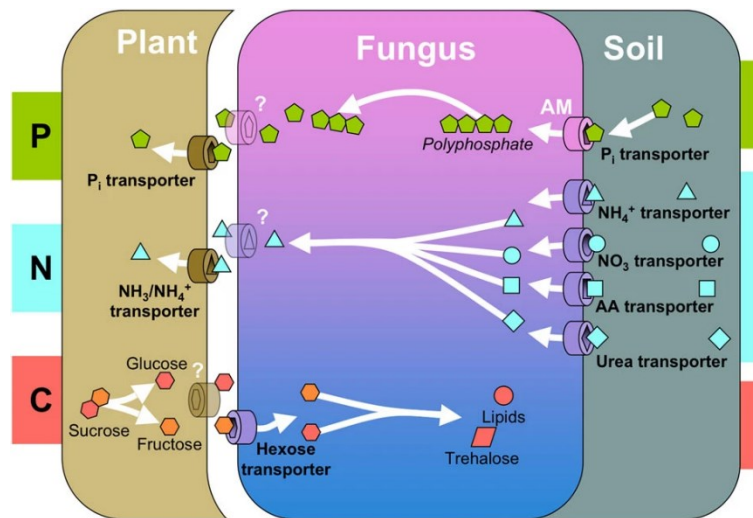
Una volta terminata la colonizzazione, comincia l'interazione simbiotica. (Bonfante et al., 2010)



**Figura 6. Schema del processo di colonizzazione delle radici da parte dei funghi micorrizici (Bonfante et al., 2010)**

L'attività di questi microrganismi è associata ad una maggiore nutrizione vegetale in quanto essi permettono di incrementare l'assorbimento di gran parte dei nutrienti in particolar modo del P; N e amminoacidi mediante la presenza nel loro genoma di geni che permettono di creare dei trasportatori ad azione specifica (abbiamo quindi geni per il trasporto del P; geni coinvolti nel trasporto dell'ammonio, e geni coinvolti nel trasporto degli amminoacidi). (Du Jardin, 2015)

Essendo l'interazione di tipo mutualistica, le piante prendono le sostanze precedentemente dette dal micelio ma al contempo cede fonti di carbonio organico sotto forma di glucosio, che servirà per la nutrizione del fungo. (figura 7.) (Bonfante et al., 2010).



**Figura 7. Schema dei principali processi di scambio di nutrienti derivanti dall'attività simbiotica. (Bonfante et al. 2010).**

Questi composti però sono ancora oggi oggetto di molti studi in quanto si sta cercando di identificare quali siano le migliori pratiche agronomiche; modalità di propagazione e tipologia di agroecosistema atte ad ottenere i massimi benefici dall'utilizzo di questi microrganismi.

Ad oggi sono stati individuati alcuni endofiti funginei come *Trichoderma spp.* (che svolgono un'azione di regolazione dell'architettura radicale ma anche azioni ormono-simili) e *Sebacinales* che sono in grado di vivere almeno una parte del proprio ciclo in assenza dell'ospite. (Du jardin.,2015)

### 3.7 Batteri benefici

I batteri interagiscono con le piante in differenti modi e, come per i funghi, possono attuare un'interazione mutualistica che può essere transitoria o permanente.

I batteri sono presenti nel suolo in particolar modo a livello della rizosfera ed entrano dentro le cellule vegetali. (Du Jardin.,2015)

l'azione che questi possono svolgere sono differenti:

- Influenzano i cicli biogeochimici;
- Regolano l'assorbimento dei nutrienti;
- Aumentano l'efficienza di assorbimento dei nutrienti;
- Svolgono un ruolo di induzione alla resistenza nei confronti di agenti patogeni;

- Inducono una tolleranza agli stress abiotici;
- Modulano la morfogenesi mediante la regolazione dei fattori della crescita delle piante.

Dal punto di vista della classificazione, possiamo dividere i batteri utilizzati come biostimolanti in due gruppi:

1. Endosimbionti mutualistici del tipo *Rhizobium*: questi sono commercializzati come biofertilizzante e sono sostanze che nel momento in cui vengono ad essere inoculate porta una facilitazione nell'acquisizione dei nutrienti nella pianta.
2. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) mutualistici: sono sostanze multifunzionali e vanno ad influenzare tutti gli aspetti della vita vegetale. È molto importante dire che l'attività di questi composti sono strettamente legati alla specie sulla quale viene applicata ma anche l'agroecosistema nel quale viene ad essere in contatto.

Questo gruppo di batteri viene ad essere ulteriormente suddiviso in : extracellulari (ePGPR) che sono presenti negli spazi intracellulari della radice (le specie più famose sono rappresentate da *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* e *Serratia* ecc.), e intracellulari (iPGPR) che sono presenti dentro le cellule radicali e generalmente portano alla formazione di strutture specializzate che prendono il nome di noduli (le specie più importanti sono rappresentate da *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium* e *Mesorhizobium*).

Questi batteri hanno tra le caratteristiche più importanti quelle di promuovere la crescita delle piante; questo viene mediante un'alterazione dell'intera comunità microbica a livello della rizosfera che porta alla produzione di varie sostanze; nello specifico, queste attuano meccanismi diretti:

- facilitando l'acquisizione di risorse (azoto, fosforo e minerali essenziali)
- modulando gli ormoni vegetali

O meccanismi indiretti:

- diminuendo gli effetti inibitori di agenti patogeni presenti sul terreno e quindi agendo sotto forma di biocontrollo

I prodotti appartenenti a questa categoria stanno prendendo sempre più piede nel mercato internazionale in quanto risultano molto efficienti. (Ahemad et al.,2014).

## Capitolo 4

### APPLICAZIONE DEI BIOSTIMOLANTI NELLA MELICOLTURA

#### 4.1 La coltivazione del melo in Italia

Nel panorama nazionale ortofrutticolo, la coltivazione del melo rappresenta una dei maggiori punti di forza in quanto la produzione annua si aggira intorno alle 2 milioni di tonnellate; un quantitativo molto importante se la si viene confrontata con quella Europea, la quale si aggira attorno alle 10 milioni di tonnellate.

Questi numeri importanti permettono di collocare l'Italia come sesto produttore mondiale e soprattutto primo in Europa anche se dal punto di vista delle superfici adibite alla coltivazione di tale coltura occupiamo il diciassettesimo posto a livello mondiale; da questi dati possiamo dedurre che nella nostra nazione si ottengono rese per ettaro molto elevate.

Dal punto di vista delle esportazioni, l'Italia occupa il primo posto in ambito internazionale (sia intra che extra-comunitario) con circa 678mila tonnellate di prodotto commercializzato in tutto il mondo, il quale viene ad essere portato sui mercati: russi, tedeschi, inglesi e in tutti quei paesi facente parte dell'ex unione sovietica. (Dalpiaz,2008).

La produzione è concentrata maggiormente nell'Italia settentrionale, dove si produce circa il 96% della produzione nazionale, la quale viene ripartita: per il 60-70% in Trentino-Alto Adige e poi a seguire abbiamo Emilia-Romagna, Piemonte e Veneto.

Dal punto di vista della produzione biologica, l'Italia è il primo paese europeo raggiungendo quantitativi che si aggirano intorno a 1200 tonnellate/anno; naturalmente il primo produttore a livello nazionale è il Trentino-Alto Adige in quanto produce circa il 60 % del totale.

#### 4.2 Caratteristiche generali del melo

Il melo è una coltura che viene coltivata da tempi antichissimi (alcuni studi affermano i primi ritrovamenti sin dalla preistoria). Le cultivar che vengono ad essere oggi coltivate non sono altro che il risultato di ibridazione tra diverse specie ottenendo così la specie *Malus X domestica*.



L'albero può raggiungere altezza di 8-10 metri di forma globosa; il portamento può essere differente: assurgente, pendulo ma anche espanso.

Le gemme possono essere sia a legno che miste (che porteranno alla produzione di germogli e fiori); i rami possono essere anch'essi a legno o a frutto (che a sua volta vengono essere classificati in: lamburde, ramo misto e brindilli).

Le foglie sono alterne, ovalizzate, di colore verde intenso e ricoperte di una leggera tomentosità nella pagina inferiore.

Le gemme miste portano alla formazione di un'infiorescenza chiamato corimbo da cui fuoriescono un numero di 4-9 fiori costituiti ciascuno da: 5 petali di colore bianco, 5 sepali, 20 stami e 1 ovario infero dove sono contenuti 5 stili e 5 stigmi separati da 5 logge carpellari all'interno delle quali sono contenuti 2 ovuli ciascuno (questo significa che nel momento in cui l'impollinazione venga effettuata nel migliore dei modi, si ha la produzione di 10 semi per frutto).

L'impollinazione è sia entomofila che anemofila; questo significa che durante il periodo di fioritura dobbiamo avere delle condizioni climatiche ottimali (assenza di precipitazioni e intensità del vento molto bassa) affinché possa avere la fecondazione del più alto numero di ovuli presenti all'interno dell'ovario (in quanto maggiore è il numero di semi e maggiore saranno le dimensioni del frutto).

Tutte le varietà coltivate presentano una autoincompatibilità di tipo gametofitica, questo significa che una pianta non può impollinare un'altra pianta che abbia lo stesso corredo genetico (e che quindi appartengano alla stessa varietà); da ciò possiamo dedurre che all'interno del campo si ha la necessità di immettere delle varietà impollinatrici che devono avere lo stesso periodo di fioritura di quella principale.

Il frutto è un pomo ovvero un falso frutto in quanto ciò che viene ingerito non è altro che lo sviluppo del ricettacolo e dell'ovario a seguito della fecondazione; il vero frutto è il torso che notoriamente viene scartato.

Per quanto riguarda le forme di allevamento utilizzate, questi sono direttamente collegate ai sistemi di impianto adottati che a loro volta dipendono direttamente da quelli che sono i porta-innesti scelti.

I porta-innesti hanno subito un processo di evoluzione molto importante negli ultimi decenni, il quale ha portato a un'intensificazione della coltivazione del melo portando così al passaggio di densità di impianto di 500 piante/ha a 8000 piante/ha.

Le forme di allevamento che si possono applicare su questa coltura sono: vaso, palmetta, fusetto e asse colonnare.

I portainnesti che possono essere utilizzati sono:

- Franco: molto usato in passato, sestri di impianto molto elevati e poche piante per ettaro.
- M9: il più nanizzante di tutti; sestri di impianto molto bassi; bassa vigoria, elevato fabbisogno di input; precoce entrata in produzione.
- M26: leggermente più vigoroso dell'M9; precoce entrata in produzione; minore fabbisogno di input rispetto all'M9.
- MM106: vigoria medio-elevata; bassa necessità di input; precoce entrata in produzione e ottima resistenza alla siccità.
- MM111: elevata vigoria, resistenze alla siccità; minima necessità di input.

Dal punto di vista della gestione dell'impianto; la maggiore problematica risiede nel diradamento in quanto l'infiorescenza porta alla produzione di un elevato numero di fiori che poi verranno a trasformarsi in frutti, causando numerose problematiche di competizione sia per la differenziazione a fiore che la pianta effettua per garantire una costanza di produzione; sia per i frutti stessi i quali subiranno una mal ripartizione dei fotosintetati prodotti dai vari germogli dislocati nel ramo a frutto.

Questa problematica viene ad essere risolta mediante fenomeni di diradamento che possono essere: manuale (mediante l'impiego di mano d'opera specializzata), meccanico (tramite l'utilizzo di strumentazioni apposite che sono differenti in base al periodo di intervento) o chimico (tramite l'utilizzo di ammonio tiosolfato e polisolfuro di calcio o sostanze ormonali quali auxine e citochinine che vanno a favorire la cascola dei fiori che non ancora hanno allegato). L'obiettivo principale è quello di preservare il fiore (o frutto) centrale in quanto è quello che riesce ad esprimere al meglio le caratteristiche qualitative/quantitative della varietà coltivata.

Per quanto riguarda la raccolta, questa deve essere effettuata manualmente; il prodotto viene posizionato delicatamente all'interno di cassoni di plastica (bins) che poi successivamente verranno conferite ad aziende che effettueranno una classificazione del frutto, si occuperanno dello stoccaggio e della vendita.

Uno dei problemi principali di questo frutto si ha proprio nello stoccaggio in quanto si può verificare l'insorgere di fisiopatie come la butteratura amara dopo la frigoconservazione. Questo fenomeno consiste nell'insorgenza di punteggiature nerastre su tutto il frutto (epidermide e polpa) andando così a cambiare il gusto del frutto dandone così un sapore amaro.

Questo fenomeno viene ad essere causato da un basso accumulo di calcio durante le prime fasi di accrescimento del frutto; questo perché il calcio è un elemento molto mobile nello xilema ma poco mobile nel floema. Questo significa che il calcio è abbondantemente presente nelle foglie e poco nei frutti.

I frutti dopo i primi 40 giorni dalla loro allegazione cessano di traspirare (a seguito della formazione di cera che occlude le lenticelle) e quindi il frutto accumula le sostanze solo dal floema.

Il calcio, quindi deve essere assorbito nelle prime fasi dopo l'allegazione.

Il modo migliore per sopperire a questi fabbisogni consiste nel fare 4/5 trattamenti fogliari con cloruro di calcio o solfuro di calcio; è molto importante dire che il numero di trattamenti varia in base alla predisposizione che ciascuna cultivar ha nei confronti di questa fisiopatia. (Baldi et al. 2004).

### **4.3 Effetto dei biostimolanti sulla qualità dei frutti di melo in raccolta e in post raccolta**

#### *4.3.1 Introduzione*

Una delle maggiori problematiche che affligge la commercializzazione delle mele, risiede nell'insorgenza di una fisiopatia chiamata butteratura amara. Oggi giorno la metodologia di intervento per contrastare l'insorgenza di tale problematica consiste nell'andare ad effettuare una serie di interventi fogliari a base di calcio; questo però porta comunque una discreta insorgenza del fenomeno.

Un progetto di ricerca condotto da Soppelsa et al. ha evidenziato come l'impiego di biostimolanti (nello specifico: estratti di alghe e microelementi come zinco, silicio e magnesio) in combinazione con i differenti prodotti a base di calcio porti a una mitigazione di questo fenomeno negativo ma anche a differenti risultati nel momento di raccolta in termini di colore dell'epidermide delle mele.

#### *4.3.2 Descrizione della prova sperimentale*

Il progetto di ricerca è stato effettuato nel 2014 in due meleti situati nel comune di Ora in Trentino-Alto Adige.

In entrambi i frutteti vengono coltivati meli appartenenti alla cultivar "Jonathan" in cui vengono applicati differenti tecniche colturali e ordinamenti produttivi.

Il sito 1 (Figura 8) è caratterizzato da un impianto di cinque anni con piante innestati su portainnesto M9, coltivati a una densità di 3333 alberi/ha (sesto 1,0 x 3,3m) dove vige una

forma di allevamento a fuso; il sistema di gestione applicato è quello biologico e per quanto riguarda la gestione del suolo, si effettua una lavorazione nella fila e un inerbimento nell'interfila.



***Figura 8. meli Jonathan/M9 di cinque anni, con una densità di 3333 alberi/ha. (Soppelsa et al.)***

Il sito 2 (Figura 9) è costituito da un impianto di 42 anni, dove abbiamo le piante innestate su portainnesto franco, con una densità di impianto di 455 piante/ha (con sesto di 4,0 x 5,5m) dove vige una forma di allevamento a palmetta; il sistema di gestione applicato è quello integrato mentre per quanto riguarda la gestione del suolo, si effettua un inerbimento completo.



***Figura 97. Alberi di melo cv Jonathan di 42 anni innestati su franco con una densità di 455 alberi ha<sup>-1</sup> (Soppelsa et al.)***

#### 4.3.3 Metodologia sperimentale e materiale utilizzato

La sperimentazione è stata effettuata andando a creare differenti gruppi ciascuno costituito da nove piante. In ogni gruppo è stato applicato una differente modalità di intervento, la quale è stata applicata nello stesso modo in entrambi i siti presi in osservazione.

Le piante scelte all'interno di ciascun sito avevano delle condizioni uniformi; è stato quindi preso in considerazione la circonferenza del tronco (misurato a 20 cm da terra) e l'intensità di fioritura, andando a costituire una scala di merito che andava da 1 (bassa intensità) a 5 (elevata intensità); nello specifico, le piante campione dovevano avere valori compresi tra 4 e 5.

Gli alberi presi in considerazione avevano una distanza tale da evitare fenomeni di contaminazione derivanti dalle differenti modalità di intervento.

La sperimentazione è stata effettuata andando ad applicare dei trattamenti fogliari iniziati 45 giorni dopo la fase fenologica di piena fioritura (fine maggio) ed effettuati ogni due settimane fino ad agosto.

I prodotti che sono stati utilizzati erano:

- **Il cloruro di calcio** con una concentrazione di ossido di calcio solubile in acqua del 17 (ALICAL) è stato applicato in 3 modalità differenti: da solo o in combinazione con gli altri prodotti sotto citati;
- **silicio (0,8%) e zinco (1,8%) (SILIFORCE)**
- **estratto di alghe marine** appartenente alla specie *Ascophyllum nodosum* (contenente il 4% di Carbonio (C) organico di origine biologica e Mannitolo con una concentrazione di 0,7 g/l) (ALGAVIS).

I quantitativi di prodotto utilizzato è stato quello consigliato nell'etichetta di ciascun formulato commerciale.

Il volume di prodotto irrorato per ciascun trattamento è stato pari a 1500l ha<sup>-1</sup>; l'intervento è stato effettuato in condizioni meteorologiche favorevoli (assenza di piogge nelle 72 ore successive al momento del trattamento).

Il **numero di trattamenti totali** effettuati durante questo progetto di ricerca è stato pari a 6 per ogni tipologia di combinazione.

Una volta effettuati i differenti trattamenti; a fine agosto si è proceduti alla raccolta e si sono andati ad individuare differenti parametri come: contenuto di amido; contenuto di solidi solubili (°Brix); acidità totale; colore dell'epidermide e consistenza del frutto. Per quanto riguarda lo studio del comportamento del prodotto durante lo stoccaggio, si è proceduti a immagazzinare 30 kg di frutta per ciascun campione; il prodotto è stato stoccato in celle frigorifero a 2 °C e umidità relativa dell'85/90%.

Il comportamento durante la fase di stoccaggio è stato effettuato mediante dei campionamenti a 60, 130 e 160 giorni di conservazione. Durante ciascun prelievo si è andati ad osservare l'eventuale insorgenza della butteratura amara e la sua eventuale evoluzione andando quindi ad osservare la comparsa di macchie nere irregolari sull'epidermide. (Figura 10)



*Figura 10. Sviluppo di macchie nei frutti di melo cv. Jonathan affetto dalla fisiopatia ‘butteratura amara’(Soppelsa et al.)*

Per quanto riguarda l'analisi biochimica dei composti fenolici e degli elementi minerali contenuti nell'epidermide nei frutti, si è applicato lo stesso metodo: sono stati presi 5 frutti per ciascuna tipologia di trattamento applicato sia al momento della raccolta ma anche dopo 160 giorni dallo stoccaggio; sono state prelevate quattro strisce di epidermide per ogni frutto; ciascun campione è stato immediatamente congelato in azoto liquido a -80 °C. I campioni liofilizzati sono stati macinati in polvere fine e poi successivamente analizzati con strumentazioni apposite.

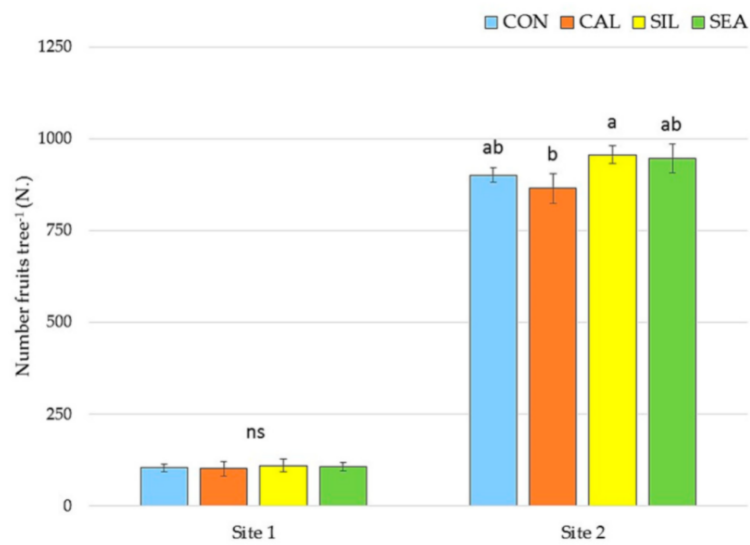
#### 4.3.4 Risultati della sperimentazione

##### 4.3.4.1 Risultati sulla resa al momento del raccolto

In termini di **resa**, si evince che i due siti sperimentali hanno portato significative differenze; in particolar modo, si è visto che:

- Il sito 2 ha raggiunto una produzione/ha nettamente maggiore rispetto al sito 1 in quanto le rese sono state rispettivamente di 55 e 42 tonnellate; vi è stato quindi anche una maggiore resa media/pianta pari rispettivamente a 120 kg e 13 kg. Discorso analogo riguarda il numero di frutti/pianta dove sono stati raggiunti un numero pari a 900 frutti per il sito 2 contro i 100 frutti del sito 1;

- Il sito 1 d'altronde visto il minor carico di raccolto per pianta, ha portato alla produzione di frutti di peso significativamente maggiore (+6%) e più grandi (+6%) rispetto al sito 2.
- **Nel sito 1 l'applicazione dei biostimolanti non ha influito** sulla produzione **in termini di numero di frutti per pianta**; questo non si può dire per il **sito 2** dove si visto che **i campioni trattati con calcio** hanno ottenuto una **produzione nettamente inferiore (-8%)** rispetto ai campioni trattati con silicio ed estratto di alghe. (figura 11)



**Figura 11. Effetto dei trattamenti con biostimolanti sul numero di frutti per pianta rispetto al controllo per il sito 1 e il sito 2 (Soppelsa et al.)**

Possiamo dire quindi che dal punto di vista quantitativo, la differenza è stata data dalla tipologia di impianto presente e non dal tipo di trattamento effettuato anche se c'è stata una **leggera influenza nel sito 2** in quanto i campioni trattati con estratti di alghe hanno portato a un aumento un aumento della produzione.

#### 4.3.4.2 Qualità dei frutti alla raccolta

Gli indici di qualità dei frutti al momento della raccolta sono stati maggiormente influenzati dal sito di coltivazione; bisogna dire però che anche i differenti tipi di trattamenti hanno portato dei risultati significativamente importanti.

Al momento della raccolta, le mele situate nel sito 2 erano leggermente più mature, mostrando quindi un contenuto di solidi solubili medio più elevato e una minore acidità rispetto alla frutta raccolta nel sito 1. Inoltre, le mele del sito 1 erano maggiormente colorate rispetto a quelle del sito 2 (+32%) questo fenomeno naturalmente deriva da una elevata concentrazione fenolica presente nell'epidermide.

L'applicazione dei biostimolanti non ha portato differenze in termini di contenuto di solidi solubili e acidità; però si è evidenziato che **l'applicazione di estratti di alghe combinati con il cloruro di calcio**, ha portato a un **aumento significativo del colore (+20%)** rispetto al campione controllo grazie a un incremento delle antocianidine (ovvero una classe di composti fenolici che contribuiscono a dare un maggior colore al frutto). (Figura 12)



*Figura 112. Aumento della sovracolorazione rossa in seguito alle applicazioni di alghe (sopra) rispetto al controllo non trattato (sotto). Le foto sono state scattate prima della raccolta (fine agosto) nel frutteto del sito 1. (Soppelsa et al.)*

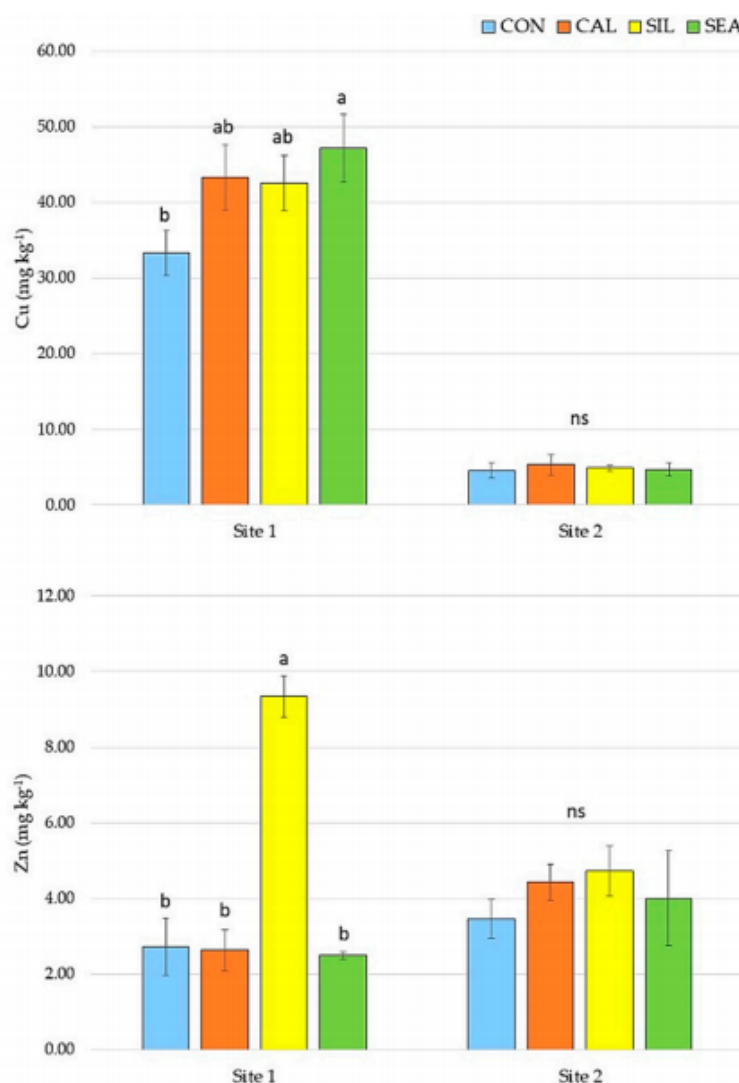
Dal punto di vista dell'accumulo di micronutrienti a livello dell'epidermide; è stato visto che la presenza di queste sostanze è maggiore nel sito 1 piuttosto che nel sito 2. Si è notato però che mediante l'applicazione fogliare di **estratti di alghe marine** (in combinazione con il



calcio) ha portato a un **notevole accumulo di Calcio** (passando da 46mg a 61,6 mg/100g) ma anche a una diminuzione del contenuto di potassio (-15%).

Per quanto riguarda invece l'accumulo di Zinco, sono stati rilevati degli incrementi importanti in quei campioni trattati con il formulato commerciale SILIFORCE nel sito 1.

Non sono stati individuati però significative differenze nei contenuti di zinco e rame nelle mele raccolte nel sito 2. (foto 13)



**Figura 123. Effetto dei trattamenti con biostimolanti sul contenuto di rame (sopra) e zinco (sotto) nelle mele raccolte nel Sito 1 e 2. (Soppelsa et al.)**

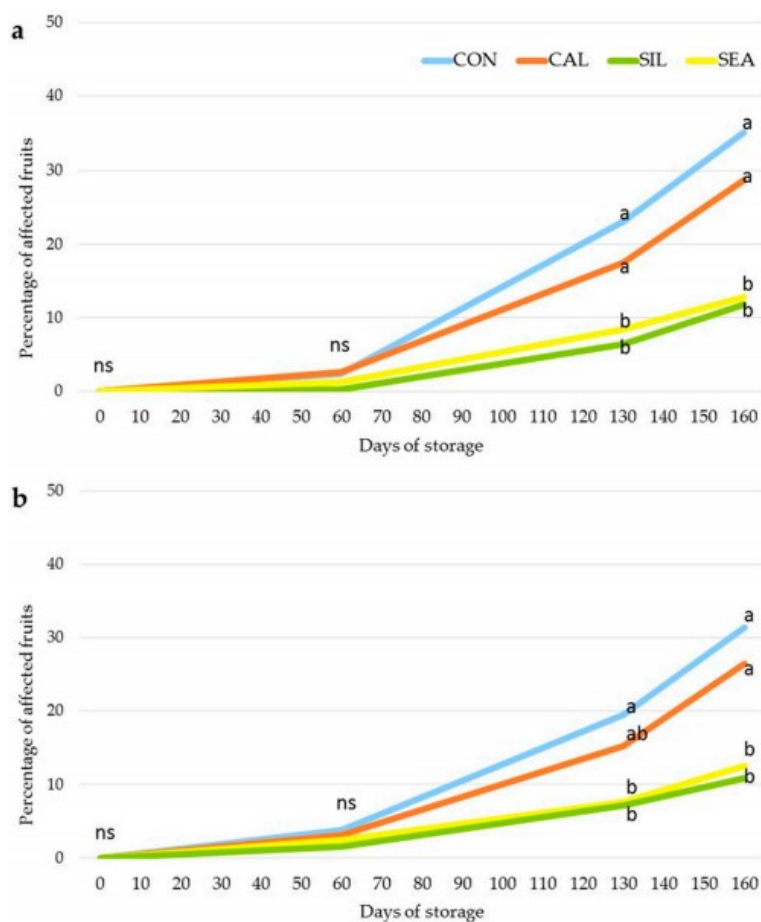
#### 4.3.4.3 Qualità della frutta e incidenza della butteratura amara durante il post-raccolta

I trattamenti **non hanno influito** in modo significativo **sulla qualità della frutta durante il periodo di conservazione**. Sia i valori di consistenza che di acidità hanno subito un

decremento già nei primi 60 giorni dopo lo stoccaggio. Per quanto riguarda invece il contenuto di solidi solubili, non sono stati riscontrati variazioni in quanto il valore individuato nel periodo di raccolta è rimasto invariato. (12-13 ° brix)

È stato osservato che tutti i **campioni controllo** provenienti da entrambi i siti hanno portato un'**insorgenza** della **butteratura amara** pari al **35% dopo 160 giorni** di frigoconservazione; tale fenomeno è leggermente diminuito nei campioni trattati con cloruro di calcio.

Un effetto molto significativo si è ottenuto in quei campioni dove sono stati effettuati dei trattamenti a base di **estratti di alghe** e **SILIFORCE** che hanno portato a una **diminuzione del fenomeno** della butteratura amara **del 20-25%** rispetto alle mele non trattate (raggiungendo così un'incidenza del fenomeno pari al 10%) con il calcio o il controllo. (Figura 14)



**Figura 134. Incidenza della fisiopatia "butteratura amara" nelle mele durante la conservazione (a 0, 60, 130 e 160 giorni) trattate con biostimolanti nel sito 1 (a) e nel sito 2 (b). (Soppelsa et al.)**

#### 4.3.5. Conclusioni

Il progetto di ricerca condotto da Soppelsa ha evidenziato che l'applicazione dei biostimolanti nella coltivazione del melo non comporta un incremento significativo dal punto di vista della resa in senso generico. (anche se comunque sono stati riscontrati degli effetti positivi nel sito 1).

Dal punto di vista qualitativo, è stato rilevato che indipendentemente dalle caratteristiche dei frutteti, l'applicazione dell'estratto di alghe (in miscela con il calcio) ha portato un **incremento della colorazione rossa dell'epidermide** andando ad aumentare il contenuto di antocianidine; queste tipologie di sostanze vanno ad influire con il metabolismo degli ormoni vegetali, portando un'induzione della biosintesi dei polifenoli grazie all'influenza che queste hanno sul metabolismo secondario.

L'utilizzo di estratti di alghe o di prodotti contenente zinco e silicio miscelati con calcio, ha portato alla diminuzione del fenomeno della buttersatura amara; questo fenomeno è attribuita al fatto che le sostanze precedentemente indicate hanno portato a un maggior accumulo di calcio e zinco all'interno dell'epidermide contrastando appunto l'insorgenza di questa fisiopatia. (Soppelsa et al., 2020)

#### 4.4 Utilizzo degli estratti di alghe per la mitigazione dell'alternanza di produzione.

##### 4.4.1 Introduzione

**L'alternanza di produzione** è un problema molto importante per molte varietà di mele; questo fenomeno viene ad essere risolto mediante **fenomeni di diradamento** che possono avere un costo più o meno importante a seconda di come viene ad essere effettuato (in quanto quello manuale è sicuramente il più costoso, ma anche il più efficiente). Il diradamento deve essere effettuato in quanto bisogna far sì che la pianta abbia un ottimo **equilibrio vegeto-produttivo**.

Oggi giorno, uno dei vari metodi proposti per diminuire l'entità del diradamento, è quello di ricorrere all'utilizzo dei biostimolanti in quanto capaci di:

- Migliorare l'**efficienza dell'assorbimento dei nutrienti**;
- **Adattare meglio** le piante alle varie **condizioni pedoclimatiche**;
- Aumentare la **tolleranza ai vari stress**.

Il progetto di ricerca condotto da Spinelli ha come obiettivo appunto quello di studiare l'effetto di trattamenti a base di **estratti d'alga** appartenente alla specie *Ascophyllum nodosum* su mele della cv Fuji (ovvero una cultivar che è fortemente soggetta al fenomeno dell'alternanza di produzione) in modo tale da ottenere una resa il più costante possibile sia in termini qualitativi che quantitativi.

#### 4.4.2 *Materiale e metodi*

La sperimentazione è stata condotta su meli ‘Fuji’ innestati su portainnesto M9. Tutti gli alberi avevano un’età di 4 anni con sesto di impianto 3,8m x 0,8m. La sperimentazione è stata effettuata presso Cadriano, Pianura Padana, Italia. Sono state applicate le strategie standard di gestione sia della coltura, sia delle patologie.

Lo studio dell’applicazione di questi prodotti è stato effettuato su alberi nel quale sono stati indotti le condizioni per incentivare l’alternanza di produzione.

La sperimentazione è stata condotta per 3 anni a partire dal 2004.

Gli interventi sono stati effettuati negli stadi di crescita di: mazzetti divaricati (BBCH 69); piena fioritura (BBCH 65); fine caduta petali (BBCH 69).

Sono stati effettuati 4 tipi di trattamenti:

- acqua (controllo);
- fertilizzante NPK (16-8-32) 20kg/ha;
- fertilizzante idrosolubile NPK+ microelementi 20Kg/ha;
- Estratti di alghe (Actiwave) applicato in fertirrigazione con una dose di 30l/ha da solo o in combinazione con concime NPK.

Ogni tipologia di trattamento è stato effettuato su un campione di 40 piante ciascuno suddivise in due gruppi in cui: uno era costituito da un gruppo di piante diradate a mano e l’altro era costituito da piante non diradate.

Per quanto riguarda i parametri presi in considerazione, per misurare la lunghezza dei germogli sono stati osservati: crescita dei germogli, contenuto di clorofilla e percentuale di allegagione dei fiori; questi sono stati presi in **considerazione** a partire da **una settimana dopo il primo trattamento**.

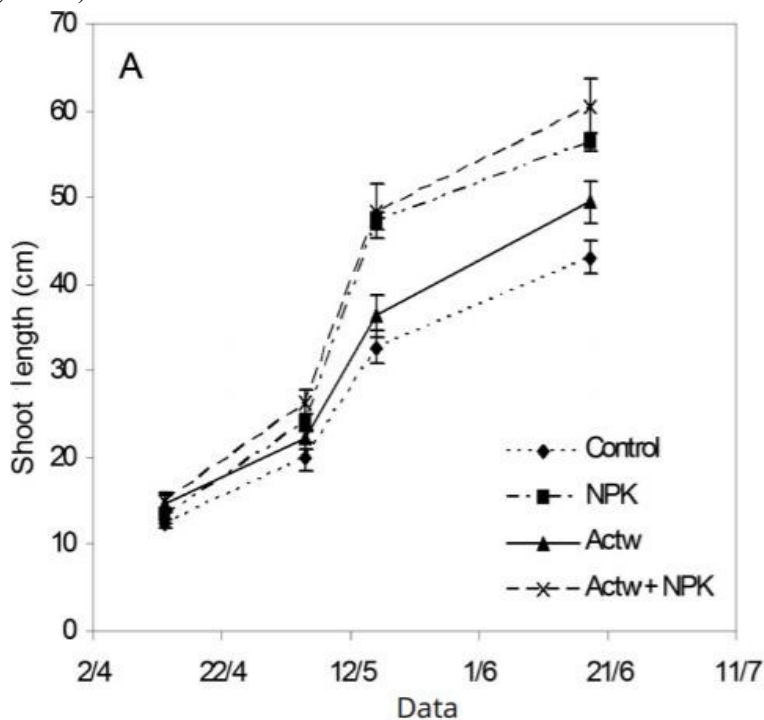
Per quanto riguarda la raccolta, i parametri presi in considerazione sono stati: resa dei frutti per albero; peso medio dei frutti; contenuto dei solidi solubili, compattezza della polpa, acidità titolabile del frutto. Questi parametri naturalmente sono stati presi in **considerazione** al **momento della raccolta**.

Per quanto riguarda la misurazione degli scambi gassosi e della densità stomatica i parametri presi in considerazione sono stati: quantità di Co<sub>2</sub> assimilata, fotosintesi netta, area della superficie fogliare, numero di stomi; la misurazione è stata effettuata **quattordici giorni dopo ogni trattamento**.

#### 4.4.3 *Risultati della sperimentazione*

##### 4.4.3.1 Sviluppo vegetativo

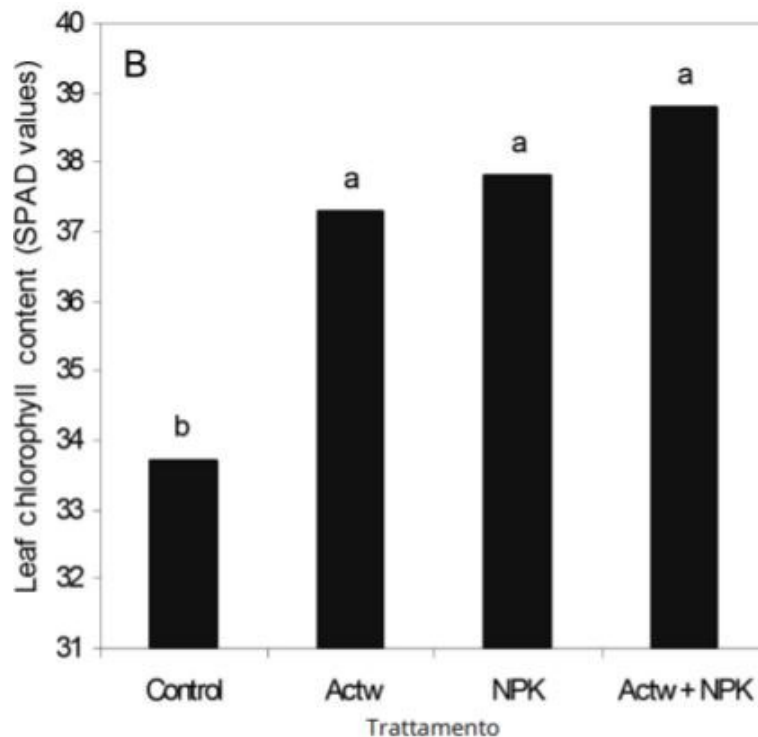
Alla fine della sperimentazione, è stato notato che le piante trattate con **estratti di alghe** hanno portato a un incremento della **lunghezza dei germogli del +15%** mentre l'utilizzo di **concimi NPK accoppianti con l'estratto di alghe** ha portato a un aumento molto consistente della lunghezza dei germogli, raggiungendo addirittura un **+50%** rispetto ai campioni controllo. (figura 15)



**Figura 15. Crescita vegetativa (lunghezza dei germogli) in meli (dal 2 aprile all'11 luglio) interessate da quattro diversi trattamenti (Control=acqua; NPK= concime; Actw= estratto di alghe; NPK + Actw= concime + estratto di alghe) (Spinelli et al., 2009)**

#### 4.4.3.2 Contenuto di clorofilla

È stato osservato che anche il contenuto di clorofilla all'interno delle foglie ha subito una variazione in base al tipo di trattamento effettuato. Nello specifico, è stato visto che il **maggior contenuto** di clorofilla è stato ottenuto in quei campioni trattati con una combinazione di **estratti di alghe e concime NPK (Actw+ NPK)**. Per quanto riguarda i campioni trattati singolarmente o con estratti di alghe (Actw) o con concime NPK, non vi è stata una differenza statisticamente rilevante tra i due, ma comunque si è reso noto che il quantitativo di clorofilla era nettamente maggiore rispetto al controllo non trattato. (figura 16)



**Figura 16.** contenuto di clorofilla presente nelle foglie in base ai differenti trattamenti effettuati. (Control=acqua; NPK=concime; Actw= estratto di alghe e NPK + Actw= concime + estratto di alghe) (Spinelli et al.,2009).

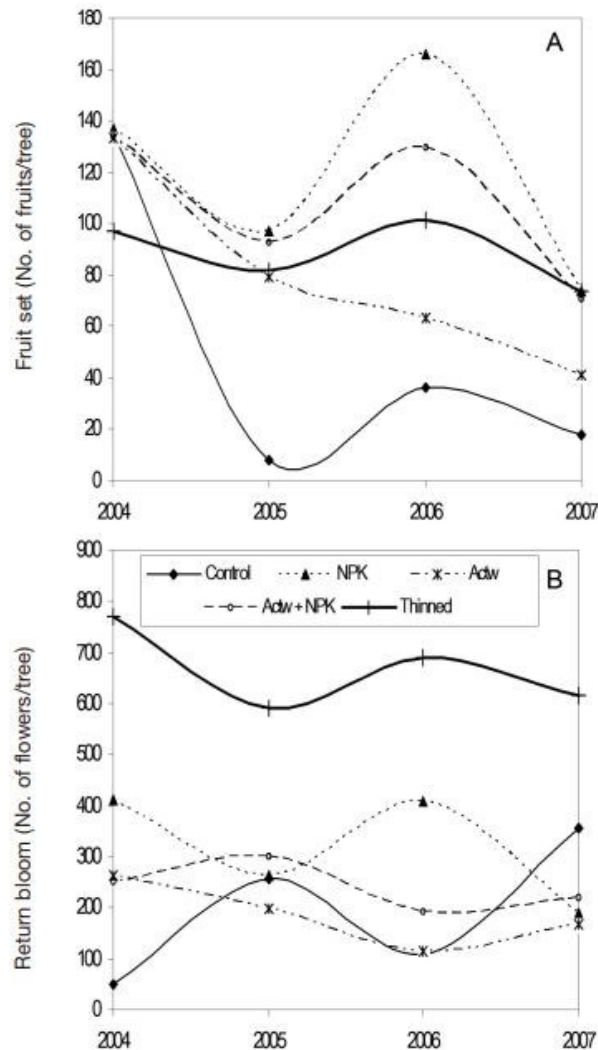
#### 4.4.3.3. Percentuale di allegazione e ritorno di fioritura

L'applicazione di biostimolanti a base di **estratti di alghe** ha comportato una **diminuzione** della **differenza** tra il **numero di frutti allegati in un anno di scarica rispetto a quelli ottenuti nell'anno di carica**. Anche se bisogna dire che i campioni trattati con biostimolanti hanno comunque mostrato nel lungo periodo un'allegazione minore rispetto alle piante diradate a mano.

L'applicazione del concime NPK da solo o in combinazione con gli estratti di alghe, non è stato in grado di ridurre l'alternanza di produzione anzi, ha incrementato il divario produttivo tra gli anni di carica e gli anni di scarica. (figura 17A)

Per quanto riguarda i risultati sul **ritorno di fioritura**, il trattamento a base di estratti di alghe è riuscito a effettuare una mitigazione dei fenomeni negativi che comporta l'alternanza di produzione (elevata differenziazione a fiore un anno, bassa differenziazione a fiore l'anno successivo); effetto ancora più significativo è stato dato dalla combinazione di questo **biostimolante con il concime NPK** che ha portato con il passare degli anni a una **minore**

differenza per quanto riguarda la presenza dei fiori tra gli anni di carica e quelli di scarica. (figura 17B)



**Figura 17. Comportamento dell'allegagione (A) e ritorno della fioritura (B) in meli sottoposti a quattro diversi trattamenti (Control=acqua; NPK= concime; Actw=estratto di alghe; NPK +Actw=concime+ estratto di alghe. Spinelli et al.,2009).**

#### 4.4.3.4. Resa quantitativa e qualitativa

L'applicazione dell'estratto di alghe ha avuto un comportamento diverso a seconda dell'annata presa in considerazione; infatti, è stato osservato che questo prodotto non ha portato **nessun vantaggio dal punto di vista quantitativo nelle annate di carica**. Questi effetti non sono stati riscontrati invece **negli anni di scarica dove la resa in frutta** (kg di frutta per pianta) è stata **nettamente maggiore** rispetto al controllo non trattato (incremento medio del 60%).

È molto importante sottolineare che l'utilizzo del fertilizzante NPK (da solo o in combinazione con l'estratto di alghe) ha comportato un aumento della produzione quantitativa sia negli anni di carica che in quelli di scarica.

Da punto di vista **qualitativo**, l'applicazione di estratto di alghe **negli anni di carica** ha portato a un **incremento del peso e degli zuccheri presenti all'interno dei frutti**, ma non ha portato a una variazione degli altri parametri presi in esame. Negli anni di **scarica** invece, è stato rilevato che l'applicazione di queste sostanze ha portato a una **diminuzione** significativa del **contenuto zuccherino (-7%)** ma ha comportato anche un **aumento del peso medio dei frutti**. (figura 18)

Year	Treatment	Thinned trees				Unthinned trees			
		FW (g) <sup>†</sup>	SSC (°Brix)	FF (kg cm <sup>-2</sup> )	TA (g <sup>-1</sup> )	FW (g) <sup>‡</sup>	SSC (°Brix)	FF (kg cm <sup>-2</sup> )	TA
"ON"	Control	188.7 a <sup>†</sup>	13.7 ab	6.3 a	3.7 b	144.9 b	12.8 a	5.5 a	4.1 a
	NPK	195.6 a	13.1 a	6.8 a	3.4 b	179.1 ab	12.9 a	4.9 b	3.9 a
	Actw	203.9 a	14.2 b	6.2 a	3.4 b	198.9 a	13.3 a	5.8 a	3.8 a
	Act+NPK	202.2 a	13.8 ab	5.8 a	4.2 a	211.8 a	12.8 a	5.3 ab	2.9 b
"OFF"	Control	228.9 a	15.2 a	5.3 a	3.7 a	204.7 a	15.4 a	5.4 a	4.2 a
	NPK	276.1 a	14.2 c	5.3 a	3.9 a	237.0 a	14.4 b	5.2 a	4.1 a
	Actw	227.2 a	15.1 ab	5.6 a	3.8 a	205.4 a	15.3 a	5.8 a	3.6 ab
	Act+NPK	295.2 a	14.4 bc	5.3 a	4.2 a	231.9 a	14.1 b	5.2 a	3.0 b

**Figura 18. Effetto dei diversi trattamenti sui principali parametri che caratterizzano la qualità del frutto del melo negli anni di carica ("on") e scarica ("off"). FW=peso del frutto; SSC= contenuto in solidi solubili; FF=compattezza della polpa; TA=acidità totale (espressa in g acido malico). (Spinelli et al.,2009).**

#### 4.4.3.5. Scambio gassoso e area fogliare

Durante la sperimentazione, sono state fatte una serie di analisi che hanno constatato che l'intervento mediante estratto di alghe hanno portato a una **costante incremento dell'attività fotosintetica**; tale fenomeno viene ad essere riscontrato immediatamente dopo l'intervento e i valori di fotosintesi aumentano sempre di più fino a raggiungere il picco dopo 7 giorni.

Questa tipologia di trattamento ha portato gli **stessi effetti** anche **sulla traspirazione** anche se il suo effetto è stato meno consistente rispetto al parametro precedentemente indicato. Infine, si è riscontrato che l'utilizzo di questo biostimolante ha portato anche un **aumento dell'area fogliare** sviluppata (+14%) e della **densità stomatica** (+6,5%).

#### 4.4.4 Conclusioni

Da questo progetto di ricerca condotto da Spinelli possiamo dire che il fenomeno dell'alternanza di produzione causato dalla gestione di piante non diradate è stato mitigato grazie all'azione degli estratti di alghe (sia utilizzati da soli che utilizzati con il concime) che hanno portato a una maggiore produzione sia quantitativa, sia qualitativa ma anche una minore



oscillazione della presenza di fiori negli anni di carica e scarica. Questi fenomeni vengono ad essere resi possibili sicuramente grazie all'incremento della superficie fogliare e del numero di cloroplasti presenti all'interno di ciascuna foglia che naturalmente comportano un aumento dell'attività fotosintetica e della traspirazione che ciascuna foglia effettua, portando così a una maggior produzione di fotosintetati. Un'osservazione molto importante da fare riguarda lo sviluppo vegetativo in quanto tale sperimentazione ha constatato un aumento della lunghezza dei germogli pari al +15% (+50% trattamento alghe e concime NPK). Queste osservazioni sono in contrasto con quelle fatte da Soppelsa et Al.,2018 il quale non ha riscontrato alcun incremento della lunghezza dei germogli con l'utilizzo di estratti di alghe.

Questo fenomeno può avere due possibili spiegazioni:

- 1) Le cultivar hanno differenti modi di reagire a contatto con questi prodotti; questo potrebbe significare che la cultivar "Fuji" (sulla quale è stata condotta la sperimentazione guidata da Spinelli) ha una correlazione positiva rispetto alla cultivar "Jonathan" (sulla quale è stata condotta la sperimentazione guidata da Soppelsa) la quale non trae nessun vantaggio dall'utilizzo di queste stanze.
- 2) I trattamenti sono stati effettuati in periodi differenti e questo ha portato presumibilmente a una diversa risposta fisiologica da parte delle piante. Questo si può affermare dal fatto che Spinelli aveva cominciato i trattamenti nella fase fenologica di mazzetti divaricati; mentre Soppelsa aveva cominciato i trattamenti nella fase fenologica di post allegazione (ovvero 40 giorni dopo la fase di piena fioritura).

La stessa spiegazione può essere effettuata per quanto riguarda le osservazioni condotte di nuovo da Soppelsa per quanto riguarda la produzione qualitativa.

Tuttavia, essendo il mondo dei biostimolanti ancora tutto da scoprire, bisogna ad effettuare ancora numerose sperimentazioni affinché il futuro possa dare risposte definitive. (Spinelli et al.,2009)

## **4.5 Effetti dei biostimolanti sulla crescita di astoni di melo in vivaio**

### *4.5.1 Introduzione*

Una delle fasi più delicate per la buona riuscita di un impianto, consiste nell'andare ad utilizzare un ottimo materiale di propagazione ben allevato in vivaio. L'attività del vivaista è molto delicata per il semplice fatto che ha il compito di portare alla formazione di:

- **Piante di elevata qualità fito-sanitaria;**

- **Astoni ben preformati** che abbiano un elevato numero di rami con un ottimo angolo di inclinazione in modo tale da favorire l'attività dell'agricoltore durante le prime fasi di potatura di formazione dell'impianto.

Questi obiettivi devono essere raggiunti andando a ridurre il più possibile il tempo di permanenza delle piante in azienda; tutto ciò viene ad essere raggiunto solo andando a immettere un elevato quantitativo di input, rappresentato principalmente dai concimi.

Uno dei problemi principali nella gestione di un vivaio, è che l'elevato quantitativo di concimi immessi nel sistema molto spesso non vengono ad essere del tutto utilizzati andando così ad avere un impatto importante sia dal punto di vista economico (in quanto questi hanno dei costi non del tutto irrisori) ma soprattutto ambientale in quanto è molto facile incorrere a fenomeni di lisciviazione (come avviene per i nitrati) o perdite a seguito del ruscellamento causato da eventi piovosi molto impetuosi che portano quindi ad inquinare le varie falde acquifere che poi successivamente vengono ad essere utilizzate in ambito urbano.

Queste problematiche devono trovare una risoluzione; una delle quali sembra proprio essere rappresentato dall'utilizzo dei biostimolanti.

Il progetto di ricerca condotto da Świerczyński et al.,2021 ha proprio come obiettivo quello di andare a confrontare i risultati ottenuti mediante l'applicazione di biostimolanti e confrontati con i metodi di produzione adottati ai giorni d'oggi ovvero, quello dell'elevato apporto di concimi.

Il progetto in questione ha avuto l'obiettivo di capire se l'eventuale apporto di prodotti biostimolanti sono in grado di ottenere ottimi risultati anche con una concimazione minerale ridotta del 50% rispetto alla norma.

#### 4.5.2. *Materiali e metodi*

Nel progetto in questione, si è proceduti ad effettuare una serie di interventi fogliari andando ad utilizzare 4 tipologie di formulati commerciali di biostimolanti (Amminoplant , Biamino Plant , Bispeed e Fylloton 0,4%) costituiti da estratti d'alga, amminoacidi e due tipologie di fertilizzati ternari e con microelementi (Basfoliar 6-12-6 e Basfoliar 12-4-6+S )utilizzati con una concentrazione del 50%; questi sono stati poi confrontati con dei campioni controllo dove è stato applicato una concimazione minerale normalmente utilizzata (concentrazione al 100%).

L'esperimento è stato condotto su meli di quattro cultivar: 'Gala Schniga', 'Ligol', 'Red Boskoop' e 'Topaz', innestati su porta-innesto M9.

L'esperimento è stato effettuato andando a creare una serie di file costituite da dieci alberi ciascuno ben distanziate tra di loro che hanno subito ciascuno un trattamento differente per ogni cultivar. In totale sono state effettuati 7 trattamenti differenti (4 con prodotti biostimolanti e 50% di concimazione minerale; 2 con prodotti fertilizzanti fogliari al 50% e 50% di fertilizzazione minerale; 1 controllo con la fertilizzazione minerale semplice) per ciascuna cultivar per un totale di 28 (7 x 4) combinazioni sperimentali.

Il trattamento con prodotti biostimolanti è stato effettuato andando a seguire le dosi raccomandate dalle case produttrici; mentre i trattamenti effettuati con i due prodotti fertilizzanti sono stati irrorati applicando una concentrazione del 50% rispetto alle dosi consigliate.

Sono stati effettuati un totale di **4 trattamenti** ad **intervalli di 3 settimane** ciascuno dal periodo che va da **fine maggio a fine luglio** ovvero il periodo in cui abbiamo maggiormente l'attività di crescita.

Negli alberi presi in esame, sono stati osservati i seguenti parametri: altezza dell'astone dalla superficie del suolo (cm); diametro del tronco a 20 cm dal suolo (mm); lunghezza e numero di germogli laterali (che abbiano una lunghezza minima di 5 cm); peso fresco della pianta una volta rimossi dal vivaio (g).

Per andare ad individuare gli effetti di questi trattamenti sulla crescita sono stati individuati: tasso fotosintetico netto (Pn), tasso di traspirazione (E) e conduttanza stomatica (C) e contenuto di CO<sub>2</sub> intercellulare (I).

### 4.5.3 Risultati della sperimentazione

#### 4.5.3.1 Parametri biometrici

La sperimentazione ha portato dei risultati eccezionali dal punto di vista della crescita delle piante.

La misurazione delle altezze medie delle quattro cultivar di meli sottoposti a sperimentazione ha mostrato che **gli alberi** utilizzati come **controllo erano più piccoli** rispetto a quelli **sottoposti a trattamenti fogliari**.

Le cultivar che hanno ottenuto maggiori vantaggi su questi trattamenti erano 'Gala Schniga' 'Red Boskoop' mentre la cv 'Topaz' era leggermente più piccola. Stesso discorso riguarda il diametro e la lunghezza media dei germogli laterali in questo caso però, la cultivar 'Gala Schniga' ha ottenuto una lunghezza maggiore rispetto alle altre.

Il **numero maggiore di germogli laterali** è stato ottenuto in tutti quei campioni dove è stato effettuato un **trattamento** mediante **biostimolanti**. Stesso discorso vale per il **peso**

**fresco degli astoni**; anche se ci sono state delle differenze tra le varie cultivar, infatti il 'Red Boskoop' ha ottenuto un peso fresco delle piante significativamente inferiore rispetto alle altre.

In definitiva possiamo dire che tutte le tipologie di trattamenti applicati hanno portato a un incremento di tutti i parametri biometrici rispetto al controllo; i **maggiori risultati** sono stati raggiunti per quei campioni che hanno subito un trattamento con **estratti di alghe** o di **aminoacidi** in quanto questi hanno permesso di **ottimizzare gli elementi nutritivi somministrati** mediante la fertilizzazione minerale.

La combinazione di aminoacidi ed estratto di alghe ha portato ad un **aumento** molto importante del numero e **della lunghezza dei germogli laterali** prodotti rispetto al controllo anche se questo discorso non ha riguardato del tutto la cultivar 'Red Boskoop'. (figura 19)

		Control	Amino-Plant	Biamino Plant	Bispeed	Fylloton	Basfoliar 6-12-6	Basfoliar 12-4-6+S	Mean for Cultivar
Height (cm)	Gala Schniga	136.0 hi	152.6 lm	146.6 j-m	149.5 k-m	149.4 k-m	147.9 k-m	144.4 i-l	146.6 c
	Ligol	106.3 a	118.6 c-f	122.9 e-g	125.8 fg	130.8 gh	116.3 b-e	123.2 e-g	120.6 b
	R. Boskoop	138.6 h-j	149.0 k-m	147.5 k-m	143.1 i-k	138.4 h-j	150.7 k-m	154.8 m	146.0 c
	Topaz	107.9 ab	121.7 c-f	124.8 fg	122.5 d-f	117.5 c-f	113.7 a-c	114.4 a-d	117.5 a
	Mean for treatment	122.2 a	135.5 c	135.5 bc	135.3 bc	134.0 bc	132.1 b	134.2 bc	
Diameter (mm)	Gala Schniga	11.4 a-c	12.6 f-l	12.4 d-k	12.9 j-l	12.2 c-k	12.4 d-l	12.1 b-j	12.3 b
	Ligol	10.7 a	11.1 ab	11.8 b-h	11.2 a-c	12.6 f-l	11.5 a-d	11.7 b-f	11.5 a
	R. Boskoop	11.9 b-i	12.8 i-l	12.8 h-l	12.7 g-l	12.2 c-k	13.3 l	12.8 i-l	12.6 c
	Topaz	11.6 a-e	12.5 e-l	12.5 e-l	13.1 k-l	12.5 e-l	12.6 e-l	11.8 b-g	12.4 b
	Mean for treatments	11.4 a	12.3 bc	12.4 bc	12.5 c	12.4 bc	12.5 bc	12.1 b	
Sum of long shoots	Gala Schniga	75.6 f-i	156.3 n	133.5 mn	159.4 n	124.5 lm	114.9 k-m	108.9 j-m	124.7 c
	Ligol	36.7 a-d	51.4 b-f	82.7 g-j	57.5 c-g	97.3 i-l	39.9 a-d	90.8 h-k	65.2 b
	R. Boskoop	33.4 a-d	30.0 a-c	27.4 ab	42.3 a-e	40.9 a-d	39.8 a-d	53.0 b-g	38.1 a
	Topaz	19.7 a	40.7 a-d	72.1 e-i	62.1 d-h	45.8 a-f	38.7 a-d	41.7 a-d	45.9 a
	Mean for treatment	41.4 a	69.6 bc	78.9 c	80.3 c	77.1 c	58.2 b	73.6 c	
Number of lateral shoots	Gala Schniga	3.6 i-k	5.7 m	4.9 lm	5.2 lm	5.1 lm	4.3 kl	3.8 jk	4.7 c
	Ligol	1.2 ab	2.3 c-f	3.3 g-j	2.4 d-g	3.4 h-k	1.6 a-e	2.6 e-h	2.4 b
	R. Boskoop	1.1 ab	0.7 a	0.9 a	1.2 ab	1.4 a-d	1.3 a-c	1.4 a-d	1.2 a
	Topaz	1.2 ab	2.7 f-i	2.6 e-h	2.5 e-h	2.5 e-h	2.1 b-f	2.3 d-g	2.3 b
	Mean for treatment	1.8 a	2.7 cd	2.9 cd	2.8 cd	3.1 d	2.3 b	2.5 bc	
Fresh weight of plants (g)	Gala Schniga	401.1 b-e	550.0 mn	517.2 k-n	505.6 i-n	476.1 f-k	476.7 g-k	472.2 f-k	485.6 b
	Ligol	388.9 b-d	451.1 e-j	538.9 l-n	524.4 k-n	494.4 h-m	486.7 g-l	504.4 h-m	484.1 b
	R. Boskoop	321.7 a	448.9 d-i	402.2 b-e	426.7 c-g	353.9 ab	429.4 c-g	416.1 c-f	399.8 a
	Topaz	375.0 a-c	510.0 j-n	542.8 l-n	565.6 n	482.8 g-l	473.9 f-k	444.4 d-h	484.9 b
	Mean for treatment	371.7 a	490.0 cd	500.3 d	505.6 d	451.8 b	466.7 bc	459.3 b	

**Figura 19. Parametri di crescita relativi a quattro cultivar di melo sottoposte a quattro trattamenti con biostimolanti e due con fertilizzanti (media anni 2016–2018).**

*(Świerczyński et al., 2021)*

#### 4.5.3.2 Parametri fisiologici

Dal punto di vista dei parametri fisiologici, il valore più importante è rappresentato dall'**incremento del tasso fotosintetico netto (Pn)** che ha raggiunto i suoi valori massimi in tutte le cultivar a seguito dell'utilizzo di un concime organico ternario ad alto contenuto di aminoacidi liberi (Basfoliar 6-12-6); questa tipologia di composto ha portato anche un **incremento del tasso di traspirazione (E)**.

Per quanto riguarda invece il quantitativo di CO<sub>2</sub> intercellulare (I) e la conduttanza stomatica (C), i trattamenti effettuati non hanno portato significative variazioni rispetto al controllo non trattato. (figura 20)

		Control	Amino-Plant	Biamino Plant	Bispeed	Fylloton	Basf. 6-12-6	Basf. 12-4-6+S	Mean for Cultivar
Pn	Gala S.	24.6 e-j *	22.4 ab	22.9 b-d	23.8 c-g	25.0 h-j	25.7 j	24.2 e-i	24.1 b
	Ligol R.	25.5 j	25.4 ij	24.7 f-j	22.8 bc	22.2 ab	25.6 j	24.1 e-h	24.3 b
	Boskoop	21.5 a	23.9 c-g	23.9 d-h	23.9 d-g	23.7 c-f	24.4 e-i	23.6 c-e	23.6 a
	Topaz	24.8 f-j	24.8 g-j	23.8 c-f	24.1 e-h	22.3 ab	25.0 h-j	24.6 e-j	24.2 b
	Mean for treatment	24.1 c	24.1 c	23.8 bc	23.6 b	23.3 a	25.2 d	24.1 c	
E	Gala S.	1.7 b *	1.4 a	1.8 bc	2.1 f-h	2.3 hi	2.4 i	2.3 g-i	2.0 a
	Ligol R.	1.8 bc	2.1 fg	2.0 d-f	1.9 cd	1.9 c-e	2.0 d-f	1.8 bc	2.0 a
	Boskoop	1.8 bc	1.8 bc	1.8 bc	2.1 e-g	2.0 d-f	2.2 f-h	2.2 f-h	2.0 a
	Topaz	2.9 j	3.2 k	3.3 kl	3.5 lm	3.4 lm	3.4 lm	3.5 m	3.3 b
	Mean for treatment	2.1 a	2.2 b	2.3 c	2.4 d	2.4 de	2.6 f	2.5 ef	
C	Gala S.	125.9 b-f *	102.5 ab	123.7 b-e	139.5 c-j	147.1 d-j	133.5 c-h	142.5 c-j	130.7 a
	Ligol R.	144.2 c-j	140.3 c-j	124.9 b-e	125.7 b-e	131.2 c-g	135.2 c-h	119.7 a-c	131.6 a
	Boskoop	132.5 c-h	133.8 c-h	132.3 c-h	97.5 a	138.7 c-i	163.0 j	122.1 b-d	131.4 a
	Topaz	147.4 e-j	154.8 h-j	148.9 f-j	132.9 c-h	161.1 ij	150.8 g-j	153.7 h-j	149.9 b
	Mean for treatment	137.5 bc	132.8 b	132.4 b	123.9 a	144.5 c	145.6 c	134.5 b	
I	Gala S.	211.0 b-d *	181.7 a	225.7 d-f	258.1 j-m	251.2 h-k	222.7 d-f	250.5 g-k	228.7 b
	Ligol R.	228.5 d-f	235.6 e-h	224.7 d-f	238.8 f-i	258.0 j-l	230.0 d-g	226.5 d-f	234.6 c
	Boskoop	187.0 a	196.7 ab	193.5 ab	228.2 d-f	217.8 c-e	242.9 f-j	199.2 a-c	209.3 a
	Topaz	256.4 i-l	271.7 l-n	281.8 n	270.1 k-n	277.5 mn	251.9 h-k	271.5 l-n	268.7 d
	Mean for treatment	220.7 a	221.4 a	231.4 b	248.8 c	251.1 c	236.9 b	236.9 b	

**Figura 20 Parametri fisiologici rilevati a giovani astoni di melo in relazione al trattamento effettuato e alla cultivar adottata.**

***Pn=tasso netto di fotosintesi ( $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ); E= velocità di traspirazione ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) C= conduttanza stomatica ( $\text{mol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) I= CO intracellulare<sub>2</sub> ( $\text{mol CO}_2\cdot\text{mol}^{-1}$ ). (Świerczyński et al.,***

#### 4.5.4. Conclusioni

Il progetto di ricerca ha permesso di dedurre che l'applicazione di trattamenti fogliari in astoni in vivaio con i fertilizzanti selezionati ma soprattutto biostimolanti portano a ottimi risultati di crescita rispetto ai classici trattamenti fertilizzanti utilizzati in campo vivaistico anche se si dimezza l'apporto nutrizionale annuale.

È molto importante dire però che ogni tipologia di cultivar reagisce in maniera differente a un determinato tipo di trattamento.

## CONCLUSIONI

Attualmente, si sta cercando sempre di più di trovare nuovi metodi per incrementare le produzioni ponendo sempre di più attenzione alla sostenibilità. Uno dei modi per raggiungere questi obiettivi potrebbe essere l'applicazione dei biostimolanti che possono essere utilizzati in differenti modi e in molteplici colture. Questi prodotti stanno prendendo sempre più piede non solo per portare a un incremento produttivo ma anche come supporto nelle varie lotte ai differenti patogeni; questo è molto importante per il semplice fatto che con il passare del tempo la comunità europea sta riducendo sempre di più l'elenco dei principi attivi utilizzabili per la lotta alle principali avversità.

Bisogna dire però che le tipologie di prodotti che appartengono a questa categoria sono differenti e ciascuno di essi inducono comportamenti differenti nelle diverse colture; quindi, è molto importante dire che la loro applicazione deve essere ponderata a seconda degli obiettivi da raggiungere.

L'utilizzo di questi prodotti, inoltre devono concordare con la differente tipologia di gestione che l'agricoltore effettua nel proprio impianto; questo significa che la scelta del biostimolante da impiegare deve essere ponderata non solo alla funzione che questa svolge ma anche all'eventuale miscibilità che ha con altri differenti prodotti.

Un altro fattore da tener ben presente, è che non esiste una "regola" ben precisa che permette di associare un determinato prodotto a una determinata risposta fisiologica nella pianta; questo perché è stato osservato (anche nei casi presi in questo elaborato di tesi) che ogni specie e ogni cultivar risponde in maniera differente a un determinato tipo di somministrazione ma soprattutto anche al momento in cui avviene tale somministrazione (durante le varie fasi fenologiche).

L'esempio lampante di queste affermazioni si hanno delle differenze ottenute nei progetti condotti da Spinelli et al. e Soppesa et al. dove il primo ha evidenziato incrementi produttivi importanti (pari al +66%) mentre il secondo non ha osservato nessun effetto di scostamento rispetto al controllo.

In definitiva, possiamo dire che questi prodotti sono molto utili al comparto agricolo, ma dato che sono prodotti “nuovi” c’è ancora molto da lavorare in termini di sperimentazioni per far sì che si abbia un pensiero unanime sul loro effettivo utilizzo.

## BIBLIOGRAFIA

- ONU.,14/02/20. I grandi temi: Una demografia che cambia.
- FAO., 23/03/20.Crescita della fame acuta in oltre 20 paesi.
- Mariani L. 2019. Origine storica ed evoluzione dei biostimolanti in agricoltura. Biostimolanti in agricoltura. Edizioni Edagricole, 6-7
- Du Jardin P. 2012. The Science of Plant Biostimulants – A bibliographic analysis, Ad hoc study report- Brussels: European Commission, 7
- Parlamento Europeo. 2019. Regolamento (UE) n 2019/1009. Gazzetta ufficiale. 54
- Ciavatta C., Manoli C. 2019. Definizione, classificazione e regolamentazione dei biostimolanti delle piante. Biostimolanti in agricoltura. Edizioni edagricole, 9-24
- Parlamento italiano, Ministero delle politiche agricole, alimentari e forestali.,2018. decreto n. 6793, Disposizioni per l'attuazione dei regolamenti (CE) n. 834/2007 e n. 889/2008 e loro successive modifiche e integrazioni, relativi alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici. Abrogazione e sostituzione del decreto n. 18354 del 27 novembre 2009, allegato 2. Gazzetta ufficiale, 1
- Parlamento italiano, Ministero delle politiche agricole, alimentari e forestali- 2010- D.Lgs. n 75, Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88. Gazzetta ufficiale, 76-77
- Du jardin P. 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14 [doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021)
- Cardarelli M., Rouphael Y., Lucini L., Colla G., 2019. Idrolizzati proteici. Biostimolanti per un'agricoltura sostenibile. Edizioni l'informatore agrario, 24-35
- Shukla PS., Mantin EG., Adil M., Bajpai S., Critchley AT., Prithiviraj B. 2019. *Ascophyllum nodosum*-Based Biostimulants: Sustainable Applications in



- Agriculture for the Stimulation of Plant Growth, Stress Tolerance, and Disease Management. *Frontiers in Plant Science*, 2-15 doi.org/10.3389/fpls.2019.00655
- Mariani L., Ferrante A., Trivellini A., 2019. Estratti di alghe. Biostimolanti per un'agricoltura sostenibile. Edizioni l'informatore agrario, 34-41
  - Hadrami AE., Adam LR., Hadrami IE., Daayf F., 2010. Chitosan in Plant Protection. *Marine Drugs*, 8, 968-987; doi:10.3390/md8040968
  - Sharif R., Mujtaba M., Rahman MU., Shalmani A., Ahmad H., Anwar T., Tianchan D., Wang X., 2018. The Multifunctional Role of Chitosan in Horticultural Crops; A Review. *Molecules*, 23(4): 872 doi: 10.3390/molecules23040872
  - Lucini L., Roupheal Y., Cardarelli M., Bonini P., Baffi C., Colla G. 2018. A Vegetal Biopolymer-Based Biostimulant Promoted Root Growth in Melon While Triggering Brassinosteroids and Stress-Related Compounds. *Frontiers in Plant Science*, 9: 472 doi:10.3389/fpls.2018.00472
  - Elizabeth AH Pilon-Smits., Colin F Quinn., Wiebke Tapken., Mario Malagoli., Michela Schiavon, 2009. Physiological functions of beneficial elements. *ScienceDirect*, 12(3):267-274 doi: 10.1016/j.pbi.2009.04.009 .
  - Bonfante P., Genre A. 2010. Mechanisms underlying beneficial plant; fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature communications*, 1,48 doi: 10.1038/ncomms1046
  - Ahemad M., Kibret M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University ;Scienze*, 26, 1-20 doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001
  - Dalpiaz A. 2008. Titolo del capitolo: Il melo nel mondo. Il melo. Edizioni Script, 484-494
  - Baldi E., Toselli M., Scudellari D., Marangoni B. 2004 .La concimazione fogliare delle pomacee. *L'informatore agrario*, 23/2004 65-68.
  - Soppelsa S., Kelderer M., Testolin R., Zanotelli D., Andreotti C. 2020. Effect of Biostimulants on Apple Quality at Harvest and After Storage. *Agronomy*, 10(8):1214. doi.org/10.3390/agronomy10081214
  - Spinelli F., Fiori G., Noferini M., Sprocatti M. e Costa G. 2009. Perspectives on the use of a seaweed extract to moderate the negative effects of alternate bearing in apple trees. *ResearchGate*, 84(6), 131-137 doi: 10.1080/14620316.2009.11512610

- Świerczyński S., Antonowicz A., Bykowska J.,2021.The Effect of the Foliar Application of Biostimulants and Fertilisers on the Growth and Physiological Parameters of Maiden Apple Trees Cultivated with Limited Mineral Fertilisation. *Agronomy*, 11(6):1216 doi.org/10.3390/agronomy11061216

## RINGRAZIAMENTI

Giunto alla conclusione di questo percorso di laurea triennale, mi sento in dovere di ringraziare tutti coloro che si sono resi partecipi di questo cammino.

Innanzitutto, ringrazio il Prof. Franco Capocasa, che ha deciso di seguirmi durante la stesura di questo elaborato mostrando pazienza, estrema disponibilità e altrettanta cordialità. A lui vanno la mia profonda stima e la mia gratitudine.

A questo punto, il mio pensiero non può che essere rivolto alla mia famiglia, che mi ha sempre sostenuto e incitato durante questo importante capitolo della mia vita. Un ringraziamento davvero speciale va ai miei genitori che sono sempre stati un punto di riferimento essenziale della mia vita. So bene i sacrifici che avete fatto e che state facendo: questo non lo dimenticherò mai.

Ringrazio con tutto il mio cuore la mia ragazza, Alessandra, che grazie al suo amore, alla sua pazienza e alla sua presenza è sempre riuscita a spingermi a dare il meglio di me stesso in ogni occasione. Grazie perché ci sei sempre stata e sono sicuro che ci sarai sempre.

Ringrazio il mio coinquilino Antonio per il supporto e la sopportazione mostrata nei miei confronti.

Ringrazio i miei compagni di corso, con il quale ho stretto preziose collaborazioni che sono sicuro serviranno anche in futuro.

Ringrazio infine i miei amici, per i mille momenti di spensieratezza e di gioia passati assieme.

