



HOME ABOUT AIMS AND SCOPE SUBMISSION GUIDELINES EDITORIAL CONTACT

Paper Details

COLLEGAMENTO DOI: <https://doi.org/10.59671/TroMH>

ID cartaceo: TroMH

VOLUME:58

NUMERO:12

Titolo: L'applicazione di Farina di Basalto migliora gli effetti negativi della salinità sulla germinazione dei semi e sulla crescita precoce delle piantine di *Medicago sativa* L. (*Erba Medica*)

Abstract: La salinità è uno dei principali vincoli prevalenti nell'ambiente, che influisce sulla crescita delle piante, sulla produttività agricola e sulla fertilità del suolo. L'applicazione di biostimolanti benefici ricchi di silicio rappresenta una strategia alternativa per garantire la sostenibilità dell'agricoltura, in quanto il loro uso e la loro espansione possono aiutare a mitigare gli effetti negativi della salinità e ridurre l'uso eccessivo di sostanze chimiche sintetiche. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'interazione tra salinità livelli e l'uso della Farina di Basalto Tipo XF (FdBXF) sulla germinazione e la crescita precoce delle piantine di due varietà di erba medica (*Medicago sativa* L.) (Gabes eAzzura) Cinque livelli di cloruro di sodio (0, 50, 100, 150 e 200 mM) e cinque livelli di Farina di Basalto Tipo XF (0, 1, 3, 5 e 10%) sono stati testati in 30 trattamenti con un disegno completamente casuale. Alla fine degli esperimenti sono stati misurati la percentuale di germinazione, il tempo medio di germinazione, la lunghezza della radichetta, la lunghezza dell'ipocotile e del cotiledone e la biomassa. Il cloruro di sodio ha ridotto significativamente tutti i parametri di germinazione e crescita delle piantine. La riduzione del valore misurato era inversamente proporzionale all'aumento delle concentrazioni di NaCl. L'applicazione di Farina di Basalto Tipo XF ha mitigato gli effetti negativi del NaCl ($p < 0.01$). L'attenuazione più significativa è stata registrata per una concentrazione del 3% di Farina di Basalto Tipo XF. Questo studio fornisce approfondimenti sul ruolo della Farina di Basalto Tipo XF nella tolleranza allo stress salino in *M. sativa*.

Parole chiave: erba medica, legumi, biostimolante, stress abiotico, germinazione dei semi

Autori: Anis Sakhraoui, Hela Belhaj Ltaeif*, Arnira Jebali, Mohamed Elimem, Giuliano Ragnoni, Gianluca Pizzuti, Fabio Primavera, Alessandro Riccini, Federica Ruggeri, Slim Rouz

Collegamento PDF cartaceo: Visualizza il PDF completo - [Link a Agrocienza Journal](#)

L'applicazione della Farina di Basalto® attenua gli effetti negativi della salinità sulla germinazione dei semi e sulla crescita delle prime piantine di *Medicago sativa* L.

AUTORI

Anis Sakhraoui^{1,2,3}, Hela Belhaj Ltaeif^{2*}, Amira Jebali², Mohamed Elimem², Giuliano Ragnoni⁴, Gianluca Pizzuti⁴, Fabio Primavera⁴, Alessandro Riccini⁴, Federica Ruggeri⁴ e Slim Rouz²

¹Higher School of Agriculture of Kef, University of Jendouba, 7119 Le Kef, Tunisia

²Department of Agricultural Production - Laboratory of Agricultural Production Systems and Sustainable Development (SPADD), LR03AGR02, Higher School of Agriculture of Mograne, Carthage University, 1121 Mograne, Zaghuan, Tunisia

³Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Universidad de Sevilla, Apartado 1095, 41080 Sevilla, Spain

⁴Basalti Orvieto srl – Loc Cornale, 05014-CASTEL VISCARDO (TR), Italy

DOI: <https://doi.org/10.59671/TroMH>

Sommario

L'applicazione della Farina di Basalto® attenua gli effetti negativi della salinità sulla germinazione dei semi e sulla crescita delle prime piantine di *Medicago sativa* L. 2

Sintesi	4
Premessa	4
Parole chiave	4
1. Introduzione	5
2. Materiali e metodi	6
2.1. Farina di Basalto®	6
2.2. Metodo generale di germinazione.....	7
2.3. Applicazione dei trattamenti	8
2.4. Parametri misurati	8
2.5. Analisi dei dati.....	8
3. Risultati e discussioni	9
4. Conclusioni	14
5. Ringraziamenti:	14
6. Riferimenti	14

INDICE DELLE TABELLE E DELLE FIGURE

Tabella 1 Caratteristiche fisico-chimiche della polvere di basalto Farina di Basalto® XF.....	6
Figura 1 Effetto della Farina di Basalto® XF sulla percentuale di germinazione di <i>M. sativa</i> var <i>Gabes</i> e var <i>Azzura</i> in condizioni di NaCl. I dati sono riportati come medie ± SE (n=4). Lettere diverse indicano differenze significative (ANOVA a una via secondo il test di confronto multiplo Mann-Whitney U, p<0,05).	10
Figura 2 Effetto della Farina di Basalto® XF sulla lunghezza dei cotiledoni, dell'ipocotile e della radichetta di <i>M. sativa</i> var <i>Gabes</i> e var <i>Azzura</i> sotto NaCl. I dati sono riportati come medie ± SE (n=4). Lettere diverse indicano differenze significative (ANOVA a una via secondo il test di confronto multiplo di Mann-Whitney	

U, $p < 0,05$)..... 11

Figura 3 Effetto della Farina di Basalto® XF sulla biomassa delle piantine di *M. sativa* var *Gabes* e var *Azzura* sotto NaCl. I dati sono mostrati come medie \pm SE (n=4). Lettere diverse indicano differenze significative (ANOVA a una via secondo il test di confronto multiplo Mann-Whitney U, $p < 0,05$)..... 14

Sintesi

Premessa:

La salinità è una delle principali limitazioni presenti nell'ambiente, che influisce sulla crescita delle piante, sulla produttività agricola e sulla fertilità del suolo. L'applicazione di biostimolanti benefici ricchi di silicio rappresenta una strategia alternativa per garantire un'agricoltura sostenibile, poiché il loro uso e la loro diffusione possono contribuire a mitigare gli effetti negativi della salinità e a ridurre l'uso eccessivo di prodotti chimici di sintesi. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'interazione tra i livelli di salinità e l'uso di Farina di Basalto® XF (FdBXF) sulla germinazione e sulla crescita delle prime piantine di due varietà di erba medica (*Medicago sativa* L.) (Gabes e Azzura). Cinque livelli di cloruro di sodio (0, 50, 100, 150 e 200 mM) e cinque livelli di Farina di Basalto® XF (0, 1, 3, 5 e 10%) sono stati testati in 30 trattamenti con un disegno completamente randomizzato. Alla fine degli esperimenti sono stati misurati la percentuale di germinazione, il tempo medio di germinazione, la lunghezza delle radichette, la lunghezza degli ipocotili e dei cotiledoni e la biomassa. Il cloruro di sodio ha ridotto significativamente tutti i parametri di germinazione e di crescita delle piantine. La riduzione dei parametri misurati era inversamente proporzionale all'aumento delle concentrazioni di NaCl. L'applicazione di Farina di Basalto® XF ha attenuato gli effetti negativi del NaCl ($p < 0,01$). L'attenuazione più significativa è stata registrata per una concentrazione del 3% di Farina di Basalto® XF. Questo studio fornisce indicazioni sul ruolo della Farina di Basalto® XF nella tolleranza allo stress salino in *M. sativa*.

Parole chiave:

erba medica, legumi, biostimolante, stress abiotico, germinazione dei semi

ANNO DI PUBBLICAZIONE 2024

1. Introduzione

In diverse aree del mondo, la salinizzazione è riconosciuta come il principale processo di degradazione del suolo (Chen *et al.* 2022). In media, il mondo perde 10 ettari di terra coltivabile al minuto, di cui 3 ettari sono attribuiti alla salinizzazione. Inoltre, il 10-15% delle aree irrigate (20-30 milioni di ettari) sono colpite in varia misura da problemi di salinizzazione (Mermoud 2006). Il fenomeno rimane il vincolo maggiore, interessando sia i suoli agricoli che i pascoli. Riduce significativamente la fertilità del suolo, rendendolo spesso sterile e inadatto alla coltivazione o alla crescita di una vegetazione diversificata, ad eccezione delle alofite. Questo problema porta a una riduzione delle aree coltivabili e, insieme ad altri fattori, rappresenta una minaccia per l'equilibrio alimentare nelle regioni aride e semiaride (Hachicha 2007; Ltaeif *et al.* 2021). La fase di germinazione è considerata la più critica e cruciale nel ciclo di vita delle piante superiori e per il loro sviluppo e insediamento (Wolny *et al.* 2018). Questa fase può essere influenzata negativamente dalla salinità, causando sia stress idrico sia tossicità ionica, che può interferire con l'attività enzimatica delle piante superiori (Parmoon *et al.* 2018). In condizioni di salinità, la germinazione dei semi diminuisce con l'aumentare della salinità, portando a un ritardo nell'impianto dei semi (Taghvaei *et al.* 2022). Inoltre, lo stress da salinità causa danni agli enzimi e ad altre funzioni biologiche, con conseguenti malfunzionamenti e perdite ioniche dalle membrane cellulari (Munns & Tester 2008; Malik *et al.* 2022). Tutti questi fattori influenzano le caratteristiche di germinazione dei semi, nonché la lunghezza della radice, dell'ipocotile e dei cotiledoni e influiscono sulla biomassa secca.

La risposta delle piante alla salinità dipende da diverse variabili, tra cui la specie, la varietà, la gravità dello stress, le condizioni di crescita e lo stadio di sviluppo (Ben Naceur *et al.* 2001). Per affrontare la salinità, la selezione di colture appropriate rappresenta una valida alternativa. In questo contesto, l'erba medica (*Medicago sativa* L.), nota come la regina delle colture foraggere, è molto apprezzata rispetto ad altre leguminose da foraggio per la sua elevata resa in sostanza secca, il valore nutrizionale e la tolleranza alla siccità e alla salinità (Midoun & Kadri 2015). Tuttavia, l'efficacia della scelta colturale può essere limitata di fronte all'allarmante tasso di crescita della salinizzazione. In risposta alla salinità, l'applicazione di biostimolanti benefici per la crescita e lo sviluppo delle piante può servire come strategia complementare e pratica. Sono state sperimentate diverse strategie di gestione per mitigare gli effetti negativi di condizioni ambientali difficili (Soliman *et al.* 2019; Alharbi *et al.* 2018; Shedeed *et al.* 2022).

Lo scopo di questo studio è stato quello di determinare se l'applicazione di diverse concentrazioni di Farina di Basalto® XF sia in grado di mitigare l'effetto di dosi crescenti di NaCl sulla germinazione e sulla crescita precoce delle piantine di due varietà di *M. sativa*, *Gabes* e *Azzura*. Abbiamo ipotizzato che la Farina di

Basalto® XF potesse attenuare gli effetti negativi della salinità sulla germinazione dei semi e sulla crescita delle prime plantule di *M. sativa* e che la risposta alla salinità dipendesse sia dalla varietà sia dalla concentrazione. Sono state sperimentate diverse strategie di gestione per mitigare gli effetti negativi di condizioni ambientali difficili (Soliman *et al.* 2019; Alharbi *et al.* 2018; Shedeed *et al.* 2022).

2. Materiali e metodi

2.1. Farina di Basalto®

La Farina di Basalto® XF è caratterizzata da particelle micronizzate ($\varnothing < 20 \mu\text{m}$) ottenute attraverso un processo industriale. La materia prima utilizzata per produrre la Farina di Basalto® proviene dal giacimento di Castel Viscardo (TR) - Italia. Il basalto è una roccia vulcanica effusiva di composizione chimica prevalentemente mafica. È una roccia basica priva di silice cristallina libera, di minerali amentiferi o di altre sostanze dannose per l'ambiente o la salute degli animali. La Farina di Basalto® è ricavata dalla macinazione meccanica del minerale puro, utilizzando strumenti in ceramica, senza l'aggiunta di altri minerali o sostanze. Inoltre, per la sua produzione non vengono utilizzati materiali contenenti acque di lavaggio con flocculanti, né prodotti indesiderati e dannosi per l'agricoltura. Esistono diversi tipi di basalto, ognuno con caratteristiche uniche legate alla composizione, alla struttura e all'origine. In base alla composizione chimica, alla mineralogia e alle caratteristiche fisiche, il basalto utilizzato per la produzione di Farina di Basalto® (FdB) può essere classificato come basalto fonolitico tefritico e presenta caratteristiche uniche. Il basalto utilizzato per la produzione della Farina di Basalto® è particolarmente apprezzato per la sua composizione unica di micro e microelementi utili per le piante. La Farina di Basalto® è nota per i suoi effetti fertilizzanti, grazie alla sua ricchezza in Silicio, Potassio e Calcio (Elimem *et al.* 2022). La silice (biossido di silicio) è la componente principale della Farina di Basalto® XF, con una percentuale del 47% (Tabella 1).

Tabella 1 Caratteristiche fisico-chimiche della polvere di basalto Farina di Basalto® XF

Caratteristiche chimico-fisiche	
Stato fisico solido	Polverulento
Solubilità in acqua	Non solubile in acqua
Colore	Grigio chiaro
Odore	Non percettibile
pH	9±0,5 (Log[H ⁺])
Conducibilità elettrica (estratto 2:1)	1,14 (dS /m)
Capacità di scambio cationico	9 (meq/100g)
Ferro assimilabile	377 (mg/kg)
Densità	2,70 (kg/dm ³)

SiO ₂	47%
K ₂ O	9%
Fe ₂ O ₃	6,85%
CaO	8%
MgO	2,25%
Na ₂ O	3,55%
P ₂ O ₅	0,65%
TiO ₂	0,6%
Mn	636 mg/kg
S	536 mg/kg
B	81 mg/kg
Cu	51 mg/kg
Zn	38 mg/kg

2.2. Metodo generale di germinazione

Tutti gli esperimenti sono stati condotti presso il Laboratorio di Sistemi di Produzione Agricola e Sviluppo Sostenibile (Scuola Superiore di Agricoltura di Mograne, Tunisia). Sono state utilizzate due varietà di *M. sativa*: *Azzura*, fornita da Basalti Orvieto®, e *Gabes*, proveniente dalla banca dei semi della HSA di Mograne. I semi sono stati selezionati a caso da un campione sfuso e puliti manualmente per rimuovere detriti e semi danneggiati e sono stati conservati in sacchetti di carta in un deposito di semi (temperatura: 15-5°C; umidità: 40%-60%) fino al loro utilizzo. La superficie dei semi è stata sterilizzata con candeggina commerciale al 5% per 15 secondi e poi lavata accuratamente per 2 minuti con acqua deionizzata sterile. Per ogni condizione sono state utilizzate 10 repliche di 10 semi. I semi sono stati posti su piastre di Petri contenenti 2 strati di carta da filtro Whatman #1, inizialmente inumiditi con 5 ml di acqua distillata o con la soluzione di prova assegnata, e incubati in ciascuna condizione in un incubatore con luci fluorescenti bianche fredde che producevano un PPF (flusso di fotoni fotosintetici) di 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (misurato con il sensore SB quantum 190, Li-Cor Inc.) Le piastre di Petri sono state chiuse e sigillate con nastro adesivo (Parafilm™) per evitare l'essiccazione. Il fotoperiodo nell'incubatore è stato impostato a 12 ore per coincidere con l'intervallo di temperatura più elevato (Baskin & Baskin 2014). La germinazione dei semi è stata valutata 14 giorni dopo l'inizio dell'esperimento. I semi sono stati considerati germinati quando una radichetta ha raggiunto i 2 mm di lunghezza. La vitalità dei semi è stata verificata pungendo fisicamente il seme per vedere se l'embrione era carnoso e non cavo all'interno. Per determinare il peso di 1000 semi (TSW), sono state selezionate a caso 4 repliche di 100 semi, contati a mano e pesati con una bilancia analitica con una precisione di 0,0001 g (Kaya *et al.* 2012; Tonguç & Erbaş 2012). I livelli dei diversi trattamenti sono stati determinati in base ai risultati dei test preliminari che hanno stabilito l'intervallo di

tolleranza.

2.3. Applicazione dei trattamenti

Applicazione di NaCl: L'impatto dello stress salino sulla germinazione dei semi di entrambe le varietà è stata valutata in presenza di cinque livelli di stress salino. A tal fine, i semi sono stati incubati con soluzioni di cloruro di sodio (NaCl) 0, 50, 100, 150 e 200 mM. Come controllo è stata utilizzata acqua distillata.

Applicazione di Farina di Basalto® XF: Le diverse concentrazioni sono state preparate sciogliendo quattro diverse quantità pesate di Farina di Basalto®: 0, 1, 3, 5 e 10 g per 100 ml di acqua distillata a temperatura ambiente.

Effetto combinato di NaCl e Farina di Basalto® XF: l'effetto combinato di NaCl e Farina di Basalto® XF è stato applicato combinando i cinque livelli di NaCl (0, 50, 100, 150 e 200 mM) e i cinque livelli di Farina di Basalto® XF (0, 1, 3, 5 e 10%).

2.4. Parametri misurati

Quantificazione degli effetti sulla germinazione: La percentuale di germinazione (GP) è stata calcolata secondo Hamdi *et al.* (2022): $GP (\%) = (Nt \times 100) / N$, dove Nt è il numero di semi germinati nei rispettivi trattamenti e N è il numero totale di semi utilizzati nel biotest.

Quantificazione degli effetti sui parametri di crescita delle piantine: Al termine dell'esperimento, è stato applicato un approccio di raccolta distruttiva separando le piantine in parti (cotiledone, ipocotile e radichetta), congelandole immediatamente e conservandole in un congelatore a -20°C per ulteriori analisi. Sono stati quindi registrati il peso secco delle piantine, la lunghezza delle radici, dell'ipocotile e dei germogli.

Quantificazione degli effetti sulle relazioni idriche delle piantine: Il contenuto d'acqua (WC) è stato misurato secondo Ltaeif *et al.* (2021): $WC (\%) = [(FW - DW) / FW] \times 100$. I campioni sono stati posti in un forno ad aria forzata a 70°C per 24 ore e il peso secco (DW) è stato registrato in mg per pianta.

2.5. Analisi dei dati

Ogni studio è stato condotto secondo un disegno completamente randomizzato (CRD) con quattro ripetizioni. Le analisi statistiche sono state effettuate con SPSS v. 25 (SPSS Inc., Chicago, IL), applicando un livello di significatività (α) di 0,05. Le deviazioni dalla media aritmetica sono state calcolate come errore standard (SE). Le deviazioni dalla media aritmetica sono state calcolate come errore standard (SE). Prima

dell'analisi statistica, le serie di dati sono state testate per la normalità e l'omogeneità della varianza utilizzando i test di Kolmogorov-Smirnov e Levene, rispettivamente.

Le lunghezze dei cotiledoni e delle radichette sono state confrontate tra le varietà, [NaCl], [Basalt] e le loro concentrazioni e interazioni utilizzando modelli lineari generali (GLM). Poiché non è stata raggiunta la normalità o l'omogeneità della varianza, la percentuale di germinazione finale, la lunghezza delle radichette e il peso secco sono stati analizzati utilizzando modelli lineari generalizzati (GLZ) con il test Wald Chi-quadrato (χ^2) (Ng e Cribbie, 2017). L'effetto di ciascuna concentrazione di NaCl e della Farina di Basalto® sulla germinazione e sulle caratteristiche delle piantine di ciascuna specie è stato analizzato utilizzando l'ANOVA a tre vie in PLABSTAT v. 3A (Utz, 2011). Abbiamo utilizzato il test U di Mann-Whitney come test post hoc per identificare le differenze significative tra le medie dei trattamenti con una differenza significativa onesta (HSD) a $p < 0,05$.

3. Risultati e discussioni

Effetto della Farina di Basalto® XF sulla germinazione in condizioni di stress salino: In condizioni di controllo (0 mM NaCl), l'applicazione di Farina di Basalto® non ha avuto effetti significativi sulla percentuale di germinazione delle due varietà di *M. sativa* ($p > 0,05$) (Figura 1). Rispetto al controllo, lo stress salino ha ridotto significativamente la percentuale di germinazione (Figura 1). Nelle varietà di *M. sativa Gabes* e *Azzura*, le concentrazioni più basse di NaCl (50, 100 e 150 mM per *Gabes* e 50 e 100 mM per *Azzura*) non hanno causato una differenza significativa rispetto al controllo ($p > 0,05$). Al di sopra di queste concentrazioni, le piante hanno iniziato a mostrare segni di tossicità, attribuiti all'accumulo di cloruri nei tessuti vegetali. La riduzione più significativa è stata registrata a una concentrazione di 200 mM per entrambe le varietà: *Gabes* (circa -82%) e *Azzura* (-74%).

Tuttavia, l'aggiunta di Farina di Basalto® XF ha mitigato la riduzione della percentuale di germinazione causata dallo stress salino ($p < 0,01$). L'attenuazione più significativa è stata osservata con l'1% di Farina di Basalto® in *M. sativa* var. *Gabes*, che ha mostrato un aumento del 122% della percentuale di germinazione sotto 200 mM di NaCl. Inoltre, l'uso del 3% di Farina di Basalto® nelle stesse condizioni per i semi trattati di *M. sativa* var. *Azzura* ha prodotto un'attenuazione maggiore, con un aumento del 127% circa della percentuale di germinazione.

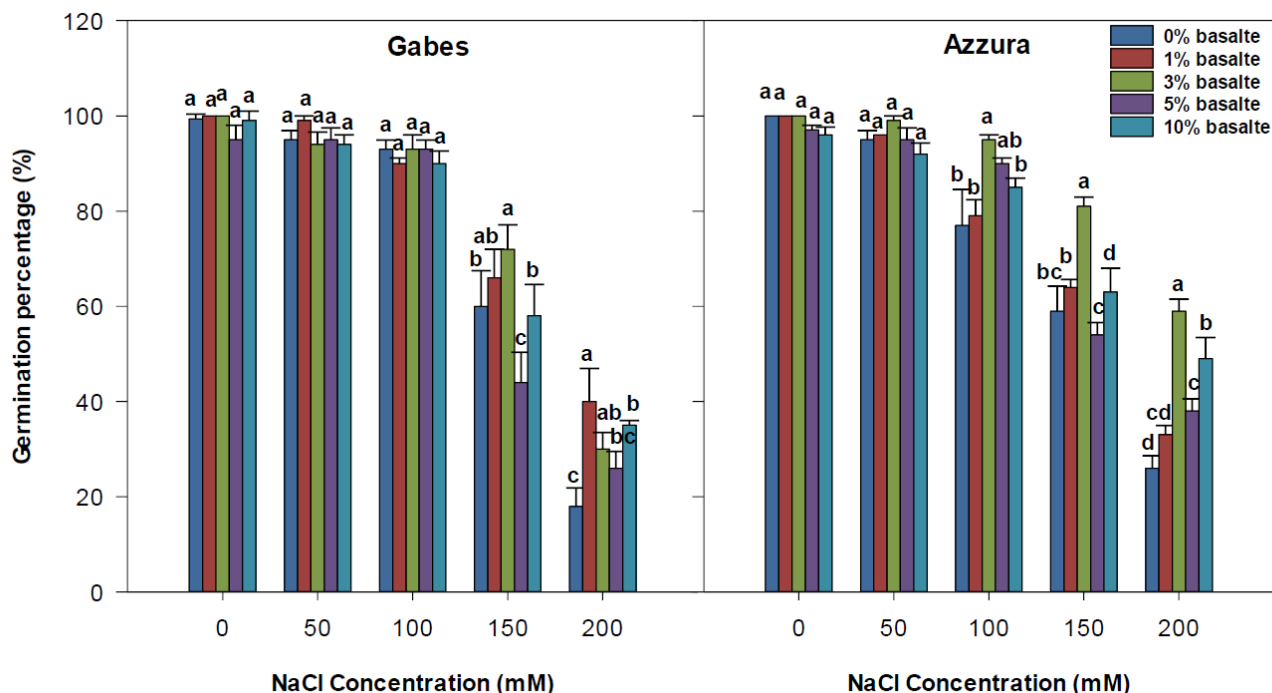


Figura 1 Effetto della Farina di Basalto® XF sulla percentuale di germinazione di *M. sativa* var *Gabes* e var *Azzura* in condizioni di NaCl. I dati sono riportati come medie \pm SE (n=4). Lettere diverse indicano differenze significative (ANOVA a una via secondo il test di confronto multiplo Mann-Whitney U, p<0,05).

Questi effetti benefici della Farina di Basalto® XF sono attribuibili al silicio (Si), un elemento non essenziale per le piante (Meng *et al.* 2020). I nostri risultati sono in linea con i precedenti rapporti sugli effetti positivi del silicio nel mitigare gli effetti negativi della salinità sui parametri biochimici e fisiologici del fagiolo (*Phaseolus vulgaris* L.) (Oral *et al.* 2019), nonché sulla germinazione e sulla crescita giovanile dell'orzo (*Hordeum vulgare* L.) (Ellouzi *et al.* 2023). Recentemente, diversi studi hanno riassunto che il Si svolge un ruolo essenziale nella regolazione di vari meccanismi fisiologici e biochimici per migliorare la crescita delle piante in condizioni difficili (Mir *et al.* 2022). Gli effetti benefici del Si possono essere attribuiti a diversi processi legati al bilancio idrico, all'omeostasi ionica, alla regolazione osmotica e, soprattutto, all'attenuazione di sostanze chimiche tossiche (Debona *et al.* 2017). Inoltre, l'impatto positivo del Si in termini di applicazione esogena è stato fortemente associato all'omeostasi delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e al miglioramento della difesa antiossidante in condizioni di stress salino (Zhu *et al.* 2019).

Effetti della Farina di Basalto® sulla crescita delle piantine in condizioni di stress salino: in condizioni di salinità, in tutti i trattamenti è stata osservata una diminuzione significativa della lunghezza dei cotiledoni, degli ipocotili e delle radichette (p < 0,05) rispetto al controllo (Figura 2A, B). Per questi parametri è stata

registrata una progressiva diminuzione, che ha raggiunto i valori minimi a una concentrazione di 200 mM di NaCl. Per una concentrazione del 3% di Farina di Basalto® sotto stress salino, le lunghezze dei cotiledoni e degli ipocotili sono aumentate significativamente rispetto al controllo ($p < 0,01$) (Figura 2).

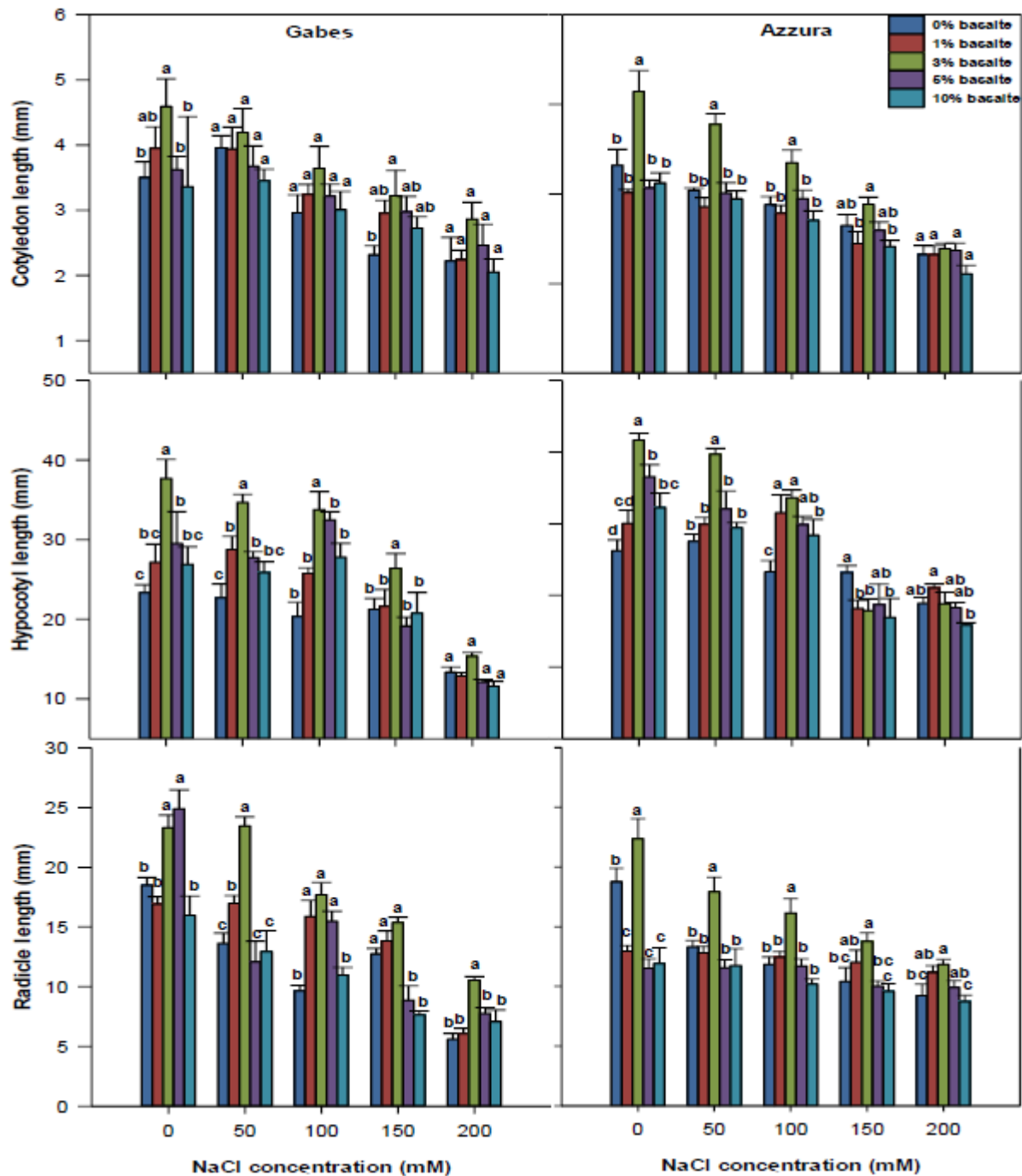


Figura 2 Effetto della Farina di Basalto® XF sulla lunghezza dei cotiledoni, dell'ipocotile e della radichetta di *M. sativa* var *Gabes* e var *Azzura* sotto NaCl. I dati sono riportati come medie \pm SE (n=4). Lettere diverse indicano differenze significative (ANOVA a una via secondo il test di confronto multiplo di Mann-Whitney U, $p < 0,05$).

Per quanto riguarda la lunghezza dei cotiledoni, in condizioni di controllo, l'aggiunta di Farina di Basalto® ha aumentato significativamente la lunghezza dei cotiledoni, con i valori più alti registrati al 3% di basalto per entrambe le varietà, *Gabes* e *Azzura*, con un aumento rispettivamente del 102,4% e del 57%. Per *M. sativa* var. *Gabes*, lo stress salino ha ridotto significativamente la lunghezza dei cotiledoni. La riduzione più significativa della lunghezza dei cotiledoni è stata registrata a 200 mM, con una riduzione del 26,55%. L'aggiunta di basalto ha aumentato significativamente questo parametro a 150 mM, in particolare al 3% di basalto, con un aumento sostanziale del 22,4% della lunghezza dei cotiledoni. La lunghezza dei cotiledoni più elevata sia nelle piantine di controllo che in quelle trattate è stata registrata con il 3% di Farina di Basalto®. Allo stesso modo, per *M. sativa* var. *Azzura*, lo stress salino ha ridotto significativamente la lunghezza dei cotiledoni, con la massima riduzione registrata a 200 mM, con una diminuzione del 37,55%. L'aggiunta di basalto ha aumentato significativamente la lunghezza dei cotiledoni a tutte le concentrazioni di NaCl, tranne che a 200 mM. La lunghezza maggiore dei cotiledoni è stata registrata con l'aggiunta del 3% di Farina di Basalto® alle piantine trattate.

Per quanto riguarda la lunghezza dell'ipocotile, l'aggiunta di basalto ha aumentato significativamente la lunghezza dell'ipocotile nelle piantine di entrambe le varietà, *Gabes* e *Azzura*, in condizioni di controllo. La lunghezza ipocotile più elevata è stata registrata con il 3% di Farina di Basalto®, con un aumento dell'82,56% e del 58,66% per *M. sativa* var. *Gabes* e var. *Azzura*, rispettivamente, rispetto alle piantine di controllo. Per *M. sativa* var. *Gabes*, lo stress salino ha portato a una riduzione della lunghezza dell'ipocotile, con la riduzione maggiore registrata a 200 mM (43,66%) rispetto al controllo. L'aggiunta di Farina di Basalto® XF ha mitigato significativamente l'effetto dello stress salino, con la massima attenuazione registrata quando il 3% di basalto è stato aggiunto alle piantine trattate con NaCl. Per *M. sativa* var. *Azzura*, in condizioni di controllo, la maggiore lunghezza dell'ipocotile è stata registrata nelle piantine trattate con il 3% di Farina di Basalto®, rispetto a quelle senza basalto. Lo stress salino ha ridotto la lunghezza dell'ipocotile nelle piantine, con la riduzione più significativa registrata a 200 mM, con una riduzione del 28% rispetto al controllo. L'aggiunta del 3% di Farina di Basalto® XF si è rivelata la concentrazione più efficace per mitigare gli effetti dello stress salino rispetto alle altre concentrazioni di basalto studiate.

Per quanto riguarda la lunghezza delle radichette, in condizioni di controllo, l'aggiunta di Farina di Basalto® al 3% e al 5% per *M. sativa* var. *Gabes* e al 3% per le piantine di var. *Azzura* ha aumentato significativamente questo parametro del 61,64% e del 52,21%, rispettivamente. Analogamente alla lunghezza del cotiledone e dell'ipocotile, la lunghezza delle radichette delle piantine trattate di entrambe

le varietà è diminuita significativamente con l'aumento della concentrazione di NaCl rispetto alle piantine non trattate. La riduzione più consistente della lunghezza delle radichette è stata registrata a 200 mM, con una riduzione del 69,74% e del 25,56% per *M. sativa* var. *Gabes* e var. *Azzura*, rispettivamente. Tuttavia, l'aggiunta di Farina di Basalto® ha mitigato significativamente l'impatto dello stress salino. A 200 mM di NaCl, l'attenuazione maggiore è stata registrata con l'aggiunta del 3% di Farina di Basalto®, con un aumento della lunghezza delle radichette dell'88,52% e del 6,23% per *M. sativa* var. *Gabes* e var. *Azzura*, rispettivamente, rispetto alle piantine trattate senza basalto (Figura 2).

Il Si, il principale costituente della Farina di Basalto® XF, ha suscitato molto interesse negli ultimi anni come biostimolante difensivo quando viene applicato alle piante coltivate contro gli stress ambientali, compresa la salinità (Ellouzi *et al.* 2022).

L'impatto positivo del Si attraverso la sua applicazione può essere fortemente associato alla regolazione dell'omeostasi dei ROS e al miglioramento della difesa antiossidante (Zhu *et al.* 2019). Risultati simili sono stati ottenuti nella lupinella coltivata (*Onobrychis viciifolia* Scop.) (Oral *et al.* 2019; Wu *et al.* 2017). Le concentrazioni di 50 e 100 mM di NaCl non hanno avuto effetti significativi sulla biomassa totale di *M. sativa* var. *Gabes*. Tuttavia, al di sopra di queste concentrazioni, il sale ha diminuito significativamente questo parametro. Per *M. sativa* var. *Azzura*, solo la concentrazione di 50 mM NaCl non ha avuto alcun effetto sulla biomassa totale delle piantine trattate. La riduzione più sostanziale di questo parametro è stata registrata a 200 mM per entrambe le varietà, e l'attenuazione maggiore è stata osservata con l'aggiunta del 3% di Farina di Basalto® XF (Figura 3). Questo risultato può essere spiegato dall'accumulo di cloruri nei tessuti della pianta. Tuttavia, dopo l'applicazione di Farina di Basalto® XF, le piantine hanno mostrato un comportamento quasi identico a quello delle piantine di controllo. Di conseguenza, sembra che la Farina di Basalto® XF intervenga nel processo che porta all'accumulo di sali negli organi della pianta. Risultati simili sono stati osservati nel riso (*Oryza sativa* L.) (Isa *et al.* 2010) e nel grano (*Triticum durum* Desf.) (Bijan-zadeh *et al.* 2019).

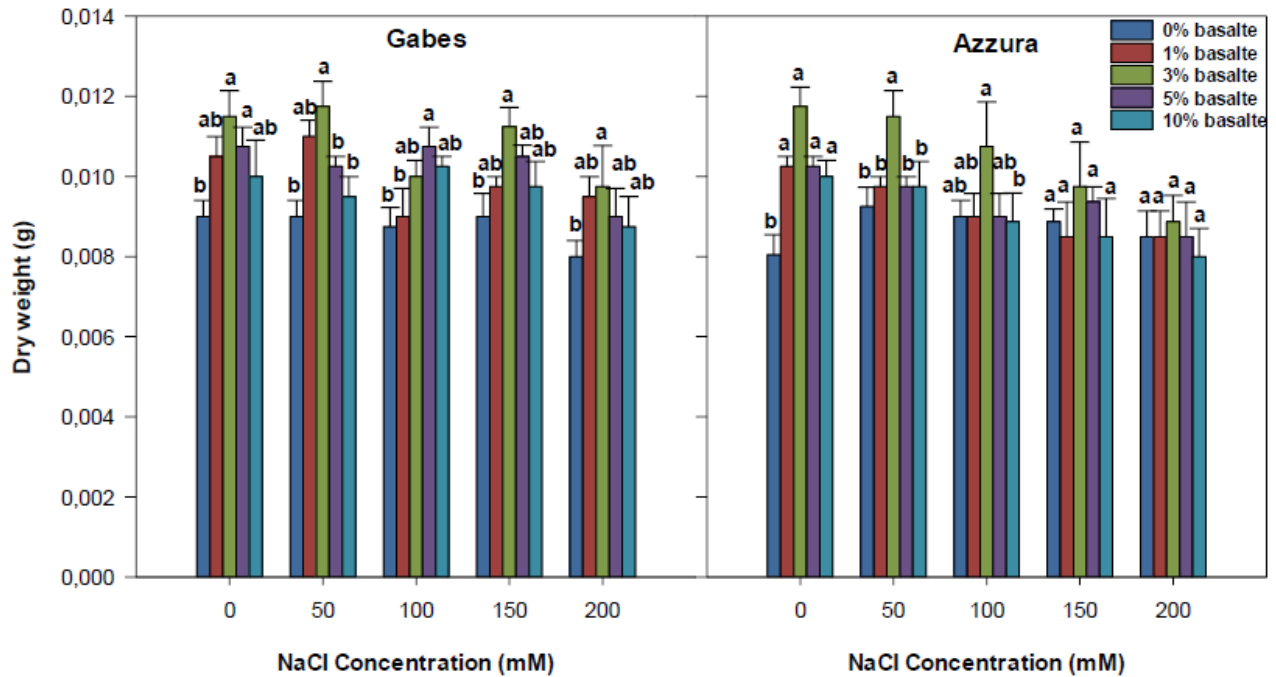


Figura 3 Effetto della Farina di Basalto® XF sulla biomassa delle piantine di *M. sativa* var *Gabes* e var *Azzura* sotto NaCl. I dati sono mostrati come medie \pm SE (n=4). Lettere diverse indicano differenze significative (ANOVA a una via secondo il test di confronto multiplo Mann-Whitney U, $p < 0,05$).

4. Conclusioni

In conclusione, *M. sativa* var. *Gabes* ha mostrato una maggiore tolleranza al NaCl rispetto a *M. sativa* var. *Azzura*. Inoltre, il trattamento delle sementi con Farina di Basalto® XF ha mitigato gli impatti negativi della salinità migliorando la germinazione e la crescita delle piantine, offrendo un'alternativa promettente per l'agricoltura sostenibile. Date le sfide dell'insicurezza alimentare causate dai cambiamenti climatici, tali applicazioni possono rivelarsi utili in futuro. Si raccomandano prove sul campo per esplorare il potenziale del priming dei semi in altre colture.

5. Ringraziamenti:

Questo lavoro è stato sostenuto finanziariamente dal Ministero tunisino dell'Istruzione Superiore e della Ricerca Scientifica.

6. Riferimenti

- [1]. Alharbi, K., Ghoneim, A., Ebid, A., El-Hamshary, H., and El-Newehy, M.H. (2018). Controlled release of phosphorous fertilizer bound to carboxymethyl starch-g-polyacrylamide and maintaining a hydration level for the plant. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116, 224-231. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.04.182

- [2]. Barrs, H.D., and Weatherley, P.E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15,413-428.
- [3]. Baskin, C., and Baskin, J.M. (2014). *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, San Diego, 150-162.
- [4]. Ben Naceur, M., Rahmoune, C., Sdiri, H., Meddahi, M.L., and Selmi, M., (2001). Effect of salt stress on the germination of sixteen varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Sécheresse*, 2, 167-174.
- [5]. Bijanzadeh E., Naderi R., and Egan, T.P. (2019). Exogenous application of humic acid and salicylic acid to alleviate seedling drought stress in two corn (*Zea mays* L.) hybrids. *Journal of Plant Nutrition*, 42(13), 1483-1495.
- [6]. Chen, J., Mueller, V., Durand, F., et al. (2022). Salinization of the Bangladesh Delta worsens economic precocity. *Population and Environment*, 44, 226-247. DOI: 10.1007/s11111-022-00411-2
- [7]. Debona, D., Rodrigues F.A., and Datnoff, L.E. (2017). Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. *Annual Reviews of Phytopathology*, 55, 4.1–4.23. DOI: 10.1146/annurevphyto-080516-035312
- [8]. Elimem, M., Jaouadi R., and Kalboussi, M., et al. (2022). Management of *Ceratitis Capitata* and *Phyllocnistis citrella* with Basalt powder “Farina di Basalto®” compared to two botanical extracts (*Citrus aurantium* and *Nerium oleander*) in citrus orchard. *International Journal of Zoological and Entomological Letters*, 2(1), 71-80.
- [9]. Ellouzi, H., Rabhi, M., Khedher, S., et al. (2023). Silicon Seed Priming Enhances Salt Tolerance of Barley Seedlings through Early ROS Detoxification and Stimulation of Antioxidant Defence. *Silicon*, 15, 37-60. DOI: 10.1007/s12633-022-02001-1
- [10]. Hachicha, M. (2007). Les sols salés et leur mise en valeur en Tunisie. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 18(1), 45-50.
- [11]. Hamdi, M., Ltaief, H.B., Sakhraoui, A., Ferchichi, Y., Ben Mhara, Y., Elimem M., and Rouz, S. (2022). Phytochemical and allelopathic effect of aqueous extracts of *Cenchrus ciliaris* L. on seed germination of *Lolium rigidum* G., *Daucus carota* L. and *Torilis nodosa* L. *IOSR Journal of Engineering (IOSRJEN)*, 12(2), 01-06.
- [12]. Isa, M., Bai, S., Yokoyama, T., Ma, J.F., Ishibashi, Y., Yuasa, T., and Iwaya-Inoue, M. (2010). Silicon enhances growth independent of silica deposition in a low-silica rice mutant, *Isi1*. *Plant Soil*, 331, 361-375. DOI: 10.1007/s11104-009-0258-9
- [13]. Kaya, M.D., Day, S., Cikili, Y., and Arslan, N. (2012). Classification of some linseed (*Linum usitatissimum* L.) genotypes for salinity tolerance using germination, seedling growth, and ion content. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72, 27-32.
- [14]. Ltaief, H.B., Sakhraoui, A., González-Orenga, S., Landa Faz, A., Boscaiu, M., Vicente, O., and Rouz, S. (2021). Responses to Salinity in Four *Plantago* Species from Tunisia. *Plants*, 10, 1392. DOI: 10.3390/plants10071392
- [15]. Malik, J.A., Al Qarawi, A.A., Dar, B.A., Hashem, A., Alshahrani, T.S., Al Zain, M.N., Habib, M.M., Javed, M.M., and Abd-Allah, E.F. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi isolated from highly saline “sabkha habitat” soil alleviated the NaCl-induced stress and improved *Lasiurus scindicus* Henr. growth. *Agriculture*, 12, 337.
- [16]. Meng, N., Huang, J.H., Jia, R., Rui M., and Wei, S.H. (2020). Effect of Chloride Channel Blocker on Ion Absorption, Transport and Content of Glycine max Seedlings under NaCl Induced Stress. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 29, 1814-1821. DOI: 10.7606/ji.ssn.1004-1389.2020.12.006

- [17]. Mermoud, A. (2006). Cours de physique du sol: Maîtrise de la salinité des sols. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, 23.
- [18]. Midoun, N., and Kadri, A. (2015). Effet du stress salin sur quelques paramètres biochimiques de la luzerne cultivée (*Medicago sativa* L.) mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master académique, Université Kasdi Merbah Ouargla.
- [19]. Mir, R.A., Bhat, B.A., Yousuf, H., Islam, S.T., Raza, A., Rizvi, M.A., Charagh, S., Albaqami, M., Sofi P.A., and Zargar, S.M. (2022). Multidimensional Role of Silicon to Activate Resilient Plant Growth and to Mitigate Abiotic Stress. *Frontiers Plant Science*, 13, 819658. DOI: 10.3389/fpls.2022.819658
- [20]. Munns, R., and Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911 Ng, V.K.Y., and Cribbie, R.A. (2017). Using the gamma generalized linear model for modeling continuous, skewed and heteroscedastic outcomes in psychology. *Current Psychology*, 36, 225-235. DOI: 10.1007/s12144-015-9404-0
- [21]. Oral, E., Altuner, F., Tunçtürk R., and Tunçtürk, M. (2019). The impact of salt (NaCl) stress on germination characteristics of gibberellic acid pretreated wheat (*Triticum durum* Desf) seeds. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(5): 12057-12071. DOI: 10.15666/aeer/1705_1205712071
- [22]. Parmoon, G., Moosavi, S.A., and Siadat, S.A. (2018). How salinity stress influences the thermal time requirements of seed germination in *Silybum marianum* and *Calendula officinalis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40, 175. DOI: 10.1007/s11738-018-2750-4
- [23]. Shedeed, Z.A., Gheda, S., Elsanadily, S., Alharbi, K., and Osman, M.E. (2022). *Spirulina platensis* biofertilization for enhancing growth, photosynthetic capacity and yield of *lupinus luteus*. *Agriculture*, 12(6), p. 781. DOI: 10.3390/agriculture12060781
- [24]. Soliman, M., Alhaithloul, H.A., Hakeem, K.R., Alharbi, B.M., El-Esawi, M., and Elkelish, A. (2019). Exogenous nitric oxide mitigates nickel-induced oxidative damage in eggplant by upregulating antioxidants, osmolyte metabolism, and glyoxalase systems. *Plants*, 8(12), p. 562. DOI: 10.3390/plants8120562
- [25]. Taghvaei, M., Nasrolahizadehi, A., and Mastinu, A. (2022). Effect of Light, Temperature, Salinity, and Halopriming on Seed Germination and Seedling Growth of *Hibiscus sabdariffa* under Salinity Stress. *Agronomy*, 12, 2491. DOI: 10.3390/agronomy12102491
- [26]. Tonguç, M., and Erbaş, S. (2012). Evaluation of fatty acid compositions and some seed characters of common wild species from Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36, 673-679. DOI: 10.3906/tar-1201-22 Utz, H.F. (2011). *Plabstat: A Computer Program for Statistical Analysis of Plant Breeding Experiments; Version 3A*; Universität Hohenheim: Stuttgart, Germany.
- [27]. Wolny, E., Betekhtin, A., Rojek, M., Braszewska-Zalewska, A., Lusinska, J., and Hasterok, R. (2018). Germination and the early stages of seedling development in *Brachypodium distachyon*. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 2916. DOI: 10.3390/ijms19102916.
- [28]. Wu, G.Q., Liu, H.L., Feng, R.J., Wang, C.M., and Du, Y.Y. (2017). Silicon ameliorates the adverse effects of salt stress on sainfoin (*Onobrychis viciaefolia*) seedlings. *Plant, Soil and Environment*, 63, 545-551.
- [29]. Zhu, Y.X., Gong, H.J., and Yin, J.L. (2019). Role of Silicon in Mediating Salt Tolerance in Plants: A Review. *Plants*, 8, 147. DOI: 10.3390/plants8060147

Materiale supplementare

Tabella S1. Modelli lineari generali (LM) per le lunghezze dei cotiledoni e degli ipocotili di *Medicago sativa* var. *Gabes* e var. *Azzura* a confronto tra varietà, concentrazioni di NaCl e basalto. F, statistica di Fisher; WS, statistica di Wald; df, grado di libertà; p, probabilità.

Tests of Model Effects	Cotyledon length			Hypocotyl length		
	Type III			Type III		
	WS	df	Sig.	WS	df	Sig.
Intercept	34963.680	1	0.000	11827.866	1	0.000
Variety	4.688	1	0.030	22.921	1	0.000
NaCl	3492.663	4	0.000	586.483	4	0.000
Basalt	79.322	4	0.000	222.431	4	0.000
Variety * NaCl	51.801	4	0.000	131.296	4	0.000
Variety * Basalt	33.327	4	0.000	108.557	4	0.000
NaCl * Basalt	116.392	16	0.000	158.819	16	0.000
Variety * NaCl * Basalt	29.554	16	0.020	250.959	16	0.000