STRESS ABIOTICI E TECNICHE DI ANALISI IN CAMPO ED IN LABORATORIO

La realtà dei biostimolanti a portata di campo

Workshop progetto BIOSTIMOLA

RUOLO DEI BIOSTIMOLANTI NEL CONTRASTARE GLI STRESS ABIOTICI

STEFANIA TOSCANO
DIPARTIMENTO DI SCIENZE VETERINARIE – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MESSINA

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Iniziativa realizzata nell'ambito del progetto **BIOSTIMOLA**, cofinanziato dall'operazione 1.2.01 "Progetti dimostrativi e azioni di informazione" del Programma di Sviluppo Rurale 2014 – 2020 della Regione Lombardia.
Responsabile del progetto è il **DiSAA dell'Università degli Studi di Milano**, realizzato con la collaborazione di **Agricola 2000**

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

- Siccità
- Salinità
- Temperature
- Ipossia
- ecc.

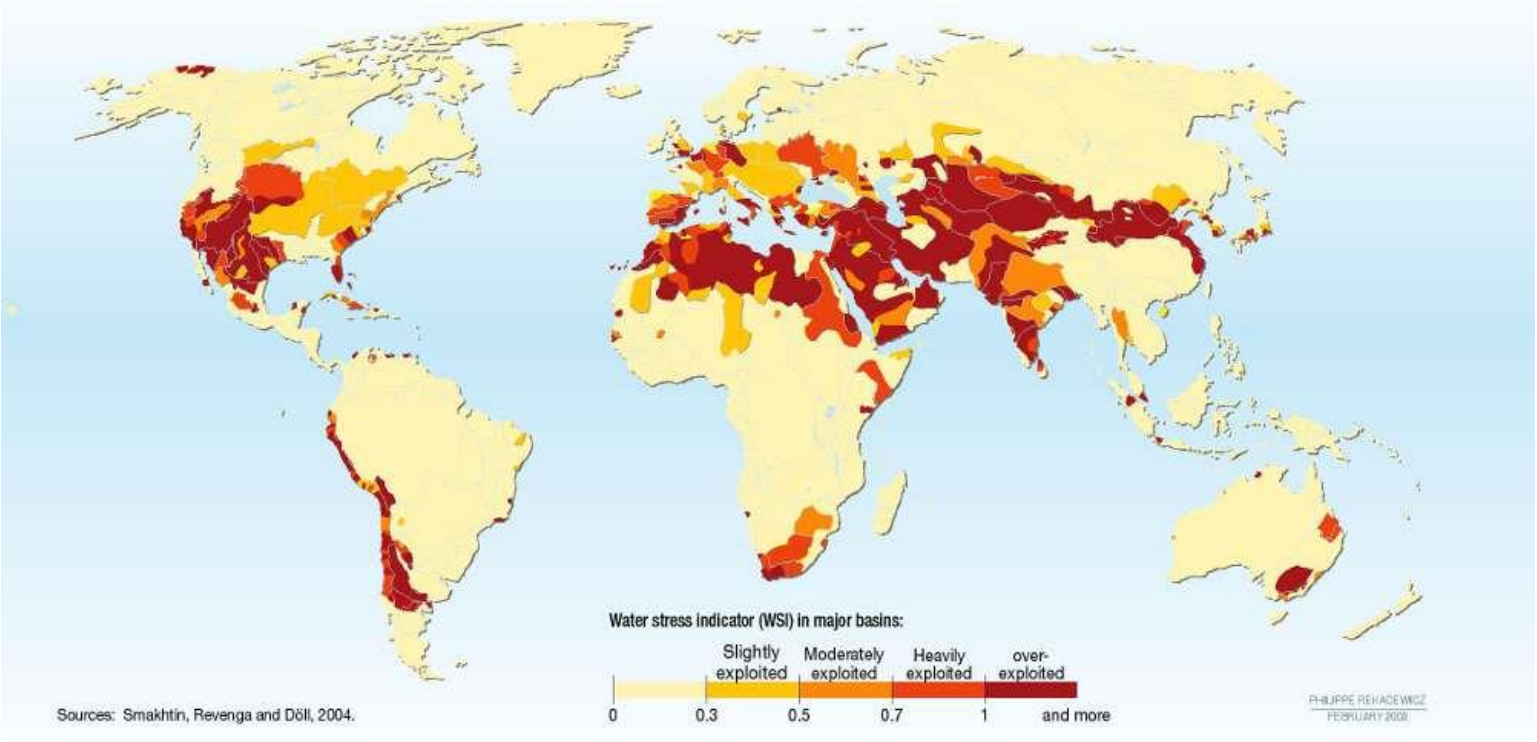
Stress abiotici

Biostimolanti

- Acidi umici e fulvici
- Estratti di alghe e specie vegetali;
- Idrolizzati proteici
- ecc.

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

I **cambiamenti climatici** e le **condizioni locali avverse** influiscono sulla produttività e qualità dei raccolti in tutto il mondo. Gli **stress abiotici** influiscono in modo significativo sulla crescita delle piante e occupa un ruolo fondamentale nel causare perdite sostanziali nei prodotti agricoli. La perdita di crescita può superare il 50% per la stragrande maggioranza delle specie vegetali (Rejeb et al., 2014)



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

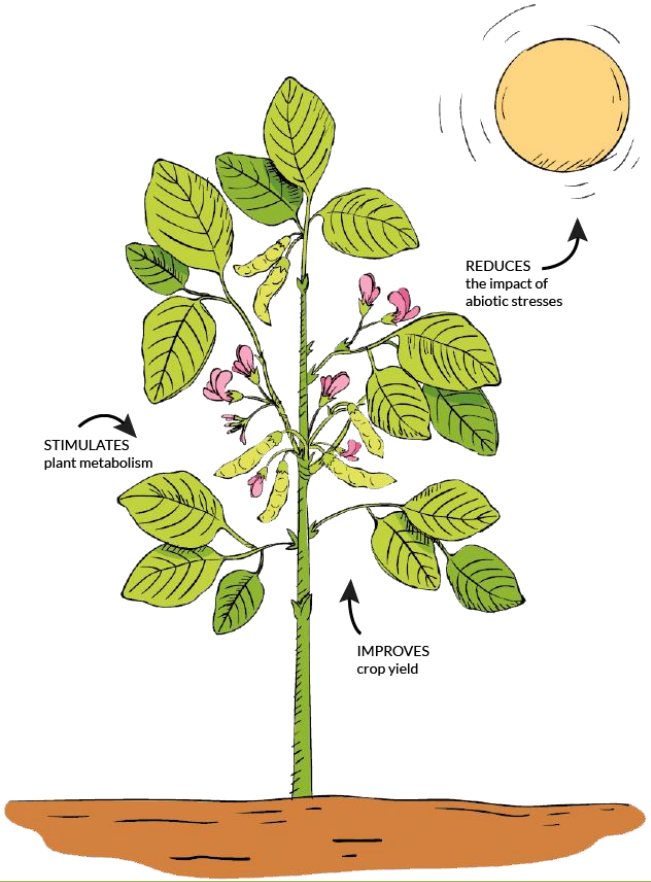
Biostimolanti

Derivati da materiale organico → Formulazione complessa → Minime quantità → Riduzione input (agrofarmaci e concimi)

→ Diversi dai fertilizzanti → Molteplici effetti positivi → ***Uso sostenibile delle risorse***

«…prodotti contenenti sostanze e/o microrganismi che, applicati alla pianta o alla rizosfera, … migliorano l'efficienza di assorbimento e di assimilazione dei nutrienti, la tolleranza a stress abiotici e/o la qualità del prodotto …»

(EBIC)



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

- Acidi umici e fulvici
- Estratti di alghe e specie vegetali
- Idrolizzati proteici e composti contenenti N
- Composti inorganici (Si, Se, Na, ecc.)
- Chitosano e altri biopolimeri
- Funghi
- Batteri

Quanti sono…

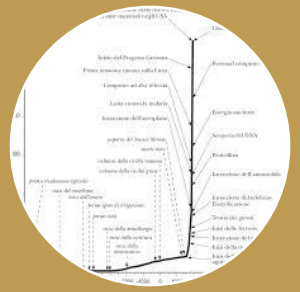
du Jardin 2015. Scientia Horticulturae, 196: 3-14.

I loro meccanismi d'azione sono interconnessi con quelli di aumento della tolleranza allo stress abiotico, miglioramento delle caratteristiche di qualità ed espansione della disponibilità di nutrienti (UE, 2019/1009).

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

Obiettivi futuri in agricoltura

Esigenze sempre maggiori da parte del consumatore



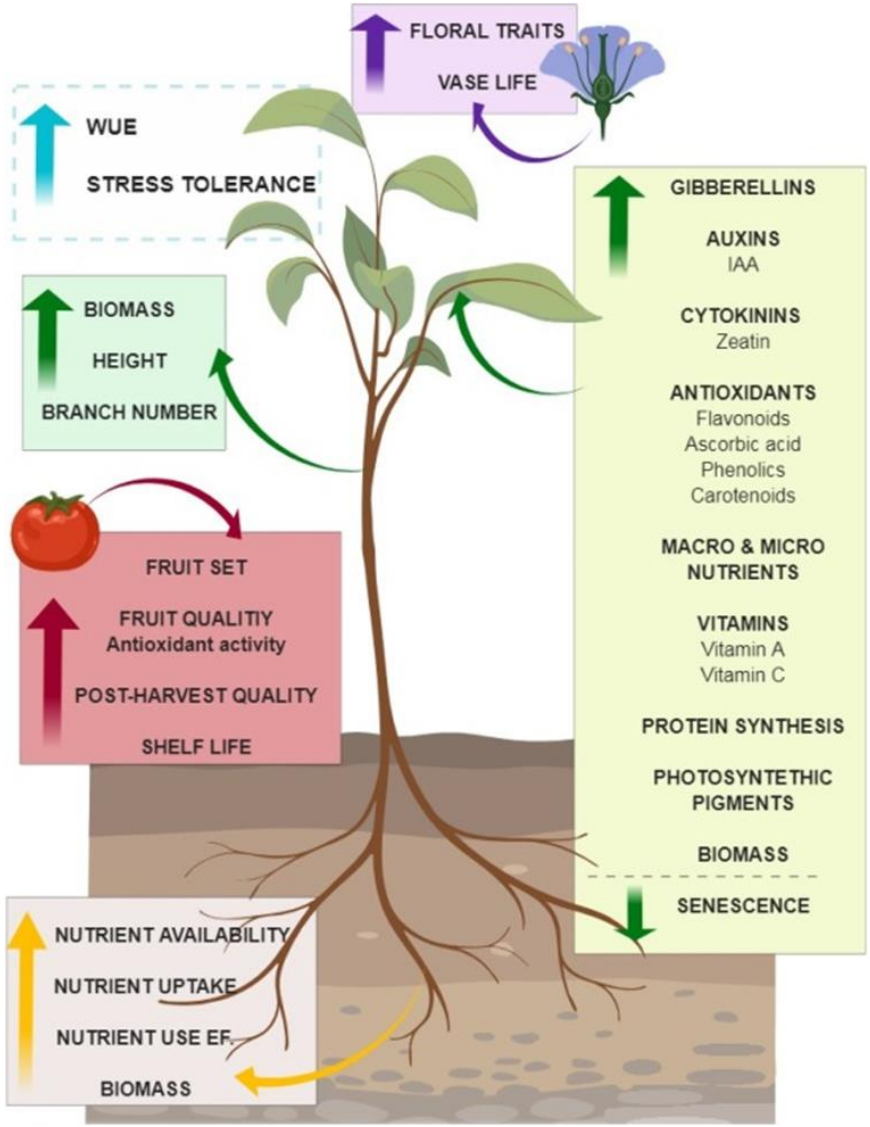
Necessità di incrementare la produzione in vista dell'aumento della popolazione mondiale 10 miliardi 2050

Nuovi strumenti e tecniche sostenibili

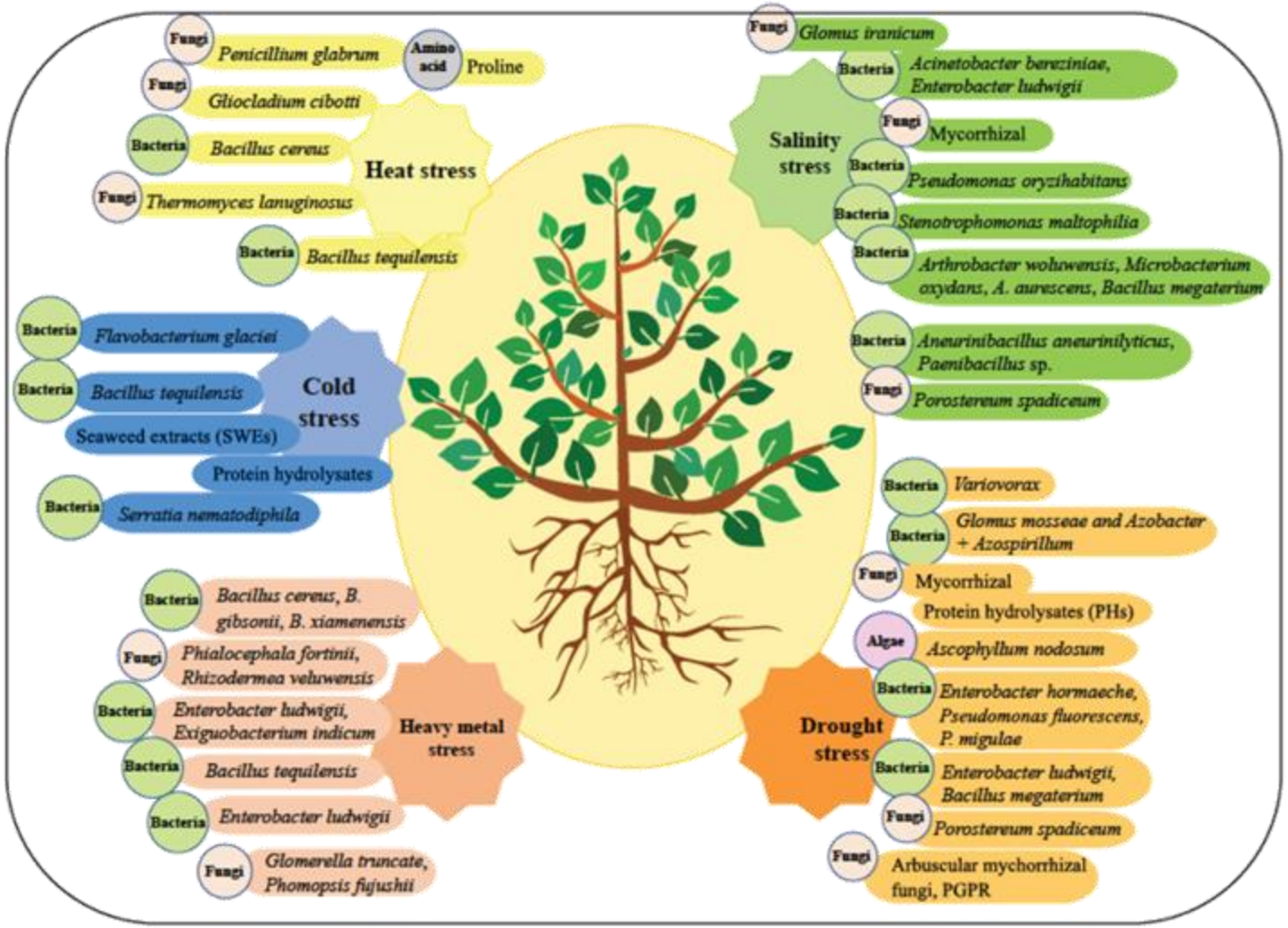
I sistemi colturali si stanno orientando sempre più verso la riduzione delle risorse, consumo di acqua, nutrienti e fitofarmaci con l'obiettivo di migliorare la produzione e ridurre l'impatto ambientale.

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

- ✓ L'applicazione di biostimolanti comporta molti aspetti della pianta, dalla propagazione, alla coltivazione, al post-raccolta.
- ✓ Gli obiettivi principali sono il miglioramento degli input (acqua, fertilizzanti, energia, ecc.), maggiore efficienza, miglioramento della qualità e uso limitato/zero di ormoni chimici e pesticidi.



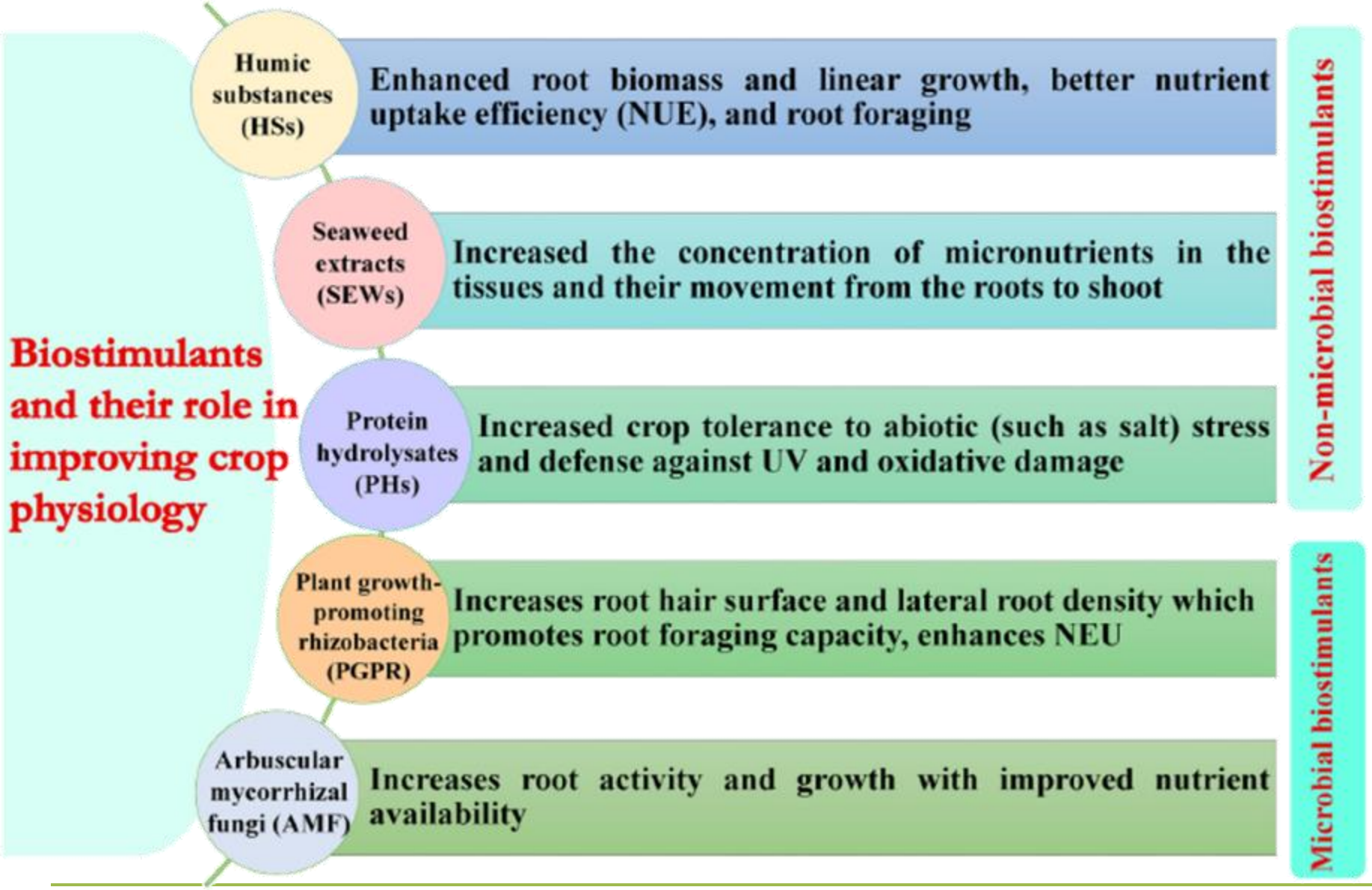
Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



Mandal et al., 2023

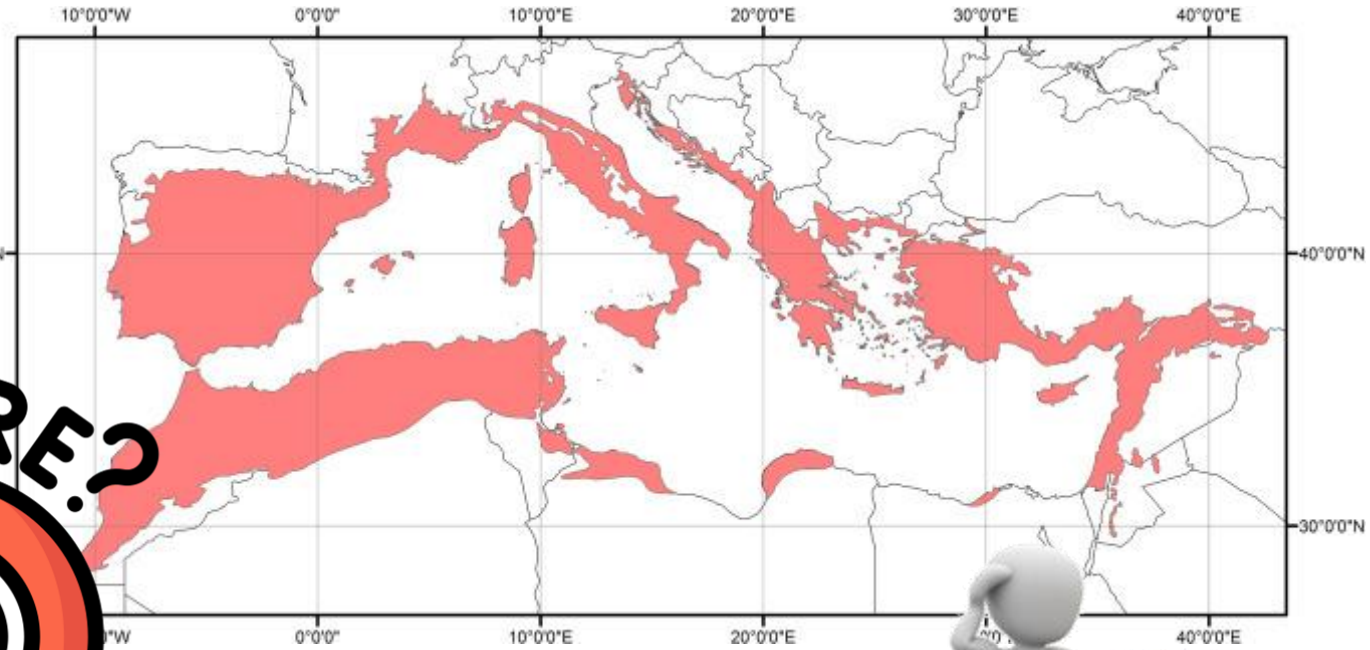
Principali classi di biostimolanti che contribuiscono a mitigare gli effetti degli stress abiotici.

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



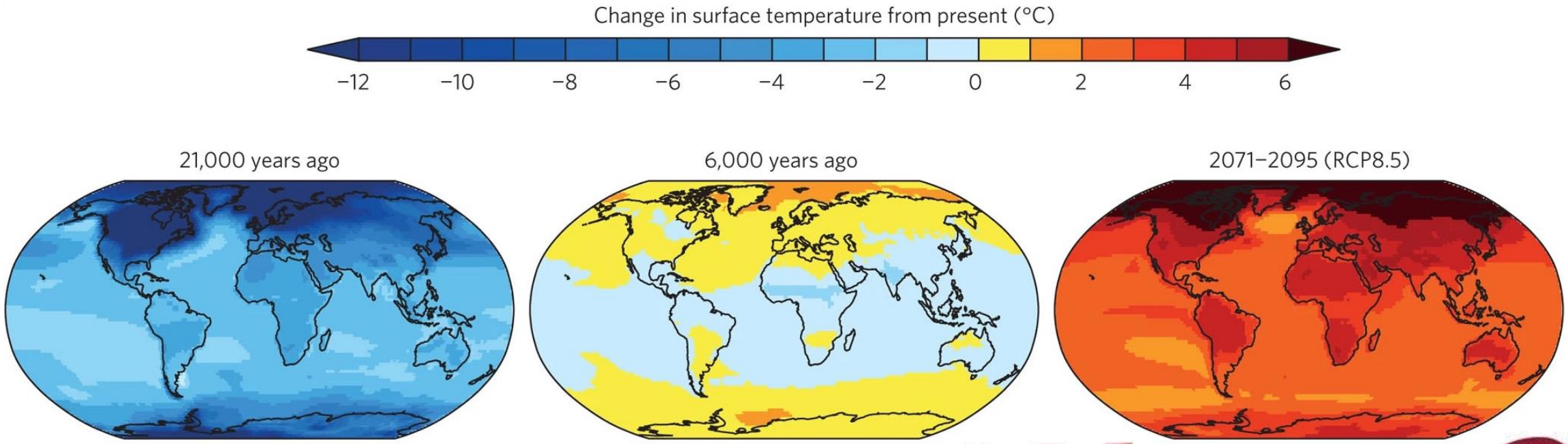
Mandal et al., 2023

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



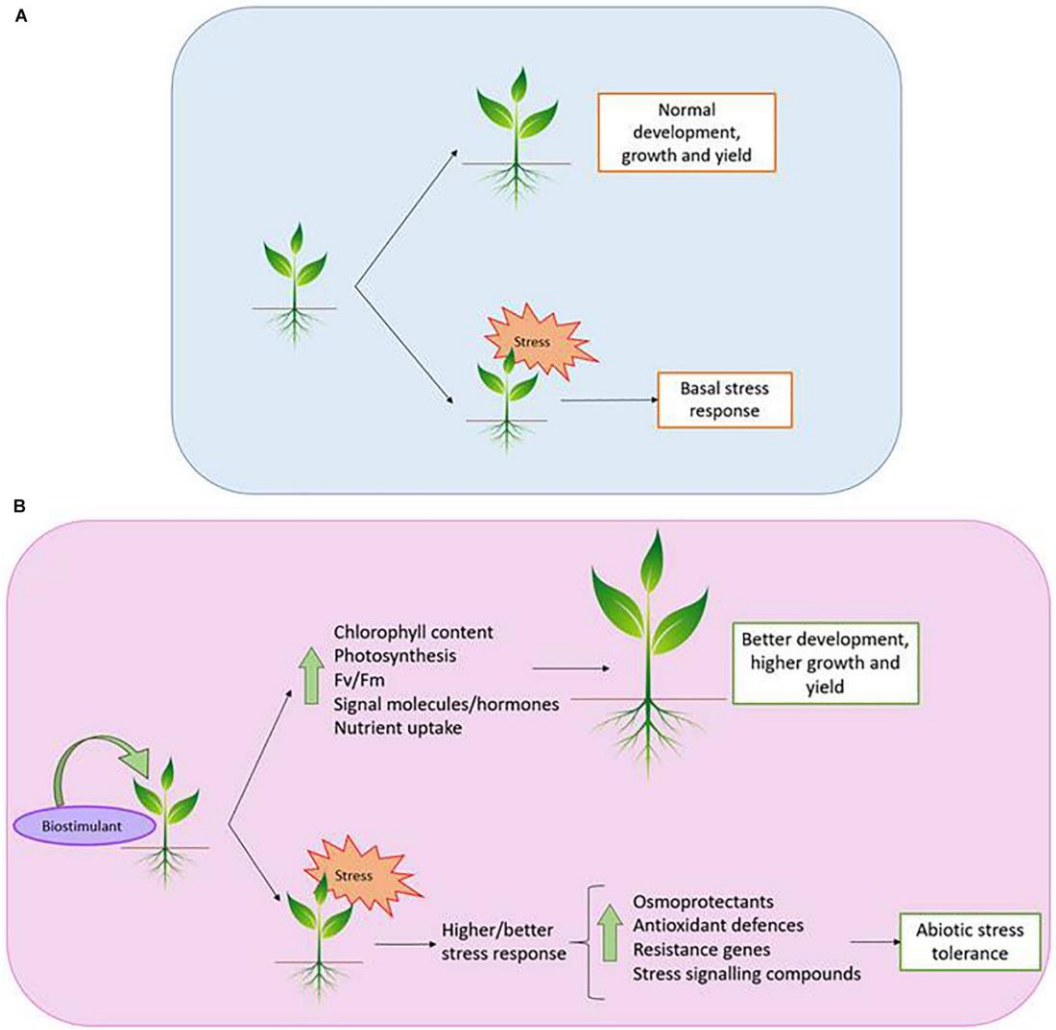
Come possono aiutarci i biostimolanti….

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

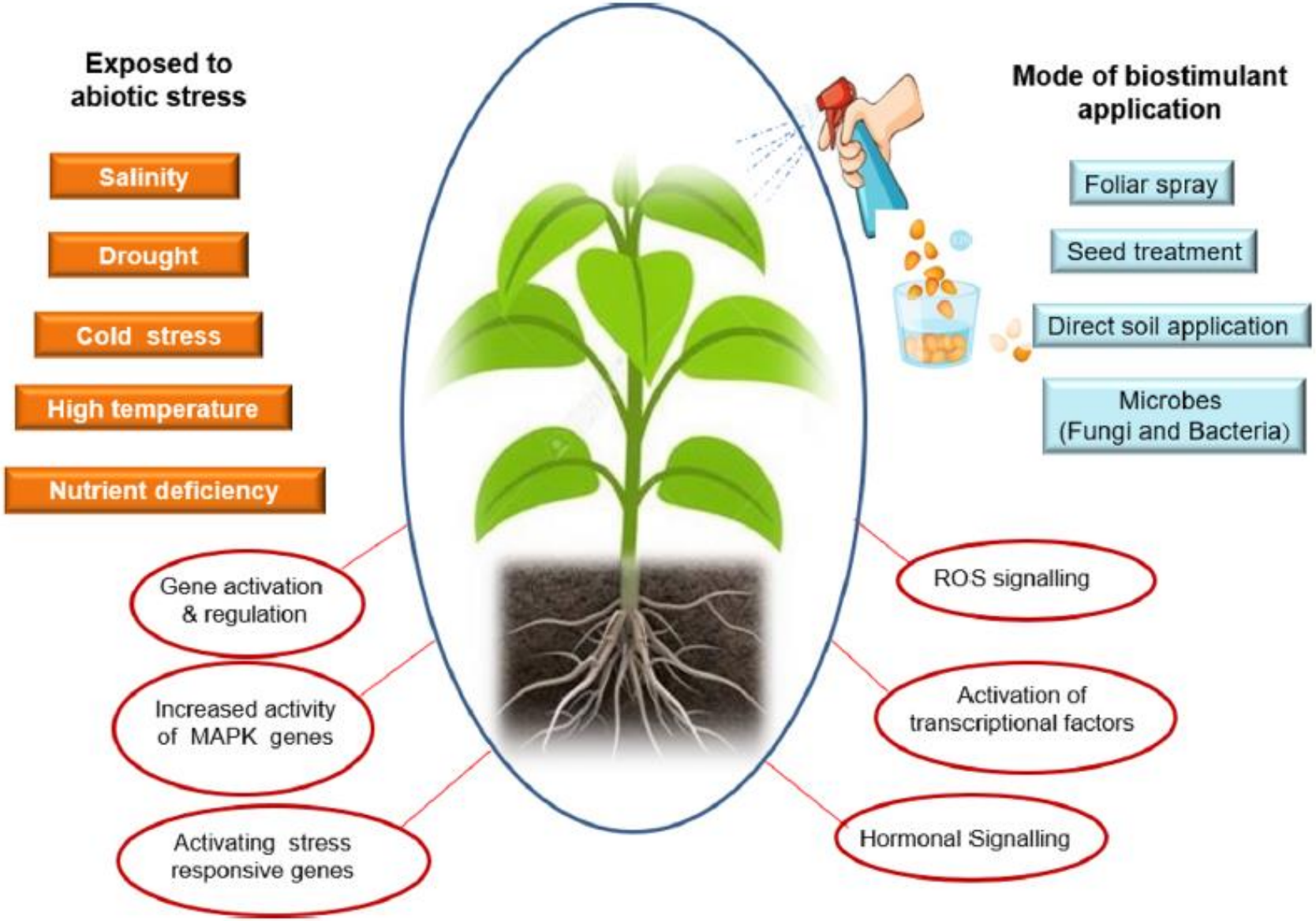


Comportamento delle piante di fronte ad uno stress abiotico in assenza o in presenza di prodotti biostimolanti

García-García et al., 2020

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

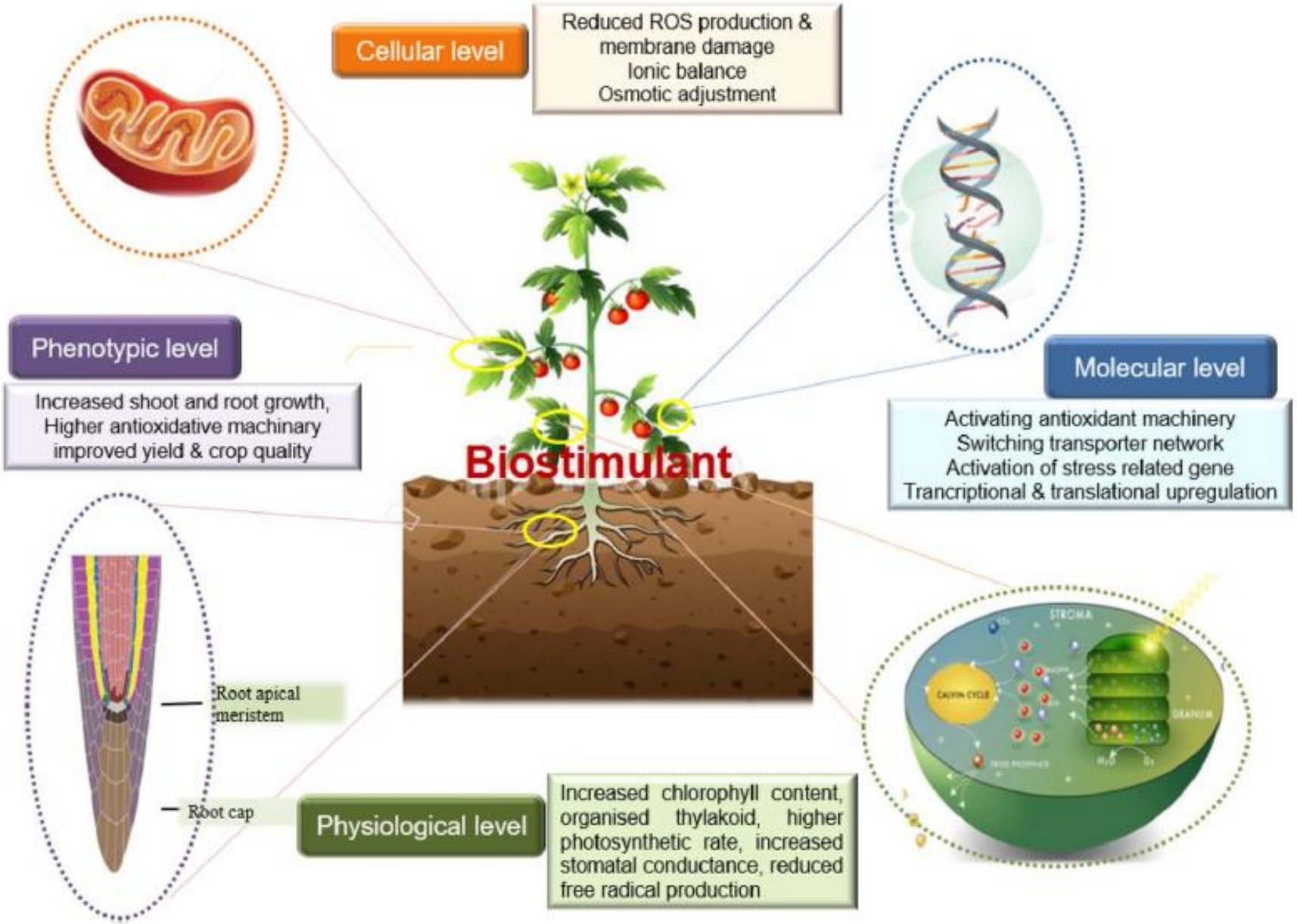
Fig. 2 Modes and mechanism of biostimulant application under abiotic stress condition



Johnson et al., 2024

Fig. 3 Key changes induced by the application of different biostimulants

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

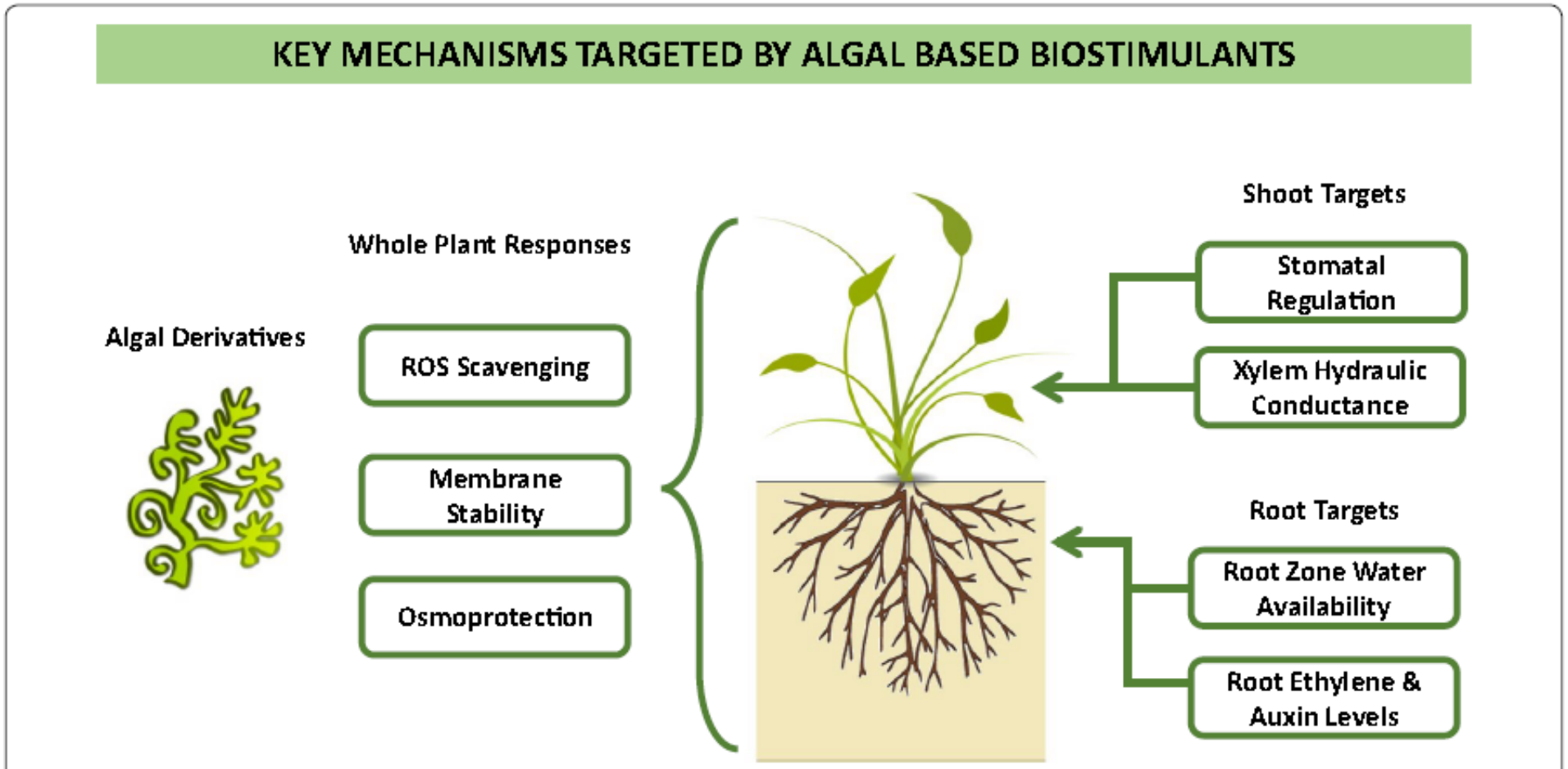


Fig. 1 Summary of main key mechanisms targeted by algal-based biostimulants

Van Oosten et al., 2017

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

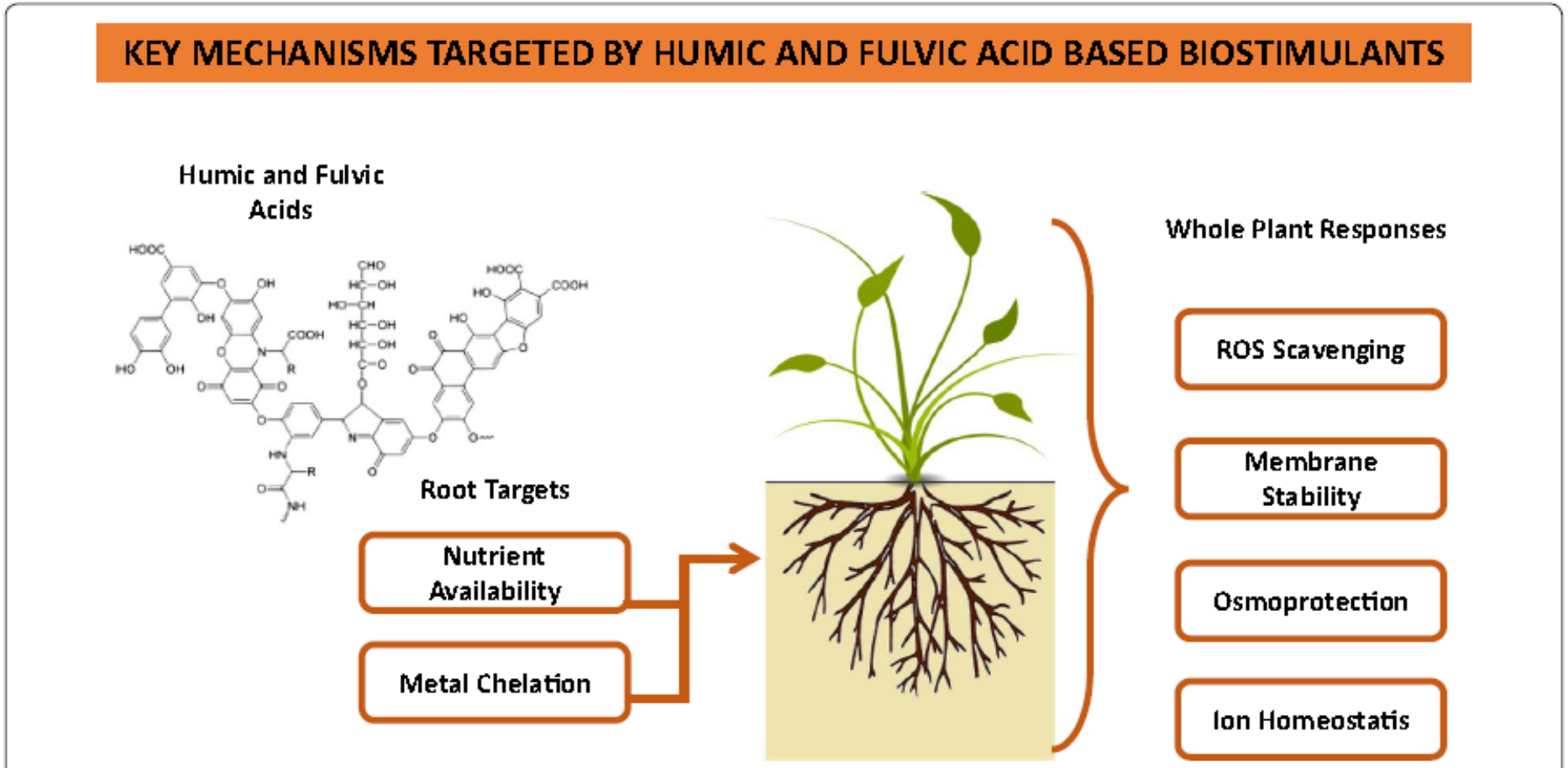


Fig. 3 Summary of main key mechanisms targeted by humic- and fulvic acid-based biostimulants

Van Oosten et al., 2017

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

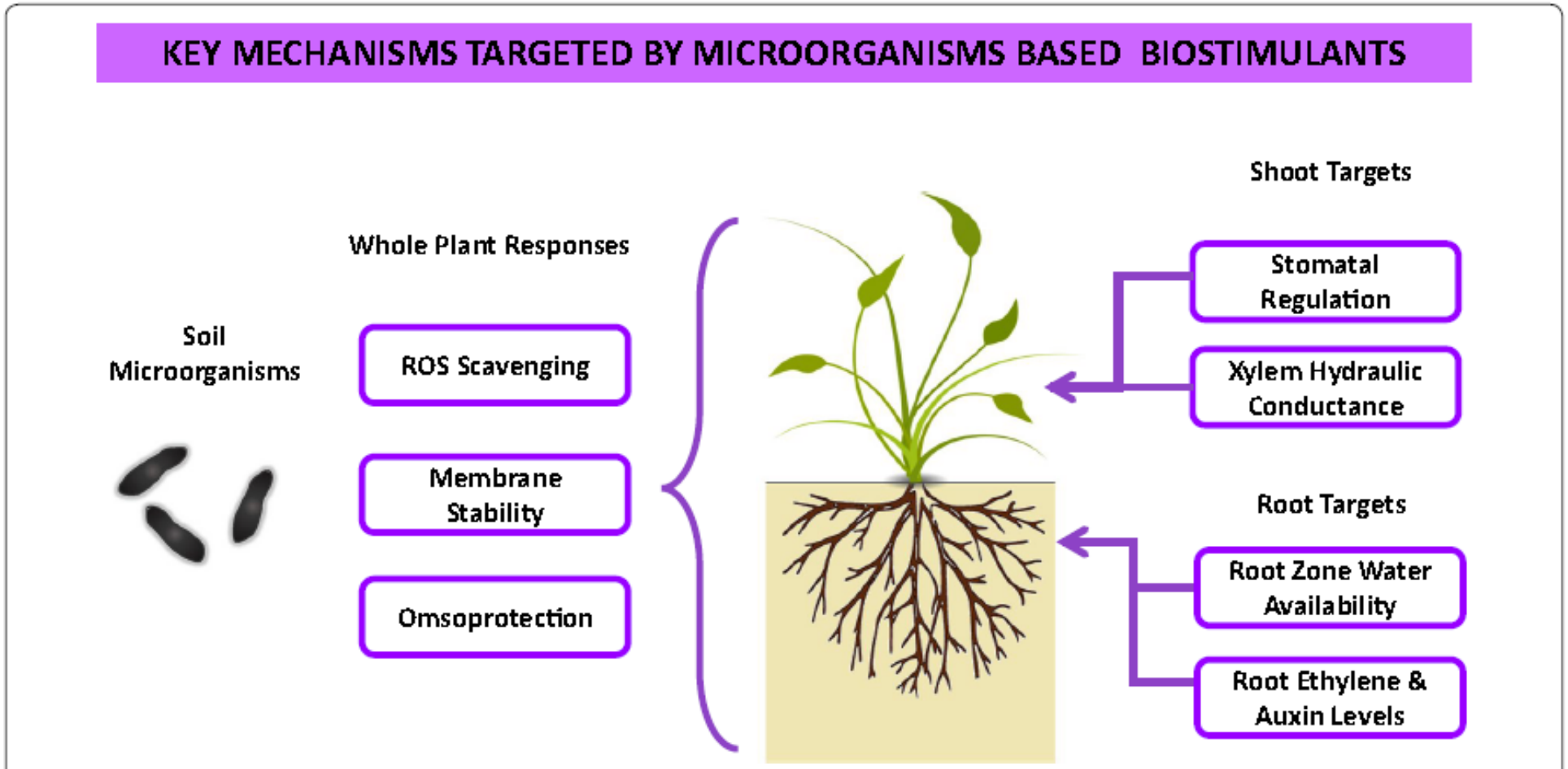


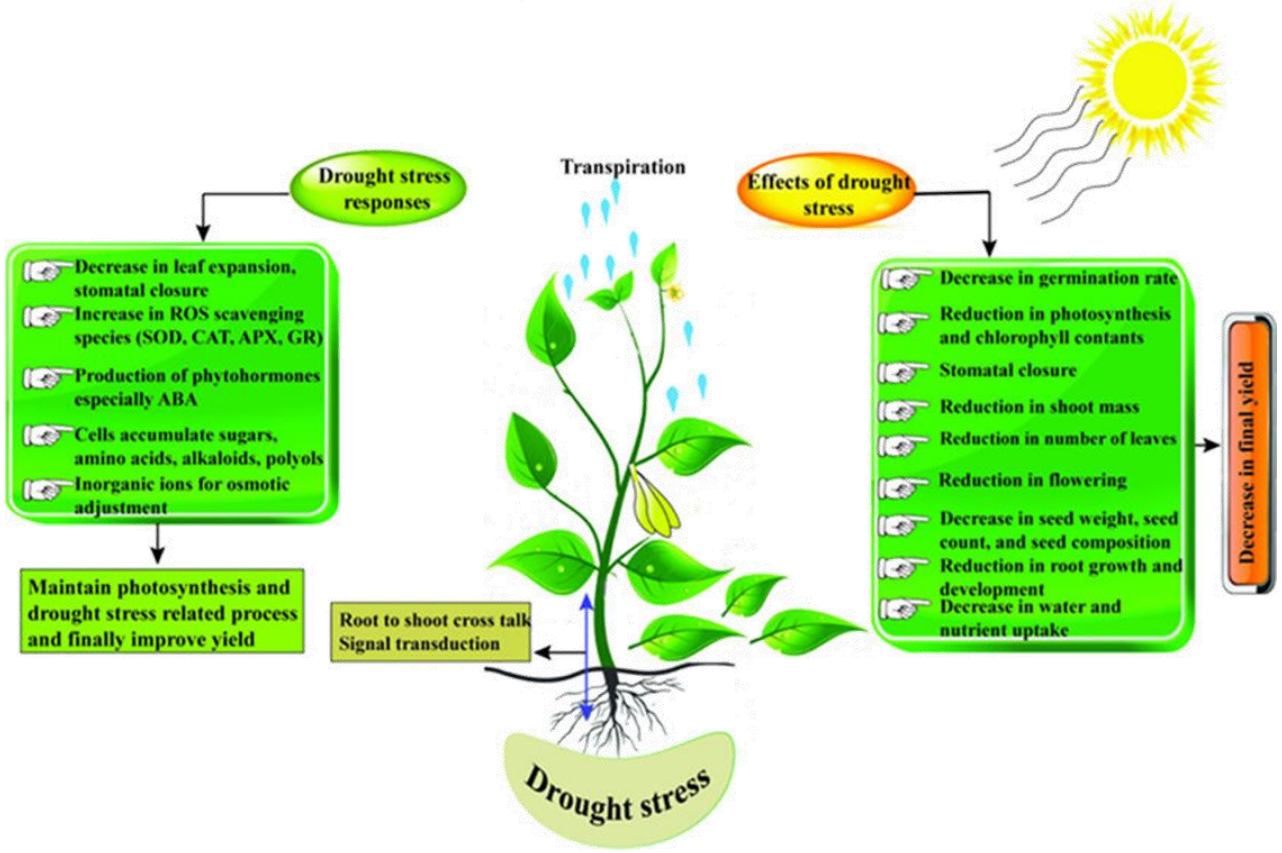
Fig. 4 Summary of main key mechanisms targeted by microorganism-based biostimulants

Van Oosten et al., 2017

SAMPLE ONLY

Stress idrico

- ✓ In condizioni di **stress idrico**, le piante subiscono una serie di cambiamenti **fisiologici** e **biochimici** (riduzione della fotosintesi, della conduttanza stomatica)
- ✓ **Manifestazioni esterne** dello stress idrico nelle piante includono principalmente l'arricciamento delle foglie, l'ingiallimento delle foglie, riduzione dell'altezza delle piante, del numero di foglie e avvizzimento delle piante
- ✓ **Incremento dei ROS**, esponendo le piante allo stress ossidativo



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

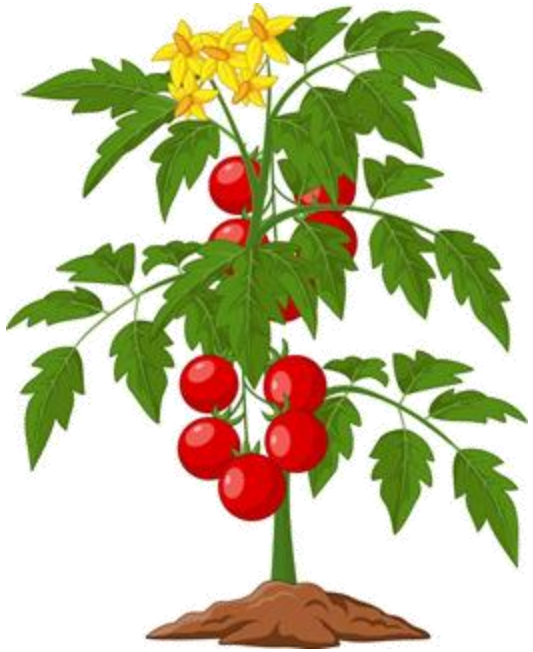
plants MDPI

Article

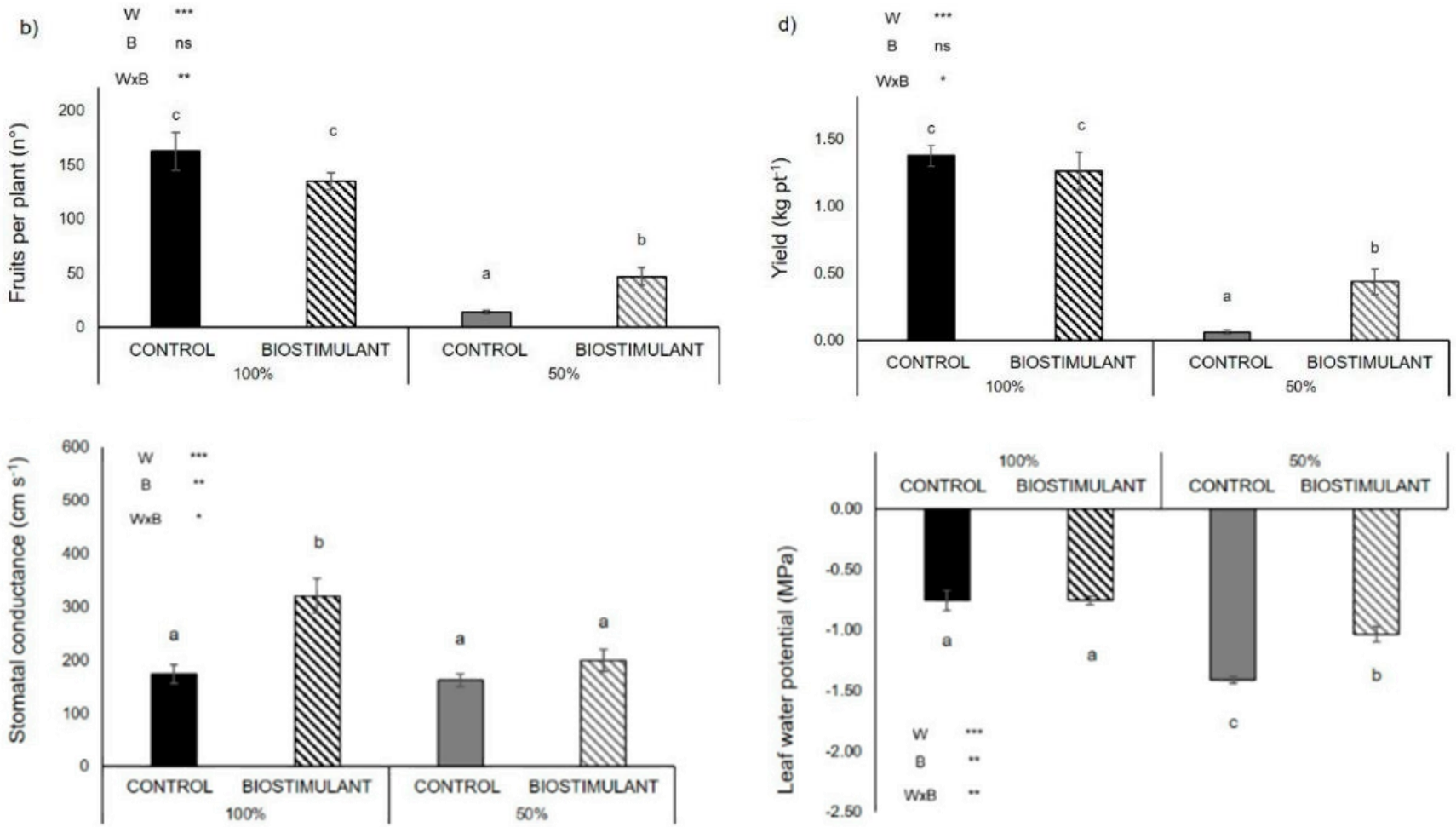
A Novel Protein Hydrolysate-Based Biostimulant Improves Tomato Performances under Drought Stress

Silvana Francesca †, Valerio Cirillo †, Giampaolo Raimondi, Albino Maggio, Amalia Barone and Maria Manuela Rigano *

- ✓ Lo scopo di questo studio era di collegare le risposte fisiologiche e le prestazioni agronomiche delle piante di pomodoro trattate con un idrolizzato proteico di origine vegetale.
- ✓ Nello studio è stato testato se l'applicazione del biostimolante potesse migliorare la **produttività del pomodoro** e la **qualità del frutto** in **due diversi regimi idrici** (ottimale e limitato) e in diversi contesti ambientali.
- ✓ Il biostimolante (proteina idrolizzata) è stato applicato mediante fertirrigazione ad una concentrazione di 3 g/l di acqua (400 mL per pianta) al trapianto e, successivamente, ogni 15 giorni fino al termine del ciclo di coltivazione (4 applicazioni).



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

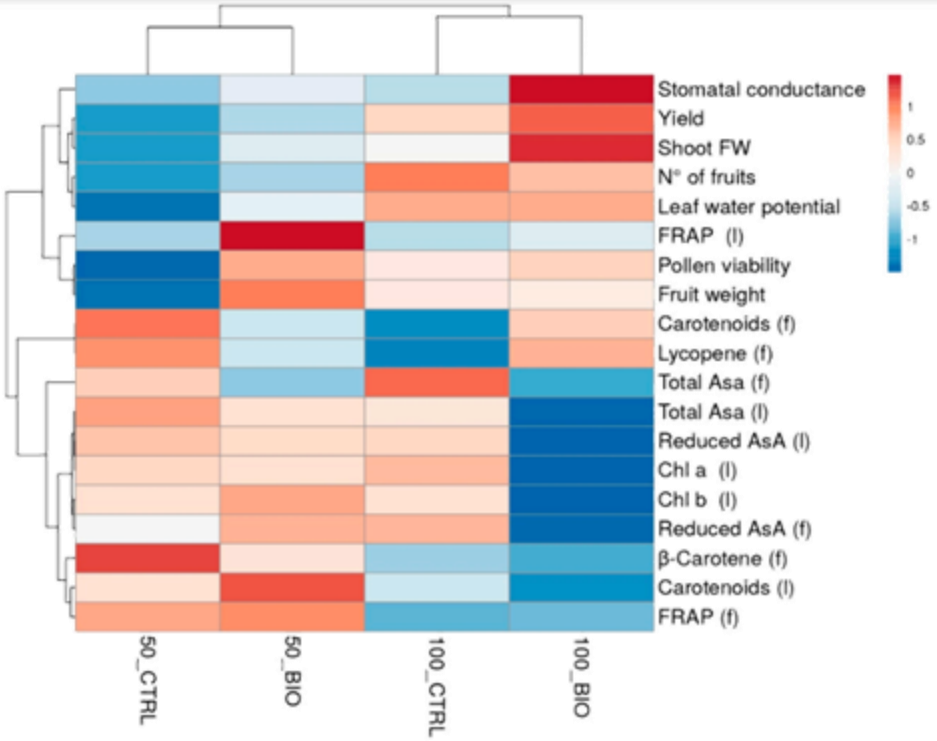
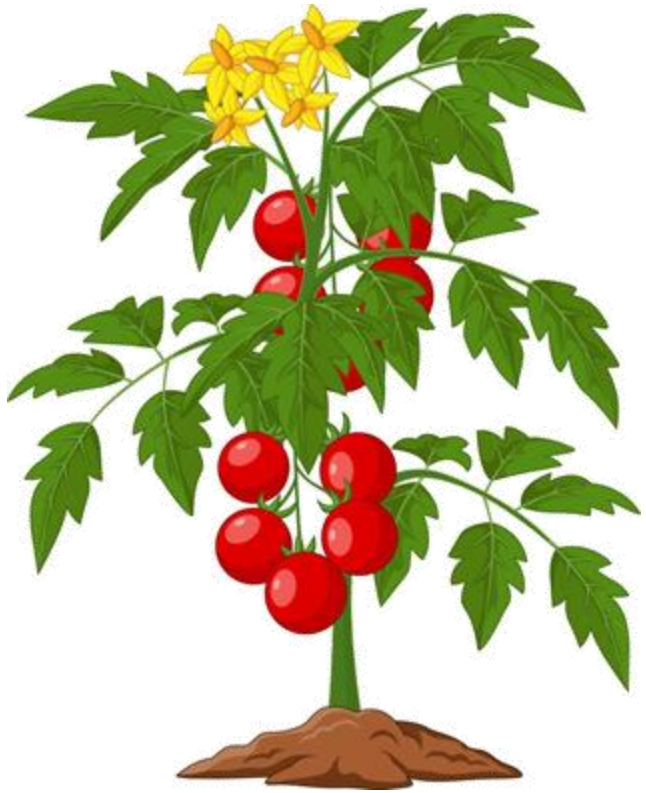


Figure 5. Heat map analysis summarizing plant responses to biostimulant application and water deficit in plants grown in Battipaglia under optimal (100) and limited water availability (50) and treated (BIO) or not (CTRL) with the protein hydrolysate. The letters in brackets indicate measurements taken from leaves (l) and fruits (f). The Figure was generated using the http://biit.cs.ut.ee/clustvis (accessed on 1 April 2021) program package with Euclidean distance as the similarity measure and hierarchical clustering with complete linkage.



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

Plant Physiology and Biochemistry 166 (2021) 1076–1086

Contents lists available at ScienceDirect

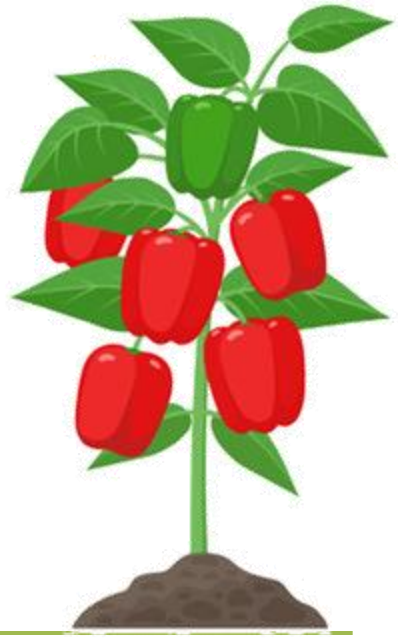
Plant Physiology and Biochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/plaphy

A new protein hydrolysate-based biostimulant applied by fertigation promotes relief from drought stress in *Capsicum annuum* L.

Chiara Agliassa [a,*], Giuseppe Mannino [b], Dario Molino [a], Silvia Cavalletto [a], Valeria Contartese [c], Cinzia Margherita Bertea [b,1], Francesca Secchi [a,1]

- ✓ Il peperone è una coltura di elevata importanza economica nell'area mediterranea. Negli ultimi tre decenni, la coltivazione è diventata progressivamente dipendente dalle serre a causa della elevata suscettibilità a condizioni di stress idrico.
- ✓ Lo stress idrico influisce negativamente sulla produttività delle piante di peperone, soprattutto quando avviene durante la fase di fioritura. Sono stati valutati gli effetti derivati dall'applicazione al suolo di proteine idrolizzate (**PH**) sul peperone durante la fioritura e prima del verificarsi di un grave stress idrico.
- ✓ Il biostimolante è stato testato per la sua potenziale attività di priming valutando la sua influenza benefica sia sulla tolleranza delle piante alla siccità che sull'efficienza di recupero dopo la riduzione dello stress.



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

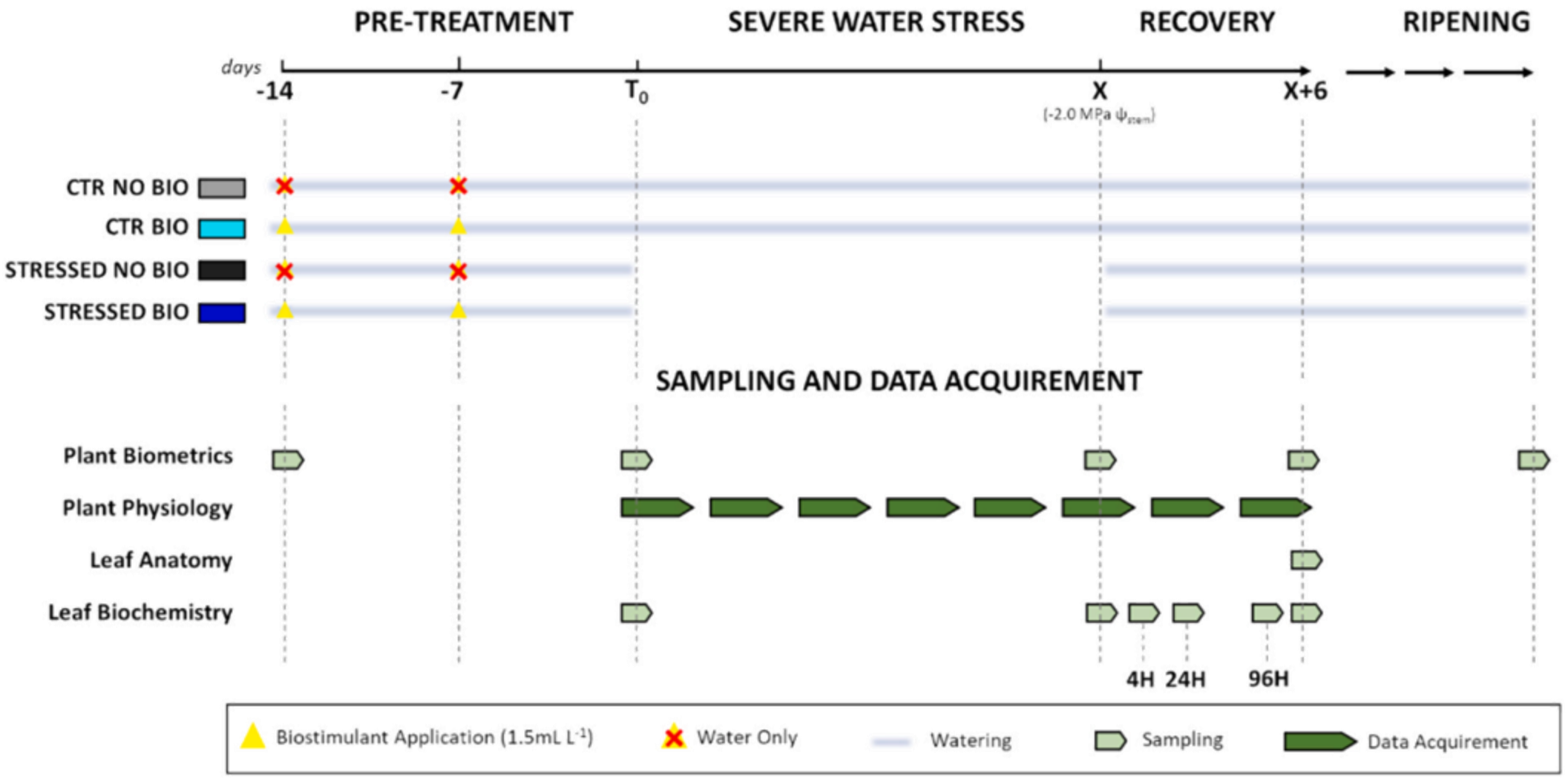


Fig. 1. Schematic representation of the adopted experimental design and timing of sampling and data acquirement.

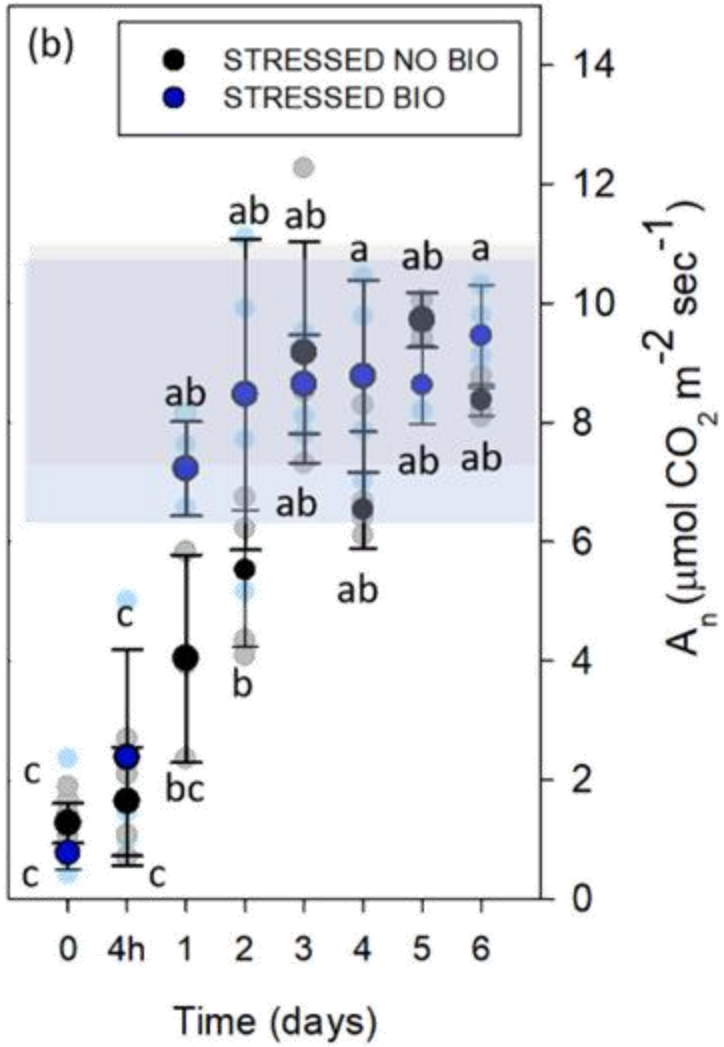
Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

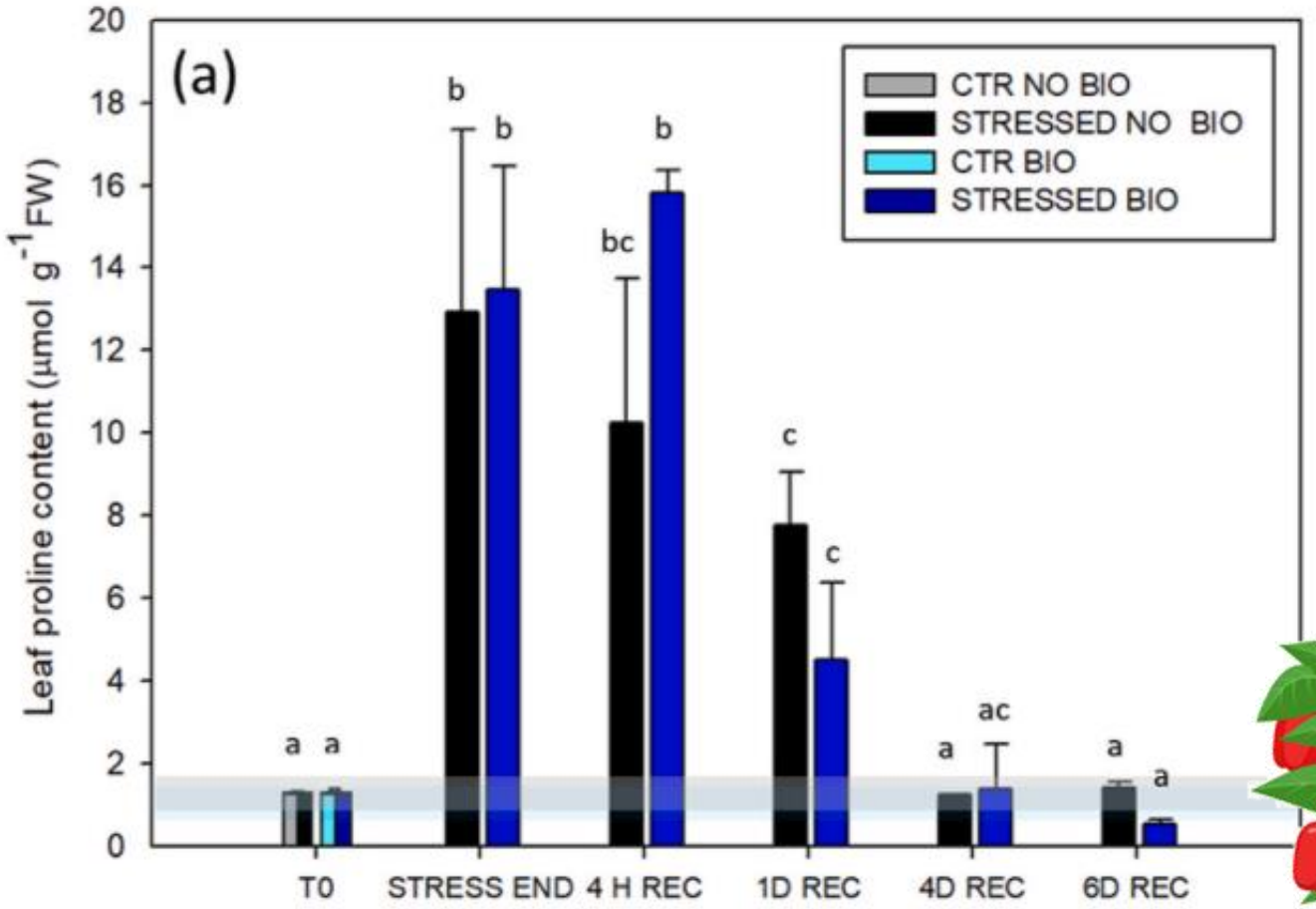
Plant dry weight at the end of stress and after 6 days from re-rewatering. Total plant dry weight (TOTAL DW), shoot and leaf dry weight with respect to TOTAL DW (SHOOT AND LEAF DW/TOTAL DW), root dry weight with respect to shoot dry weight (ROOT DW/SHOOT DW). Plant final yield at ripening time (FINAL FRUIT YIELD). Data are expressed as means ± SD.

	Experimental phase	Plant Group			
		CT NO BIO	STRESSED NO BIO	CTR BIO	STRESSED BIO
TOTAL DW (g)	STRESS END	17.910 ± 1.428^{a}	11.753 ± 1.572^{b}	18.997 ± 2.577^{a}	10.195 ± 0.658^{b}
	RECOVERY END	20.241 ± 1.868^{a}	14.215 ± 2.423^{b}	19.285 ± 1.746^{a}	14.680 ± 4.602^{ab}
SHOOT AND LEAF	STRESS END	0.543 ± 0.033^{a}	0.613 ± 0.030^{a}	0.682 ± 0.024^{b}	0.758 ± 0.041^{b}
DW/TOTAL DW	RECOVERY END	0.627 ± 0.152^{ab}	0.715 ± 0.029^{b}	0.676 ± 0.029^{b}	0.764 ± 0.092^{b}
ROOT DW/SHOOT DW	STRESS END	0.455 ± 0.007^{a}	0.615 ± 0.071^{a}	0.383 ± 0.055^{b}	0.301 ± 0.054^{b}
	RECOVERY END	0.360 ± 0.141^{ab}	0.342 ± 0.051^{b}	0.363 ± 0.040^{b}	0.278 ± 0.101^{b}
FINAL FRUIT YIELD (g plant^{-1})	RIPENING TIME	199.12 ± 21.14^{a}	136.95 ± 32.61^{b}	199.26 ± 27.04^{a}	225.485 ± 8.72^{a}

Different letters correlate with statistically different data, as measured by three-way ANOVA (for TOTAL DW, SHOOT AND LEAF DW/TOTAL DW and ROOT DW/SHOOT DW) (Tables S4-S6) or two-way ANOVA (FINAL FRUIT YIELD) (Table S7) followed by Tukey's test ($P < 0.05$). No significant interaction was found among the three independent variables for all the three analysed dependent variables.

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

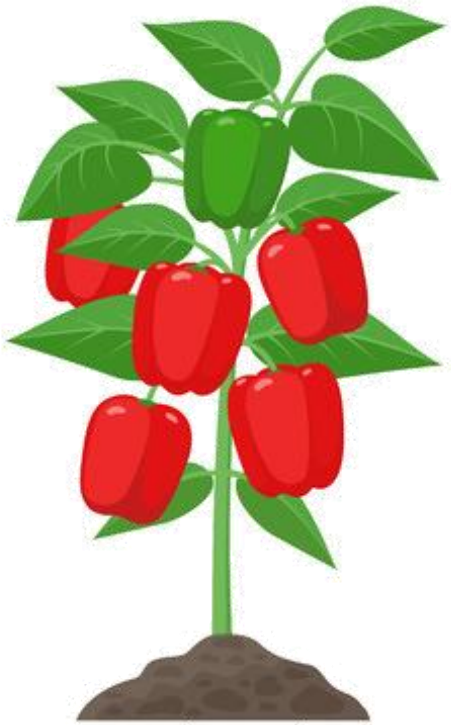




Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

I dati evidenziano che:

- ✓ Il biostimolante a base di PH, applicato mediante fertirrigazione e utilizzato come promotore di resilienza e induttore di priming, esercita un'intensa attività biologica.
- ✓ La sua applicazione come primer chimico potrebbe rappresentare un'efficiente soluzione agronomica per contrastare gli effetti negativi di uno stress idrico grave sulla crescita e la resa finale dei frutti.
- ✓ Il biostimolante sembra indurre una omeostasi fisiologica nelle piante stressate, come suggerito dai valori di densità stomatica superiori a quelli delle piante non trattate alla fine della fase di recupero.
- ✓ Il biostimolante ha favorito la tolleranza delle piante alla siccità, non solo promuovendo un accumulo maggiore di osmoliti e scavenger non enzimatici nelle piante stressate, durante lo stress e la fase di recupero, ma anche potenziando preventivamente il meccanismo antiossidante nelle piante ben irrigate



Meccanismi stress idrico – Ruolo dei biostimolanti

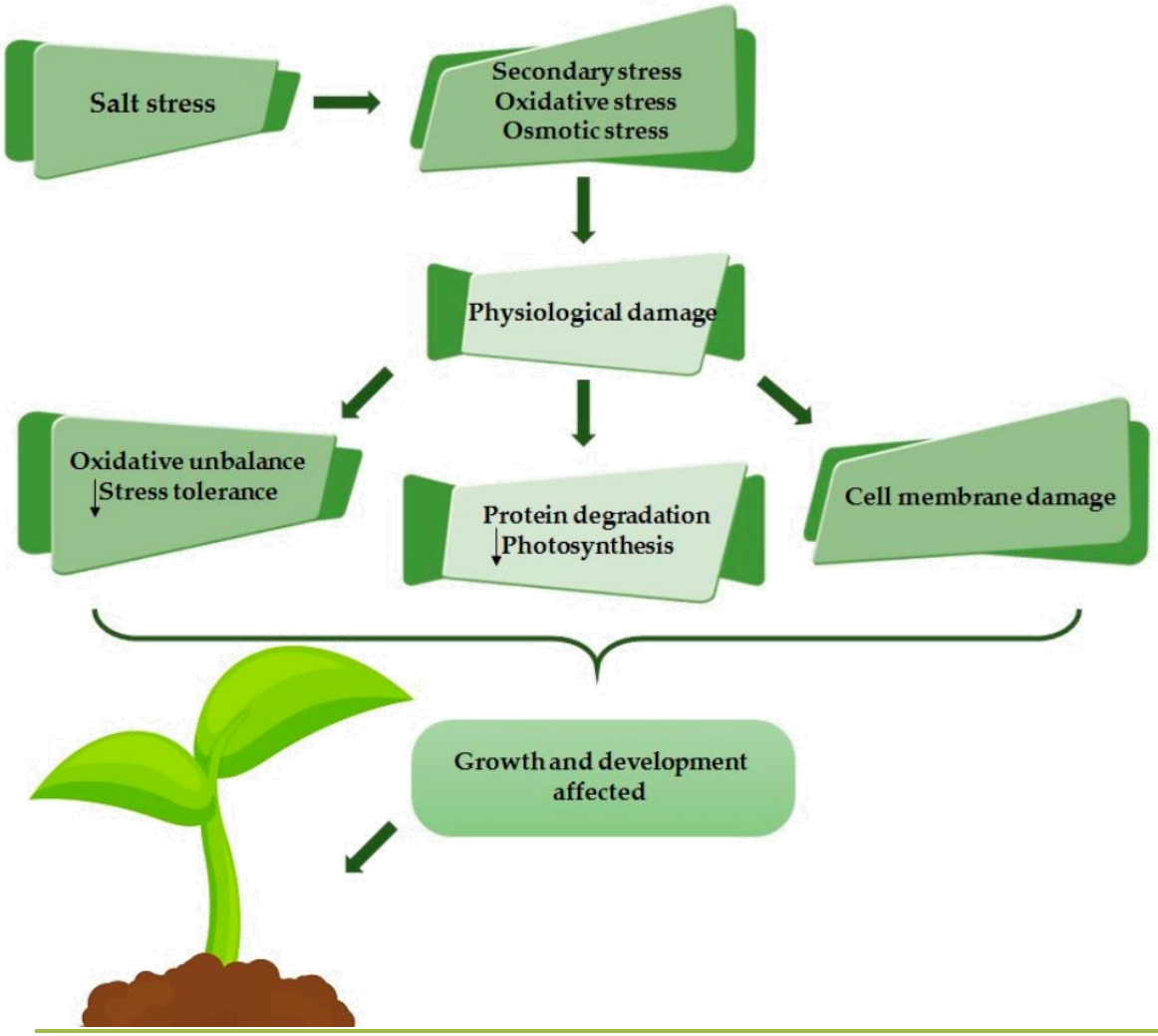
- Le piante rispondono al deficit idrico a seconda della durata dello stress, della specie, dell'età e dello stadio di sviluppo.
- I biostimolanti applicati ai semi o durante lo stadio giovanile della plantula, stimolano la produzione e la crescita delle radici, soprattutto in terreni con bassa fertilità e scarsa disponibilità di acqua, agendo **sul recupero accelerato** delle piantine in condizioni sfavorevoli, come il deficit idrico.
- L'utilizzo dei biostimolanti riduce la necessità di fertilizzanti per le piante, ne aumenta la produttività e la resistenza agli stress idrici e climatici; i biostimolanti, infatti, agiscono come regolatori ormonali e stimolatori della nutrizione.

Meccanismi stress idrico – Ruolo dei biostimolanti

- Le piante sottoposte a stress idrico presentano le cellule danneggiate dai radicali liberi, ma l'azione degli antiossidanti, rinforzata dai biostimolanti, è in grado di diminuire la tossicità di questi radicali, aumentando il sistema di difesa delle piante, grazie all'aumento dei loro livelli di antiossidanti.
- I biostimolanti utilizzati per migliorare la resilienza delle piante allo stress idrico devono stimolare la crescita delle radici rispetto a quella dei germogli, per consentire alle piante di esplorare una maggiore massa di terreno; effetti positivi possono essere assicurati dai biostimolanti microbici che creano delle superfici di assorbimento attorno l'apparato radicale e sequestrano l'acqua del suolo a favore delle piante

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

SAMPLE ONLY



Stress salino

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

Mitigation of salt stress in lettuce by a biostimulant that protects the root absorption zone and improves biochemical responses (Zuzunaga-Rosas et al., 2024)

La salinità è uno dei più diffusi e dannosi stress per la produzione di molte colture

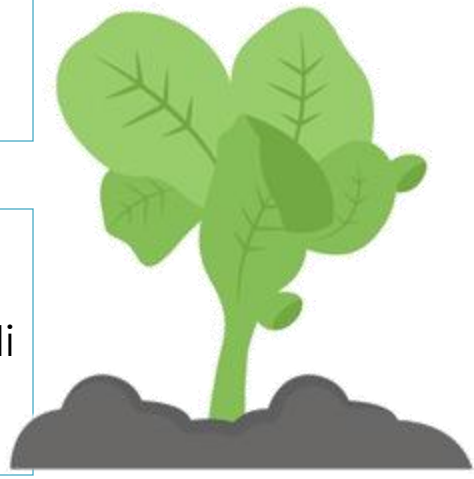
Oltre il 25% delle aree agricole irrigate nei paesi del Mediterraneo sono già salinizzate

Aumenti annuali dell'estensione e della gravità della salinizzazione del suolo nelle regioni aride e semi-aride

Uso eccessivo di acqua salina per l'irrigazione

Riduzione della resa del 50% in colture sensibili come la lattuga

La maggior parte delle colture orticole sono altamente sensibili alla salinità



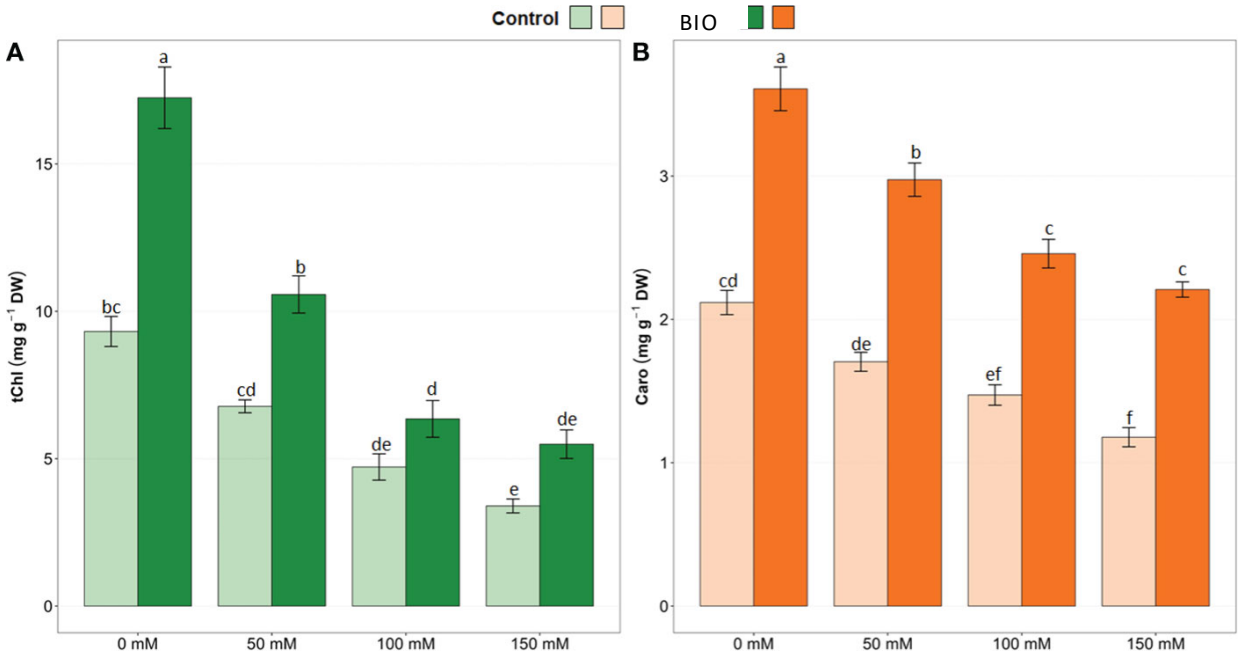
Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

- ✓ Testare l'effetto di un biostimolante di origine vegetale sulla tolleranza delle piante di lattuga (*Lactuca sativa* L.) allo stress salino, valutando le risposte biometriche e biochimiche innescate dal biostimolante.
- ✓ L'ipotesi di partenza era che l'applicazione del biostimolante a base di glicina betaina e polifenoli in piante sottoposte a diverse concentrazioni di NaCl potesse stimolare la crescita, aumentando la superficie radicale.

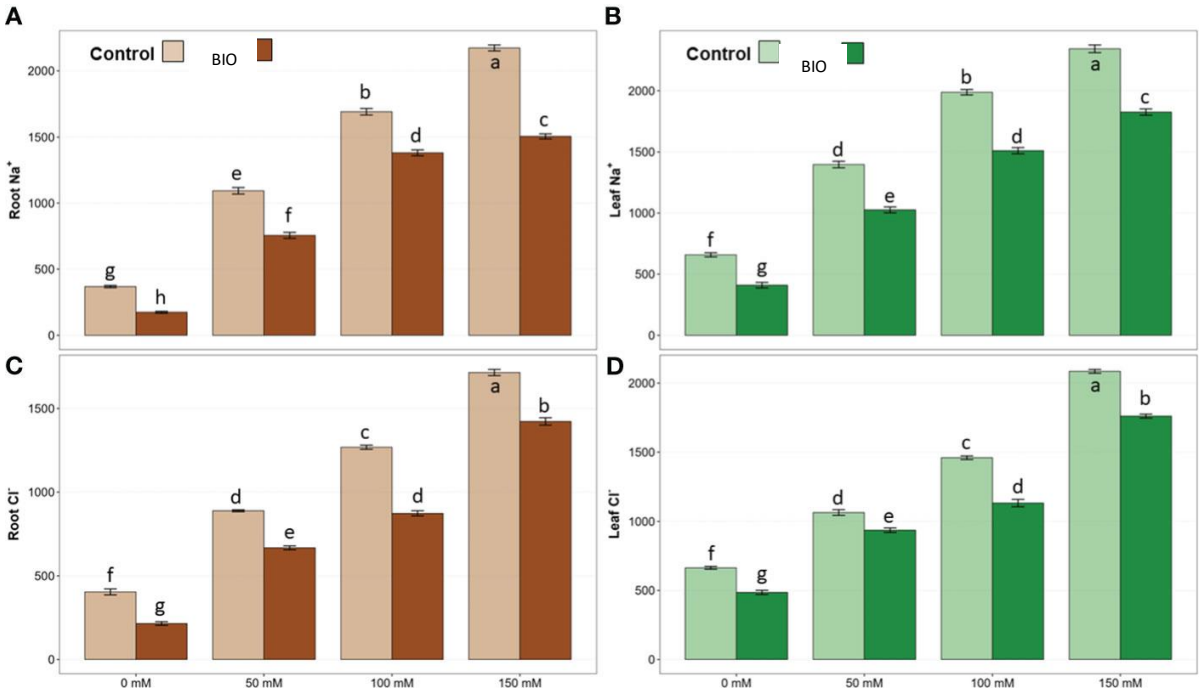
Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

Allestimento dei tubi di rizotron e disposizione dei vasi in vassoi (A), crescita delle piante sottoposte a trattamenti con diverse concentrazioni di NaCl (B), piante alla fine dei trattamenti, 42 giorni dopo il trapianto e il taglio delle piante di lattuga (C), valutazione delle radici in tempo reale con fotocamera Microrhizotron modello ST 21 (D).

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



- ✓ L'applicazione ha comportato aumenti di clorofilla totale e carotenoidi rispettivamente di 1,6 e 1,9 volte rispetto ai controlli senza biostimolante



- ✓ L'applicazione del biostimolante ha comportato una riduzione significativa del contenuto di entrambi gli ioni tossici, Na^+ e Cl^-, nelle radici e foglie di tutte le condizioni sperimentali testate

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

- La salinità provoca una **riduzione del potenziale osmotico** ostacolando l'assorbimento di acqua e nutrienti (Parihar et al., 2015);
- Si osservano cambiamenti nella **morfologia** delle piante ed effetti negativi sul metabolismo delle piante e sull'accumulo di biomassa con riduzione della crescita;
- Il trattamento con il biostimolante ha **migliorato** tutti i **parametri** di **crescita** e **biochimici** delle piante rispetto a quelli dei controlli non trattati;
- Il biostimolante ha contribuito ad aumentare significativamente le concentrazioni di clorofilla totale e carotenoidi in tutti i trattamenti rispetto al controllo;
- Questo effetto è attribuito alla capacità di tali biostimolanti di **attivare il metabolismo** vegetale **primario** e **secondario**, nonché l'espressione di geni legati ai meccanismi di difesa e alla tolleranza allo stress (Shahrajabian et al., 2021).

Meccanismi stress salino

- Lo stress salino è uno dei fattori limitanti più gravi per la crescita e la produzione delle colture
- I sali riducono la capacità della pianta di assorbire acqua
- Se quantità eccessive di sale entrano nel flusso di traspirazione della pianta si hanno ulteriori riduzioni nella crescita
- L'eccesso di sali determina uno squilibrio ionico o disturbi nell'omeostasi ionica e tossicità
- Tra le strategie che possono essere usate vi è l'impiego di sostanza organica e biofertilizzanti, la micorrizazione, l'applicazione fogliare di sostanze organiche, inorganiche o **biostimolanti**

Meccanismi stress salino

I biostimolanti a base di sostanze umiche determinano notevoli miglioramenti nelle proprietà fisiche e chimiche del suolo; l'estratto di foglie di *Moringa oleifera* è utilizzato favorevole per la crescita delle piante in condizioni normali e di stress salino.

Sostanze umiche in piante sottoposte a stress salino hanno mostrato una capacità di aggiustamento osmotico mantenendo l'assorbimento di acqua e il turgore cellulare.

In condizioni di stress salino, molti autori hanno classificato gli effetti di diverse categorie di biostimolanti sulle piante in influenze **dirette** e **indirette**.

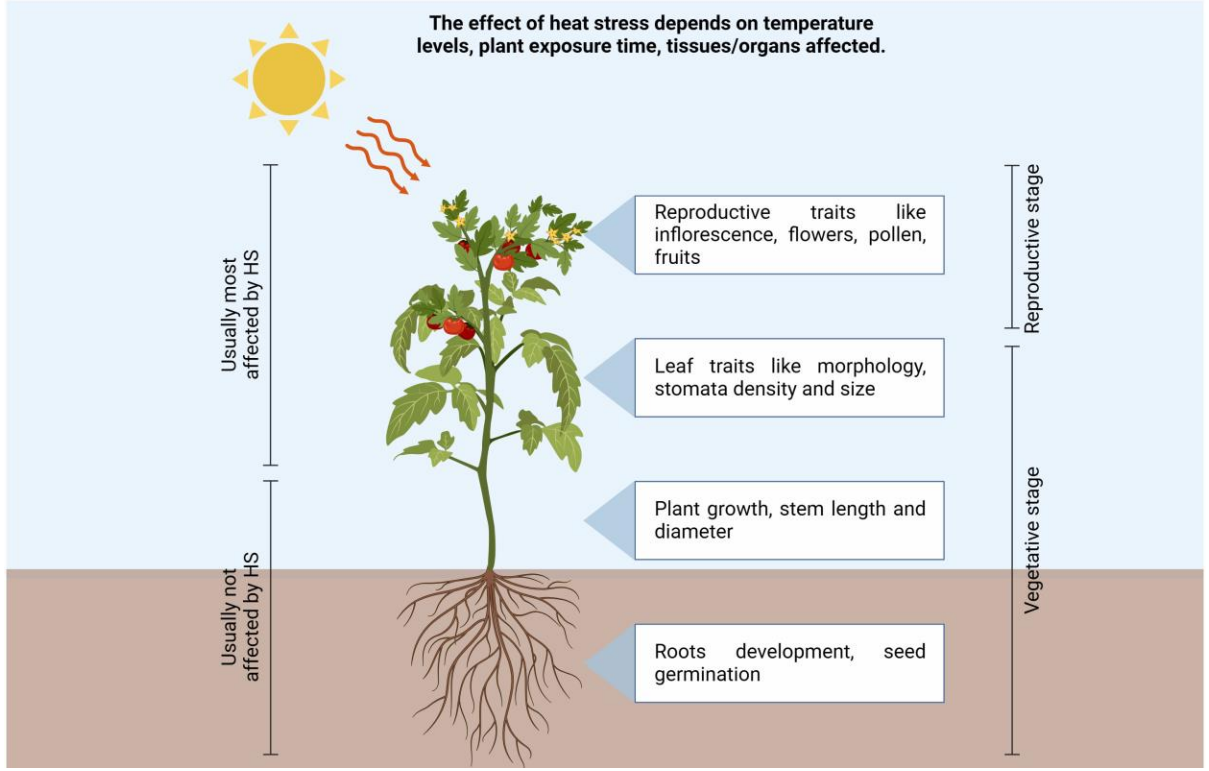
Gli impatti **indiretti** sono legati al miglioramento delle proprietà fisiche, chimiche e biologiche dei suoli

Le influenze **dirette** sono attribuite al miglioramento della germinazione, della crescita della pianta (radice e germoglio) come miglioramento della resistenza delle piante allo stress.

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

Alte temperature

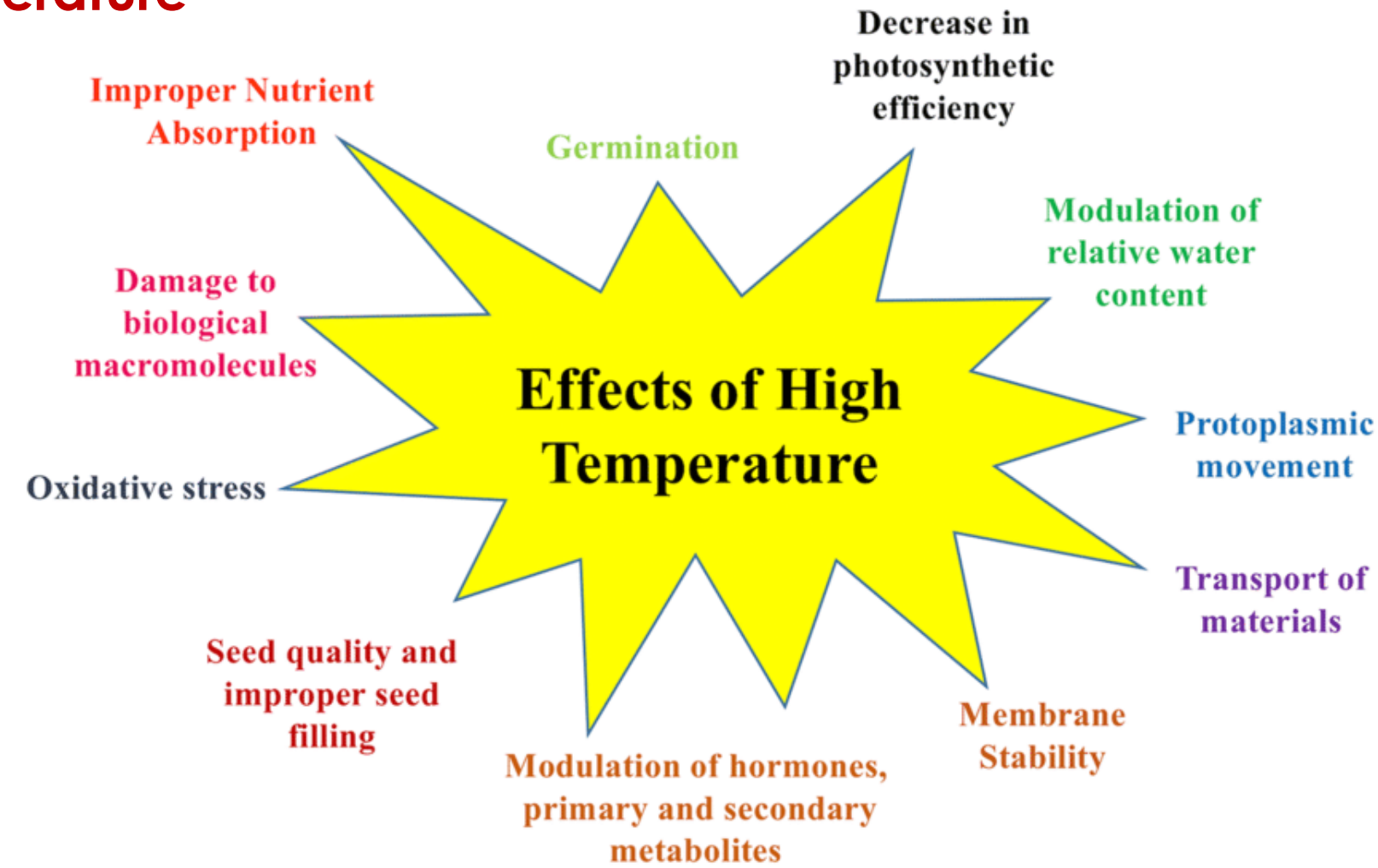
Le stime sui cambiamenti climatici ci dicono che le temperature globali aumenteranno di 2-6 °C entro la fine di questo secolo a causa del rapido aumento delle concentrazioni di gas serra nell'atmosfera.
Fondamentale l'analisi delle risposte delle piante allo stress da alte temperature.



Barone and Graci, 2024

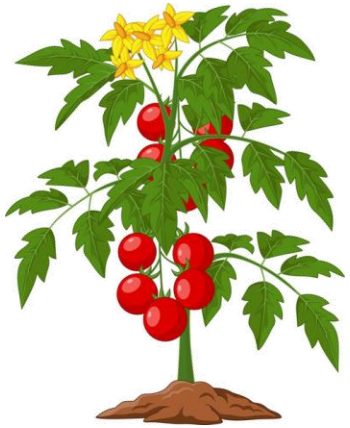
Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

Alte temperature



Kumari et al., 2020

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



Scientia Horticulturae 293 (2022) 110712

Contents lists available at ScienceDirect

Scientia Horticulturae

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scihorti

Biostimulants alleviate temperature stress in tomato seedlings

Chenxu Niu [a], Ge Wang [a], Jing Sui [b], Genzhong Liu [a], Fangfang Ma [a,*], Zhilong Bao [a,*]

- ✓ Con l'impatto del cambiamento climatico globale, gli stress abiotici (alte temperature, siccità, suoli salini, inondazioni) stanno diventando principali minacce per la crescita e lo sviluppo delle piante (Gang et al., 2013; Zhouet al., 2015).
- ✓ Il pomodoro richiede una temperatura di crescita intorno ai 25 °C; tra i diversi fattori ambientali la temperatura continua ad essere una grande preoccupazione per la coltivazione.
- ✓ Piante soggette a stress da basse o alte temperature, manifestano diversi disordini metabolici (chiusura stomatica, cloroplasti danneggiati, enzimi fotosintetici inattivi o denaturati, velocità fotosintetica rallentata, accumulo dei ROS e squilibrio redox che porterà al danno dell'omeostasi cellulare).

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

Scientia Horticulturae 293 (2022) 110712

Contents lists available at ScienceDirect

Scientia Horticulturae

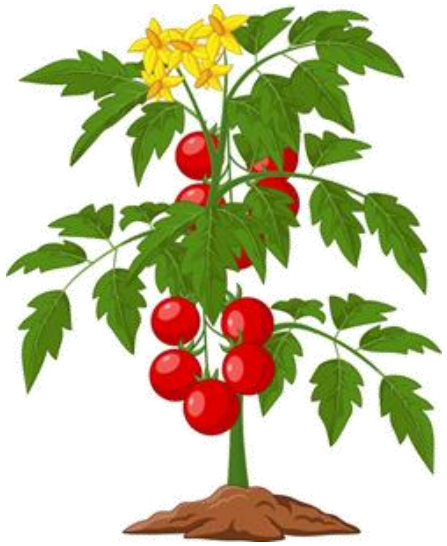
journal homepage: www.elsevier.com/locate/scihorti

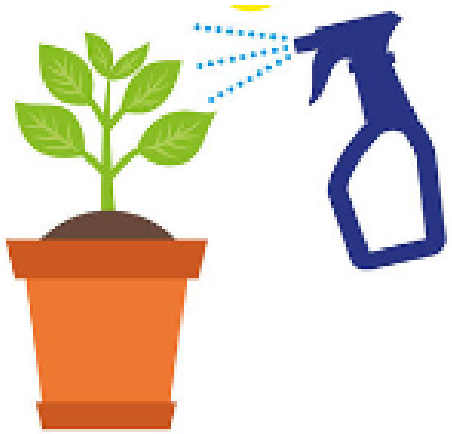
Biostimulants alleviate temperature stress in tomato seedlings

Chenxu Niu [a], Ge Wang [a], Jing Sui [b], Genzhong Liu [a], Fangfang Ma [a,*], Zhilong Bao [a,*]

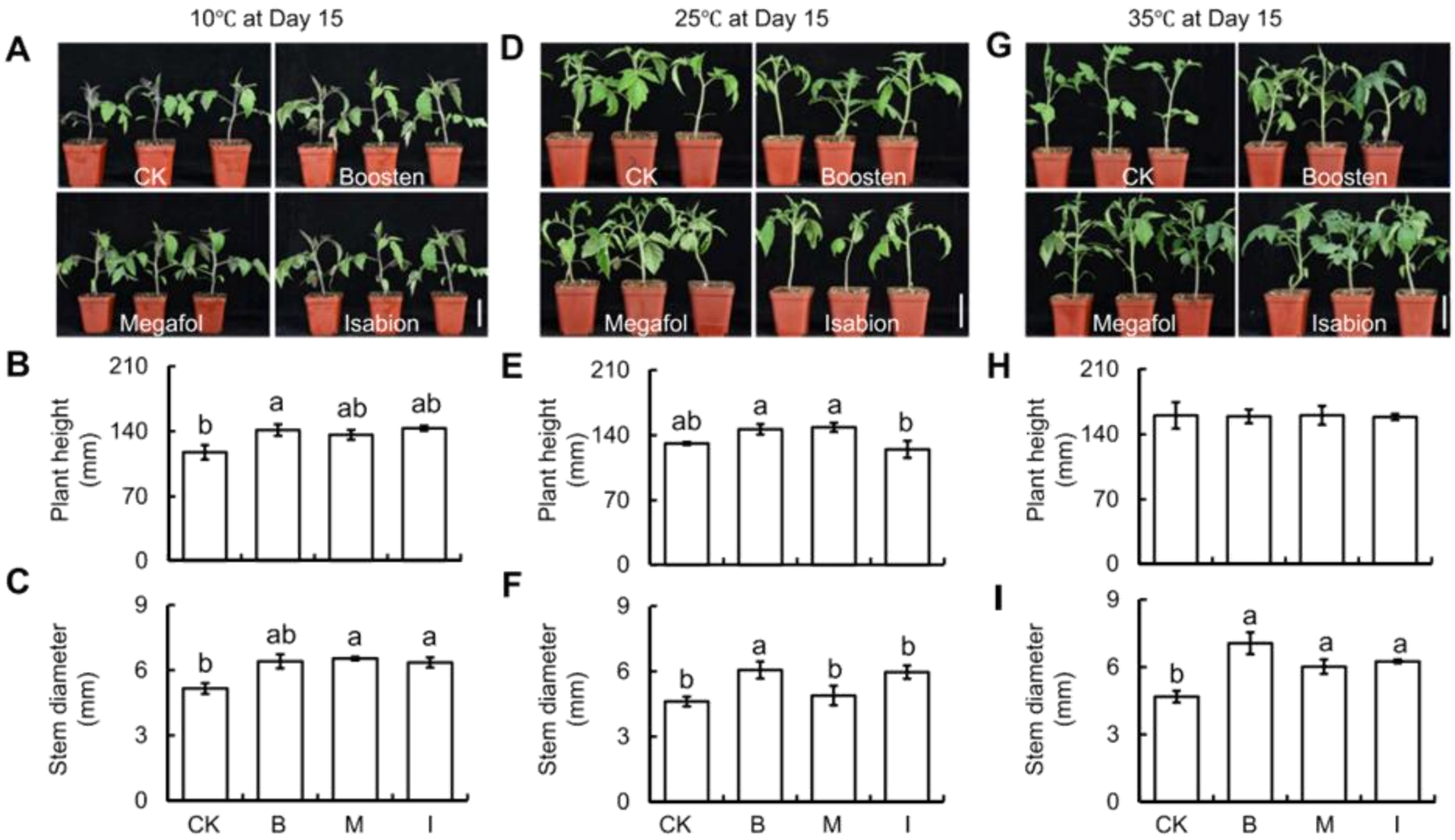
Tre biostimolanti commerciali: due a base di estratti di alghe marine, contenenti principalmente vitamine, aminoacidi, betaine e ormoni vegetali naturali; il terzo, un biostimolante derivato dal collagene animale e conteneva glicina, prolina, idrossiprolina e piccoli peptidi.

Essi erano applicati alle foglie ogni 7 giorni a 10 ◦C, 25 ◦C e 35 ◦C dopo il trapianto

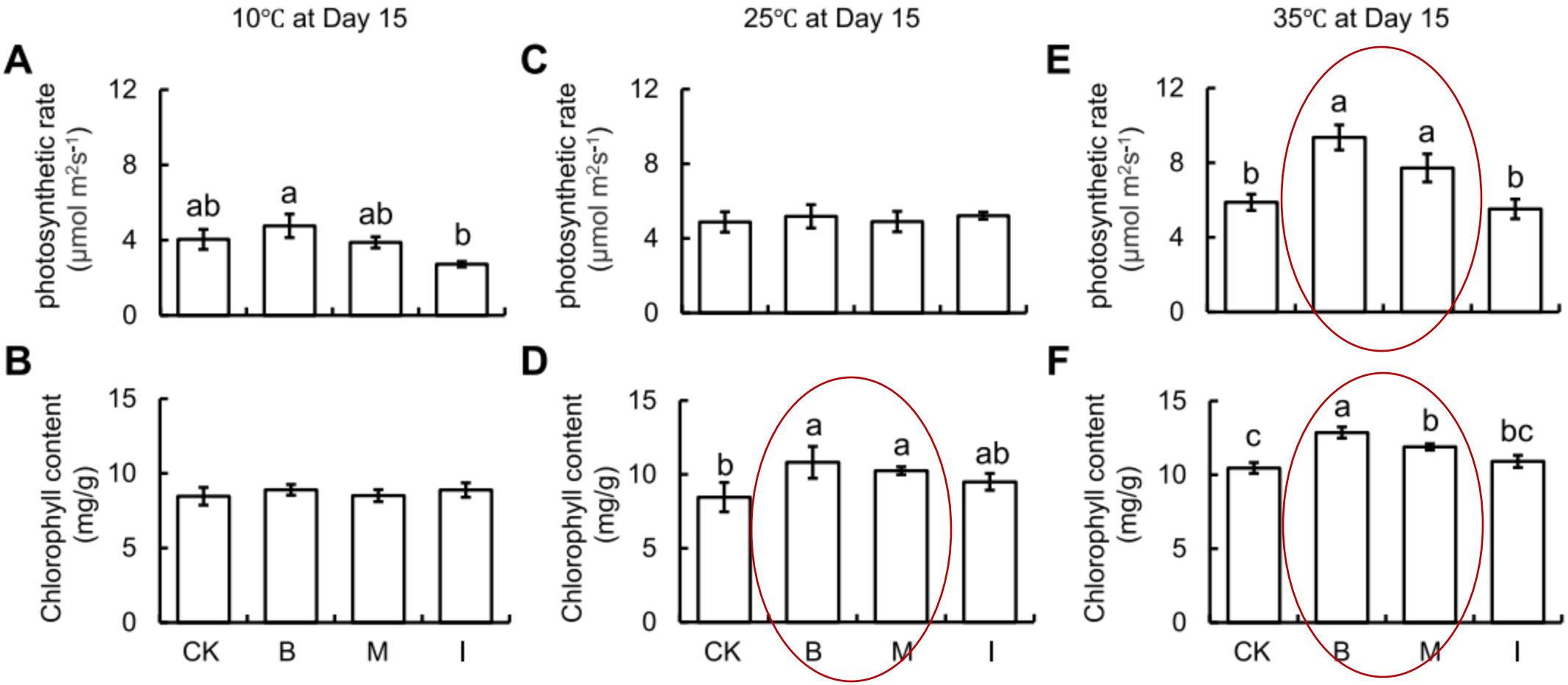




Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici



Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

I biostimolanti a base di alghe analizzati contengono promotori della crescita delle piante (fitormoni), principi attivi come la betaina e gli amminoacidi aiutano le colture a riprendersi, promuovono la crescita e migliorano il sistema autoimmune e la resistenza a livello dell'intera pianta (Spinelli et al., 2009).

La betaina può partecipare al trasporto di varie sostanze chimiche e svolgere un ruolo importante nel promuovere la crescita delle radici.

Il biostimolante a base di collagene, aminoacidi e nutrienti agisce come un attivatore biologico naturale, che principalmente regola il metabolismo delle piante, promuove la sintesi della clorofilla, migliora la fotosintesi.

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

Biostimolanti

Stress abiotici

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

- ✓ L'applicazione di **biostimolanti** costituisce un **approccio alternativo** verso un'agricoltura più sostenibile che sia meno dipendente da fertilizzanti e prodotti agrochimici.
- ✓ Di particolare interesse sono i prodotti derivati da fonti naturali, visti i loro vantaggi ecologici e l'ampio spettro d'azione sulla fisiologia vegetale. La capacità di questi biostimolanti di modulare le reazioni cellulari e i processi fisiologici può alleviare gli effetti dello **stress abiotico** sulle piante che crescono in condizioni edafico-climatiche sfavorevoli.
- ✓ Comprendere i **meccanismi d'azione dei biostimolanti** alla base di questi effetti, e in definitiva le modalità d'azione, è vitale per la progettazione e la personalizzazione delle formulazioni biostimolanti per ciascun tipo di coltura.
- ✓ È necessario studiare anche **diverse modalità di applicazione dei biostimolanti**, esplorando aspetti chiave come la durata dell'effetto, la frequenza ottimale di applicazione, la fase del ciclo vitale della pianta in cui l'applicazione è più efficace e come i biostimolanti possono interferire con l'azione di fertilizzanti e prodotti agrochimici.

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

- ✓ La **presenza di ormoni** negli estratti, in particolare le auxine, sembra contribuire in modo determinante agli effetti positivi dei biostimolanti.
- ✓ I biostimolanti vegetali hanno un impatto sul sistema endogeno e quindi sull'**equilibrio ormonale**, modificandone l'espressione dei geni coinvolti, nel trasferimento dei nutrienti attraverso le membrane cellulari, promuovendo la fotosintesi.
- ✓ I biostimolanti aiutano a superare i **disordini del metabolismo** cellulare e mantengono lo sviluppo delle piante in condizioni di stress, grazie ad una maggiore quantità di zuccheri e amminoacidi che fungono da fonte energetica e precursori della sintesi proteica.
- ✓ I biostimolanti **aiutano nel controllo** della divisione cellulare, espansione e metabolismo cellulare e **favoriscono** lo sviluppo vegetativo e **aumentano** la formazione dei fiori e allegagione dei frutti.

Ruolo dei biostimolanti nel contrastare gli stress abiotici

stefania.toscano@unime.it