



Articolo

Suggerimenti sull'attività biologica di Xerosydrile: prove preliminari sulle prime fasi dello sviluppo delle piantine

Filippo Geuna^{1,*},  Andrea Pensotti^{2,3},  Raffaele Vecchione⁴  e Roberto Germanos

- ¹ Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Paesaggio, Agroenergia (DISAA), Università degli Studi di Milano, 20133 Milano, Italia
- ² Systems Biology Group Lab, Sapienza Università di Roma, 00185 Roma, Italia; a.pensotti@unicampus.it
- ³ Unità di ricerca di Filosofia della scienza e sviluppo umano, Università Campus BioMedico, 00128 Roma, Italia
- ⁴ Centro per i Biomateriali Avanzati per l'Assistenza Sanitaria (CABHC), Istituto Italiano di Tecnologia, Largo Barsanti e Matteucci 53, 80125 Napoli, Italia; raffaele.vecchione@iit.it
- ⁵ PROMETE Srl, Spin off CNR, Piazzale V. Tecchio, 45, 80125 Napoli, Italia; germano@promete.it
- * Corrispondenza: filippo.geuna@unimi.it

Astratto: Lo xerosydrile appartiene a una nuova categoria di materiali derivanti dall'interazione dell'acqua con vari polimeri idrofili. Questi materiali possono presentare proprietà diverse a seconda del tipo di interazione polimero-acqua. Ricerche precedenti hanno confermato l'esistenza di una manifestazione solida dell'acqua a temperatura ambiente. Le proprietà termiche dello xerosydrile disciolto in acqua sono simili a quelle delle macromolecole biologiche durante la denaturazione, ma con maggiore stabilità. Questo studio ha esaminato per la prima volta l'effetto biologico dello xerosydrile su un sistema vivente, utilizzando un modello di germinazione dei semi. L'interazione è stata valutata utilizzando analisi fisiologiche come spostamenti della clorofilla, (ri)assorbimento del potassio durante l'inizio della germinazione e un approccio trascrittomico. I semi sono stati trattati con campioni di xerosydrile e acqua distillata. L'analisi del trascrittomico dei semi in germinazione ha evidenziato differenze (geni sovra e sottoregolati) tra i semi trattati con xerosydrile e quelli trattati con acqua distillata. Nel complesso, gli esperimenti condotti indicano che lo xerosydrile, anche a basse concentrazioni, interferisce con la crescita delle piantine in modo simile a un modulatore osmotico. Questo lavoro apre la strada a un'esplorazione più completa del ruolo biologico attivo dello xerosydrile e di composti simili sulla materia vivente e apre la strada a speculazioni sulle interazioni ai confini tra fisica, chimica e biologia.

Parole chiave: xerosydrile; clorofilla; analisi del trascrittoma; Nafion; zona di esclusione (EZ); stress abiotico



Citazione: Geuna, F.; Pensotti, A.; Vecchione, R.; Germano, R. Accenni all'attività biologica di Xerosydrile: prove preliminari sulle fasi iniziali dello sviluppo delle piantine. *Scienze Int. J. Mol.* **2024**, *25*, 8717. <https://doi.org/10.3390/ijms25168717>

Redattori accademici: Nikolaj Sorgenfrei Blom, Pierre Madl, Livio Giuliani e Francesco Mallamace

Ricevuto: 1 marzo 2024
Revisionato: 5 luglio 2024
Accettato: 31 luglio 2024
Pubblicato: 9 agosto 2024



Copyright: © 2024 degli autori. Licenziario MDPI, Basilea, Svizzera. Questo articolo è un articolo open access distribuito secondo i termini e le condizioni della licenza Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduzione

Interazioni iterative tra acqua e polimeri inerti e idrofili che non possono dissolversi sono comuni in vari sistemi naturali. Negli ultimi dieci anni, diversi studi hanno dimostrato che grandi strutture organizzate supramolecolari si formano a seguito di tale contatto con l'acqua. Un residuo solido rimane una volta che l'acqua rimanente è sottoposta a liofilizzazione dopo la rimozione del polimero. I risultati sperimentali, pubblicati in una dozzina di articoli internazionali (ad esempio, [1–3]) indicano che la composizione di questo residuo differisce dal materiale originale che è entrato in contatto con l'acqua. In particolare, il residuo dimostra un'eccezionale stabilità al calore. Le sue caratteristiche termiche e lo spettro infrarosso sono influenzati dal materiale specifico che è stato ripetutamente a contatto con l'acqua. A seconda del tipo di materiale utilizzato, questi residui possono assumere la forma di gel, polveri o persino polimeri. Questi residui rappresentano una nuova categoria di materiali che etichettiamo come "xerosydrile". Questa parola deriva dagli antichi termini greci "xeros" (secco), "hydro" (acqua) e "yle" (materia) [4].

In particolare, Gerald H. Pollack e colleghi [5] hanno avanzato queste scoperte quando hanno replicato il nostro esperimento. Hanno mostrato che una zona di esclusione (EZ) acqua è risultata dal contatto

con superfici chimicamente diverse, come la carta da filtro Nafion e Whatman-5. Dopo il trattamento, tale acqua è stata analizzata utilizzando una spettroscopia di assorbimento ultravioletta-visibile. Quindi, è stata solidificata tramite liofilizzazione o evaporazione in forno. La struttura solida risultante ha mostrato una notevole stabilità. L'analisi della spettroscopia di massa ha rivelato l'assenza di contaminanti ionizzabili in grado di riprodurre gli spettri caratteristici della "firma EZ" osservati nelle tre preparazioni liquide, nonché nei solidi formati da acqua EZ disidratata che era stata ricostituita in acqua deionizzata. Questa prova collettiva ha portato alla conclusione indipendente, in linea con gli scopritori iniziali, che una manifestazione solida di acqua EZ esiste effettivamente a temperatura ambiente.

Un lavoro precedente [6] ha offerto una spiegazione teorica di questo fenomeno, in cui molteplici indicatori puntano verso la sua natura quantistica intrinseca.

Di particolare rilievo è l'osservazione che quando lo xerosydrile viene disciolto in acqua, presenta dicroismo circolare (CD). Questa proprietà è legata all'interazione della luce polarizzata con le molecole chirali. È interessante notare che le nostre misurazioni indicano che le caratteristiche termiche dello xerosydrile disciolto in acqua assomigliano molto a quelle delle macromolecole biologiche durante processi simili alla "denaturazione". Tuttavia, queste strutture disciolte mostrano una maggiore resistenza termica rispetto alle biomolecole. Inoltre, la chiralità dello xerosydrile rimane inalterata anche quando vengono aggiunti idrossido di sodio (NaOH) o cloruro di idrogeno (HCl) in quantità sufficienti per aumentare il pH a 13 o abbassarlo a 3, rispettivamente. Questa notevole robustezza e l'osservazione che le alterazioni nell'idratazione possono indurre cambiamenti sostanziali nella struttura del DNA suggeriscono potenziali connessioni con i meccanismi di riparazione del DNA. L'origine della bioomochiralità, ovvero la prevalenza della stessa chiralità negli organismi viventi, rimane un mistero. Questi risultati suggeriscono che la rottura della simmetria speculare nell'acqua potrebbe svolgere un ruolo significativo nell'emergere e nella prevalenza della bioomochiralità.

Inoltre, queste strutture possono tornare alle loro precedenti proprietà fisico-chimiche una volta reintrodotte in acqua pura, il che è simile alla capacità di certi sistemi viventi semplici come batteri o protisti di entrare in uno stato quiescente quando le condizioni diventano sfavorevoli. Questo processo, noto come incistamento, consente loro di riprendere la loro crescita attiva quando l'ambiente diventa adatto (excistamento).

Il parallelismo tra queste strutture e le forme di vita semplici è sorprendente. Le strutture dissipative nell'acqua pura sono aggregati di molecole d'acqua risultanti da vari tipi di perturbazioni, comprese quelle a bassa energia. Possono persistere lontano dall'equilibrio termodinamico per lunghi periodi di diversi anni o più. Una volta rimossa l'acqua in massa, proprio come le forme di vita semplici, entrano in uno stato dormiente "congelato", arrestando la dissipazione di energia fino a quando non è nuovamente disponibile abbondante acqua in massa. Proprio come le forme di vita semplici passano dalla quiescenza all'attività, queste strutture hanno la capacità di tornare da uno stato quiescente a uno attivo, ristabilendosi come strutture dissipative che sono lontane dall'equilibrio.

Questa informazione implica fortemente il potenziale che queste strutture servano come struttura fondante per la vita stessa. Quindi, abbiamo deciso di condurre il primo studio in assoluto che coinvolge l'attività biologica dello xerosydrile su un sistema biologico sperimentale relativamente semplice. In questo lavoro sperimentale, abbiamo utilizzato lo xerosydrile ottenuto tramite contatto iterativo con la seta [4]. Ulteriori approfondimenti su questo argomento possono essere trovati nell'Appendice UN.

I requisiti di temperatura e umidità per la germinazione dei semi sono stati ben documentati attraverso modelli di tempo termico, tempo idroelettrico e tempo idrotermale [7-11]. La ricerca sui valori soglia è stata condotta principalmente per scopi agricoli ed ecologici su diverse specie modello, nonché su specie di interesse agronomico.

Diversi metodi possono essere utilizzati per dedurre i cambiamenti nei semi delle piante a seguito dell'esposizione a composti chimici, come l'ispezione visiva della germinazione [12,13], profilazione dei metaboliti [14,15], profilazione dell'espressione genica [16], e analisi spettroscopica infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR) [17].

In questo lavoro, abbiamo optato per una combinazione di analisi fisiologica e profilazione trascrizionale. Come fonte di materiale sperimentale, abbiamo scelto il fieno greco (*Trigonella foenumgraecum*) semi poiché si dimostrano una specie affidabile nell'indagine della fisiologia della germinazione e dell'interazione con composti sperimentali [18-21]. Inoltre,

i semi di fieno greco sono sufficientemente piccoli da fornire una dimensione comoda per la gestione e sufficientemente grande da garantire una crescita germinativa autosostenuta senza la necessità di alcuna produzione esterna per diversi giorni, date le particolari condizioni di prova.

2. Risultati

IL scopo del presente lavoro era verificare se xerosydrile producesse qualche effetto logico fisiologico nei sistemi viventi. A questo scopo, alcuni test fisiologici e molecolari erano deviati applicando la sostanza in una soluzione acquosa rispetto all'acqua distillata. Questo era il controllo. In particolare, il test coinvolgeva l'effetto della sostanza sui profili olofillici di seme germinazione. Parametri come quelli delle prime fasi, sullo sviluppo del peso e trascrizione i profili omici erano assicurati e valutati.

2.1. Peso di piantine durante la rimozione

Noi dati sono stati registrati alle otto ore dall'inizio del germinazione. I dati erano registrati da non meno di tre esperimenti. In tutti i casi è stato testato, una tendenza simile era osservata tra le tre condizioni, in cui il distillato era la condizione migliore ha mostrato il più alto peso. Inoltre, una ANOVA analysis seguito da un test significativo di differenza di forma (LSD) *ad hoc* test ha rivelato che l'unico differenza significativa era osservata visto tra distillato acqua ('H₂O') e xerosydrile 200 mg/L ('Xe200') (Fig. 1). Solo e uno in più sperimentare ha mostrato una deviazione da questo modello con xerosydrile 20 mg /L con un leggermente peso maggiore rispetto a distillato acqua pieno solo.

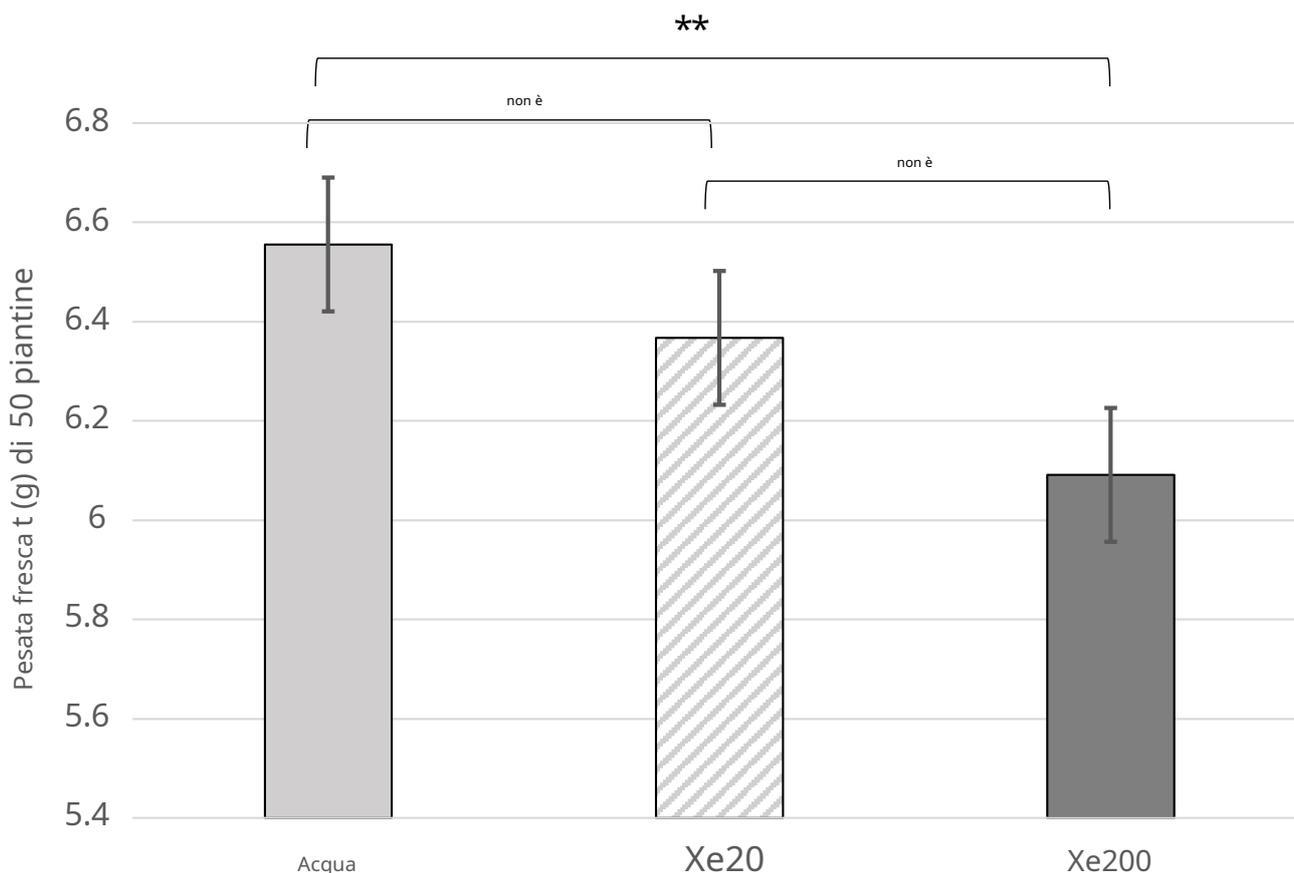


Figura 1. Analisi della varianza (ANOVA) di piantine coltivate in diverse condizioni. Lotti di 50 piantine coltivate in acqua distillata ('H₂O'), xerosydrile 20 mg/L ('Xe20') e xerosydrile 200 mg/L ('Xe200') sono stati pesati 8 giorni dopo l'inizio della germinazione. Le barre indicano gli intervalli di confidenza (CI 95%) come deviazione standard. ns = non significativo; ** = P<0,01.

2.2. Contenuto di clorofilla

Le misurazioni dell'accumulo di clorofilla sono state eseguite durante almeno tre esperimenti distinti con germinazione dei semi per 8 giorni. Sono stati osservati profili simili, che mostrano un chiaro spostamento qualitativo e quantitativo negli istogrammi del canale RGB verde. Un confronto visivo delle misurazioni risultanti è mostrato nella Figura2.

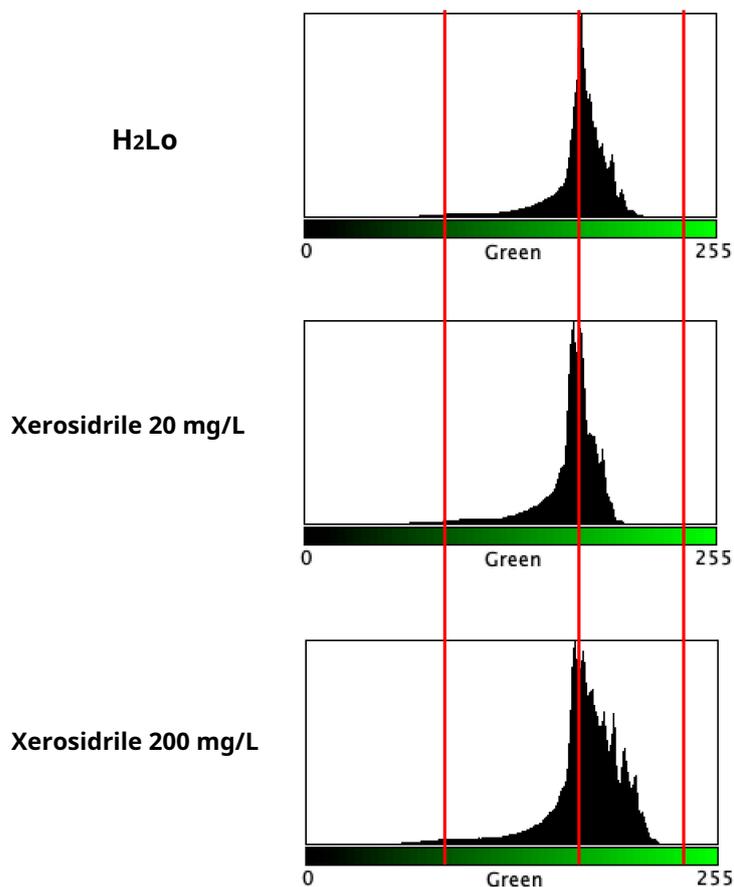


Figura 2. Analisi delle immagini dell'accumulo di clorofilla. Dopo aver scansionato 50 piantine per trattamento, è stata eseguita un'analisi del colore RGB ed è stato estratto il canale "verde" per il confronto. Le barre rosse verticali evidenziano le differenze di profilo tra i trattamenti e lo spostamento negli istogrammi. L'asse x rappresenta i valori nella scala a 8 bit dei livelli "verde". L'asse y rappresenta il conteggio dei pixel.

In tutti gli esperimenti, è stato osservato uno spostamento verso toni "verdi" più brillanti, specialmente alla concentrazione di 200 mg/L di xerosydryle rispetto alla sola acqua. Viene fornito un ulteriore confronto degli istogrammi del canale RGB "verde" nelle tre condizioni di crescita (Figura3A). La sovrapposizione di grafici a una risoluzione spaziale più elevata attorno ai picchi mostra chiaramente profili simili. Tuttavia, il grafico xerosydryle 200 mg/L si estende a toni verdi più brillanti con una riduzione concomitante dell'intensità complessiva del picco. Viene inoltre fornito un confronto delle differenze punto a punto tra le due concentrazioni di xerosydryle rispetto all'acqua con due picchi principali ma spostati nell'intervallo del canale RGB "verde" tra 164 e 176 (Figura3B).

L'analisi della deformazione di tipo dinamico (DTW) ha prodotto una "distanza normalizzata" di 647,035 tra xerosydryle 20 mg/L e acqua e una distanza di 1177,265 tra xerosydryle 200 mg/L e acqua. Viene inoltre fornito l'output grafico dell'analisi (Figura supplementare S1).

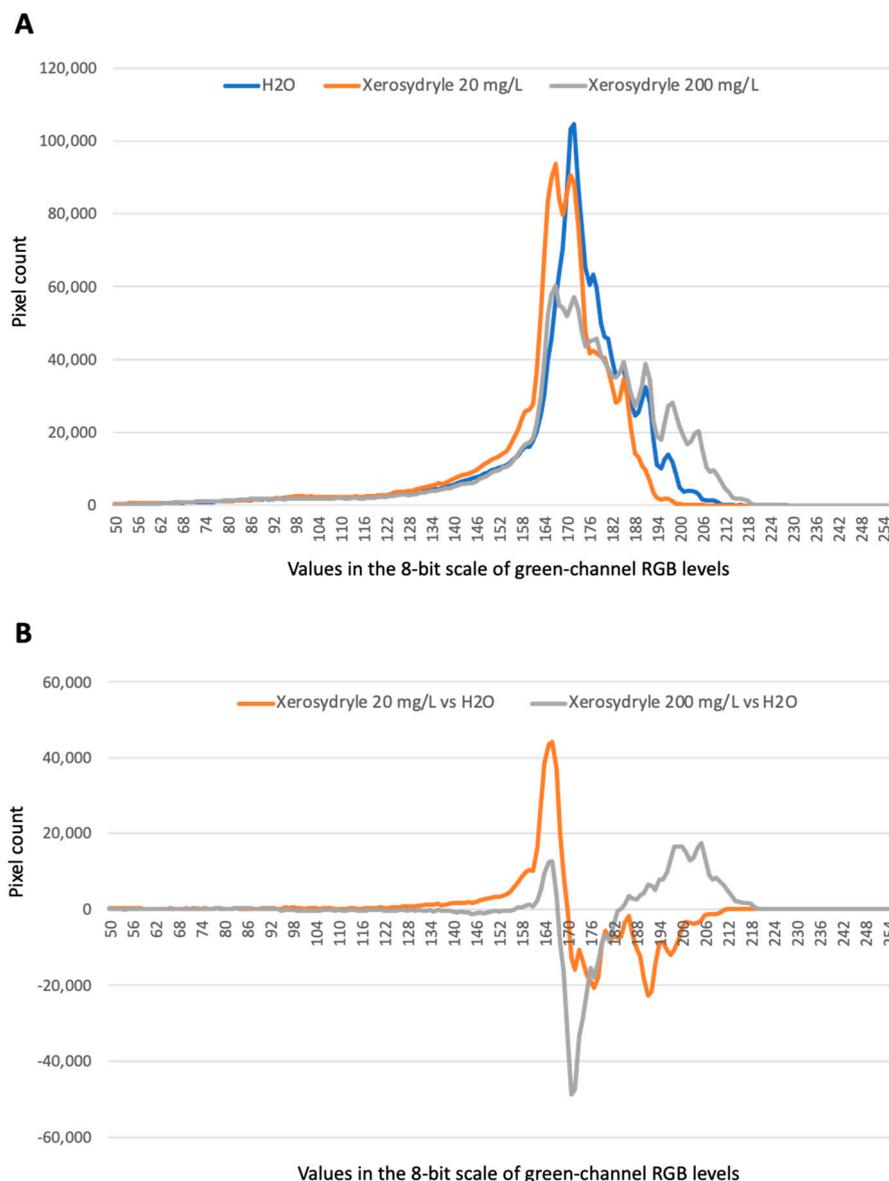


Figura 3. Analisi comparativa delle immagini dell'accumulo di clorofilla. **UN)** Viene rappresentato graficamente il canale "verde" dell'istogramma RGB per i tre campioni. **B)** Differenza punto a punto dei valori del canale "verde" tra xerosydryle 20 mg/L (linea grigia) e xerosydryle 200 mg/L (linea arancione) e acqua (linea di base).

2.3. Effetto di Xerosydryle sul rilascio di potassio durante la germinazione dei semi

È stata eseguita una serie di esperimenti sull'assorbimento (ri)energetico del potassio confrontando le due concentrazioni di xerosydryle con l'acqua (Figura4A). Lo scopo di questo esperimento era valutare se lo xerosydryle può influenzare le prime fasi fisiologiche della germinazione dei semi.

Mentre i grafici sembrano simili nelle prime 10 ore dopo l'inizio della germinazione, c'è una netta differenza nell'intervallo tra 11 e 12 ore. Questo è il momento in cui i campioni di xerosydryle 20 mg/L mostrano una riduzione più rapida rispetto sia alla sola acqua che a xerosydryle 200 mg/L. I grafici ottenuti sono stati confrontati utilizzando la metrica descritta (Sezione4), che produce distanze relative totali tra le concentrazioni di xerosydryle di 20 mg/L e 200 mg/L rispetto all'acqua di 35,94 e 33,76, rispettivamente (Figura4B). In particolare, si può notare che la differenza massima tra le concentrazioni di xerosydryle e dell'acqua si verifica circa 12 ore dopo l'inizio dell'esperimento, quando K⁺ le concentrazioni iniziano ad abbassarsi in seguito al riarrangiamento delle membrane delle cellule seminali. A questo punto, che è diagnostico di possibili effetti fisiologici del composto, xerosydryle 20 mg/L e 200 mg/L differiscono da

acqua di 22,36 e 13,91, rispettivamente. L'acqua di 22,36 mostra una differenza significativa, come determinato da un T-test.

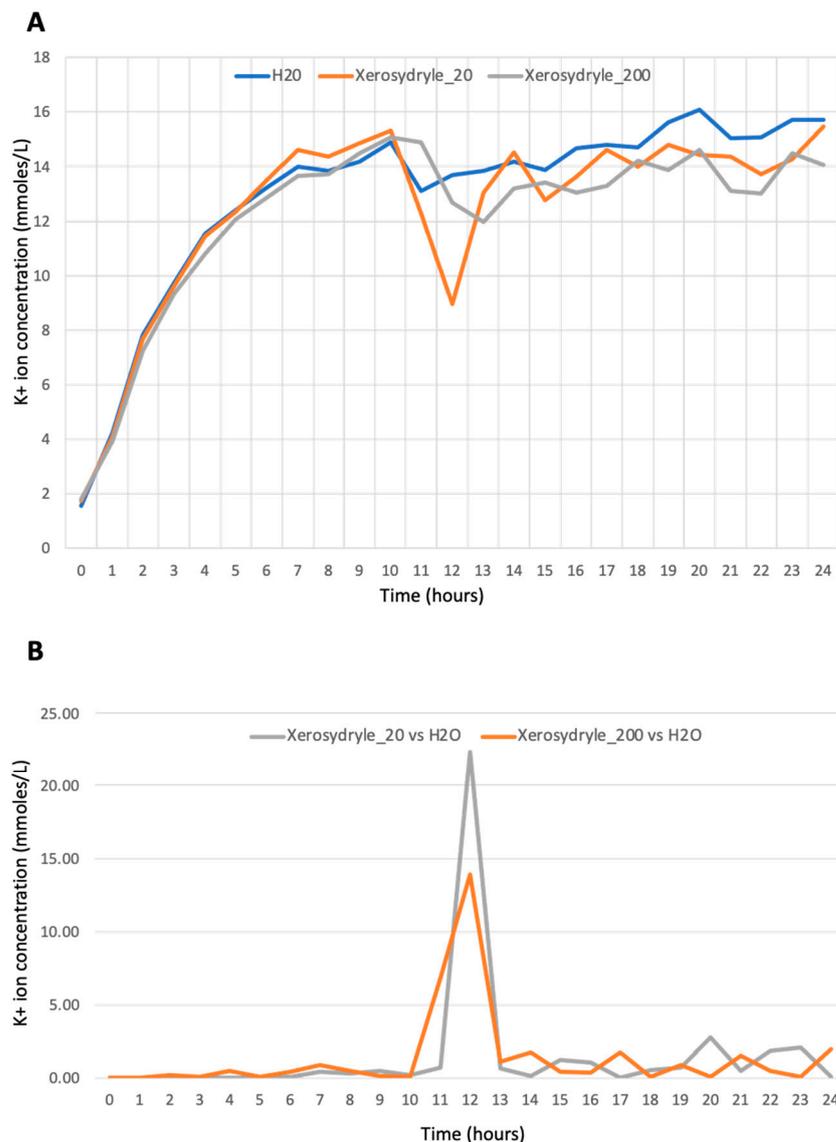


Figura 4. Misurazione di K nella fase iniziale della germinazione. **(UN)** Profilo del rilascio e del riassorbimento di K durante le prime 24 ore di germinazione. Linea blu: H₂O. Linea arancione: xerosydrile 20 mg/L. Linea grigia: xerosydrile 200 mg/L. **(B)** Normalizzazione dei dati di K+concentrazione di xerosydrile 20 mg/L vs. H₂O (linea grigia) e xerosydrile 200 mg/L vs. H₂O (linea arancione) (vedere Sezione4).

2.4. Analisi del trascrittoma

È stata eseguita un'analisi trascrizionale comparativa (RNA-seq) tra piantine cresciute in acqua distillata e xerosydrile 200 mg/L, rispettivamente. Per i semi cresciuti in acqua distillata, sono state generate 21.456.158 letture corrispondenti a 2.167.071.958 sequenze di basi totali con un Q30% di 93,82. Per i semi cresciuti in xerosydrile, 200 mg/L sono state generate 23.587.524 letture corrispondenti a 2.382.339.924 basi con un Q30% di 94,16. Innanzitutto, le letture dai due campioni sono state allineate ai database genetici per ricostruire un trascrittoma de novo di fieno greco di 65.144 contig che, dopo il filtraggio e la normalizzazione TMM, hanno prodotto 41.232 contig per i due campioni. Questi dati sono stati poi utilizzati per eseguire un'analisi dell'espressione genica differenziale (DEG) che ha mostrato un totale di 3496 geni sovraregolati e 2416 geni sottoregolati (DEG) tra xerosydrile e acqua distillata (Figura 5).

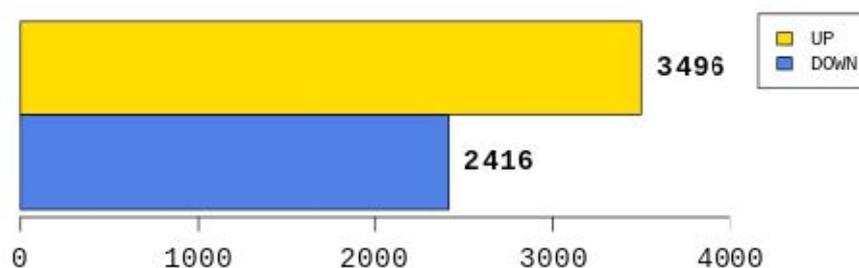
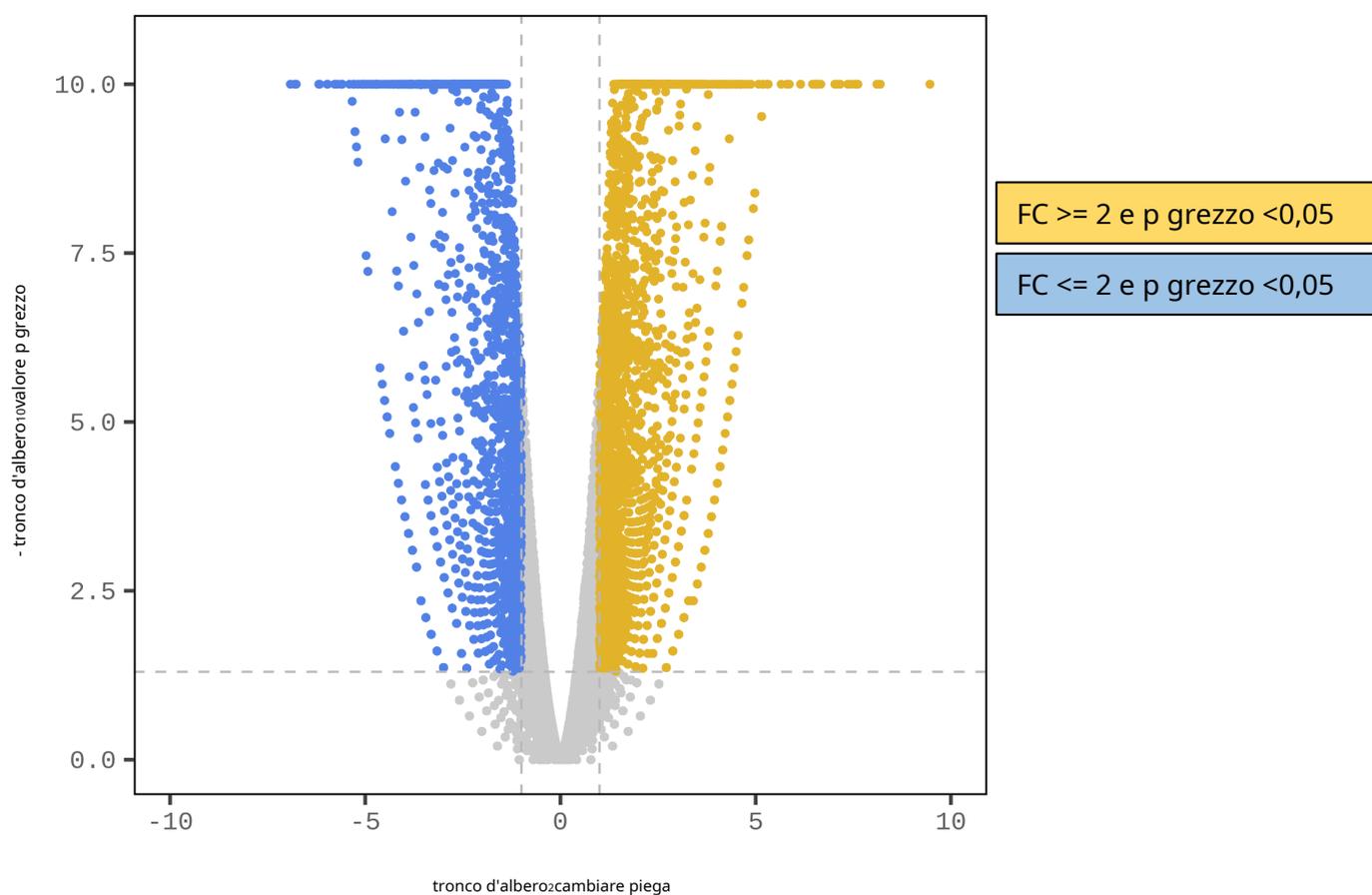
UN**B**

Figura 5. Analisi del cambiamento di piega dei dati del trascrittoma. **UN)** Trascrizioni regolate positivamente e negativamente tra xerosydrile 200 mg/L e H₂O con valori assoluti di fold change (FC) ≥ 2 e $P < 0,05$ sono mostrati rispettivamente in giallo e blu. **(B)** Rappresentazione grafica dei dati relativi alla variazione di piega del vulcano.

L'elenco completo dei dati unigene e le corrispondenti informazioni di gene ontology (GO) sono disponibili nel file supplementare S1 e nella figura supplementare S2. Ordinare l'elenco dei geni differenzialmente espressi in base al valore di fold change (da positivo a negativo) consente di recuperare i geni che mostrano i maggiori fold change sia nella up-regulation che nella down-regulation. Contig con valori di fold change negativi nel confronto di

xerosydrile rispetto all'acqua distillata corrispondono a geni che sono sovraespressi nell'acqua distillata. Al contrario, i contig che mostrano valori di fold change positivi rappresentano geni che presentano un'espressione più elevata in xerosydrile che in acqua.

3. Discussion

Diversi tipi di prove, fisiologiche e trascrizionali, sembrano confermare un effetto biologico dello xerosydrile attraverso il suo effetto sulla germinazione dei semi e sulle prime fasi di crescita delle piantine. Curiosamente, alcuni dei vari test eseguiti nella presente ricerca, vale a dire il peso delle piantine durante la crescita e il riassorbimento di K⁺, sembrano dimostrare che una concentrazione inferiore (20 mg/L) di questo composto ha un effetto maggiore rispetto a una concentrazione superiore (200 mg/L).

I dati qui presentati, che sono tutt'altro che esaustivi, suggeriscono ulteriori indagini. In particolare, ciò comporta la valutazione dell'effetto di una gamma più ampia di concentrazioni di xerosydrile e il possibile ruolo di altri fattori come la dipendenza dalla temperatura, dalle radiazioni e dai possibili cambiamenti fisico-chimici che si verificano all'interfaccia con il sistema biologico. Infatti, in questo lavoro, abbiamo deciso di confrontare solo la concentrazione più elevata di xerosydrile (200 mg/L) con l'acqua a livello del trascrittoma. Un'ulteriore indagine sulle concentrazioni di 20 mg/L e possibilmente altre dovrebbe essere intrapresa in futuro. Inoltre, sono state ottenute classi distinte di composti simili a xerosydrile. Questi erano caratterizzati da una gamma di diverse proprietà fisico-chimiche. Sarebbe quindi interessante testare i rispettivi effetti a livello biologico.

Il riassorbimento del K è una conseguenza fisiologica dei riarrangiamenti delle membrane plasmatiche cellulari che subiscono una ristrutturazione nelle prime fasi della germinazione dei semi [22, 23]. Le differenze sono mostrate confrontando le due concentrazioni di xerosydrile e acqua distillata parallelamente a quelle osservate negli altri test fisiologici. Ancora una volta, dimostra che la concentrazione inferiore di xerosydrile (20 mg/L) influenza la germinazione dei semi (attraverso l'assorbimento di K⁺) in un modo leggermente più marcato ma statisticamente significativo rispetto alla concentrazione superiore (200 mg/L).

Una forte evidenza dell'interazione tra xerosydrile e materia vivente è fornita dai dati del trascrittoma che mostrano un effetto modulatore coerente su più geni e processi metabolici. La struttura dei termini di Gene Ontology (GO) è tale che più descrittori sono solitamente assegnati a ciascun gene in uno studio del trascrittoma. L'arricchimento di un particolare gruppo di termini è quindi diagnostico di specifici cambiamenti metabolici che si verificano nelle cellule e nei tessuti in esame. In particolare, l'analisi GO ha rivelato un set di termini prevalenti nei sottogruppi "Processo biologico" (BP), "Componente cellulare" (CC) e "Funzione molecolare" (MF). Per il sottogruppo CC, i primi tre termini in ordine decrescente di occorrenza sono "GO:0044464 parte cellulare" (3001 conteggi), "GO:0043226 organello" (1908 conteggi) e "GO:0016020 membrana" (955 conteggi). È interessante notare che sottolineano il coinvolgimento di cambiamenti trascrizionali che influenzano la rete di compartimentazione cellulare di organelli e membrane, con gli organelli che svolgono un ruolo centrale nel metabolismo energetico attraverso la produzione di pigmenti fotosintetici e l'attività dei fotosistemi.

Il contig con il più alto fold change negativo (trattamento con xerosydrile rispetto all'acqua) è l'inositolo 1,4,5-trisfosfato 5-fosfatasi 2-simile di tipo I (IP5P1I), un gene coinvolto nel metabolismo della segnalazione dell'inositolo. La complessa interazione tra diversi attori nel meccanismo di segnalazione dell'inositolo è stata studiata principalmente in *Arabidopsis thalianae* alcune altre specie modello. È interessante notare che, sotto stress abiotico, sono note diverse interazioni tra il percorso di segnalazione dell'inositolo e i fitormoni, in particolare l'acido abscissico (ABA). Inoltre, i meccanismi che sono alla base di diverse risposte fisiologiche agli stimoli di stress, tra cui lo stress salino e osmotico, sono governati dalla modulazione del metabolismo dell'inositolo [24].

Il secondo contig con il più alto fold change negativo sembra essere una perossidasi cationica vegetale 1. È noto che le perossidasi svolgono un ruolo in diversi metabolismi che vanno dall'ossidazione di riducenti tossici, alla rimozione di H₂O₂, biosintesi e degradazione della lignina,

suberizzazione, catabolismo dell'auxina, risposta agli stress ambientali come ferite, attacchi di patogeni e, in particolare, stress ossidativo [25].

Inoltre, il gene che codifica per una proteina 6 simile all'estensina con ripetizione ricca di leucina (LRR) è altamente sottoregolato. Le cellule vegetali richiedono un set unico di meccanismi regolatori per modificare la matrice extracellulare. La parete cellulare protegge dagli stress biotici e abiotici e, cosa importante, determina la forma di ogni cellula. Le estensine con ripetizione ricca di leucina (LRR) (LRX) sono proteine estensine chimeriche localizzate nella parete cellulare e *LRX6* si esprime durante la formazione delle radici laterali [26,27]. Diversi tipi di interazioni formano la base della costruzione di una struttura coesiva fatta di polisaccaridi di parete, tra cui interazioni di legame non covalenti, legami covalenti e intrecci fisici. Le interazioni non covalenti tra polimeri di parete sono così abbondanti che la parete in crescita può essere considerata una struttura basata in gran parte sulla chimica supramolecolare [28].

Il quarto contig per fold change corrisponde a una glutatione S-transferasi (GST), uno degli enzimi più versatili della natura. Catalizza un'ampia gamma di reazioni che coinvolgono la coniugazione del glutatione (GSH) a composti elettrofili in modo che possano essere formati derivati peptidici più solubili. Le GST sono coinvolte nella risposta allo stress ossidativo, tra cui siccità, sale e metalli pesanti [29].

Il quinto contig codifica per la proteina 22 responsiva alla disidratazione (RD22), un tipico gene responsivo all'ABA, noto per il ruolo dell'acido abscissico (ABA) nella segnalazione dello stress da siccità e salinità [30].

Tra i contig che mostrano valori di fold change positivi, quello di rango più alto (fc = 705,71) codifica per una proteina fattore di allungamento 1 A (EF1A). È stato segnalato che l'EF1A, un regolatore essenziale per la sintesi proteica, partecipa alle risposte allo stress abiotico e all'adattamento ambientale nelle piante. Sono stati identificati in totale 34 geni EF nel *Medicago truncatula* genoma, una specie modello simile al fieno greco. In particolare, un risultato dell'analisi dell'espressione in risposta al trattamento con sale ha mostrato che MtEF1A1 è stato indotto dallo stress salino in più tessuti e che il livello di espressione è aumentato significativamente dopo 8 ore. È stato proposto un modello per il meccanismo di regolazione di MtEF1A1 in risposta allo stress salino. Lo stress salino induce l'espressione di MtEF1A1 tramite Ca^{2+} segnalazione. Il MtEF1A1 promuove l'espressione della calmodulina (CaM), che a sua volta lega Ca^{2+} per innescare l'espressione dei geni a valle [31] e riferimenti ivi contenuti).

Il secondo unigene più espresso codifica per una proteina correlata alla struttura e alle funzioni del ribosoma. La proteina della famiglia S3 ribosomiale è un costituente strutturale del ribosoma, che è riconosciuto come coinvolto nella risposta allo stress salino, nella traduzione e nella risposta agli stimoli abiotici in generale [32].

I dati sperimentali mostrano come gli effetti prodotti dal xerosydrile sulla germinazione dei semi e sulle prime fasi di sviluppo delle piantine siano paragonabili a quelli di altri composti chimici che modulano la germinazione come, ad esempio, lo stress da salinità prodotto da NaCl [33,34]. Per i modulatori potenti della germinazione con effetto ormonale, l'intervallo di concentrazioni testate può essere inferiore, come ad esempio nel caso dell'effetto inibitorio dell'acido abscissico (ABA) su *Arabidopsis* germinazione [35]. L'analisi del trascrittoma in questo lavoro ha evidenziato molti geni coinvolti nella risposta allo stress da salinità. Il contig che mostra il più alto fold change nelle piantine cresciute con xerosydrile 200 mg/L ha prodotto una proteina fattore di allungamento 1 A (EF1A), nota per il suo ruolo nella risposta fisiologica allo stress da sale. La straordinaria attivazione che mostra in presenza di xerosydrile correla chiaramente quest'ultimo con lo stress da sale e pone le basi per una serie più ampia di indagini che utilizzano questo gene come marcatore della risposta all'applicazione di xerosydrile sulle piante.

È noto che diversi fattori abiotici e biotici hanno un impatto notevole sulla germinazione dei semi [36]. Possono ritardare, ridurre e anche impedire la germinazione. Ad esempio, la salinità è un fattore che limita non solo la crescita delle piante ma anche la germinazione dei semi [17]. Riduce la capacità della pianta di assorbire acqua, il che innesca diversi processi fisiologici e metabolici che causano il prolungamento del tempo di germinazione dei semi. Ciò avviene principalmente aumentando la pressione osmotica. Inoltre, la periodicità e la tempistica della germinazione dei semi sono principalmente influenzate dalla temperatura [8]. Il tasso di germinazione aumenta con la temperatura

proporzionalmente fino al suo valore ottimale, quindi diminuisce bruscamente. Allo stesso modo, il pH del terreno è anche segnalato come uno dei fattori che influenzano significativamente la germinazione dei semi [37].

È noto che il contenuto di clorofilla nelle foglie è un indicatore chiave delle condizioni fisiologiche di una pianta. La quantità eccessiva di specie reattive dell'ossigeno (ROS) viene eliminata dai componenti enzimatici e non enzimatici della difesa antiossidante delle cellule vegetali. Tuttavia, quando il tasso di generazione di ROS supera il potenziale disintossicante della pianta, si verifica uno stress ossidativo. In definitiva, ciò infligge danni a diverse specie molecolari, tra cui proteine, DNA, lipidi e l'apparato fotosintetico. L'effetto dello stress da salinità sul contenuto di clorofilla è ben noto in molte specie vegetali [38,39]. I dati sul colore ottenuti dall'imaging digitale possono, infatti, essere utilizzati per la stima rapida, non distruttiva e accurata del contenuto di clorofilla e come misura della salute delle piante [40–42]. Nel presente lavoro, diversi geni che presentano un'espressione differenziale all'analisi del trascrittoma sono stati coinvolti nella cascata di eventi mediati da ROS. Ciò può spiegare l'accumulo di pigmenti fotosintetici osservato come toni più chiari nel canale verde dello spettro RGB [43].

Il ruolo dell'acqua nei sistemi biologici, ancora lontano dall'essere pienamente compreso, merita un'attenzione e una riconsiderazione speciali. Infatti, l'argomento sta subendo un cambiamento di paradigma all'intersezione tra biologia, chimica e fisica. Troppi fenomeni associati alle proprietà fisico-chimiche dell'acqua sono in gran parte sconosciuti o ancora poco affrontati. Ad esempio, la comprensione delle reazioni redox e fotochimiche in ambienti acquosi richiede una conoscenza precisa del potenziale di ionizzazione e dell'affinità elettronica dell'acqua liquida. Mentre il primo è stato misurato, il secondo è stato affrontato piuttosto di recente. La conoscenza dell'affinità elettronica dell'acqua è fondamentale per comprendere i meccanismi delle reazioni redox nei sistemi acquosi che coinvolgono specie molecolari o superfici solide [44]. L'attuale biologia cellulare considera l'acqua come un semplice vettore di fondo delle molecole più importanti della vita. Tuttavia, l'acqua può essere considerata un attore centrale nei processi vitali. L'acqua è nota per avere tre fasi (gas, liquido e solido). Tuttavia, negli ultimi anni, è stata dimostrata la presenza di una "quarta fase" sorprendentemente estesa che si verifica alle interfacce. Il nome formale per questa quarta fase è acqua della zona di esclusione (EZ) [45,46].

Dal punto di vista della biologia vegetale, il fatto che lo xerosydrile sia generato dall'esposizione iterativa di acqua pura a polimeri come la cellulosa è particolarmente intrigante. Questo perché la parete cellulare della pianta stessa è costruita su polisaccaridi e l'intricata interazione tra sintesi e degradazione avviene all'interfaccia tra acqua e polimeri [28].

Il corpo di prove sperimentali prodotte in questo lavoro testimonia chiaramente per la prima volta che lo xerosydrile ha un effetto biologico. Ciò consente speculazioni sul ruolo biologico, ad esempio, dell'acqua filtrata iterativamente, qualcosa che accade in modo esteso e spontaneo in natura, e dei suoi stati deformati coerenti [1,46]. Sono necessari ulteriori studi per determinare a livello molecolare e biofisico come la xerosydrile e sostanze simili possano influenzare ed eventualmente spiegare i meccanismi che sono alla base della fisica dei sistemi viventi.

Siamo consapevoli che i dati provenienti da [47] ha portato gli autori a ipotizzare una certa quantità di contaminazione nei campioni di acqua iterativamente perturbati derivati da fogli di Nafion, compatibile con una possibile origine microbiologica. Di conseguenza, elaborano sulla natura dell'acqua iterativamente perturbata (xerosydrile) come risultato di un presunto artefatto di misurazione. Tuttavia, l'analisi spettroscopica di massa eseguita da [48] sul residuo solido (vedi Figura 2) indica chiaramente la firma dell'acqua. D'altro canto, questi ultimi risultati analitici basati su EDX sul materiale solido (xerosydrile) contrastano la speculazione sull'ipotesi di "contaminazione" e confermano i risultati di [48].

Siamo certi che le nostre misurazioni siano corrette, anche se, considerata la cautela dei curatori accademici di questo articolo, ulteriori ricerche da parte di laboratori indipendenti escluderebbero ulteriormente ogni dubbio sulla natura di questa classe di composti, promuovendo al contempo un dibattito scientifico costruttivo.

4. Materiali e metodi

4.1 Materiale vegetale

Semi di fieno greco (*Trigonella foenum-graecum* L. famiglia Fabaceae, <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/ild-8021>; consultato il 20 febbraio 2023), ottenuti da Fresh Tropical Srl (Paderno Dugnano, Italia) sono stati immersi in acqua distillata per 24 ore prima di essere trasferiti in fiale di vetro rotonde da 9 cm di diametro coperte dal coperchio di vetro di una piastra Petri. Sono stati utilizzati 50 semi per trattamento. A titolo di confronto, 50 semi sono stati anche posizionati individualmente in fiale di polipropilene da 50 pozzetti riempite con liquidi di crescita.

4.2. Prodotti chimici

L'acqua utilizzata per gli esperimenti era di purezza farmaceutica secondo ISO 9001 2015 (Idrochimica, Pieve Emanuele, MI, Italia, lotto n. 131021).

Promete Srl (Napoli, Italia) ha prodotto e fornito xerosydrile in forma essiccata secondo i protocolli in [2-4]. Lasciamo che Milli-Q® l'acqua tocchi ripetutamente la seta grezza (gentilmente fornita da Antico Opificio Serico, Caserta, Italia). In altri termini, abbiamo lavato la seta grezza in Milli-Q® acqua e l'abbiamo asciugata all'aria. Dopo di che, abbiamo ripetuto la seguente procedura da 10 a 50 volte: abbiamo immerso la seta grezza essiccata in Milli-Q® acqua, che era contenuta in una capsula di Petri di polistirene aperta, mescolando delicatamente il liquido, misurandone la conduttività elettrica e rimescolando la seta. Abbiamo quindi rimosso la seta grezza e l'abbiamo fatta asciugare all'aria. La variazione dipende non solo dal numero di iterazioni, ma anche dal volume del campione e dal tempo di idratazione. Per questo motivo, parliamo di un intervallo (10-50 volte) e non di un numero esatto. Dopo che la seta è stata estratta, l'abbiamo etichettata come "acqua iterativamente perturbata (IPW)". I campioni IPW erano caratterizzati dalla loro conduttività elettrica. Infatti, misurare questo valore era semplice e non distruggeva o inquinava il campione. Ogni rimescolamento del polimero migliorava la conduttività. I miglioramenti superavano l'errore sperimentale dopo diversi rimescolamenti. Infine, la liofilizzazione dell'acqua modificata ha portato allo xerosydrile solido. Lo xerosydrile è stato sciolto in acqua distillata alle concentrazioni richieste per i trattamenti, secondo necessità. Le soluzioni sono state conservate a temperatura ambiente al buio fino all'uso.

4.3. Trattamenti di germinazione

Fiale di vetro rotonde (diametro: 10 cm; altezza: 4 cm) contenenti 50 semi addizionati con 5 mL di acqua o xerosydrile disciolto in acqua alla concentrazione finale di 20 mg/L (0,5 mg/25 mL) o 200 mg/L (5 mg/25 mL), rispettivamente, sono state poste sotto un diodo ad emissione di luce (LED) ($200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) per 14 ore al giorno alle 22°C. L'evaporazione e la contaminazione microbica sono state contrastate aggiungendo acqua ogni due giorni e mantenendo i semi coperti. Il ristagno idrico è stato inoltre impedito mantenendo al minimo la copertura liquida.

4.4. Misurazione del riassorbimento del potassio durante la germinazione

Cinquanta semi sono stati posti in beute di Erlenmeyer da 50 mL e coperti con 5 mL di soluzioni di prova (acqua bidistillata o xerosydrile disciolti alle due diverse concentrazioni descritte sopra). Le beute sono state tenute in agitazione a 90 rpm su uno shaker a 22°C e illuminazione costante durante l'intero esperimento, come precedentemente descritto. Cento campioni di microlitri sono stati raccolti ogni ora e inseriti in microprovette di polipropilene. Questi sono stati diluiti in 5 mL di acido nitrico al 2% prima della lettura. Ciò è stato eseguito con uno spettrometro di massa ICP-MS modello 7850 dotato di un autocampionatore modello SPS 4 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Le letture sono espresse in millimoli/L.

Le letture grezze dei tre campioni sono state importate in un foglio di calcolo Microsoft Excel e utilizzate per generare grafici. Le letture sono state ulteriormente confrontate in modalità a coppie seguendo la metrica: $\sum([\text{K}^+]_{\text{xerosidriolo}} \text{XX mg/L} - [\text{II}^+]_{\text{Acqua}})^2$, che riassume, punto per punto, la differenza di concentrazione di K^+ rilasciati nel campione trattato con xerosydrile (rispettivamente 20 o 200 mg/L) rispetto al controllo dell'acqua. Le distanze sono espresse come valori senza unità [49].

4.5. Misurazione del peso delle piantine

I dati sul peso sono stati registrati da lotti di 50 semi in acqua distillata, xerosydrile 20 mg/L e xerosydrile 200 mg/L, rispettivamente. La temperatura è stata mantenuta costante a 22°C, e un fotoperiodo di 12 ore è stato mantenuto durante l'intero esperimento. Quando necessario, i liquidi sono stati completamente aspirati dai contenitori di crescita e le piantine sono state spostate con cura su carta assorbente e brevemente asciugate prima di essere pesate con una bilancia a tre cifre decimali. Se richiesto, le piantine sono state rimesse nei loro contenitori e i liquidi di crescita freschi sono stati ripristinati alle loro condizioni originali per continuare la crescita.

Le differenze statistiche sono state stimate dal test ANOVA unidirezionale (Excel v. 16.66.1 per Mac) utilizzando un *P*-valore soglia pari a 0,05 per almeno tre ripetizioni [50]. Questo è stato seguito dal test post-hoc della minima differenza significativa (LSD).

4.6. Determinazione del contenuto di clorofilla tramite analisi delle immagini delle piantine in germinazione

Il contenuto di clorofilla è stato misurato in modo non distruttivo seguendo una modifica del metodo descritto da [40]. Campioni di 50 semi sono germinati nelle condizioni descritte sopra per un periodo di 6-8 giorni in presenza di sola acqua o xerosydrile a diverse concentrazioni. Al momento della misurazione, le piantine sono state raccolte dalle fiale, asciugate su carta asciutta per garantire la rimozione di qualsiasi liquido residuo e posizionate, ben separate, su una lastra di vetro dello scanner Stylus SX125 (Epson) per l'acquisizione delle immagini. In alternativa, le immagini sono state scattate utilizzando una fotocamera digitale a colori.

Le immagini sono state acquisite tramite lo scanner tramite il software Image Acquisition v. 8.0 in esecuzione su un MacBook Pro (Apple). Sono state ottenute a una risoluzione di 150 dpi in modalità RGB e la sua copertina bianca interna incorporata o con un foglio di carta rosso per migliorare il contrasto del materiale vegetale. Il software NIH ImageJ2 ("Fiji") v. 2.9.0/1.53t (Italiano: <https://imagej.net>; consultato il 10 marzo 2023 [51]) in esecuzione sullo stesso computer è stato utilizzato per analizzare le immagini.

Gli istogrammi dei pixel sono stati ottenuti tramite 'Analizza → Comando "Histogram" del software Fiji. Il canale "Green" è stato selezionato attivando il pulsante "RGB" nella finestra corrispondente ed è stato scelto per rappresentare l'accumulo di pigmenti fotosintetici (principalmente clorofille). I dati risultanti sono stati copiati dal software NIH ImageJ2 e incollati in Microsoft Excel per un'ulteriore elaborazione. In questa fase, sono stati tracciati grafici di istogrammi di pixel RGB combinando i valori dei diversi trattamenti.

L'accumulo di clorofilla nei semi di controllo germinati a diverse concentrazioni di xerosydrile e nell'acqua di controllo è stato valutato tramite il confronto degli istogrammi delle letture del canale "verde". È stata calcolata la differenza punto a punto nei valori del canale "verde" tra xerosydrile 20 mg/L (linea grigia) e xerosydrile 200 mg/L (linea arancione) e acqua.

I grafici risultanti sono stati confrontati seguendo il metodo di analisi statistica Dynamic Time Warping (DTW) ([52]; <https://dtw.r-forge.r-project.org/>). Il DTW è un algoritmo utilizzato per misurare la similarità tra due sequenze. Innanzitutto, viene calcolata una matrice delle distanze euclidee tra ogni coppia di punti delle due sequenze. Tra queste distanze, si possono trovare diversi percorsi di deformazione, ovvero il possibile allungamento di sequenze diverse per renderle il più simili possibile. Il metodo quantifica la similarità tra sequenze trovando il miglior percorso di deformazione, che corrisponde a quello con la distanza accumulata più piccola. La similarità tra due o più sequenze può essere quantificata con la distanza risultante, ovvero le distanze euclidee accumulate del percorso.

4.7. Trascrittoma e analisi dell'espressione genica differenziale

È stata eseguita un'analisi dell'intero trascrittoma tra piantine cresciute in acqua distillata e xerosydrile 200 mg/L nelle condizioni sopra menzionate. Le soluzioni sono state sostituite ogni due giorni per un periodo totale di 8 giorni. Il materiale vegetale, risultante da masse di 50 piantine a 6 giorni di sviluppo in presenza di acqua distillata o acqua e xerosydrile, è stato raccolto in provette da centrifuga in plastica da 50 mL, congelato rapidamente in azoto liquido e immediatamente conservato a -80°C fino alla spedizione in ghiaccio secco al laboratorio (Macrogen, Seul, Repubblica di Corea) per l'estrazione dell'RNA, la preparazione della libreria e il sequenziamento di nuova generazione.

L'RNA totale è stato estratto utilizzando un Trizol [53] protocollo. Una valutazione della qualità è stata eseguita utilizzando Qubit 2.0 e quantificata con Bioanalyzer 2100 prima della costruzione della libreria. Le librerie sono state generate utilizzando il TruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit (Illumina, San Diego, CA, USA). Queste sono state sequenziate e una de novo è stata assemblata in due esecuzioni indipendenti. In entrambe le esecuzioni, è stato utilizzato un approccio multiplex per caricare i campioni corrispondenti nelle celle di flusso. Sono state ottenute un totale di 1.165.201.460 letture paired-end da 100 bp da entrambi gli assemblaggi. Gli adattatori Illumina sono stati tagliati utilizzando Trimmomatic ed è stata eseguita una valutazione della qualità utilizzando FASTQC. Le letture sono state inoltre tagliate a 75 bp per garantire un punteggio di qualità minimo di Q20 in tutte le basi e le letture di bassa qualità sono state rimosse.

È stato eseguito un assemblaggio de novo del trascrittoma per ricostruire le sequenze di trascrizione senza una sequenza di riferimento del genoma. I contig assemblati sono rappresentati come trascrizioni espresse per la specie. I contig sono stati uniti in trascrizioni uniche non ridondanti che erano il più lunghe possibile e poi raggruppate in unigeni (geni unici) che avevano una lunghezza minima di 200 bp.

Per annotare gli unigeni raggruppati, sono stati allineati con i database pubblici con BLASTN e BLASTX, la Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), NCBI Nucleotide (NT), Pfam, Gene ontology (GO), NCBI non-redundant Protein (NR), UniProt e EggNOG [54]. La previsione degli open reading frame (ORF) è stata eseguita anche per identificare le regioni di codifica delle proteine all'interno degli unigeni. Gli unigeni sono stati elaborati per l'allineamento delle letture e la loro abbondanza è stata estratta come conteggio delle letture dall'allineamento. Per ogni unigene, è stata eseguita un'analisi statistica per identificare gli unigeni espressi in modo differenziale.

Un'analisi bioinformatica per confrontare i geni differenzialmente espressi (DEG) è stata eseguita presso Macrogen (Seoul, Repubblica di Corea). I dati grezzi sono stati depositati presso il Sequence Read Archive (SRA) presso l'NCBI con il BioProject ID: PRJNA1059235.

L'obiettivo della pre-elaborazione è ridurre la distorsione sistematica per evitare conclusioni statisticamente errate filtrando, trasformando e normalizzando i dati.

Per ridurre la distorsione sistematica, i fattori di dimensione sono stati stimati dai dati del conteggio delle letture (metodo calcNormFactors). Utilizzandoli, i dati del conteggio delle letture sono stati normalizzati con il metodo "Trimmed mean of M-values (TMM)" nel pacchetto edgeR [55]. Quindi, è stato eseguito un test statistico con i dati normalizzati.

I valori ' $\log_2(\text{Conteggi per milione di letture (CPM)} + 1)$ ' e ' $\log_2(\text{conteggio normalizzato TMM} + 1)$ ' sono stati utilizzati per la visualizzazione dei dati. Per evitare un valore negativo risultante dalla trasformazione del logaritmo, è stato aggiunto 1 a CPM (Conteggi per milione di letture) o a un conteggio di letture normalizzato. Queste cifre logaritmiche sono state utilizzate solo per la visualizzazione. Per procedere con un test statistico, il conteggio normalizzato TMM è stato adottato per un test esatto ('exactTest') in edgeR.

Contig significativi che soddisfano il cambio di piega e P -valore ($|fc| \geq 2$ e crudo. $P < 0,05$) sono fornite le condizioni (File supplementare S1). Sono inoltre riportati i descrittori Gene Ontology (GO) associati ai contig.

Materiali supplementari:Le seguenti informazioni di supporto possono essere scaricate all'indirizzo <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms25168717/s1>.

Contributi degli autori:Concettualizzazione, FG e AP; metodologia, FG e RG; indagine, FG e RG; cura dei dati, FG e RV; stesura: preparazione della bozza originale, FG; stesura, revisione e modifica, FG, RG, AP e RV; supervisione, AP; amministrazione del progetto, AP; acquisizione dei finanziamenti, AP Tutti gli autori hanno letto e accettato la versione pubblicata del manoscritto.

Finanziamento:Questa ricerca è stata parzialmente finanziata da Aurora Biosearch (Italia).

Dichiarazione del Comitato di revisione istituzionale:Non applicabile.

Dichiarazione di consenso informato:Non applicabile.

Dichiarazione di disponibilità dei dati:Le letture del sequenziamento di nuova generazione (NGS) per l'analisi del trascrittoma sono state depositate nel database Short Read Archive (SRA) dell'NCBI con ID BioProject: PRJNA1059235.

Ringraziamenti:FG desidera ringraziare Gian Attilio Sacchi e Giorgio Lucchini, Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali (DISAA) dell'Università di Milano per le utili discussioni e i suggerimenti e l'assistenza tecnica nell'esecuzione delle analisi di ricaptazione del K⁺, rispettivamente. FG è inoltre grato a Toni Giorgino dell'Istituto di Biofisica (IBF) del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) per il suo aiuto nell'uso del pacchetto R 'Dtw'. Gli autori sono grati a Vittorio Elia ed Elena Napoli per aver fornito xerosydrile da studi precedenti, inclusi quelli eseguiti con uno degli autori (RG), e a Valentina Mollo per il suo supporto nell'acquisizione di immagini SEM e dati EDX.

Conflitti di interesse:Roberto Germano è Amministratore Delegato di PROMETE Srl Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse.

Appendice A. La natura chimica dello xerosydrile

Appendice A.1. Tecniche di produzione di Xerosydrile

A pagina undici del nostro articolo, dedichiamo sedici righe alla discussione di come abbiamo prodotto questo materiale specifico in forma essiccata, secondo il protocollo degli articoli citati [1–3]. Il materiale è stato ottenuto lasciando che Milli-Q®l'acqua tocca ripetutamente la seta grezza alcune decine di volte. Inoltre, nel seguente articolo, citato nel manoscritto: [4], abbiamo discusso la produzione di xerosydrile in generale, e in particolare la sua produzione dalla seta. In dettaglio, nel paragrafo 4.2 che riportiamo integralmente qui, lo xerosydrile ottenuto dalla seta ('S'), che rientra nella categoria dei polimeri di fibra, è evidenziato in grassetto:

“Abbiamo sciacquato un polimero cinque volte in 20 mL Milli-Q®acqua. Abbiamo essiccato il polimero all'aria. Abbiamo immerso il polimero in 10–50 mL Milli-Q®acqua. L'acqua era contenuta in una ciotola che non era fatta di un materiale idrofilo, ad esempio, una capsula di Petri, polistirene o una ciotola di plastica. Nel caso di un polimero a forma di foglio (CE, PF, N), abbiamo mescolato il fluido meccanicamente, manualmente o con una calamita. Abbiamo mescolato solo leggermente il fluido in modo che 2-3 mm di esso si increspasse contro il foglio. Nel caso di un polimero in fibra (CA, S, SW, CR, HC), dopo ~15-30 min lo abbiamo leggermente strizzato con la nostra mano guantata di polietilene. Abbiamo preso 1 mL di fluido, ne abbiamo misurato il χ e abbiamo rimesso il fluido nella ciotola. Abbiamo mosso delicatamente il polimero. Abbiamo ripetuto questa sequenza di mescolamento 20-50 volte (o dopo ogni ~15-30 min di spremitura), misurando la conduttività chimica (χ) e muovendo il polimero. Abbiamo estratto il polimero e lo abbiamo asciugato all'aria. Dopo ~12 h, abbiamo rimesso il polimero nella ciotola. Abbiamo ripetuto decine di volte questa serie di immersione del polimero, agitazione (spremitura), spostamento del polimero, essiccazione del polimero e misurazione χ del fluido. χ aumenta dopo ogni serie. I contatti ricorrenti richiesti per ottenere variazioni statisticamente significative in χ , ovvero variazioni oltre l'errore sperimentale, dipendono dalla quantità di fluido e dalla quantità di polimero impiegata. Ad esempio, per un rapporto acqua/SW (in grammi) di ~41: dopo la prima serie di contatti ricorrenti, $\chi = 22\mu\text{cm}^{-1}$; dopo la serie del giorno 2, $\chi = 46\mu\text{cm}^{-1}$; dopo la serie del giorno 3, $\chi = 76\mu\text{cm}^{-1}$; dopo la serie del giorno 4, $\chi = 116\mu\text{cm}^{-1}$; dopo la serie del giorno 5, $\chi = 131\mu\text{cm}^{-1}$ Il fluido rimasto nella ciotola dopo l'ultimo passaggio di rimozione del polimero è stato etichettato come IPW”.

Dobbiamo ricordare che sono stati pubblicati decine di articoli internazionali sul tema dello xerosydrile e dell'acqua perturbata in modo iterativo, e in ognuno di essi è stata spiegata la preparazione, insieme a tutte le analisi che dimostrano che non può essere confuso con l'argomento dei contaminanti [2,3,6,48,56–63]. Inoltre, è importante menzionare che la nostra recente ricerca è il naturale progresso sperimentale del lavoro descritto in circa 50 articoli precedentemente pubblicati a livello internazionale dal gruppo di ricerca di Vittorio Elia e dai suoi collaboratori. Questi articoli forniscono la prova delle radici di questo fenomeno fisico-chimico, che viene osservato perturbando acqua liquida pura ed è dimostrato dalla generazione di H supramolecolare2Strutture di O nell'acqua [64–95].

Infine, vorremmo sottolineare che i nostri risultati sperimentali generali sono stati replicati indipendentemente da Gerald. H. Pollack et al. [5]. In questo studio, la zona di esclusione dell'acqua (acqua EZ) si è formata contro tre superfici chimicamente distinte, e sono stati estratti Nafion, ghee e carta da filtro Whatman-5. Questa estrazione è stata eseguita tramite spettroscopia di assorbanza UV-visibile e solidificata tramite liofilizzazione o evaporazione in un forno.

Il solido risultante, altamente stabile, è stato analizzato tramite spettroscopia di massa, che ha verificato l'assenza di contaminanti ionizzabili che potessero riprodurre gli spettri caratteristici "EZ signature" nelle tre preparazioni liquide o nei solidi formati da acqua EZ essiccata che era stata ricostituita in acqua deionizzata. Pertanto, sulla base di questa ricerca, concordiamo sul fatto che una forma solida di acqua EZ esiste effettivamente a temperatura ambiente.

Appendice A.2. Analisi chimica del campione solido, che dovrebbe rendere possibile derivare una formula chimica per questo polimero d'acqua allo stato solido

Come si può dedurre dalla topografia della microscopia a forza atomica (AFM) descritta da [60], il componente di base dello xerosidrite è nanometrico (Figura A1). Tuttavia, è molto difficile determinare la natura chimica di questa classe di materiali. A questa data, non possiamo fare un'ipotesi conclusiva sui legami chimici.

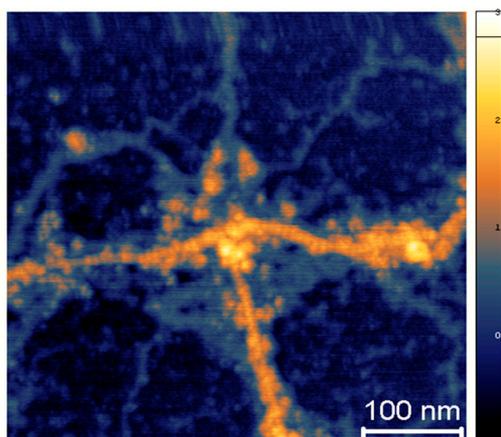


Figura A1. Microscopia topografica a forza atomica (di acqua perturbata su scala 100 nm. La barra dei falsi colori esprime l'altezza in nanometri [60].

Inoltre, come esplicitamente richiesto da uno dei revisori di questo articolo, abbiamo eseguito un'indagine al microscopio elettronico a scansione (SEM) di un campione ottenuto perturbando 250 mL di Milli-Q® acqua tramite contatto ripetuto con seta grezza (lo stesso campione utilizzato nel presente lavoro).

Nel caso di analisi SEM diretta del campione liofilizzato, ciò che appare è una struttura filamentosa intricata, che potrebbe assomigliare a un polimero. Di seguito, è riportato un esempio di SEM su un campione liofilizzato fissato sullo stub da uno strato adesivo di carbonio (Figura La 2 a,b).

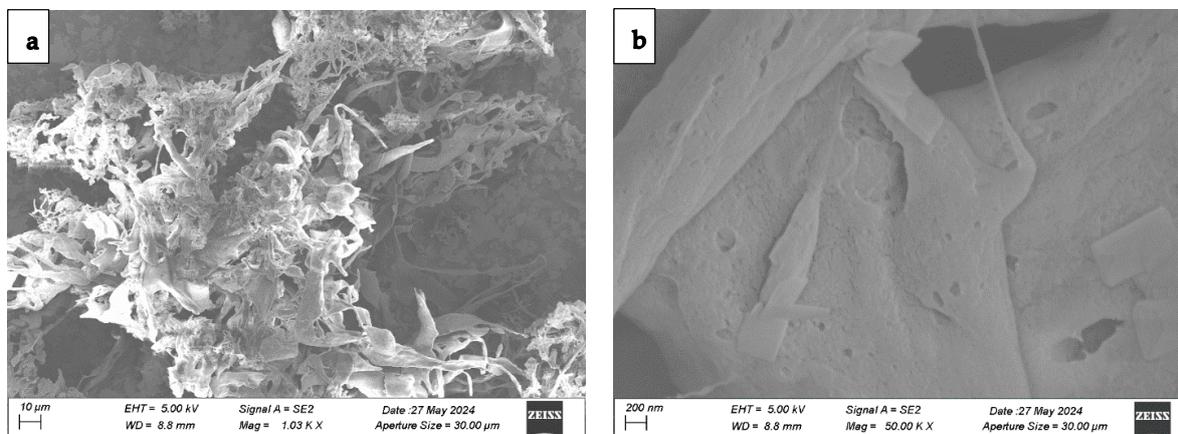


Figura A2. Le immagini SEM a due diversi valori di ingrandimento di un campione liofilizzato sono state ottenute perturbando 250 mL di Milli-Q® acqua, ripetutamente esposta alla seta grezza. Le barre corrispondono a (UN) 10 μm e (B) 200 nanometri.

Successivamente è stata eseguita un'analisi a raggi X a dispersione di energia (EDX). Per evitare l'introduzione Di altre fonti di carbonio, il campione è stato prima ridisperso in de Milli-Q®acqua, poi quella disidratato direttamente su un moncone di alluminio e rivestito spruzzata con oro.

Sono riportate le immagini SEM a due valori di ingrandimento utilizzando un microscopio a scansione FESEM Ultra-plus (Zeiss) a una tensione di accelerazione di 10 kV (FiguraLa A3a,b).

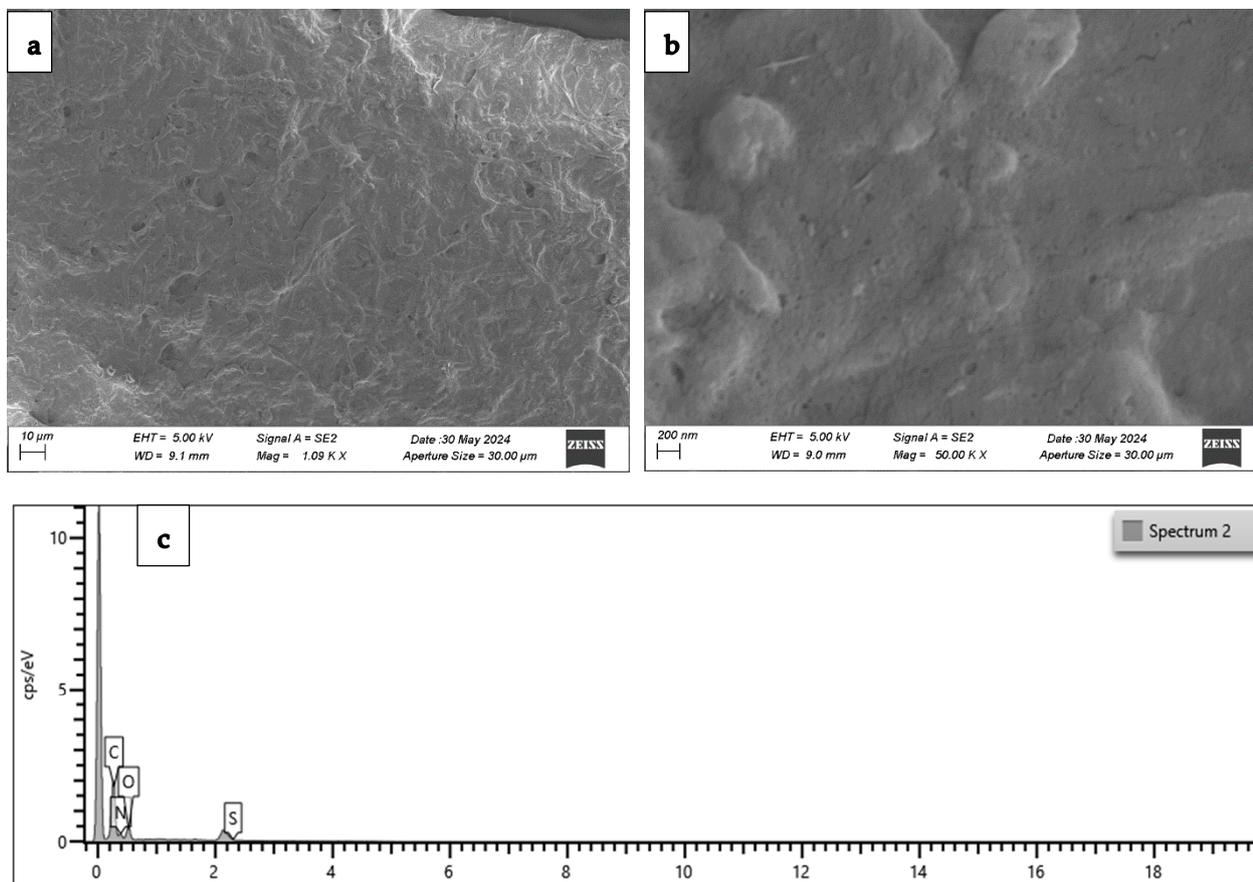


Figura A3. Immagini SEM a due diversi valori di ingrandimento di un campione ottenuto tramite ridispersione in Milli-Q®acqua, depositata su un moncone di alluminio e rivestita con polvere d'oro. (C) Modello EDX della stessa immagine che mostra tutti i picchi, comprese le impurità e i metalli derivanti da moncone e rivestimento metallico. Le barre corrispondono a (UN) 10µio e (B) 200 nanometri. L'asse X rappresenta l'energia mentre l'asse Y corrisponde ai conteggi al secondo per elettronvolt.

Nella stessa figuraLa A3c, viene anche riportato che il pattern EDX (energy dispersive X-ray) mostra diversi picchi. Dopo aver escluso il picco di alluminio dello stub, il picco di oro del rivestimento e alcune impurità, ci siamo concentrati su carbonio, azoto, ossigeno e zolfo. Nella tabella seguente, viene riportato l'elenco dei loro pesi percentuali.

Tabella A1. Analisi elementare mediante tecnica EDX (raggi X a dispersione di energia).

Elemento	Peso (%)
C	61.69
N	17.6
Lo	18.47
S	2.24

C'è una quantità costante di carbonio, e probabilmente una gran parte di esso proviene dall'atmosfera ("Processo e apparato per la cattura e lo stoccaggio del carbonio di CO₂ nella struttura dello Xerosydrile", Brevetto Italiano in corso: 102022000020472).

Per la prima volta nella classe dei materiali xerosydrile, abbiamo anche trovato una grande percentuale di azoto, più un po' di zolfo. Questo risultato interessante e specifico merita ulteriori indagini a causa delle sue implicazioni per la comprensione dei meccanismi di formazione delle molecole organiche, grazie all'azione auto-organizzante dell'acqua nella sua forma di xerosydrile.

Sono in corso ulteriori esperimenti.

Appendice A.3. Perché la prima quantizzazione (legame idrogeno, affrontato dal revisore n. 1) è inadeguata a giustificare l'esistenza e perché la seconda quantizzazione è più adatta

Per spiegare questo, possiamo fare riferimento ai seguenti documenti [6,96]. L'emergere di una fase liquida condensata a temperatura ambiente è il risultato della condensazione dei bosoni, come descritto nel contesto della rottura spontanea della simmetria, quindi per una descrizione più accurata e autentica dell'acqua, si tratta di una transizione da una prospettiva meccanica quantistica semi-classica nella prima quantizzazione a una prospettiva di teoria quantistica dei campi nell'ambito della seconda quantizzazione.

Il cosiddetto "legame idrogeno" è una conseguenza di queste dinamiche, non la causa. Il

quadro emergente suggerisce che al di sopra di una certa soglia di densità e al di sotto di una temperatura critica, lo stato energetico più basso di un gruppo di molecole che interagiscono con il loro campo elettromagnetico radiativo (EMF) non è più una configurazione in cui le oscillazioni (fasi) delle molecole non sono correlate e l'EMF è trascurabile. Invece, diventa una configurazione in cui tutte le molecole all'interno di una specifica regione spaziale, chiamata dominio di coerenza (CD), hanno le loro fasi sincronizzate, in sintonia con un campo EMF non nullo intrappolato all'interno del CD. La lunghezza d'onda di questo EMF determina la dimensione del CD. Il CD agisce come una cavità per il campo EMF perché la dinamica conferisce una massa immaginaria al fotone, come descritto dal consolidato meccanismo Anderson-Higgs-Kibble. All'interno di un CD, tutte le molecole mostrano un volume maggiore rispetto al loro stato fondamentale perché oscillano all'unisono tra il loro stato fondamentale individuale e uno stato eccitato. Questa attrazione elettrodinamica è contrastata da collisioni termiche, che interrompono la sincronizzazione delle molecole. Quindi, a una temperatura T diversa da zero, simile al modello di Landau dell'elio liquido, ogni liquido diventa un sistema bifase: una frazione $F_c(T)$ delle particelle costituenti si comporta in modo coerente, mentre una frazione $F_{nc}(T) = 1 - F_c(T)$ forma un gas denso intrappolato tra i CD.

Questi fattori sembrano essere meccanismi centrali nell'origine spontanea quantistica delle strutture dissipative osservate sperimentalmente nell'acqua (xerosydrile). Lo stesso principio dinamico, denominato "Like Likes Like" dal fisico premio Nobel Richard Feynman, potrebbe spiegare la formazione e la notevole stabilità delle strutture sopramolecolari dell'acqua. Data l'abbondanza di elettroni prevista teoricamente e osservata sperimentalmente, un numero corrispondentemente elevato di molecole d'acqua deve essere ionizzato, diventando caricato positivamente. Queste molecole ionizzate possono attrarsi a vicenda e stabilizzarsi attraverso l'organizzazione sopramolecolare spontanea, formando le strutture dissipative osservate. Inoltre, queste strutture sono così stabili che, dopo l'essiccazione o la liofilizzazione in acqua, si condensano in quantità sostanziali con ogni nucleo di centinaia di nanometri di dimensione.

Il comportamento frattale di queste strutture dissipative è stato dimostrato sperimentalmente in [1], che conferma ulteriormente la loro natura quantistica coerente. Esiste un isomorfismo tra le proprietà autosimili e senza scala osservate dell'acqua liquida modificata e il formalismo dello stato coerente deformato. La dimensione frattale misura una "deformazione" dinamica che indica che la legge senza scala osservata che collega pH e conduttività elettrica è una manifestazione macroscopica di deformazioni locali dissipative a livello microscopico. Questo intrigante isomorfismo è stato identificato teoricamente nella sua interezza in un lavoro fondamentale di G. Vitiello [97], che ha dimostrato che le proprietà di autosimilarità frattale possono essere descritte utilizzando stati coerenti. Di conseguenza, la dissipazione quantistica, attraverso la deformazione quantistica

o compressione degli stati coerenti, sembra essere alla base delle proprietà di autosimilarità osservate a livello macroscopico.

Appendice A.4. Esiste la possibilità di contaminazione? Quante impurità (che possono derivare dall'elaborazione della fase liquida) possono essere escluse?

È utile iniziare definendo il contesto dei nostri risultati sperimentali da una prospettiva ampia.

In questo articolo, abbiamo riportato, per la prima volta, la prova di H supramolecolare chirale di dimensioni micrometriche. Aggregati di O in acqua in condizioni ambientali: [60]. Questi aggregati sono stati generati perturbando fisicamente l'acqua pura attraverso un processo che prevede l'immersione iterativa di una membrana idrofila (Nafion®) in Milli-Q® acqua, seguita da agitazione, rimozione della membrana e asciugatura. Gli spettri di dicroismo circolare di tale acqua perturbata mostrano somiglianze con le biomolecole ordinate a foglietto β . Inoltre, la liofilizzazione dell'acqua perturbata ha portato alla formazione di un residuo solido. Per escludere la possibilità che impurità (rilasciate dalla membrana), contaminanti organici o biocontaminanti stessero causando questi fenomeni, abbiamo impiegato tecniche analitiche avanzate, come la spettroscopia Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight (MALDI-TOF), la gascromatografia accoppiata alla spettroscopia di massa (GC-MS) e la cromatografia ionica. Si è scoperto che l'acqua iterativamente nafionata" conteneva solo 10⁻⁶M ioni fluoro e solfato rilasciati dalla membrana, come documentato a pagina 29 nella Tabella S1 di [60]. Ha anche mostrato una quantità trascurabile di contaminanti. Inoltre, abbiamo dimostrato che gli spettri di assorbanza UV e fluorescenza dell'acqua iterativamente nafionata" non potevano essere attribuiti a contaminanti o molecole rilasciate dalle membrane.

I nostri risultati hanno dimostrato che gli aggregati che si formano in acqua adiacente a un materiale idrofilo possono assumere e mantenere una configurazione chirale stabile. Diversi mesi dopo la pubblicazione del nostro studio, questa scoperta è stata convalidata dall'identificazione della spina dorsale chirale di idratazione del DNA [98], segnando un notevole progresso nella comprensione delle proprietà dell'acqua e delle loro implicazioni significative per la scienza biologica. I risultati dettagliati nel seguente articolo dimostrano come l'acqua vicino al DNA, rispecchiando le nostre osservazioni con altre sostanze idrofile, esibisca flessibilità e la capacità di conformarsi a una struttura supramolecolare resiliente allineata con la chiralità del DNA.

C'è una considerazione fondamentale che riteniamo essenziale: in alcuni casi, quando certi tipi di materiali idrofilici entrano in contatto con acqua pura, osserviamo la formazione di fino a 6 g/L di xerosydrite. Questi aggregati sopramolecolari di acqua rappresentano un residuo solido risultante dall'interazione tra il materiale e l'acqua. Per mettere tutto questo in prospettiva, si consideri un acquario cubico di 1 m di lato riempito con acqua bidistillata. Sorge l'intrigante domanda: come si possono ottenere 6 kg di batteri o altri contaminanti in poche ore? L'entità di questo fenomeno è davvero notevole.

Infine, c'è una considerazione epistemologica cruciale che ha un'importanza significativa dalla nostra prospettiva. Durante lo stesso tipo di sperimentazione, vale a dire la "perturbazione iterativa dell'acqua pura", osserviamo:

- risultati costantemente riproducibili per diverse caratteristiche chimiche e fisiche dell'acqua;
- comportamento uniforme tra i diversi materiali insolubili utilizzati per perturbare l'acqua (ad esempio, un aumento della conduttività elettrica con il numero di iterazioni della procedura).

Tuttavia, segnaliamo anche risultati specifici a seconda del tipo di materiale perturbatore utilizzato (ad esempio, un significativo cambiamento alcalino del pH in alcuni casi, un forte cambiamento acido in un altro, pur rimanendo neutro in altri).

Queste osservazioni suggeriscono l'irrelevanza di qualsiasi potenziale fattore di interferenza sul fenomeno generale identificato.

In genere, un aumento di χ richiede l'aggiunta di un elettrolita all'acqua, e un aumento del pH richiede l'aggiunta di una sostanza basica. Tuttavia, nel nostro caso, questa nuova fenomenologia raggiunge un plateau dopo un certo intervallo di tempo, indicando che, similmente ai sali a bassa solubilità, si ottiene una concentrazione massima di strutture d'acqua a

valore di plateau. Il fenomeno rimane riproducibile anche quando lo stesso contenitore viene riutilizzato in esperimenti successivi, screditando l'ipotesi di rilascio di impurità dal contenitore. Il comportamento sincrono dei due parametri è fondamentale.

Appendice A.5. Esiste la possibilità che gli oggetti xerosydrili e biologici possano interagire in un modo o nell'altro?

Nei nostri articoli, abbiamo discusso brevemente le implicazioni biologiche dell'esistenza e della scoperta dello xerosydrile, suggerendo che può contribuire alla nostra comprensione della "matrice della vita" stessa. Quando lo xerosydrile è disciolto in acqua, mostra in particolare dicroismo circolare. La ricerca futura, che non sarà facile da eseguire, si concentrerà sulla determinazione se la chiralità destrorsa o sinistrorsa sia preferita in determinate condizioni. Ciò potrebbe fornire spunti sul perché quasi tutti gli amminoacidi chirali prodotti biologicamente sono sinistrorsi, o sulla dominanza della forma destrorsa B del DNA.

È interessante notare che le nostre misurazioni mostrano che, quando disciolto in acqua, le proprietà termiche dello xerosydrile assomigliano a quelle delle macromolecole biologiche (comunemente denominate "denaturazione"). Tuttavia, lo xerosydrile è più resistente termicamente delle biomolecole e, in questo studio, si è osservato che la sua chiralità non è influenzata dall'aggiunta di idrossido di sodio (NaOH) o cloruro di idrogeno (HCl) in quantità sufficienti per aumentare il pH a 13 o abbassarlo a 3, rispettivamente. Tale robustezza, insieme al cambiamento nello stato di idratazione, può portare a cambiamenti drammatici nella struttura del DNA e può essere correlata a uno dei meccanismi di riparazione del DNA. In generale, l'origine della biomochiralità rimane inspiegabile. I nostri dati suggeriscono che l'effetto di rottura della simmetria speculare nell'acqua può contribuire in modo significativo all'origine e alla prevalenza della biomochiralità. Per la ricerca futura, sarà molto importante indagare l'impatto dell'H supramolecolare chirale₂O si aggrega su reazioni chimiche prebiotiche e processi di abiogenesi. I processi dinamici mediante i quali queste strutture dissipative vengono stabilizzate e la capacità di queste strutture di ricreare le loro precedenti proprietà fisico-chimiche quando vengono rimesse in acqua pura, ricorda la capacità di alcuni semplici sistemi viventi, come batteri o protisti, di rimanere in uno stato quiescente quando le condizioni ambientali sono sfavorevoli alla vita. Il processo di incistamento aiuta il microbo a sopravvivere finché le condizioni non diventano più favorevoli. Quando il microbo incistato trova un ambiente favorevole alla sua crescita e sopravvivenza, la parete della cisti si rompe (escistazione). In particolare, quando è presente acqua sufficiente, il microbo torna al suo caratteristico stato lontano dall'equilibrio, quello di una struttura dissipativa vivente.

Riferimenti

1. Capolupo, A.; Del Giudice, E.; Elia, V.; Germano, R.; Napoli, E.; Niccoli, M.; Tedeschi, A.; Vitiello, G. Proprietà di autosimilarità dell'acqua nafionizzata e filtrata e stati coerenti deformati. *Laurea in Giurisprudenza, Mod. Fisica B* **2013**, *28*, 1450007. [Riferimento incrociato](#)]
2. Elia, V.; Napoli, E.; Germano, R.; Oliva, R.; Roviello, V.; Niccoli, M.; Amoresano, A.; Naviglio, D.; Ciaravolo, M.; Trifuoggi, M.; et al. Nuove proprietà chimico-fisiche dell'acqua dopo una procedura iterativa con polimeri idrofili: il caso del filtro di carta. *Liquido molle J* **2019**, *296*, 111808. [Riferimento incrociato](#)]
3. Elia, V.; Napoli, E.; Germano, R.; Roviello, V.; Oliva, R.; Niccoli, M.; Amoresano, A.; Toscanesi, M.; Trifuoggi, M.; Fabozzi, A.; et al. Acqua perturbata dal cellophane: confronto delle sue proprietà fisico-chimiche con quelle dell'acqua perturbata con cotone idrofilo o nafion. *Termico Anal. Calorim.* **2021**, *146*, 2073–2088. [Riferimento incrociato](#)]
4. Elia, V.; Napoli, E.; Germano, R.; Naviglio, D.; Ciaravolo, M.; Dal Poggetto, G.; Caputo, D.; Oliva, R.; Yinnon, TA Nuove proprietà fisico-chimiche dell'acqua liquida derivanti dal contatto ricorrente con polimeri idrofilici. Caratteristiche degli aggregati supramolecolari risultanti: lo xerosydrile. *Acqua* **2022**, *12*, 72–85. [Riferimento incrociato](#)]
5. Sharma, A.; Traynor-Kaplan, A.; Pollack, GH Acqua solida a temperatura ambiente? *Laurea in Chimica Araba* **2023**, *16*, 104537. [Riferimento incrociato](#)]
6. Germano, R. Le strutture quantistiche dell'acqua e la vita. *Biol. Elettromagn. Med.* **2015**, *34*, 133–137. [Riferimento incrociato](#)]
7. Papendick, RI; Campbell, GS Teoria e misurazione del potenziale idrico. In *Relazioni del potenziale idrico nella microbiologia del suolo*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 2015; pp. 1–22. [Riferimento incrociato](#)]
8. Dürr, C.; Dickie, J.; Yang, X.-Y.; Pritchard, H. Intervalli di valori critici di temperatura e potenziale idrico per la germinazione delle specie in tutto il mondo: contributo a un database delle caratteristiche dei semi. *Agric. Per. Meteorologia.* **2015**, *200*, 222–232. [Riferimento incrociato](#)]
9. Bidgoly, RO; Balouchi, H.; Soltani, E.; Moradi, A. Effetto della temperatura e del potenziale idrico su *Carthamus tinctorius* L. Germinazione dei semi: quantificazione delle temperature cardinali e modellazione utilizzando il tempo idrotermale. *Produzione di colture industriali* **2018**, *113*, 121–127. [Riferimento incrociato](#)]

10. Zhang, R.; Chen, D.; Liu, H.; Guo, C.; Tang, L.; Wang, H.; Chen, Y.; Luo, K. Effetto della temperatura e del potenziale idrico sulla germinazione dei semi di tre diverse popolazioni di *Bidens pelosocome* potenziale iperaccumulatore di Cd. *Biologia vegetale BMC* **2022**, *22*, 487. [Riferimento incrociato](#)
11. Onofri, A.; Benincasa, P.; Mesgaran, MB; Ritz, C. Modelli idrotermali del tempo-evento per la germinazione dei semi. *Eur. J. Agron.* **2018**, *101*, 129–139. [Riferimento incrociato](#)
12. Munz, E.; Rolletschek, H.; Oeltze-Jafra, S.; Fuchs, J.; Guendel, A.; Neuberger, T.; Ortleb, S.; Jakob, PM; Borisjuk, L. Uno studio di imaging funzionale di semi di colza in germinazione. *Nuovo Fitolo.* **2017**, *216*, 1181–1190. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
13. Merieux, N.; Cordier, P.; Wagner, M.-H.; Ducournau, S.; Aligon, S.; Job, D.; Grappin, P.; Grappin, E. ScreenSeed come nuovo metodo di fenotipizzazione della germinazione dei semi ad alta produttività. *Rappresentante scientifico* **2021**, *11*, 1404. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
14. Kazmi, destra; Willems, LAJ; Joosen, RVL; Khan, N.; Ligterink, W.; Hillhorst, Analisi metabolomica HWM della germinazione dei semi di pomodoro. *Metabolomica* **2017**, *13*, 145. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
15. Boter, M.; Calleja-Cabrera, J.; Carrera-Castaño, G.; Wagner, G.; Hatzig, SV; Snowdon, RJ; Legoahec, L.; Bianchetti, G.; Bouchereau, A.; Nesi, N.; et al. Un approccio integrativo per analizzare la germinazione dei semi in Brassica napus. *Fronte. Scienze vegetali.* **2019**, *10*, 1342. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
16. Narsai, R.; Gouil, Q.; Secco, D.; Srivastava, A.; Karpievitch, YV; Liew, LC; Lister, R.; Lewsey, MG; Whelan, J. Un esteso rimodellamento trascrittomico ed epigenomico si verifica durante *Arabidopsis thaliana* Germinazione. *Biologia del genoma* **2017**, *18*, 172. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
17. Cherrate, M.; Radouane, N.; Ezrari, S.; Echchgadda, G.; Maissour, A.; Makroum, K.; Plavan, G.; Abd-Elkader, Ohio; Bouriou, M. Effetti della temperatura, del pH e della salinità sulla germinazione dei semi di *Acino alpinosubsp. Meridionalis* e analisi FTIR delle variazioni della composizione molecolare. *Sostenibilità* **2023**, *15*, 4793. [Riferimento incrociato](#)
18. Ghorbanpour, A.; Mami, Y.; Ashournezhad, M.; Abri, F.; Amani, M. Effetto della salinità e dello stress da siccità sulla germinazione del fieno greco. *Ris. Afr. J. Agric.* **2011**, *6*, 5529–5532. [Riferimento incrociato](#)
19. Zandi, P.; Basu, SK; Khatibani, LB; Balogun, MO; Aremu, MO; Sharma, M.; Kumar, A.; Sengupta, R.; Li, X.; Li, Y.; et al. Fieno greco (*Trigonella foenum-graecum* L.) Seme: una revisione delle proprietà fisiologiche e biochimiche e del loro miglioramento genetico. *Acta Physiol. Planta.* **2015**, *37*, 1714. [Riferimento incrociato](#)
20. Arshad, K.; Ullah, A.; Ullah, S.; Bogari, HA; Ashour, ML; Noor, J.; Amin, F.; Shah, S. Quantificazione degli effetti dello stress osmotico e della temperatura sulla germinazione e sulla crescita delle piantine di fieno greco (*Trigonella foenum-graecum* L.) tramite il modello temporale idrotermale. *Sostenibilità* **2022**, *14*, 12049. [Riferimento incrociato](#)
21. Ali, RRS; Nassar, IN; Ghallab, A.; Ali, EF; Alqubaie, AI; Rady, MM; Awad, AAM Alleviamento dello stress da deficit idrico nella germinazione dei semi di orzo e fieno greco in un terreno sabbioso mediante polimero superassorbente. *Agronomia* **2023**, *13*, 2324. [Riferimento incrociato](#)
22. Bhandal, IS; Malik, CP Stima del potassio, assorbimento e suo ruolo nella fisiologia e nel metabolismo delle piante da fiore. *Int. Rev. Cytol.* **1988**, *110*, 205–254. [Riferimento incrociato](#)
23. Cocucci, S.; Cocucci, M. Effetto di ABA, GA3 e FC sullo sviluppo dell'assorbimento di potassio nei semi di ravanello in germinazione. *Scienze vegetali Lett.* **1977**, *10*, 85–95. [Riferimento incrociato](#)
24. Jia, Q.; Kong, D.; Li, Q.; Sun, S.; Song, J.; Zhu, Y.; Liang, K.; Ke, Q.; Lin, W.; Huang, J. La funzione delle inositolo fosfatasi nella tolleranza delle piante allo stress abiotico. *Scienze Int. J. Mol.* **2019**, *20*, 3999. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
25. Khavari-Nejad, S. Una revisione sulle perossidasi vegetali. *Repertorio di Nova Biol.* **2019**, *5*, 428–437. [Riferimento incrociato](#)
26. Baumberger, N.; Doesseger, B.; Guyot, R.; Diet, A.; Parsons, RL; Clark, MA; Simmons, M.; Bedinger, P.; Goff, SA; Ringli, C.; et al. Confronto del genoma intero di estensine ripetute ricche di leucina in *Arabidopsis* e riso. Una famiglia conservata di proteine della parete cellulare forma un clade vegetativo e uno riproduttivo. *Fisiologia vegetale.* **2003**, *131*, 1313–1326. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
27. Herger, A.; Dünser, K.; Kleine-Vehn, J.; Ringli, C. Proteine estensine ripetute ricche di leucina e il loro ruolo nel rilevamento della parete cellulare. *Biologia Curr.* **2019**, *29*, R851–R858. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
28. Cosgrove, DJ Struttura e crescita delle pareti cellulari vegetali. *Nat. Rev. Molecolare Biologia Cellulare* **2023**, *25*, 340–358. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
29. Estévez, IH; HernUNdez, MR Glutazione S-transferasi delle piante: una panoramica. *Gene della pianta* **2020**, *23*, 100233. [Riferimento incrociato](#)
30. Zhang, J.; Jia, W.; Yang, J.; Ismail, AM Ruolo dell'ABA nell'integrazione delle risposte delle piante alla siccità e allo stress salino. *Risorsa delle colture erbacee* **2006**, *97*, 111–119. [Riferimento incrociato](#)
31. Xu, L.; Zhang, L.; Liu, Y.; Sod, B.; Li, M.; Yang, T.; Gao, T.; Yang, Q.; Long, R. La sovraespressione del fattore di allungamento MteF1A1 promuove la tolleranza allo stress salino in *Arabidopsis thaliana* e *Medicago truncatula*. *Biologia vegetale BMC* **2023**, *23*, 138. [Riferimento incrociato](#)
32. Athar, H.-U.; Zulfiqar, F.; Moosa, A.; Ashraf, M.; Zafar, ZU; Zhang, L.; Ahmed, N.; Kalaji, HM; Nafees, M.; Hossain, Massachusetts; et al. Proteine da stress salino nelle piante: una panoramica. *Fronte. Scienze vegetali.* **2022**, *13*, 999058. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
33. Panuccio, MR; Jacobsen, SE; Akhtar, SS; Muscolo, A. Effetto dell'acqua salina sulla germinazione dei semi e sulla crescita precoce delle piantine di *Quinoa alofita*. *Piante AoB* **2014**, *6*, più047. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
34. Uçarlı, C. Effetti della salinità sulla germinazione dei semi e sulla fase iniziale della piantina. In *Piante da stress abiotica*; Intech Open: Londra, Regno Unito, 2021. [[Riferimento incrociato](#)]
35. Abley, K.; Formosa-Jordan, P.; Tavares, H.; Chan, EYT; Afsharinafar, M.; Leyser, O.; Locke, JCW Un interruttore bistabile ABA-GA può spiegare la variazione naturale nella variabilità del tempo di germinazione dei semi di *Arabidopsis*. *eVita* **2021**, *10*, e59485. [Riferimento incrociato](#)
36. Zhang, H.; Zhu, J.; Gong, Z.; Zhu, J.-K. Risposte allo stress abiotico nelle piante. *Rev. do Naz. Genet.* **2021**, *23*, 104–119. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]
37. Follmer, CM; Hummes, AP; LUNgaro, NC; Petry, C.; Moterle, DF; Bortoluzzi, EC La disponibilità di nutrienti e il livello di pH influenzano le caratteristiche di germinazione e lo sviluppo delle piantine *Conyza canadensis*. *Rappresentante scientifico* **2021**, *11*, 15607. [Riferimento incrociato](#) [[Pubblicazione](#)]

38. Tini, S. *Tolleranza allo stress biotico e abiotico nelle piante*; Springer: Berlino/Heidelberg, Germania, 2018; pp. 1–367. [\[Riferimento incrociato\]](#)
39. Moustakas, M.; Sperdoui, I.; Moustaka, J. Allarme precoce di stress da siccità nelle piante: immagini a colori della fotochimica del fotosistema II. *Clima* **2022**, *10*, 179. [\[Riferimento incrociato\]](#)
40. Liang, Y.; Urano, D.; Liao, K.-L.; Hedrick, T.L.; Gao, Y.; Jones, A.M. Un metodo non distruttivo per stimare il contenuto di clorofilla delle piantine di Arabidopsis. *Metodi di impianto* **2017**, *13*, 26. [\[Riferimento incrociato\]](#) [\[Pubblicazione\]](#)
41. Mishra, A.N. Fluorescenza della clorofilla: un approccio pratico allo studio dell'ecofisiologia delle piante verdi. In *Progressi nelle tecniche di ecofisiologia vegetale*; Springer: Berlino/Heidelberg, Germania, 2018; pp. 77–97. [\[Riferimento incrociato\]](#)
42. Swoczyna, T.; Kalaji, H.M.; Bussotti, F.; Mojski, J.; Pollastrini, M. Stress ambientale: cosa possiamo imparare dall'analisi della fluorescenza della clorofilla a nelle piante legnose? Una revisione. *Fronte. Scienze vegetali* **2022**, *13*, 1048582. [Riferimento incrociato](#) [\[Pubblicazione\]](#)
43. Riccardi, M.; Mele, G.; Pulvento, C.; Lavini, A.; D'andria, R.; Jacobsen, S.-E. Valutazione non distruttiva del contenuto di clorofilla nelle foglie di quinoa e amaranto mediante analisi di regressione semplice e multipla dei componenti dell'immagine RGB. *Fotosintesi. Res.* **2014**, *120*, 263–272. [Riferimento incrociato](#)
44. Gaiduk, A.P.; Pham, T.A.; Govoni, M.; Paesani, F.; Galli, G. Affinità elettronica dell'acqua liquida. *Comunità Naz.* **2018**, *9*, 247. [Riferimento incrociato](#)
45. Pollack, G. *La quarta fase dell'acqua: oltre lo stato solido, liquido e vapore*; Ebner & Sons: Seattle, WA, USA, 2013.
46. Kowacz, M.; Pollack, G.H. Gocce d'acqua in movimento: il ruolo della CO atmosferica e l'energia radiante incidente nella separazione di carica all'interfaccia aria-acqua. *Laurea in Chimica Fisica* **2019**, *123*, 11003–11013. [Riferimento incrociato](#)
47. Greil, F.; Punampalam, R.; Walther, T.H.; Heißler, S.; Ulrich, A.S. "L'acqua iterativamente nanofiatà" nella sua fase solida a temperatura ambiente è in realtà una miscela di contaminanti biologici e non biologici liofilizzati. *Liquido molle J.* **2023**, *385*, 122351. [Riferimento incrociato](#)
48. Elia, V.; Yinnon, T.A.; Oliva, R.; Napoli, E.; Germano, R.; Bobba, F.; Amoresano, A. DNA e la sovrastruttura dell'acqua chirale. *Liquido molle J.* **2017**, *248*, 1028–1029. [Riferimento incrociato](#)
49. Cha, S.-H. Indagine completa sulle misure di distanza/somiglianza tra funzioni di densità di probabilità. *Int. J. Matematica. Modello. Meth. Appl. Sci.* **2007**, *1*, 1.
50. Nuzzo, R. Metodo scientifico: errori statistici. *Natura* **2014**, *506*, 150–152. [Riferimento incrociato](#) [\[Pubblicazione\]](#)
51. Schneider, California; Rasband, W.S.; Eliceiri, K.W. NIH Image to ImageJ: 25 anni di analisi delle immagini. *Metodi Nat.* **2012**, *9*, 671–675. [Riferimento incrociato](#)
52. Giorgino, T. Calcolo e visualizzazione di allineamenti dinamici di deformazione temporale in R: ThedtPackage. *Software di statistica J.* **2009**, *31*, 1–24. [Riferimento incrociato](#)
53. Rio, D.C.; Ares, M., Jr.; Hannon, G.J.; Nilsen, T.W. Purificazione dell'RNA mediante TRIzol (reagente TRI). *Protocollo del porto di Cold Spring.* **2010**, *2010*, pdb-prot5439. [Riferimento incrociato](#)
54. Huerta-Cepas, J.; Szklarczyk, D.; Heller, D.; Hernáiz-Plaza, A.; Forslund, S.K.; Cook, H.; Mende, D.R.; Letunic, I.; Rattei, T.; Jensen, L.J.; et al. eggNOG 5.0: una risorsa di ortologia annotata gerarchicamente, funzionalmente e filogeneticamente, basata su 5090 organismi e 2502 virus. *Acidi Nucleici Res.* **2018**, *47*, D309–D314. [Riferimento incrociato](#)
55. Robinson Mark, D.; McCarthy Davis, J.; Smyth Gordon, K. EdgeR: un pacchetto bioconduttore per l'analisi dell'espressione differenziale dei dati di espressione genica digitale. *Bioinformatica* **2010**, *26*, 139–140. [Riferimento incrociato](#)
56. Elia, V.; Ausanio, G.; De Ninno, A.; Gentile, F.; Germano, R. Evidenza sperimentale di aggregati stabili di acqua a temperatura ambiente e pressione normale dopo contatto iterativo con un Nafion® Membrana polimerica. *Acqua J.* **2013**, *5*, 16–26.
57. Elia, V.; Ausanio, G.; De Ninno, A.; Germano, R.; Napoli, E.; Niccoli, M. Evidenze sperimentali di nanostrutture di acqua stabili a pressione e temperatura standard ottenute mediante filtrazione iterativa. *Acqua* **2014**, *5*, 121–130. [Riferimento incrociato](#)
58. Elia, V.; Germano, R.; Napoli, E. Strutture dissipative permanenti nell'acqua: la matrice della vita? Evidenze sperimentali e la loro origine quantistica. *Curr. Superiore Med. Chimica* **2015**, *15*, 559–571. [Riferimento incrociato](#) [\[Pubblicazione\]](#)
59. Yinnon, T.; Elia, V.; Napoli, E.; Germano, R.; Liu, Z.-Q. Ordinamento dell'acqua indotto dalle interfacce: uno studio sperimentale e teorico. *Acqua* **2016**, *7*, 96. [\[Riferimento incrociato\]](#)
60. Elia, V.; Yinnon, T.; Oliva, R.; Napoli, E.; Germano, R.; Bobba, F.; Amoresano, A. Chirale H. di dimensioni micron. Aggregati di O in acqua: dicroismo circolare dell'H supramolecolare. 2O Architetture create perturbando l'acqua pura. *Acqua* **2017**, *8*, 1–29. [Riferimento incrociato](#)
61. Elia, V.; Oliva, R.; Napoli, E.; Germano, R.; Pinto, G.; Lista, L.; Niccoli, M.; Toso, D.; Vitiello, G.; Trifuoggi, M.; et al. Studio sperimentale dei cambiamenti fisico-chimici nell'acqua mediante contatto iterativo con polimeri idrofilici: un confronto tra cellulosa e Nafion. *Liquido molle J.* **2018**, *268*, 598–609. [Riferimento incrociato](#)
62. Signanini, P.; Vessia, G.; Elia, V.; Napoli, E.; Germano, R. Uno studio sulle variazioni delle proprietà fisiche dell'acqua demineralizzata messa a contatto con materiali idrofilici porosi: evidenze sperimentali sul materiale Metabrick. *J. Supporti porosi* **2019**, *22*, 1609–1625. [Riferimento incrociato](#)
63. Elia, V.; Napoli, E.; Germano, R.; Naviglio, D.; Ciaravolo, M.; Dal Poggetto, G.; Caputo, D.; Oliva, R.; Yinnon, T.A. Studio sulle variazioni delle proprietà fisiche dell'acqua distillata messa a contatto con materiali idrofilici porosi: prove sperimentali sul tufo giallo napoletano. *Acqua* **2022**, *12*, 119–129. [Riferimento incrociato](#)
64. Elia, V.; Marchettini, N.; Napoli, E.; Niccoli, M. Il ruolo dell'etanolo in soluzioni estremamente diluite. *J. Termico Anal. Calorim.* **2014**, *116*, 477–483. [Riferimento incrociato](#)
65. Yinnon, T.A.; Elia, V. Dinamica in soluzioni acquose molto diluite e perturbate: teoria e prove sperimentali. *Laurea in Giurisprudenza, Mod. Fisica* **2013**, *27*, 1350005. [Riferimento incrociato](#)

66. Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M. Sulla stabilità delle soluzioni estremamente diluite alla temperatura. *J. Termico Anal. Calorim.* **2013**, *113*, 963–970. [Riferimento incrociato](#)]
67. Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M. Studio fisico-chimico dell'acqua a contatto con un polimero idrofilo: Nafion. *J. Termico Anal. Calorim.* **2013**, *112*, 937–944. [Riferimento incrociato](#)]
68. Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M. Titolazioni calorimetriche e conduttometriche di nanostrutture di molecole d'acqua in acqua filtrata iterativamente. *J. Termico Anal. Calorim.* **2013**, *111*, 815–821. [Riferimento incrociato](#)]
69. Elia, V.; Napoli, E. Nanostrutture di molecole d'acqua in acqua filtrata iterativamente. *Ingegneria chiave Mater.* **2011**, *495*, 37–40. [Riferimento incrociato](#)]
70. Betti, L.; Elia, V.; Napoli, E.; Trebbi, G.; Zurla, M.; Nani, D.; Peruzzi, M.; Brizzi, M. Effetti biologici e proprietà fisico-chimiche di soluzioni acquose estremamente diluite in funzione del tempo di invecchiamento. *Fronte. Scienze della vita.* **2011**, *5*, 117–126. [Riferimento incrociato](#)]
71. Elia, V.; Marchettini, N.; Napoli, E.; Niccoli, M. Misure calorimetriche, conduttometriche e di densità di acqua filtrata iterativamente utilizzando filtri Millipore da 450, 200, 100 e 25 Nm. *J. Termico Anal. Calorim.* **2013**, *114*, 927–936. [Riferimento incrociato](#)]
72. Cattaneo, TMP; Stefania, V.; Elena, N.; Vittorio, E. Influenza dei processi di filtrazione sulle nanostrutture acquose mediante spettroscopia NIR. *Laurea in Chimica, Ingegneria Chimica.* **2011**, *5*, 1046.
73. Elia, V.; Marrari, L.; Napoli, E. Nanostrutture acquose in acqua indotte da campi elettromagnetici emessi da EDS: uno studio conduttometrico di fullerene e nanotubi di carbonio EDS. *J. Termico Anal. Calorim.* **2012**, *107*, 843–851. [Riferimento incrociato](#)]
74. Brizzi, M.; Elia, V.; Trebbi, G.; Nani, D.; Peruzzi, M.; Betti, L. L'efficacia delle diluizioni acquose ultramolecolari su un modello di germinazione del grano in funzione del calore e del tempo di invecchiamento. *Complemento basato su Evid. Altern. Med.* **2011**, *2011*, 696298. [Riferimento incrociato](#)]
75. Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M. Parametri termodinamici per il processo di legame dell'OH-Ione con le strutture dissipative. Titolazioni calorimetriche e conduttometriche. *J. Termico Anal. Calorim.* **2010**, *102*, 1111–1118. [Riferimento incrociato](#)]
76. Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M. Un modello molecolare di interazione tra soluzioni estremamente diluite e soluzioni di NaOH utilizzate come titolante.: Titolazioni conduttometriche e pHmetriche. *Liquido molle J.* **2009**, *148*, 45–50. [Riferimento incrociato](#)]
77. Cacace, CM; Elia, L.; Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M. Titolazioni conduttometriche e pHmetriche di soluzioni estremamente diluite utilizzando soluzioni di HCl come titolante. *Liquido molle J.* **2009**, *146*, 122–126. [Riferimento incrociato](#)]
78. Del Giudice, E.; Elia, V.; Napoli, E.; Tedeschi, A. Il ruolo dell'acqua negli organismi viventi. *Mondo delle reti neurali* **2009**, *19*, 355–360.
79. Ciavatta, L.; Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M. Nuove proprietà fisico-chimiche di soluzioni estremamente diluite. Misure di forza elettromotrice di celle galvaniche sensibili all'attività di NaCl a 25°C. *J. Soluzione Chimica.* **2008**, *37*, 1037–1049. [Riferimento incrociato](#)]
80. Elia, V.; Elia, L.; Marchettini, N.; Napoli, E.; Niccoli, M.; Tiezzi, E. Proprietà fisico-chimiche di soluzioni acquose estremamente diluite in relazione all'invecchiamento. *J. Termico Anal. Calorim.* **2008**, *93*, 1003–1011. [Riferimento incrociato](#)]
81. Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M. Sulla stabilità di soluzioni acquose estremamente diluite ad alta forza ionica: uno studio calorimetrico a 298 K. *J. Termico Anal. Calorim.* **2008**, *92*, 643–648. [Riferimento incrociato](#)]
82. Belon, P.; Elia, V.; Elia, L.; Montanino, M.; Napoli, E.; Niccoli, M. Studi conduttometrici e calorimetrici di soluzioni diluite e agitate in serie: sull'effetto anomalo combinato dei parametri di tempo e volume. *J. Termico Anal. Calorim.* **2008**, *93*, 459–469. [Riferimento incrociato](#)]
83. Corti, H. Commenti su "Nuove proprietà fisico-chimiche di soluzioni estremamente diluite. Uno studio sulla conduttività a 25°C in relazione all'invecchiamento". *J. Soluzione Chimica.* **2008**, *37*, 1819–1824. [Riferimento incrociato](#)]
84. Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M.; Marchettini, N.; Tiezzi, E. Nuove proprietà fisico-chimiche di soluzioni estremamente diluite. Uno studio sulla conduttività a 25°C in relazione all'invecchiamento. *J. Soluzione Chimica.* **2008**, *37*, 85–96. [Riferimento incrociato](#)]
85. Elia, V.; Napoli, E.; Germano, R. La "memoria dell'acqua": un enigma quasi decifrato. Strutture dissipative in soluzioni acquose estremamente diluite del medicinale omeopatico. *Omeopatia* **2007**, *96*, 163–169. [Riferimento incrociato](#)]
86. Elia, V.; Elia, L.; Marchese, M.; Montanino, M.; Napoli, E.; Niccoli, M.; Nonatelli, L.; Savarese, F. Interazione di "soluzioni estremamente diluite" con soluzioni acquose di acido cloridrico e idrossido di sodio: uno studio calorimetrico a 298 K. *Liquido molle J.* **2007**, *130*, 15–20. [Riferimento incrociato](#)]
87. Elia, V.; Elia, L.; Montanino, M.; Napoli, E.; Niccoli, M.; Nonatelli, L. Studi conduttometrici di soluzioni diluite e agitate in serie su un effetto anomalo dipendente dal processo di diluizione. *Liquido molle J.* **2007**, *135*, 158–165. [Riferimento incrociato](#)]
88. Elia, V.; Elia, L.; Napoli, E.; Niccoli, M. Studi conduttometrici e calorimetrici di soluzioni diluite e agitate in serie: la dipendenza dei parametri intensivi dal volume. *Int. J. Ecodynam.* **2007**, *1*, 361–372. [Riferimento incrociato](#)]
89. Elia, V.; Elia, L.; Cacace, P.; Napoli, E.; Niccoli, M.; Savarese, F. "Soluzioni estremamente diluite" come sistemi multivariabili. *J. Termico Anal. Calorim.* **2006**, *84*, 317–323. [Riferimento incrociato](#)]
90. Elia, V.; Marchese, M.; Montanino, M.; Napoli, E.; Niccoli, M.; Nonatelli, L.; Ramaglia, A. Fenomeni idrosteretici di "soluzioni estremamente diluite" indotti da trattamenti meccanici: uno studio calorimetrico e conduttimetrico a 25°C. *J. Soluzione Chimica.* **2005**, *34*, 947–960. [Riferimento incrociato](#)]
91. Elia, V.; Napoli, E.; Niccoli, M.; Nonatelli, L.; Ramaglia, A.; Ventimiglia, E. Nuove proprietà fisico-chimiche di soluzioni acquose estremamente diluite: uno studio calorimetrico e di conduttività a 25°C. *J. Termico Anal. Calorim.* **2004**, *78*, 331–342. [Riferimento incrociato](#)]
92. Elia, V.; Baiano, S.; Duro, I.; Napoli, E.; Niccoli, M.; Nonatelli, L. Proprietà fisico-chimiche permanenti di soluzioni acquose estremamente diluite di medicinali omeopatici. *Omeopatia* **2004**, *93*, 144–150. [Riferimento incrociato](#)] [\[Pubblicazione\]](#)
93. Elia, V.; Niccoli, M. Nuove proprietà fisico-chimiche di soluzioni acquose estremamente diluite. *J. Termico Anal. Calorim.* **2004**, *75*, 815–836. [Riferimento incrociato](#)]
94. Elia, V.; Niccoli, M. Nuove proprietà fisico-chimiche dell'acqua indotte da trattamenti meccanici. Uno studio calorimetrico a 25°C. *J. Termico Anal. Calorim.* **2000**, *61*, 527–537. [Riferimento incrociato](#)]

-
95. Elia, V.; Niccoli, M. Termodinamica delle soluzioni acquose estremamente diluite. *Laurea in Scienze e Tecnologie dell'Informazione a New York* **1999**, *879*, 241–248. [Riferimento incrociato](#)]
96. Renati, P.; Madl, P. Che cosa è il “legame idrogeno”? Una prospettiva QFT-QED. *Scienze Int. J. Mol.* **2024**, *25*, 3846. [Riferimento incrociato](#)] [[Pubblicazione](#)]
97. Vitiello, G. Frattali, stati coerenti e geometria non commutativa indotta dall'autosimilarità. *Fisica Lett.* **A2012**, *376*, 2527–2532. [Riferimento incrociato](#)]
98. McDermott, M.; Vanselous, H.; Corcelli, S.; Petersen, P. Spina chirale di idratazione del DNA. *Scienze del Centro ACS* **2017**, *3*, 708–714. [Riferimento incrociato](#)] [[Pubblicazione](#)]

Disclaimer/Nota dell'editore: Le dichiarazioni, le opinioni e i dati contenuti in tutte le pubblicazioni appartengono esclusivamente ai singoli autori e collaboratori e non a MDPI e/o al/ai redattore/i. MDPI e/o il/i redattore/i declinano ogni responsabilità per eventuali danni a persone o proprietà derivanti da idee, metodi, istruzioni o prodotti a cui si fa riferimento nel contenuto.