

Università degli Studi di Napoli Federico II



Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale

**Tesi di dottorato
in
Biologia Applicata
XXIV ciclo**

*Risposta di alcuni indicatori di qualità di un
suolo in due casi studio*

Tutor

Dott.ssa Anna De Marco

Candidata

Dott.ssa Eleonora Di Cuffa

Coordinatore

Ch.mo Prof. Ezio Ricca

Capitolo I	3
Introduzione generale	3
Parametri di “buona salute” di un ecosistema	3
Definire lo stato di salute del suolo	4
La biomassa microbica.....	5
La respirazione	6
Il micelio fungino.....	7
Capitolo II.....	10
Obiettivi della ricerca	10
Capitolo III	13
Primo caso studio	13
<i>effetto della gestione agricola sulla biomassa microbica del suolo</i>	13
La gestione agricola	13
Agricoltura convenzionale o conservativa?.....	15
Capitolo IV	22
Materiali e metodi	22
<i>effetto della gestione agricola sulla biomassa microbica del suolo</i>	22
Le aree studio	22
Salerno	22
Torino.....	23
Trattamenti ed il piano sperimentale	24
I campionamenti	25
Le analisi	27
I parametri fisici	27
Determinazione dei parametri microbici del suolo.....	28
Analisi statistica dei dati	30
Capitolo V.....	31
Risultati e discussione	31
2008	31
pH e tenore idrico	31
Biomassa microbica, respirazione basale e quoziente metabolico.....	32
2009	33
Tenore idrico.....	33
Micelio fungino totale ed attivo	33
Trattamenti su colture di mais: studio dell’impatto della lavorazione e di differenti pratiche di fertilizzazione	34
Trattamenti su parcelle coltivate con frumento: protezione della sostanza organica nel suolo, sperimentazione con una ferro-porfirina	36
Primo caso studio: conclusioni	38
<i>Capitolo VI</i>	48
Introduzione	48
<i>Capitolo VII</i>	51

Materiali e metodi	51
L' area studio	51
Piano sperimentale	52
L'allestimento dei mesocosmi	52
Le tesi sperimentali	53
L'ammendante	53
I campionamenti	54
Il suolo	55
La biomassa vegetale totale	56
Le piante	56
Le analisi sul suolo	57
I parametri chimici	57
I parametri fisici	60
I parametri microbici	62
La biomassa vegetale	64
Le piante	65
La fluorescenza	65
La determinazione delle caratteristiche fogliari	65
Le caratteristiche chimiche delle foglie	67
C e N totale	67
Analisi statistica dei dati	67
<i>Capitolo VIII</i>	68
Risultati e discussione	68
<i>secondo caso studio: applicazione di compost in sistemi di mesocosmi. Valutazioni sul sistema microrganismi-suolo-</i>	
<i>pianta</i>	68
I.1 Caratterizzazione chimico fisica del suolo	68
Biomassa totale della comunità vegetale spontanea	69
Indicatori microbici	70
Caratteristiche fogliari	72
Osservazioni sulla risposta della comunità microbica per il secondo caso studio	75
Bibliografia	82

Presentazione della tesi

Può essere definito suolo “[...] qualsiasi materiale entro 2 m dalla superficie terrestre che sia in contatto con l’atmosfera con esclusione degli organismi viventi, delle aree con ghiaccio continuo non coperte da altri materiali e dei corpi idrici più profondi di 2 m” (WRB World Reference Base for Soil Resources 2006).

Da questa definizione emerge il concetto fondamentale che il suolo è tale in quanto esiste, tuttavia, affinché esso svolga il principale ruolo di conservazione della vita sulla Terra e di protezione ambientale, si rende necessario considerare specifiche caratteristiche quali, la fertilità e la qualità di un suolo.

La stessa etimologia del termine, dal latino *solum* ossia pavimento, lo definisce come una superficie esterna ovvero una base, il suolo è lo strato più esterno della litosfera o crosta terrestre. Tale definizione non rende l’idea della sua funzione, come invece è stato recentemente messo in risalto da Nachtergaele (2005) definendolo come la “epidermide” della Terra.

Infatti, come l’epidermide per gli organismi animali e vegetali è un tessuto complesso che media le interazioni tra l’organismo e l’ambiente, così il suolo è un sistema eterogeneo la cui funzione è di garantire i servizi ecosistemici, quali, riciclo dei nutrienti, protezione dei corpi idrici, essere rifugio per gli organismi vegetali ed animali. In quest’ottica, il suolo può essere visto come un organismo vivente la cui funzione è garantita dal suo stato di salute, che per il suolo dipende principalmente dalle “delicate” e complesse interazioni tra la componente biotica ed abiotica il cui equilibrio garantisce in generale la qualità del sistema e lo stato di salute del suolo (Halvorson et al. 1997). Emerge che un’accurata conoscenza dei processi ecosistemici e quindi della qualità di un suolo, è un fattore critico per assicurarne lo stato di salute (Wilhjelm committee 2001).

La qualità può essere descritta da tre caratteristiche fondamentali, quali; *la produttività*, intesa come la capacità del suolo di aumentare la produttività biologica e delle piante; *la qualità ambientale*, ovvero, la capacità del suolo di attenuare le contaminazioni ambientali, i patogeni ed i danni esterni; *la salute degli organismi viventi*, quale interrelazione tra la qualità del suolo e la salute dei microrganismi, delle piante, degli animali e dell’uomo (Rodale Institute 1991; Karlen 1997). Tale proprietà non può essere misurata in maniera diretta, ma richiede l’utilizzo di opportuni indicatori particolarmente sensibili che forniscono risposte rapide ai fattori di disturbo ed ai cambiamenti ambientali, prima che i danni diventino irreversibili.

In questa tesi di dottorato è stata studiata la risposta di alcuni indici microbici in due casi studio. Nel primo capitolo viene fatta un'introduzione generale sulla definizione di qualità del suolo, su quali indicatori possono descriverla, enfatizzando la risposta degli indici microbici ai fattori di disturbo. Nel capitolo III viene presentato il primo caso studio. In questo capitolo sono mostrati e discussi i risultati sulla risposta della comunità microbica ad una gestione convenzionale ed due gestioni conservative differenti per intensità di lavorazione, tradizionale con fertilizzazione inorganica minima lavorazione e lavorazione profonda in regime di fertilizzazione organica. Inoltre, sono riportati i risultati di una sperimentazione con un fotopolimero al fine di proteggere la sostanza organica nel suolo. Nel capitolo VI presento il secondo caso studio in cui gli indici microbici sono stati utilizzati per valutare le relazioni tra microrganismi-suolo-pianta, per mettere in risalto come il sistema risponde ad un disturbo. Lo studio è stato condotto in sistemi di mesocosmi per un progetto di riqualificazione di suoli degradati costituiti principalmente da materiale di risulta mediante l'applicazione di compost.

Capitolo I

Introduzione generale

Parametri di “buona salute” di un ecosistema

Lo stato di salute del suolo può essere definito “la capacità costante di un suolo di funzionare come un sistema vivente (...) per sostenere la produttività biologica, promuovere la qualità dell'aria, dell'acqua e garantire la salute delle piante, degli animali e dell'uomo” (John Doran, in Doran e Gregorich 2002).

La definizione dello stato di salute del suolo è legato ad alcune proprietà di un ecosistema come, la stabilità, la resilienza, la sostenibilità, l'auto-organizzazione, la diversità/complessità, la produttività.

La resistenza è l'abilità del sistema a mantenere il suo stato di equilibrio in presenza di disturbi esterni, mentre, la resilienza in un ecosistema è l'abilità a ristabilire la propria struttura e funzionalità dopo un disturbo. La resilienza è associata all'allontanamento da uno stato stazionario ed al ripristino di un nuovo stato di equilibrio, mentre, la resistenza è la forza con cui un sistema si oppone all'allontanamento dall'equilibrio. La sostenibilità, una garantisce la qualità a lungo-termini di un sistema, è la capacità di un ecosistema di mantenere nel tempo la struttura e la funzionalità . Ad esempio, in un sistema agricolo può essere valutata in termini di produzione a lungo-termini, sotto particolari stress dovuti a fluttuazioni economiche, ambientali, uso e perdita del suolo. L'auto-regolazione può essere associata al raggiungimento di uno stato omeostatico o di uno stadio finale del sistema, anche se Norton (1992) e Regier (1993) ne danno una visione più dinamica, descrivendola come la capacità di un ecosistema ad adattarsi ed evolvere. L'auto-regolazione implica l'auto-sufficienza ovvero il sostentamento del sistema attraverso il riciclo dei nutrienti. Secondo tale definizione un sistema antropizzato, per scopi produttivi o urbanizzato, non è auto-sufficiente data la forte dipendenza da input energetici esterni. La diversità è il numero di specie o la ricchezza in specie in un ecosistema, mentre, la complessità, si riferisce sia al numero di componenti e sia alla natura delle interconnessioni fra di esse. L'efficienza è definita in base ai flussi energetici di output ed input, l'efficienza ecologica di un organismo è la conversione delle risorse disponibili in un sistema in biomassa (Ricklefs 1983).

Definire lo stato di salute del suolo

L'SSSA (Soil Science Society of America) ha distinto gli indicatori in fisici, chimici e biologici

CARATTERISTICHE DEL SUOLO	
<u>INDICATORI FISICI</u>	<u>INDICATORI CHIMICI</u>
Tessitura del suolo	C e N organico totale
Profondità del suolo e degli apparati radicali	pH
Densità apparente	Conducibilità elettrica
Infiltrazione	N (NH ₄ e NO ₃), P e K minerale
Caratteristiche di ritenzione idrica	
Contenuto idrico	
Temperatura del suolo	
<u>INDICATORI BIOLOGICI</u>	
C e N della biomassa microbica	
N potenzialmente mineralizzabile	
Respirazione del suolo	
C biomassa / C organico totale	
Respirazione / biomassa	

Mentre in passato è stata più enfasi alle caratteristiche chimiche e fisiche del suolo per descriverne la qualità, nell'ultimo ventennio un grande numero di lavori scientifici ha proposto l'uso di indicatori biologici e microbici sostenendo che una loro diminuzione possa compromettere la funzione del suolo e di conseguenza la sua qualità (Turco et al. 1994). La comunità microbica del suolo ha un ruolo primario nel mantenere la struttura e la funzionalità di un ecosistema, regola processi fondamentali come il turnover della sostanza organica e dei nutrienti. Funghi e batteri sono i decompositori primari nel suolo e riciclano circa il 90-95% di tutti i nutrienti resi disponibili per l'intera rete trofica. Il vantaggio di usare i microrganismi del suolo come indicatori di qualità oltre ad essere associato al loro ruolo, è dato dall'immediatezza delle risposte in biomassa e in attività microbica in seguito ad un disturbo, poichè hanno un breve ciclo vitale e reagiscono velocemente ai cambiamenti di gestione e di uso del suolo, all'utilizzo dei fertilizzanti, all'aggiunta di sostanza organica o di compost (Sparling 1997). Gli indicatori biologici e microbici in particolare, possono rivelare un problema prima che sia compromessa la salute dell'ecosistema. La comunità edafica è influenzata dalle condizioni microclimatiche e dalle caratteristiche chimiche e fisiche del suolo, pertanto, agli indicatori microbici occorre affiancare delle misure delle proprietà chimiche e fisiche di un suolo. Infatti, le proprietà di un sistema sono più numerose e complesse della semplice somma delle loro parti quindi la "qualità", la "salute" e la "fertilità" di un suolo possono essere definite solo

dalla combinazione di alcune misure delle principali proprietà chimiche, fisiche e biologiche, che sostengono i processi di funzionamento del sistema (Doran e Safley 1997).

Nonostante i numerosi aspetti positivi l'uso di parametri microbici di salute e qualità del suolo, nella valutazione di rischio ambientale è argomento di molte critiche. Una difficoltà del monitoraggio con i parametri microbici è la mancanza di valori di riferimento dovuta all'alta variabilità dei parametri ed alle loro relazioni complicate e non ancora del tutto conosciute con molti fattori ambientali. Ad esempio questo potrebbe porsi come un reale problema per l'interpretazione dei valori assoluti nel biomonitoraggio del suolo (Kapustka 1999).

La biomassa microbica

I microrganismi del suolo sono usati e monitorati sia come processi, sono compresi tutte le attività dei microrganismi del suolo, specialmente la respirazione sia come biomassa. La biomassa microbica rappresenta la parte vivente della materia organica del suolo e può essere misurata come carbonio immobilizzato nelle cellule microbiche, quindi, definita come carbonio microbico (Jenkinson e Ladd 1981). Questo indice di qualità del suolo descrive l'intera comunità microbica senza alcuna specificazione della sua struttura. Diversi fattori possono influenzare la comunità edifica in un suolo, come la quantità e qualità dei substrati organici. Il contenuto e la disponibilità della sostanza organica possono determinare la distribuzione della comunità microbica lungo un profilo del suolo. Infatti, valori maggiori di carbonio microbico si trovano principalmente nella rizosfera all'interfaccia suolo-radici dove è massima l'influenza del rilascio degli essudati radicali e della decomposizione delle radici morte. In prossimità delle radici le popolazioni microbiche possono essere da 5 a 100 volte più numerose che nel resto del suolo con una relazione negativa tra popolazione microbica e l'aumentare della distanza dalla superficie radicale. Regioni di suolo che si estendono per molti cm dalle radici possono essere spesso identificate come rizosfera, anche se molto più spesso questa zona è ristretta a uno strato di pochi millimetri (1-2 mm) intorno alle radici. Gli essudati radicali costituiscono una frazione organica facilmente disponibile per la comunità microbica del suolo e per questo la rizosfera è un "hot spot" non solo di biomassa ma anche di attività microbica e biodiversità. Anche la composizione della vegetazione di un sistema può influenzare la comunità microbica, difatti, in funzione della coltura, variano la quantità, la qualità ed il tempo di rilascio dei composti organici. Di conseguenza, la quantità, la composizione, delle specie microbiche presenti e la capacità catabolica dei microrganismi, possono variare in sistemi con differente copertura vegetale (Hooper et al. 1998).

L'indice di biomassa microbica è alla base di numerosi studi sul suolo che mettono in evidenza l'effetto delle modificazioni determinate dall'uomo in differenti ambienti, come i sistemi forestali

gestiti o sistemi naturali convertiti in agroecosistemi oppure in sistemi silvo-pastorali, oppure sottoposti ad impatto antropico (Fließbach e Mäder 2000, Rutigliano et al., 2002 b).

La comunità microbica e quindi la risposta degli indici microbici utilizzati per definire la qualità di un suolo, è influenzata da una molteplicità di fattori ambientali e da diverse proprietà chimiche e fisiche del suolo. Può variare in regimi climatici differenti, in genere è favorita da regioni con clima più freddo ed umido rispetto alle regioni più calde e secche. Inoltre, dal regime climatico dipendono anche alcune proprietà chimiche e fisiche del suolo, come la temperatura, l'umidità ed il pH, in particolare, le loro oscillazioni stagionali incidono sulla biomassa microbica del suolo. Per quanto riguarda le caratteristiche fisiche del suolo, Spain e collaboratori (1983) in sistemi sottoposti allo stesso tipo di disturbo antropico ottengono valori di biomassa microbica maggiori in suoli con tessitura fine a prevalenza argillosa rispetto a quelli con prevalenza di sabbia. Nei suoli argillosi la materia organica forma degli aggregati molto stabili con la frazione minerale, l'incorporazione della materia organica con le argille o l'intrappolamento nei micropori degli aggregati del suolo, possono esercitare una protezione fisica dall'attacco microbico.

La respirazione

La respirazione basale del suolo, misurata come evoluzione di CO_2 , rappresenta una stima del metabolismo degli organismi edafici; più ricca e più attiva è la comunità edafica, maggiore è l'evoluzione di anidride carbonica. Secondo Parker e Doxtader, (1983) l'attività microbica è responsabile del 71% dell'evoluzione totale di CO_2 dal suolo e può essere considerato come una misura dell'attività di decomposizione microbica. Il naturale utilizzo di substrati organici da parte della comunità microbica del suolo produce anidride carbonica (CO_2), che viene stoccata nei pori del suolo ed emessa in atmosfera tramite processo diffusivo dovuto al gradiente di concentrazione.

Data l'immensa variabilità della risposta degli indici microbici ad una moltitudine di ambientali, potrebbe essere complicato mettere in relazione queste misure con la qualità del suolo. Ad esempio, un elevato tasso di respirazione non bilanciato da un accumulo di biomassa nei microrganismi potrebbe corrispondere ad un veloce tasso di mineralizzazione del carbonio organico, comportando una perdita di sostanza organica dal sistema, per contro, un processo di decomposizione più veloce determina un più rapido turnover dei nutrienti che favorisce lo sviluppo delle piante.

Anderson e Domsch (1978) proposero un indice ecofisiologico, derivato dal tasso di respirazione per unità di biomassa microbica ed unità di tempo, per valutare l'efficienza metabolica della comunità microbica. Valori più elevati di quoziente metabolico ($q\text{CO}_2$) implicano un'attività microbica maggiore, in pratica i microrganismi richiedono più carbonio e spendono più energia per la respirazione piuttosto che aumentare la biomassa. Per contro, una riduzione del quoziente

metabolico indica un miglioramento dell'efficienza di utilizzazione delle risorse da parte dei microrganismi, mentre, il suo aumento potrebbe indicare l'instaurarsi di condizioni di stress che attivano meccanismi di riparazione per riparare i sistemi cellulari danneggiati e dissipando più di energia per il mantenimento.

Il quoziente metabolico è stato utilizzato quale indice microbico di qualità di un suolo in diversi studi, riscontrando incrementi significativi dopo incendi o arricchimento del suolo con residui organici, anche se i trend non sono sempre chiari. La presenza di metalli pesanti può essere un fattore di stress per la comunità microbica, hanno trovato valori più alti di qCO_2 in suoli ammendati con fanghi contaminati da metalli pesanti. In questo caso, l'alto valore di quoziente respiratorio rappresenterebbe una manifestazione dello stato di stress e quindi si può associare ad un peggioramento dello stato del suolo. In generale, il quoziente metabolico può individuare l'instaurarsi di condizioni stressanti per la microflora edafica o per lo studio di suoli a differente stadio di maturità lungo una cronosequenza (Odum 1985).

In un suolo sottoposto ad un intenso sfruttamento il decremento del quoziente microbico potrebbe indicare una più rapida riduzione del pool di carbonio microbico rispetto al pool di carbonio organico. Tuttavia questo indice sembra fornire utili informazioni sullo stato di salute di uno stesso suolo nel tempo, mentre non sempre è chiara l'interpretazione dei risultati per suoli di differente natura. Un altro indice derivato che spesso viene utilizzato in letteratura insieme agli indicatori di qualità del suolo è il coefficiente di mineralizzazione endogeno (CEM). Questo indice è derivato dal rapporto tra carbonio microbico e carbonio organico nel suolo, variazioni di CEM sono legate alle dinamiche di materia organica e possono indicare perdite o accumulo di carbonio nel suolo (Anderson et al. 1986). Questo indice può essere utile per confrontare il trend in suoli con differente contenuto di sostanza organica (Sparling 1997).

Il micelio fungino

Tra gli indici microbici va approfondito il discorso su una componente della biomassa microbica totale, la comunità fungina, sia per il ruolo dei funghi nel riciclo dei nutrienti, sia perché hanno dimostrato di avere una differente risposta al disturbo rispetto ad altri indici come la biomassa o la respirazione microbica.

In un suolo i tre gruppi di funghi più importanti sono i saprofiti: o decompositori sono capaci di degradare anche le frazioni più recalcitranti della materia organica del suolo, come la lignina (Toal et al., 2000).

i mutualisti: sono fondamentali poiché sviluppano relazioni reciprocamente benefiche con le piante, le quali possono ottenere nutrienti quali il fosforo. I funghi micorrizici sono particolari funghi mutualisti che crescono insieme alle radici delle piante.

i patogeni: i più conosciuti sono *Verticillium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* e *Pythium*. Questi organismi penetrano ed utilizzano i tessuti vegetali provocando un indebolimento fino alla morte della pianta.

I saprofiti hanno un ruolo importante nei processi del suolo per il ciclo dei nutrienti, vista l'abilità di alcuni saprofiti di decomporre la frazione organica recalcitrante ed il trasporto dei nutrienti dall'orizzonte minerale a quello organico (Frey et al., 2000; Klein e Paschke, 2004). Inoltre, i funghi con l'allungamento delle ife fungine possono contribuire alla formazione della struttura del suolo, aumentandone la capacità di ritenere l'umidità e la resistenza all'erosione (Beare et al. 1997).

Inoltre, in diversi studi viene riportato che i funghi sono più sensibili a cambi di uso del suolo, alla lavorazione intensiva in una gestione agricola convenzionale. (Frey et al., 1999). Anche la fertilizzazione può avere impatti sul micelio fungino, provocandone una ridistribuzione nel suolo, infatti, le ife si estendono nelle aree dove i nutrienti sono facilmente disponibili attraverso movimenti del citoplasma (Kahiluoto et al. 2001). Solo una parte del filamento è attiva e la relazione tra le ife attive e totali e può essere influenzata dalla diversa allocazione delle risorse energetiche che i funghi, possono trovare maggiormente in prossimità delle radici, oppure in presenza di azoto aggiunto (Klein et al. 2004). Negli agroecosistemi, è stato osservato come la composizione della comunità microbica può essere alterata in funzione di vari fattori, ad esempio, la gestione agricola, la disponibilità e la composizione del substrato il tipo di suolo, l'umidità del e lo status dei nutrienti nel suolo in base alle variazioni stagionali (Schutter et al. 2001). Inoltre, la variazione di parametri chimico-fisici, come il pH, possono favorire o meno lo sviluppo e la dominanza dei funghi rispetto ai batteri, ad esempio, negli suoli agricoli abbandonati, generalmente, il pH del suolo diminuisce avvantaggiando le ife fungine che sono favorite in suoli acidi.

Il pH è una caratteristica del suolo fortemente legata a tutte le altre proprietà chimiche, fisiche e biologiche. Variazioni del pH possono influire sulla comunità microbica, nello specifico, sulla biomassa, sull'attività ed anche sulla struttura della comunità, in quanto, in base al pH può variare la solubilità del carbonio organico, oppure, può aumentare la disponibilità di sostanze tossiche. Il pH influenza notevolmente la microflora edafica, la maggior parte delle specie batteriche conosciute cresce a valori di pH compresi tra 4 e 9. In generale, i batteri e gli attinomiceti del suolo tollerano meno le condizioni acide rispetto ai funghi. Il pH critico per la maggior parte dei batteri e degli attinomiceti è intorno a 5, al di sotto del quale molti cessano di crescere. I funghi sono

moderatamente acidofili; il range di pH ottimale per la loro crescita cade tra 4 e 6. Alcune specie fungine crescono in condizioni acide, pertanto in suoli fortemente acidi, in cui il pH può essere di 3, i funghi costituiscono la componente dominante della microflora.

I batteri e gli attinomiceti non tollerano, al contrario dei funghi, un pH acido e quindi la microflora fungina incontra in tali suoli una competizione più debole. I funghi, inoltre, mostrano una notevole resistenza all'aridità, mentre in condizioni di eccessiva umidità il loro numero si riduce notevolmente a causa della carenza di ossigeno (Aciego e Brookes 2008).

Capitolo II

Obiettivi della ricerca

Dai più recenti rapporti sull'ambiente dell'EEA (The European Environmental Agency-2010) emerge che la degradazione del suolo è un grave problema ambientale, che potrebbe compromettere le attività economiche e produttive dell'Europa. Ad esempio, considerando che i processi erosivi procedono ad un tasso medio di 17 t ha a^{-1} contro 1 t ha a^{-1} dei processi naturali di formazione del suolo e che circa il 16 % della superficie europea è interessata da processi di degradazione per erosione il suolo non è una risorsa rinnovabile (Huber et al., 2008) (23-28 francese). Questo porta a considerare che per ricostruire naturalmente la perdita del suolo occorre un periodo di tempo che va da 50 ai 100 anni, una scala temporale più grande della vita media umana, pertanto, la degradazione di un suolo non è recuperabile e questa risorsa deve essere considerata non rinnovabile (Huber et al., 2008). Gli effetti su vasta scala della perdita di suolo mettono in primo piano ed a livello internazionale, la protezione del suolo come obiettivo prioritario per chiunque operi in campo ambientale (EEA, 2010).

La qualità di un suolo può essere descritta da tre caratteristiche fondamentali, quali; *la produttività*, intesa come la capacità del suolo di aumentare la produttività biologica e delle piante; *la qualità ambientale*, ovvero, la capacità del suolo di attenuare le contaminazioni ambientali, i patogeni ed i danni esterni; *la salute degli organismi viventi*, quale interrelazione tra la qualità del suolo e la salute dei microrganismi, delle piante, degli animali e dell'uomo (Rodale Institute, 1991; Karlen, 1997). Tale proprietà non può essere misurata in maniera diretta, ma richiede l'utilizzo di opportuni indicatori particolarmente sensibili ai fattori di disturbo ed ai cambiamenti ambientali. A tal fine ci si può avvalere della misura di alcune delle più importanti caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche del suolo, strettamente connesse alla struttura ed alla funzionalità del sistema stesso e che ne rispecchiano lo stato nutrizionale e la fertilità (Benedetti e De Bertoli, 2000).

In questo contesto, l'attività di ricerca svolta in questa tesi ha avuto l'obiettivo principale di valutare alcune delle più importanti caratteristiche biologiche, chimiche e fisiche del suolo in due sistemi ritenuti ipoteticamente sensibili alla degradazione o già degradati, al fine di valutarne e monitorarne lo stato di salute.

In particolare, durante la fase iniziale del dottorato la ricerca è stata svolta nell'ambito del Progetto MESCOSAGR acronimo di "Metodi Sostenibili per il sequestro del carbonio organico nei suoli agrari. Valutazione degli effetti sulla qualità chimica, fisica, biologica ed agronomica dei suoli".

Come in un ecosistema, anche nei sistemi agricoli la comunità microbica è fondamentale per il ciclo della materia organica e del carbonio, quindi, è responsabile della disponibilità di nutrienti per le colture. Tuttavia, le pratiche agronomiche intensive, al fine di incrementare la produttività, possono avere effetti negativi sulla comunità microbica, alterando il funzionamento del sistema e quindi compromettendo il buon esito della gestione del suolo (Doran and Safley, 1997; Doran and Zeiss 2000). Ipotizzando che una gestione agricola conservativa possa favorire la comunità microbica, ho valutato l'impatto di differenti gestioni agricole sul suolo attraverso indicatori come la biomassa microbica e fungina e l'attività microbica. Inoltre, le misure sono state effettuate in due stazioni sperimentali, differenti per la tipologia di suolo ed il regime termopluviometrico, che potrebbero influenzare la risposta della comunità microbica.

Sulla base dei risultati ottenuti dallo studio precedente la ricerca è poi proseguita con un progetto di riqualificazione di un suolo riportato e sversato su materiale di risulta ed approssimabile ad una situazione di verde cittadino o di suoli integrati all'interno di un paesaggio urbano.

In questo progetto, per migliorare la qualità del suolo è stato utilizzato un ammendante organico (compost) ipotizzando un incremento del contenuto di sostanza organica con un effetto positivo sulle proprietà del suolo ad essa connessa. In questo caso studio l'apporto di sostanza organica potrebbe migliorare la fertilità del suolo indagato, favorendo le interazioni tra la componente biotica ed abiotica del sistema, in particolare, sulla attività trofica e sulla biomassa della comunità microbica del suolo apportando benefici all'intero sistema. Lo stato di salute del suolo è stato monitorato misurando le principali caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche del suolo. Inoltre, per valutare la capacità di promuovere la salute delle piante e degli animali, è stata testata la crescita e lo stato di salute di due specie impiantate tipiche della macchia mediterranea *Quercus ilex* e *Phyllirea angustifolia*, le quali in diversi lavori (De Mei e Mauro 2009; Maisto et al 2010) condotti sul recupero, si sono mostrate tra le specie con una buona capacità di sopravvivenza su suoli degradati. Inoltre, per ottenere una risposta più immediata circa l'effetto del compost sulla fertilità del suolo è stata individuata, nella vegetazione erbacea spontanea che ha colonizzato nel tempo l'area studio, *Malva sylvestris* quale specie ubiquitaria. Le erbacee hanno un ciclo vegetativo ed un metabolismo più veloce rispetto alle sclerofille, inoltre, *M. sylvestris* essendo pluriennale permette di eseguire le misure sulla stessa pianta nel tempo, fornendo risposte più immediate circa l'effetto del compost.. Infine, il successo ecologico di *Q. ilex* e *Ph. angustifolia* sui suoli indagati e la risposta *M. sylvestris* ai diversi trattamenti, potrebbero essere un indice di buona salute del suolo e rispecchiare il suo stato nutrizionale. Pertanto, in misura indiretta potrebbero rispecchiare l'attività

microbica, essendo essa la responsabile primaria del riciclo dei nutrienti rilasciati e resi disponibili per la crescita delle piante, durante la fase di decomposizione della sostanza organica.

Di particolare rilievo per questo progetto è il suo possibile risvolto applicativo nell'allestimento di aiuole o spazi verdi pubblici e comunali. Tali aree, potrebbero rappresentare una valida risorsa per lo sviluppo di una vegetazione composta da specie autoctone ed in grado auto-sostenersi (Bretzel e Hitchmough, 2000). In questo modo si risponderebbe all'esigenza di limitare le spese nell'ambito dei capitolati del verde pubblico cittadino e potrebbe essere di sostegno all'auspicata conservazione della natura grazie ad una gestione ambientalista e consapevole delle risorse.

Capitolo III

Primo caso studio

effetto della gestione agricola sulla biomassa microbica del suolo

L'uomo per incrementare la produzione di alimenti e materie prime necessarie al sostentamento, può modificare le risorse native di un ecosistema. L'intervento antropico altera la struttura di un ecosistema, rappresentata da una componente biotica ed una abiotica e la funzionalità, ovvero, i cicli biogeochimici, attraverso i quali le molteplici componenti interagiscono tra di loro, garantendo l'auto-sostentamento del sistema. Definendo una scala temporale, in un'azienda agricola la gestione dei flussi energetici e della diversità biologica, può influenzare il rendimento, a breve termine, quantificato sulla produttività delle colture ed a lungo termine, definito dalla conservazione della fertilità e della qualità del suolo.

In un agroecosistema, data la semplificazione delle colture, la biodiversità si concentra nel suolo e può essere descritta dalla struttura della rete trofica. Essa fornisce i servizi ecologici più importanti, come il controllo delle specie infestanti e degli agenti patogeni, la regolazione del ciclo dei nutrienti e dell'acqua, di conseguenza, può influenzare in maniera diretta o indiretta la crescita e la qualità delle colture e la fertilità del suolo, definendo il successo della gestione agricola (Young and Crawford, 2004). Sistemi con un'elevata diversità biologica hanno una maggiore resistenza e resilienza verso differenti fattori di stress biotici o abiotici (Brussaard et al., 2007). La resistenza è la forza con cui un sistema si oppone all'allontanamento dall'equilibrio, in un agroecosistema è la costanza di produzione delle colture in particolari condizioni ambientali, economiche e gestionali (Gallopín, 1994). Stabilendo che la conservazione della biodiversità è fondamentale per lo svolgimento dei servizi ecologici e che la *performance* della comunità biotica del suolo può essere influenzata dalla gestione del sistema, si rende necessaria la scelta di opportune combinazioni di pratiche agricole per ottimizzare i servizi ecologici garantiti da una elevata diversità biotica (Brussaard et al., 2007).

La gestione agricola

Se da un lato il progresso tecnologico ha incrementato la produzione delle materie prime, dall'altro, ha modificato la fisionomia ed alterato il funzionamento di base del suolo agricolo (Caporali 2008). Le modifiche apportate dall'uomo hanno creato dei sistemi essenzialmente fragili ed instabili, che

privi della capacità di autoregolazione nel ciclo dei nutrienti dipendono da un input esterno di energia (Altieri 1987).

Oltre all'energia solare che rappresenta la fonte di energia principale, richiedono, una fonte energetica sussidiaria, che prevede, irrigazioni, concimazioni, movimento della terra, trattamenti con pesticidi, erbicidi e fertilizzanti. In termini produttivi, l'apporto di energia ausiliaria è talmente massiccio da far ritenere che “i prodotti” dell'agricoltura intensiva provengano in gran parte dai combustibili fossili piuttosto che dal sole. Considerando i tratti salienti di un agroecosistema, rappresentando il sistema città-campagna come un flusso bidirezionale, comprensivo delle attività industriali, si ottiene che il flusso entrante è superiore a quello che esce come raccolto (Caporali, 1987). La scelta di pratiche sostenibili potrebbe essere un giusto compromesso tra efficienza ecologica ed economica degli agroecosistemi, garantendo un adeguato reddito per il produttore, sufficiente cibo per l'uomo ed un buono stato di salute del suolo

Un agroecosistema sostenibile che ricicla efficientemente i nutrienti, un sistema complesso, caratterizzato da un'elevata diversità e complessità delle componenti, è l'antagonista di un sistema specializzato, altamente produttivo, ma che non offre sufficienti garanzie in termini di compatibilità ambientale (Okey, 1996).

L'importanza di una gestione sostenibile del suolo mette in risalto che esso è una componente vitale della biosfera, per la produzione di cibo e fibre ma anche per il mantenimento della qualità ambientale a livello locale, regionale e globale. Le ragioni ed il successo di una gestione sostenibile si basano sul conseguimento di diversi obiettivi e la produttività è solo uno dei numerosi fattori che devono essere considerati per valutare l'esito dell'amministrazione di un sistema agricolo (Roger-Estrade et al. 2010).

Secondo quanto riportato da Lal (2007), si possono scegliere diverse strategie di gestione sostenibile le quali:

- minimizzano il disturbo del suolo attraverso le lavorazioni minime
- provvedono alla copertura vegetale continua del suolo per evitare l'esposizione del suolo nudo agli agenti abiotici erosivi (vento ed acqua)
- consolidano o rafforzano i meccanismi di riciclo dei nutrienti:
creando un bilancio di nutrienti positivo
accrescendo la biodiversità
riducendo le perdite di acqua e nutrienti dall'ecosistema

Agricoltura convenzionale o conservativa?

La gestione agricola può ricadere su differenti pratiche convenzionali o tradizionali e conservative, quali le tecniche di minima lavorazione o “*minimum tillage*” e non lavorazione o “*zero tillage*”, “*no tillage*” o semina diretta (Köller 2003). I due tipi di gestione, si differenziano per diversi aspetti che sostanzialmente influenzano le proprietà biologiche, fisiche e chimiche del suolo, possiamo individuare almeno tre punti cardine:

- la gestione dei residui colturali
- la profondità e l'intensità delle lavorazioni
- la gestione delle specie infestanti.

I residui vegetali creano uno strato organico protettivo del suolo che riduce i processi di erosione e di run-off superficiale, aumenta la sostanza organica (SOM), promuove una maggiore stabilità degli aggregati. Nella gestione conservativa almeno il 30% di superficie è ricoperta da residui vegetali, dove nella gestione tradizionale più di un terzo della superficie è lasciata a nudo, quando non è totalmente scoperta per asportazione completa del raccolto.

I sistemi conservativi ricevono in superficie un apporto maggiore di sostanza organica, favorendo l'attività microbica in particolare dei funghi, noti per avere un ruolo chiave nella formazione degli aggregati e nella stabilizzazione della struttura (Kladivko, 2001). Ad esempio in sistemi che ricevono un apporto organico in superficie e caratterizzati da una predominante comunità fungina, sono risultati più resistenti a disturbi ambientali come ad esempio gli uragani (Wu et al., 2007).

La comunità microbica in un sistema agricolo è influenzata anche dalla scelta del regime di fertilizzazione organica oppure inorganica. Differenze qualitative della sostanza organica possono determinare un cambiamento nella struttura della comunità del suolo e quindi della rete trofica e del ciclo dei nutrienti (book p 324).

La concimazione inorganica minerale consiste nell'apporto dei nutrienti essenziali (N, C, P) sottoforma di composti chimici. Solitamente, questo tipo di concimazione inizialmente velocizza la mineralizzazione dovuta ad un'intensa attività microbica che utilizza l'azoto prontamente disponibile (Benedetti et al., 2002).

La concimazione organica consiste nell'apporto al suolo di matrici organiche compostate, quali, biomasse degli scarti agroindustriali, fanghi selezionati, frazione umida della raccolta differenziata, ed avviate a trattamenti e processi di maturazione in grado di trasformarle in compost. In generale, ma soprattutto in agricoltura, gli ammendanti organici sono utilizzati per migliorare la qualità e la fertilità del suolo, nel lungo periodo (Elsgaard et al., 2001). Infatti, una gestione a lungo termine con fertilizzazione organica, può apportare grandi quantità di carbonio organico al suolo, inoltre,

può migliorare la capacità del suolo di assorbire e rilasciare acqua e di trattenere gli elementi nutritivi (Gregorich et al., 2001). Addizioni regolari di materia organica possono aumentare la biomassa microbica e stimolano l'attività enzimatica (Pascual et al., 1997; Lalande et al., 1998; Fliessbach and Mäder, 2000). In un recente studio, sull'attività biologica in sistemi sottoposti a diversi regimi di fertilizzazione, Gaofei e collaboratori (2010) nei sistemi con fertilizzazione organica riportano un aumento della biomassa microbica e dell'attività enzimatica del suolo ed una diminuzione del quoziente metabolico. Nei sistemi con fertilizzazione inorganica, gli autori osservano un incremento dell'attività microbica ma non un proporzionale incremento della biomassa microbica. Nello studio, si conclude che l'attività biologica varia significativamente tra i due sistemi ed è influenzata dalla differente fertilizzazione, in particolare, in quella inorganica alcune sostanze utilizzate nei fertilizzanti possono avere un effetto negativo.

Infine, una pratica che consente di realizzare la fertilizzazione organica senza ricorso ai concimi è il sovescio. È un'antica pratica colturale che si basa sull'interramento di specie foraggere, trinciate in prossimità della fioritura e dopo la disidratazione sono rimescolate nei primi 25 cm di terreno. Il sovescio ricco in leguminose, determina un incremento della biodisponibilità di azoto, i residui interrati hanno un basso rapporto C/N tanto più basso è questo rapporto nella matrice organica tanto più rapida e completa è la mineralizzazione (Guiducci et al., 2008). Questo facilita l'assimilazione dell'azoto da parte delle colture, ad esempio è stato osservato che l'azoto accumulato in colture di mais è direttamente proporzionale alla percentuale di vecchia usata per il sovescio (Guiducci et al., 2003; Benincasa et al., 2007).

In conclusione, l'attività microbica può essere favorita da una fertilizzazione organica, come l'incorporazione dei residui agricoli o il sovescio, in quanto sono matrici organiche con un basso rapporto C/N e con una rapida mineralizzazione e bassa immobilizzazione.

Per quanto riguarda la profondità e l'intensità delle lavorazioni, rispettando la suddivisione del profilo di un suolo agricolo, le due tecniche conservative di "*minimum tillage*" o "*zero tillage*", e la lavorazione tradizionale si differenziano per la profondità del rimescolamento degli orizzonti.

In un agrosistema lo strato superficiale corrisponde al letto di semina, al di sotto da 5 a 40 cm vi è lo strato arabile, il cui range nella lavorazione tradizionale raggiunge i 40 cm, mentre, varia tra 5-20 cm nella minima lavorazione e no-tillage tra 0-5 cm, subito al di sotto vi è il sottosuolo, è lo strato indisturbato non interessato dal rimescolamento degli orizzonti.

La lavorazione del suolo è una pratica fondamentale per il riciclo dei nutrienti, che deve essere assicurato dall'apporto di sostanza organica tramite la gestione delle fertilizzazioni, ma i processi di

decomposizione della sostanza organica richiedono un intimo contatto tra la matrice e gli organismi decompositori. Il rimescolamento degli orizzonti ridistribuisce la sostanza organica (SOM) lungo il profilo, stimolando i processi di mineralizzazione, migliorando la fertilità del suolo e quindi il nutrimento per le colture, facilita la preparazione del letto di semina che dovrà ospitare l'apparato radicale delle piante, favorendone la crescita delle radici e l'assorbimento dei nutrienti (Koepeke, 2003). Inoltre, durante le fasi di lavorazione del suolo si ha anche la rottura fisica dei residui esponendo il substrato ad un più facile attacco della pedofauna.

La lavorazione del suolo esercita diverse pressioni sulla comunità microbica ed in generale sulla componente biotica del suolo, ad esempio esercitando un controllo sugli agenti patogeni oppure sui loro naturali controllori. Altieri (1999) in uno studio sul ruolo della biodiversità nei sistemi agricoli, riporta che il "tillage" può modificare le relazioni tra gli organismi all'interno dell'ecosistema e cambiamenti del regime di lavorazione possono influenzare la dominanza delle specie, la grandezza delle popolazioni e la biodiversità della pedofauna.

In generale, un aumento della diversità e dell'abbondanza delle comunità nel suolo è stato riscontrato in sistemi con minima lavorazione (El Titi, 2003a).

In un agroecosistema la pressione delle specie infestanti, può inficiare la produttività del sistema. Precedentemente è stato già accennato che la lavorazione del suolo può esercitare un controllo delle specie infestanti e degli agenti patogeni, nei sistemi tradizionali solitamente viene richiesto l'uso di erbicidi (Locke et al, 2002). Nei sistemi conservativi, in cui queste pratiche sono ridotte o non consentite, la rotazione delle colture può essere un mezzo di controllo per la germinazione delle specie infestanti. Nella rotazione possono succedersi colture che possono avere un effetto allelopatico oppure che competono con le infestanti per quei fattori, quali, luce, nutrienti ed habitat fondamentali per il successo ecologico di una specie (Lu et al., 2000; Bàrberi, 2002; Hartwig and Ammon, 2002; Bhowmik and Inderjit, 2003).

I sistemi agricoli con gestione conservativa, modificano la micro topografia la luce, l'acqua e la temperatura sullo strato più superficiale del suolo (Ghersa and Martinez-Ghersa, 2000), influenzando la fase di emergenza dei semi delle infestanti (Debaekand Orlando, 1994).

Infine, vi sono alcune considerazioni importanti da fare sulla scelta della gestione del suolo ed in particolare dell'adozione conservativa di un sistema agricolo che richiede un elevato livello di amministrazione. Peigné e collaboratori (2007), mettono in risalto che l'approccio verso sistemi conservativi richiede due fasi, prima bisogna considerare le caratteristiche del suolo ed il clima, poi bisogna procedere con la selezione delle piante per la coltivazione.

Uno dei motivi per cui si preferisce il *minimum tillage* o il *no tillage* alla lavorazione tradizionale, è il miglioramento della struttura del suolo, tuttavia, le pratiche conservative non sono consigliabili in suoli con elevata percentuale di limo, soprattutto in un regime climatico umido. La gestione conservativa è consigliata nei siti suscettibili all'erosione eolica, in clima tendenzialmente secco con un suolo strutturalmente stabile e resistente alla compattazione.

Come si può osservare i risultati ed il successo di una gestione conservativa del suolo in un sistema agricolo, possono essere ben diversi in base a diversi fattori, quali la tessitura, le condizioni climatiche, il contenuto di sostanza organica ed le proprietà biologiche del suolo. Inoltre, a parità di condizioni il contenuto di materia organica può variare in base al clima, alla topografia, al tipo di suolo ed alla storia della gestione agricola precedente, quale, l'uso di fertilizzanti, la lavorazione del suolo, il tempo e la modalità della rotazione delle colture (Kay and VandnBygaard, 2002).

La fase successiva nella scelta di una gestione conservativa, secondo gli autori, è un'accurata scelta del sistema di rotazione delle colture e la selezione delle piante per la successione. Infine, un altro fattore da considerare è il tempo, i vantaggi di una conversione da una gestione convenzionale ad una conservativa, possono realizzarsi su una scala temporale più o meno lunga (Munkholm et al, 2001).

Alla luce degli studi più recenti, emerge che nonostante la minima lavorazione oppure una gestione "*no-tillage*" del suolo, siano riconosciute come delle pratiche agricole sostenibili, gli effetti, i benefici ed i vantaggi sull'ambiente, devono essere ancora approfonditi bene e studiati.

La protezione della sostanza organica e la mitigazione biotica

Il sequestro del carbonio nel suolo può contribuire alla diminuzione dei "gas serra" e la gestione del suolo viene definita una "strategia di mitigazione biotica" (Lal et al., 2005). Secondo IPCC (2001) annualmente può essere emesso in atmosfera circa il 25% di CO₂, il 50% di CH₄ e il 70% di N₂O riconducibili alla gestione del suolo, al cambio di destinazione d'uso, come ad esempio la conversione di un sistema naturale in agroecosistema, alle pratiche agricole, quali, lavorazioni, fertilizzazioni, gestione dei residui colturali, rotazioni. In particolare, il flusso di anidride carbonica dal suolo è uno dei maggiori componenti del ciclo globale del carbonio e gioca un ruolo importante nell'ambito dei cambiamenti climatici (Reth et al., 2005).

Le lavorazioni possono contribuire al flusso di anidride carbonica per emissione diretta dovuta ai combustibili fossili (carburante), per i macchinari si stima che durante la lavorazione del suolo possono essere emessi circa 35 kg C ha⁻¹ valori drasticamente ridotti se si adottano tecniche di lavorazione minima o no-tillage (Lal 2004). L'effetto indiretto, costituisce la fonte maggiore di emissioni ed è legato ai processi di respirazione della comunità biotica (Reicosky et al., 1993). È

stato calcolato che annualmente i suoli emettono circa 80×10^{15} g di carbonio, la sola respirazione naturale del suolo è stata stimata in 60×10^{15} g C/anno (Schlesinger, 1997, Schlesinger and Andrews, 2000; Raich et al., 2002). Tale quantitativo è circa dieci volte superiore al flusso annuale di carbonio derivante dalla combustione dei carburanti fossili, che ammonta a circa 6×10^{15} g C/anno (Schimel, 1995, Marland et al., 2000).

La trasformazione di un sistema con lavorazioni profonde a ridotte o sistemi “no-tillage” può ampliare il tasso di sequestro del C di circa 400-600 kg ha⁻¹a⁻¹ (West and Post, 2002). Per questo motivo, le pratiche agricole a minor impatto stanno sostituendo le tradizionali lavorazioni, infatti, la minima lavorazione del suolo ne protegge la struttura tende a preservare la riserva di nutrienti, aumenta il sequestro del carbonio e garantisce la formazione di adeguate condizioni per lo sviluppo della componente biotica (Lal et al, 1998; Paustian et al., 2000; Holland, 2004).

Per quanto riguarda il contributo della gestione agricola nel bilancio della CO₂ in atmosfera, bisogna considerare anche l'effetto delle pratiche di fertilizzazione. Ad esempio, l'uso di concimi organici può migliorare le proprietà del suolo migliorandone la struttura e la stabilità, con una conseguente più alta ritenzione d'acqua, stabilizzazione del pH e un una maggiore formazione degli aggregati (Stamatiadis et al. 1999).

La distribuzione di compost, per la protezione della sostanza organica nel suolo, è stata sperimentata quale metodo per la riduzione delle emissioni di anidride carbonica nel suolo, come riportato da Piccolo e collaboratori (1999) e Spaccini e collaboratori (2002). Spaccini e collaboratori (2002), utilizzando composti organici labili marcati con ¹³C e materia organica umificata, hanno riscontrato che la frazione facilmente degradabile può essere protetta dalla sostanza organica umificata.

In climi temperati è sufficiente un apporto di compost di 6-7 t ha⁻¹ a⁻¹ per conservare una media quantità di humus nel suolo, apporti più elevati di compost possono aumentare le sostanze umiche nel suolo ed un incremento del carbonio organico. La fertilizzazione organica da compost può essere una pratica agricola per la mitigazione dei gas ad effetto serra, contribuendo al sequestro del carbonio organico nei suoli agricoli (book pp324).

Inoltre, si stanno sperimentando altre tecniche di protezione della sostanza organica del suolo, come l'uso di fotosensitizzatori biomimetici che polimerizzano la frazione organica del suolo (Piccolo et al., 2000, 2002; Cozzolino e Piccolo, 2002).

Diversi esperimenti condotti in laboratorio (Piccolo et al. 2000, 2002; Cozzolino e Piccolo, 2002), hanno dimostrato la capacità di un fotosensitizzatore metallo-porfirinic di polimerizzare la

sostanza organica del suolo, diminuire l'accessibilità dei substrati organici alla comunità edafica, e quindi ridurre la respirazione biologica.

L'uso di fotosensitizzatori biomimetici si basa sull'incremento della rigidità conformazionale delle sostanze umiche (HS) per polimerizzazione ossidativa. Le conoscenze circa le HS trovano applicazione negli studi di tecnologie sostenibili in campo ambientale ed industriale (Galeska et al., 2001; Fredheim et al., 2003).

Le sostanze umiche sono composti ubiquitari originati dalla degradazione chimica e biologica dei residui animali e vegetali e circa il 40-60% del carbonio organico solubile (DOC) in acqua e circa il 60-70% del carbonio totale del suolo (TOC) consistono in sostanze umiche (Kordel et al., 1997). Per questo motivo sono importanti nel ciclo del C come maggiori fonti di CO₂, come riserva di C nella biosfera (Clapp et al. 1999; Schmitt-Kopplin et al. 2003).

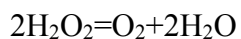
Le sostanze umiche sono delle strutture formate dall'associazione di piccole molecole eterogenee (Conte e Piccolo; 1999; Simpson et al., 2001). Le forze che sorreggono queste strutture sono delle forze di van der Waals, quindi delle forze deboli, che possono essere distrutte in processi reversibili a carico di acidi organici (Wrobel et al., 2003). Alla luce di queste conoscenze è possibile intervenire sulla stabilizzazione di questi composti aumentando il numero di legami covalenti intramolecolari, di conseguenza viene aumentata la resistenza delle sostanze umiche alla degradazione biotica oppure abiotica (Piccolo et al., 2000).

Diversi studi hanno dimostrato che la struttura supramolecolare può essere stabilizzata dall'ossidazione in presenza di enzimi ossidoriduttivi, che contengono metalloporfirine naturali (Piccolo et al., 2000; Cozzolino e Piccolo, 2002). Gli enzimi catalizzano l'ossidazione dei composti fenolici, contenuti nelle sostanze umiche, attraverso meccanismi radicali (Park et al., 1999).

Si è tentato di isolare e purificare gli enzimi ossidativi ma le metallo porfirine naturali sono instabili per una loro auto-distruzione oppure, in presenza eccessiva di ossidanti, per la formazione di complessi inattivi (PfeIII-O-FeIIIP) (Sheldon, 1994).

Una alternativa, sono i catalizzatori biomimetici di sintesi la cui reazione mima gli enzimi ossidativi naturali, sono stati ottenuti risultati positivi con l'ossidazione di vari idrocarburi, come i composti aromatici policlorinati ed altri inquinanti (Meunir et al., 1997; Fukushima et al., 2003). Infatti, le metalloporfirine (ferro-porfirina, manganese-porfirina) hanno mostrato la capacità di degradare sistemi aromatici clorurati, con la formazione di prodotti stabili e meno tossici dei clorofenoli di partenza (Song et al., 1997). Altre ricerche con effetti positivi sono state condotte sulla degradazione di composti ligninici (Artaud et al, 1993) e sulla stabilizzazione delle sostanze umiche (Piccolo et al., 2005).

Le metalloporfirine aumentano la loro attività in presenza di ossigeno ed ambiente acido. L'ossigeno prodotto dal perossido d'idrogeno:



si lega al metallo della porfirina formando un intermedio metallo-oxo molto reattivo, con una forte capacità ossidativa. Una volta che si è formato la metallo oxo (IV)-porfirina, il substrato organico può subire l'ossidazione. Il perossido d'idrogeno è considerato un forte ossidante ambientale e quindi un donatore di singoletti di ossigeno, le metallo porfirine in presenza di H₂O₂ possono formare un complesso metallo-oxo (IV) inattivo (Nam et al., 2000). Questo problema è stato risolto utilizzando un alternativo donatore di radicali dell'ossigeno oppure il sistema può essere esposto alla luce per la fotossidazione (Weber et al., 1994; Maldotti et al., 2002). In questo caso si ritiene che venga coinvolto un trasferimento intramolecolare indotto dalla luce che conduce alla formazione di M(II) porfirina (M= Fe o Mn) (Bartocci et al., 1980; Maldotti et al., 1993).

Capitolo IV

Materiali e metodi

effetto della gestione agricola sulla biomassa microbica del suolo

MESCOSAGR è l'acronimo del Progetto “Metodi Sostenibili per il sequestro del carbonio organico nei suoli agrari. Valutazione degli effetti sulla qualità chimica, fisica, biologica ed agronomica dei suoli”. Il Progetto si pone l'obiettivo di indagare e valutare gli effetti di diverse gestioni del suolo agricolo sui sistemi di coltura erbacea ed arborea, quali la pratica tradizionale, la minima lavorazione, e pratiche per la protezione della sostanza organica, come l'uso di compost e di ferroporfirina.

Il MESCOSAGR si articola in diversi blocchi di lavoro ciascuno con più obiettivi, il cui approfondimento è stato affidato a differenti unità operative, per studiare in modo specifico un aspetto chimico, fisico, biologico o agronomico. Tra gli scopi finali del progetto vi è lo sviluppo delle conoscenze sul ciclo del carbonio nel suolo, valutando gestioni agronomiche sostenibili sia per la mitigazione delle emissioni di CO₂ sia per il miglioramento dell'efficienza nel sequestro del carbonio in differenti tipologia di suoli e condizioni climatiche.

Il progetto MESCOSAGR è stato condotto nel triennio Marzo 2006- Marzo 2009, nell'ambito di questo progetto, si è svolto il primo caso studio della tesi di dottorato per valutare l'effetto sulla comunità microbica del suolo di alcune gestioni agricole adottate per il piano sperimentale del Progetto MESCOSAGR.

Per quanto riguarda l'attività di ricerca nell'ambito del primo caso studio sono state effettuate le alcune scelte, qui di seguito riassunte per punti:

Le aree studio

Le aree di studio: le misure sono state effettuate in due stazioni sperimentali: Salerno (A) e Torino (LS), caratterizzate da diverse condizioni climatiche e presentano suoli con differenti caratteristiche strutturali. L'esito e l'impatto delle pratiche considerate potrebbero essere differenti in base a queste caratteristiche.

Salerno

Il campo sperimentale è stato predisposto nell'azienda agricola dell'Università degli Studi di Napoli “Federico II”, in prossimità della piana del Sele (Bellizzi-Salerno), località Torre Lama. Le

caratteristiche del suolo indicano una prevalenza della frazione argillosa, con un contenuto di argilla pari a 32.9%, un'elevata stabilità strutturale ed un alto contenuto di macroaggregati ($\phi > 0.25$ mm 85 e 88%) stabili in acqua (dati comunicati-Piccolo, 2007). Il pH è alcalino con presenza di calcare libero. La capacità idrica massimale è 18.4% ed il contenuto di sostanza organica iniziale è di circa 1.2%. Secondo la classificazione dei suoli in base al contenuto di sostanza organica riportata da Russell (1994), la stazione di Salerno ha un contenuto di sostanza organica moderatamente basso (Tabella IV.1).

Tabella IV.1: Valutazione del contenuto di sostanza organica e classificazione di un suolo, proposta da Russell (1994).

Sostanza organica (%)	Valutazione
< 0.5	Molto bassa
0.5 – 1.0	Bassa
1.0 – 2.0	Moderatamente bassa
2.0 – 4.0	Media
> 4.0	Alta

Il quadro climatico dell'area si basa sui dati climatici riferiti ad una media di trenta anni (1950-1980) rilevati dalla stazione termopluviometrica di Bellizzi, situata presso l'azienda agraria di Torre Lama. La precipitazione media annua è di circa 908 mm, i periodi più piovosi cadono nei mesi autunnali, con un picco nel mese di novembre, mentre, i minimi assoluti, si registrano nel mese di luglio. Complessivamente nel periodo estivo (giugno, luglio, agosto) cade meno dell' 8.2% della piovosità media annua, mentre, nel periodo invernale (novembre, dicembre, gennaio) ne cade il 39.6%.

La temperatura media annuale è di circa 15.5 °C, con un'escursione media annua pari a 9°C, i mesi più caldi sono, luglio e agosto, con temperature tra 22.5 e 23 °C, mentre, il mese più freddo è gennaio con temperatura media di 9 °C.

Applicando la formula climatica di Thornthwaite, il tipo climatico dell'area studio è definito come subumido-subarido, mesotermico (Carta dei Suoli della Regione Campania).

Torino

Presso il comune di Carmagnola (TO) in località Tetto Frati è sita l'azienda agricola del Centro Sperimentale Interdipartimentale della Facoltà di Agraria di Torino.

Dalle analisi effettuate sulle caratteristiche chimico-fisiche del suolo, dal Laboratorio Agrochimico Regionale (LAR) della Regione Piemonte, il suolo risulta essere di tipo limoso-sabbioso. Il pH alcalino rispecchia la presenza di calcare libero in tutti gli orizzonti del suolo esplorati.

Dall'analisi tessiturale risulta che il suolo è caratterizzato da un minore contenuto di frazione argillosa ($\emptyset < 0.002$ mm 7.4%) ed un più alto contenuto di sabbia ($\emptyset > 0.063$ mm 35.4%), rispetto al sito di Salerno, queste caratteristiche del suolo rivelano una minore potenzialità di aggregazione con un maggiore contenuto di microaggregati ($\emptyset < 0.25$ mm 41%) ed una conseguente minore stabilità strutturale (dati comunicati-Piccolo, 2007). Il contenuto iniziale di sostanza organica nel sito di Torino è di 1.78%, secondo la classificazione di Russell (1994), è classificato come un suolo con un contenuto di sostanza organica moderatamente bassa (Tabella IV.1). La capacità idrica massima del suolo di Torino è 24.3% (LAR-Laboratorio Agrochimico Regionale della Regione Piemonte). I dati climatici sono stati registrati dalla stazione meteorologica elettronica della Regione Piemonte, posta all'interno del centro sperimentale (1950-1980). La distribuzione annuale delle precipitazioni presenta due massimi, il primo e più intenso in primavera, il secondo in autunno. Le precipitazioni annue medie sono pari a circa 734 mm. La temperatura media annua è di 11,9 °C, la temperatura media massima, registrata nel mese di luglio è di 22,5 °C, mentre, la media minima, registrata nel mese di gennaio, è pari a 0,9 °C. Con riferimento ai dati storici, secondo la classificazione di Thornthwaite, il clima è subumido-subarido e mesotermico.

Trattamenti ed il piano sperimentale

I suoli analizzati sono rappresentativi di diverse gestioni agronomiche che si differenziano per intensità della lavorazione, tipo di fertilizzazione, organica o minerale e per tipo di coltura impiantata.

L'effetto dei trattamenti TRA, MIN, COM2 è stato valutato sulla coltura del mais, in quanto è la più diffusa nelle aziende non zootecniche, potenzialmente interessate all'utilizzo di compost. Dopo la raccolta, la pianta di mais viene completamente asportata per non influire sui trattamenti mediante l'apporto dei residui colturali. Le dimensioni delle parcelle sono 6*8 metri per Torino e 6*5 metri per la stazione sperimentale di Salerno, in 4 ripetizioni per TRA, MIN, COM2.

Le prove sperimentali POR trattate con le metallo-porfirine, dato l'elevato costo del catalizzatore biomimetico, sono state circoscritte a parcelle di 1m², poste all'interno delle parcelle controllo non trattate NO POR. Vista la particolare necessità è stato scelto il frumento, perchè ha una maggiore densità colturale rispetto al mais permettendo durante la fase di campionamento di ridurre l'ampiezza minima rappresentativa del campione. La ferro-porfirina viene distribuita nel mese di settembre ma il campionamento viene eseguito prima della distribuzione della ferro-porfirina. Le repliche per la sperimentazione POR ed il controllo NO POR sono tre.

Le cultivar utilizzate sono:

mais: PR34N43 (classe 500), trattato con GAUCHO 350FS; dose: 7,4 semi/m²

frumento: per la stazione di Torino è stata scelta la varietà “Blasco”; mentre, per le caratteristiche climatiche della stazione di Salerno è stata preferita la varietà “Creso” ; nella dose di 200 Kg/ha per entrambe le stazioni.

Trattamenti su parcelle coltivate con mais: studio dell’impatto della lavorazione sul suolo e della fertilizzazione organica ed inorganica

TRA: aratura tradizionale (circa 35 cm) e gestione della fertilizzazione con urea (pari a circa 130 kg N ha⁻¹) e due interventi di lavorazione del suolo, uno nella fase di pre-viraggio (marzo) ed in fase di levata (giugno-luglio);

MIN: minima lavorazione del suolo (alla profondità massima di 10 cm) e gestione agronomica secondo gli stessi principi di TRA; fertilizzazione mediante urea (130 kg N ha⁻¹). Questo trattamento evidenzia le possibilità di incremento del contenuto di SO tramite una semplice tecnica agronomica.

COM2: aratura e lavorazione tradizionale (circa 35 cm), ma con apporto di compost di qualità pari a 20 (COM2) t ha⁻¹a⁻¹ Il compost è distribuito prima della semina e subito interrato con l'aratura. Non sono previste altre concimazioni azotate di copertura su mais in modo da evidenziare il più possibile gli effetti legati agli apporti azotati del compost.

D: rappresenta il controllo, viene gestita con lavorazione tradizionale ma non vi è fertilizzazione organica con compost o inorganica con urea.

Trattamenti su parcelle coltivate con frumento: protezione della sostanza organica nel suolo, sperimentazione con una ferro-porfirina

POR: aratura tradizionale (circa 35 cm), fertilizzazione mediante concimi minerali, apporto di fotosensitizzatori metallo-porfirinici stabilizzatori della sostanza organica (1 g/m²). La distribuzione avviene dopo la semina del frumento.

NO POR: assenza di stabilizzatori della sostanza organica (parcelle controllo). Aratura tradizionale e fertilizzazione mediante concimi azotati in forma di nitrato ammonico.

I campionamenti

Lo studio è stato condotto su due anni del progetto MESCOSAGR (marzo 2006-2009). Nel 2008 sono state eseguite le pratiche agronomiche previste dal progetto che si è concluso nel marzo’09 con la lavorazione del suolo. I campioni sono stati raccolti per le differenti pratiche colturali e

trattamenti sperimentali per due anni; in particolare nel 2008 il suolo è stato prelevato nelle stazioni sperimentali di Salerno e Torino, tra fine settembre ed ottobre per mais dopo la raccolta della coltura e inizio ottobre prima della semina per il frumento, in entrambi i casi il campionamento è stato condotto sul bulksoil (Tabella IV.2)

Nel 2009 non vi è stato apporto di fertilizzanti e di ammendanti e si è stimata la fertilità residua dei tre anni precedenti di gestione agronomica.

Tabella IV.2: Campionamenti per il 2008 e il 2009. A= suolo argilloso, Salerno; LS=suolo limoso-sabbioso (Torino).

Anno	Suolo	Coltura	Fase fenologica	Trattamento
2008	A - LS	mais	bulksoil (settembre)	TRA- MIN-COM2
		frumento	bulksoil (settembre)	POR - NO POR
2009	A	mais	bulksoil (marzo)	D-TRA-MIN-COM2
			sviluppo fogliare (maggio)	
			levata (giugno)	
	LS	frumento	fine levata/fioritura (luglio)	POR-NO POR
			bulksoil (settembre)	
			pre viraggio (marzo)	
			bulksoil (settembre)	

Nel 2009 il prelievo di suolo è stato effettuato nell'azienda sperimentale di Torre Lama (SA), per il mais, a marzo in coincidenza della lavorazione del suolo bulksoil e per il rizosoil, a maggio nella fase di pre-viraggio, a giugno alla levata, a luglio nella fase tra fine-levata e fioritura ed a settembre dopo la raccolta (bulksoil). Per il frumento, nel 2009 i campionamenti sono stati effettuati sul rizosoil a marzo in pre-viraggio e sul bulksoil a settembre dopo la raccolta.

I campionamenti sono stati programmati in base alle differenti fasi del ciclo fenologico delle piante, consentendo un confronto fra i diversi trattamenti e gestioni previsti dal piano sperimentale e l'effetto della pianta, la cui presenza può influenzare la comunità microbica nella rizosfera, rilasciando essudati radicali nel suolo.

In ogni parcella, corrispondente ad una replica di campo, è stato raccolto un panetto di 15 cm di lato per il frumento (cespo di 3-4 piantine) e 20 cm per il mais ad una profondità di 0-15 cm, dove è massima l'influenza delle variazioni meteorologiche di breve periodo e la disponibilità di ossigeno. Le piante al momento del prelievo sono state tagliate all'altezza del colletto ed il panetto con radici e suolo è stato chiuso in buste di plastica e conservato in borse refrigerate a 4°C. Per i campionamenti del bulksoil è stato scelto un campionamento casuale all'interno della parcella, evitando le zone di bordo. Il prelievo si è svolto con le stesse modalità sopra riportate, una replica di campo è rappresentata da un panetto di suolo prelevato alla profondità di 0-15 cm.

Le analisi

Sui terreni sono state effettuate misure di pH (2008) quale parametro chimico e di tenore idrico (2008-2009) quale parametro fisico. Per l'anno 2008, sono stati misurati i seguenti indici microbici di salute del suolo: la biomassa fungina attiva e totale, la biomassa microbica, la respirazione basale, il coefficiente di mineralizzazione endogeno ed il quoziente metabolico. Nel 2009 è stata realizzata solo la misura di biomassa fungina sia come totale che come frazione attiva. La biomassa fungina è stata scelta quale indicatore per valutare l'impatto delle differenti gestioni agricole, in quanto risulta più sensibile al disturbo, così come riportato anche in letteratura (Lagomarsino et al. 2004).

Tutte le analisi sono state eseguite su terreno setacciato a maglie di 2mm per separare la frazione fine dallo "scheletro" ed eventuali residui vegetali ed animali di grosse dimensioni. I terreni al momento del prelievo sono stati conservati in una cella refrigerata a 4°C. Per riportare tutti i campioni nelle stesse condizioni, si è effettuata una pre-incubazione di 48 h., in camera calda a 25°C, circa 60% di umidità, i suoli sono stati riportati al 55% della capacità di campo.

I parametri fisici

Il pH

Il pH è stato misurato in sospensione acquosa di suolo (rapporto 1:2.5) su 10 g di terreno setacciato ai quali sono stati aggiunti 25 ml di acqua distillata, in accordo con il Metodo Ufficiale III.1¹ ma modificato nella parte che segue. Le beute sono state disposte su un piano oscillante (120 rpm) per un totale di venti minuti, per ottenere una sospensione omogenea le beute sono state ruotate più volte, per invertire il piano di oscillazione e favorire il rimescolamento tra la fase solida e liquida.

¹ MIPAAF-"Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo" Gazz. Uff. Suppl. Ordin.. n°248 del 21.10.1999.

Dopo l'agitazione, la sospensione è stata fatta sedimentare, il pH della soluzione chiarificata è stato misurato per via potenziometrica (pH 1100-Eutech instruments).

Il tenore idrico

Questo parametro rappresenta la quantità di acqua presente nel terreno al momento del prelievo. Il tenore idrico viene determinato con metodo gravimetrico su una quantità nota di terreno setacciato e poi seccato in stufa a 75 °C fino al raggiungimento del peso costante.

Il tenore idrico è stato calcolato dalla seguente formula:

$$TI = ((\text{peso fresco netto} - \text{peso secco netto})/\text{peso secco netto}) * 100)$$

Determinazione dei parametri microbici del suolo

Biomassa fungina attiva e totale

Per la determinazione della biomassa fungina è stato applicato il metodo della conta delle intersezioni al microscopio ottico per il micelio totale, (Olson 1950), ed al microscopio a fluorescenza per la frazione attiva (Söderström 1977; Söderström 1979).

La metodica prevede la sospensione di 1 g di suolo fresco omogeneizzato in un mixer a 6000 giri per 2 minuti, in 100 ml di una soluzione di tampone fosfato (60 mM, pH 7.5). Le sospensioni sono state conservate in frigorifero a 4°C e le analisi sono state eseguite nel più breve tempo possibile.

Per la determinazione del micelio totale sono stati prelevati 0,5 ml di sospensione e filtrati sotto vuoto su filtri di nitrocellulosa con diametro dei pori di 0,45 µm. Il filtro è stato colorato con blu di anilina, (0,05 grammi di blu di anilina in acido lattico 80%), i filtri sono stati fatti asciugare all'aria e quindi montati sui vetrini chiarificandoli con una goccia di olio di legno di cedro. Il colorante lega la chitina della parete cellulare delle ife fungine, non discriminando tra quelle metabolicamente attive e quelle inattive o morte da poco e non ancora degradate.

Per la determinazione della frazione attiva, all'aliquota di campione (0,5 ml) è stato aggiunto 1 ml di soluzione diluita di FDA (diacetato di fluoresceina-20 µg ml⁻¹), dopo tre minuti segue il filtraggio sotto vuoto, il filtro viene montato sul vetrino con una goccia di olio per microscopia in fluorescenza.

Il vetrino è stato osservato ad un microscopio a fluorescenza Nikon eclipse E 1000 equipaggiato di lampada al mercurio (Hg) Il diacetato di fluoresceina penetra velocemente nelle cellule vitali e viene idrolizzato a fluoresceina da differenti enzimi come proteasi, lipasi ed esterasi. La fluorescenza può essere visualizzata al microscopio a fluorescenza, per l'eccitazione delle molecole fluorescenti è stata utilizzato un filtro FITC, lunghezza d'onda (469-495 nm).

Per la biomassa fungina attiva e totale la conta delle intersezioni è stata eseguita con un retino montato nell'oculare, le letture sono state ripetute in 20 campi di osservazione per ciascun filtro ad ingrandimento 400X, sia per le ife totali sia attive (Fig. A). Calcolando il totale delle intersezioni e conoscendo la dimensione della maglia del retino, è stato convertito il numero totale d'intersezioni osservate per ogni vetrino in lunghezza delle ife presenti su tutto il filtro, secondo Olson (1950).

La lunghezza delle ife espressa in mm g^{-1} , è stata moltiplicata per la sezione media dell'ifa ($9,3 \times 10^{-6} \text{ mm}^2$) per ottenerne il volume in $\text{mm}^3 \text{ g}^{-1}$. Infine, il valore della biomassa fungina è stata riferita al peso secco conoscendo la densità di 1.1 g ml^{-1} e che la biomassa fungina secca è il 15% di quella fresca (Berg e Söderström 1979).

La biomassa fungina è espressa come (mg di biomassa fungina per g^{-1} di peso secco).

Inoltre, è stato calcolato il rapporto tra BFA/BFT (% p.s.).

Biomassa microbica

L'anidride carbonica (CO_2) è un composto gassoso emesso durante la respirazione cellulare, pertanto, il biossido di carbonio evoluto da un campione di suolo è una stima della biomassa microbica. La gascromatografia è uno dei metodi per stimare quantitativamente l'anidride carbonica (CO_2). La metodica utilizzata in questo studio si basa sui dati di letteratura riportati da Degens e collaboratori (2000). In vials da 30 ml di volume sono stati pesati i campioni di suolo fresco equivalente a circa 1 g di peso secco, con una pipetta automatica sono stati aggiunti 2 ml di soluzione, rispettivamente glucosio (75mM) per la respirazione indotta da substrato (SIR-substrate induced respiration) e acqua distillata per la respirazione basale (Degens and Harris, 1997). Parallelamente al campione, sono stati preparati tre bianchi, ovvero vials contenenti solo terreno ed acqua distillata e tre vials contenenti solo acqua senza suolo. I contenitori sono stati chiusi ermeticamente con tappi in butile sostenuti da una ghiera metallica e sono stati incubati per un periodo di 4 ore, al buio ed alla temperatura di 25°C . Durante l'incubazione i campioni sono stati sottoposti ad agitazione ogni due ore per due minuti. La CO_2 evoluta durante il periodo di incubazione è stata misurata prelevando circa 2 ml di gas tramite una siringa ed iniettati in un gascromatografo (GC 8000, Fison Instruments) munito di sistema di campionamento con loop da 1,5 ml, il campione iniettato prima di giungere al detector, viene deumidificato in una colonna di magnesio perclorato (6-18) la separazione del gas avviene in una colonna di Porapak Q (mesh 80-100) di 2 m di lunghezza e 2 mm di diametro interno, i ppm di CO_2 sono dati per differenza di potenziale da un sistema a cattura di elettroni (ECD 800 - electron capture detector).

Le misure sono state eseguite utilizzando come carrier una miscela al 10% di metano in argon, temperatura del forno di 60 °C e temperatura del detector di 240 °C.

I valori ottenuti in ppm vengono trasformati in µg o mg per grammo di terreno secco.

Calcolo della biomassa microbica

Secondo il protocollo (Degens et al., 2000) dopo quattro ore di incubazione a 25°C è stata misurata, mediante gascromatografo la quantità di CO₂ evoluta da ciascun campione in seguito all'aggiunta di D-glucosio. La quantità di carbonio della biomassa microbica è stata ricavata mediante la seguente equazione (Sparling, 1995):

$$\text{Biomassa microbica} = 50.4 \times \text{respirazione su glucosio} (\mu\text{l CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ suolo secco h}^{-1})$$

Il valore 50,4 è ricavato dalla letteratura. Infine, i valori sono stati riportati in µg C-CO₂ per grammo di peso secco, evoluti in un'ora.

Calcolo del quoziente metabolico

Questo parametro indica le respirazione microbica per unità di biomassa e può essere assunto come indice di stress della comunità edafica, infatti, sono stati registrati valori più elevati a seguito di un disturbo che generi condizioni sfavorevoli per i microrganismi (Wardle e Ghani, 1995), in queste condizioni una maggiore frazione dell'energia disponibile viene investita per il mantenimento piuttosto che per l'accumulo di biomassa.

$$qCO_2 = \mu\text{g C-CO}_2 / \text{mg C micr}$$

Il quoziente metabolico è stato riportato in µg C-CO₂ mg⁻¹ C_{micr}. h⁻¹.

Rapporto funghi batteri

Il rapporto tra funghi e batteri (F/B) può essere considerato come un indicatore dell'efficienza della rete trofica nel suolo, in quanto, sia i funghi sia i batteri sono alla base della catena alimentare (De Ruiter et al., 1993; Wardle e Lavelle, 1997). In questo studio, dalla stima della biomassa fungina totale tramite conta al microscopio è stato calcolato il carbonio di origine fungina.

Il carbonio fungino totale è stato diviso per il carbonio microbico stimato dalla SIR ed il rapporto è stato espresso come percentuale %.

Analisi statistica dei dati

Per ciascun parametro è stata saggiata la significatività delle differenze mediante l'analisi della varianza (ANOVA) seguita dallo Student-Newman-Keules test (P<0.05) mediante il software Sigma Stat 11 (Systat Software, Inc.). Per il 2008 è stata studiata anche la differenza delle gestioni agronomiche tra i due suoli A (Salerno) ed LS (Torino). Per il 2009 lo studio della varianza è stato effettuato per saggiare le differenze tra i 5 campionamenti per le diverse gestioni agronomiche.

Capitolo V

Risultati e discussione

*primo caso studio: effetto della gestione agricola sulla biomassa
microbica del suolo*

2008

pH e tenore idrico

I valori di pH e di tenore idrico) per i suoli delle stazioni di Torino (LS) e di Salerno (A) per le diverse gestioni agricole sono riportati in tabella (Tabella 0.), i prelievi sono stati effettuati nel mese di settembre in entrambe le stazioni.

Tabella 0.1: valori medi di pH e tenore idrico \pm errore standard, per le due tipologie di suolo A= argilloso (Salerno); LS=limoso-sabbioso (Torino), misurati per le differenti gestioni agricole (**), TRA tradizionale(TRA), minima (MIN), compost (COM2), porfirina (POR) e senza porfirina (NO POR).

**	pH		tenore idrico	
	A	LS	A	LS
TRA	7.5 \pm 0.03	8.1 \pm 0.01	20.0 \pm 0.4	21.8 \pm 0.5
MIN	7.4 \pm 0.06	8.0 \pm 0.05	20.8 \pm 0.6	24.0 \pm 0.9
COM2	7.6 \pm 0.1	8.0 \pm 0.01	21.6 \pm 0.4	22.5 \pm 0.5
POR	7.1 \pm 0.08	8.0 \pm 0.01	22.8 \pm 0.3	22.3 \pm 0.4
NO POR	7.4 \pm 0.08	7.9 \pm 0.02	23.2 \pm 0.3	23.0 \pm 0.1

Il contenuto idrico ha valori superiori al 20% p.s. in entrambe le stazioni, generalmente più alti a Torino rispetto a Napoli e nei suoli coltivati con frumento rispetto al mais.

In base al pH il suolo è debolmente alcalino per Salerno e moderatamente alcalino per Torino suoli sono tendenzialmente alcalini (USDA 1951). I valori di pH alcalino sono concordi con i dati comunicati relativi al suolo di Salerno ed alle analisi effettuate dal LAR (Laboratorio Agrochimico

Regionale) per il suolo di Torino. Non ci sono differenze significative tra le diverse gestioni agronomiche.

Biomassa microbica, respirazione basale e quoziente metabolico

La biomassa microbica (BM-**Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.**) per il suolo di Salerno (A) ha valori tra 116 $\mu\text{g C}_{\text{mic}} \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$ (TRA) e 395 $\mu\text{g C}_{\text{mic}} \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$ (MIN) e per la stazione di Torino (S) tra 154 $\mu\text{g C}_{\text{mic}} \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$ (COM2) e 176 $\mu\text{g C}_{\text{mic}} \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$ (MIN). Per il trattamento sperimentale con ferro porfirina per la stazione di Salerno (A) sono stati ottenuti tendenzialmente valori più elevati di biomassa microbica per la tesi sperimentale POR rispetto alle parcelle controllo rispettivamente di 351 $\mu\text{g C}_{\text{mic}} \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$ (POR) e 326 $\mu\text{g C}_{\text{mic}} \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$ (NO POR). Diversamente per Torino (LS) il carbonio microbico nelle parcelle sperimentali (POR) è di circa 263 $\mu\text{g C}_{\text{mic}} \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$ ed è più elevato per le tesi controllo (NO POR) 357 $\mu\text{g C}_{\text{mic}} \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$

Mediamente per i suoli con maggiore frazione argillosa (Salerno A) si hanno valori più bassi di carbonio microbico per la gestione tradizionale (TRA) e più elevati per la lavorazione minima (MIN) e la fertilizzazione organica (COM2), dove nel suolo limo-sabbioso (Torino, LS) non è stato osservato un netto andamento per l'indice di biomassa microbica. Anche la sperimentazione del foto-polimero ha avuto un esito differente per le due tipologie di suolo, per la quale si può osservare un andamento opposto. Tuttavia, come ottenuto per le altre gestioni agricole, il suolo A (Salerno) tendenzialmente ha valori medi maggiori rispetto al suolo LS (Torino).

Per i tre trattamenti (TRA, MIN e COM2) il valore medio per il suolo argilloso (A) è di circa 3.2 $\mu\text{g C-CO}_2 \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$ e per il suolo limo-sabbioso (LS) 2.3 $\mu\text{g C-CO}_2 \text{g}^{-1} \text{ p.s.}$ Per i trattamenti POR e NO POR è di 3.4 $\mu\text{g C-CO}_2 \text{mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (A), 2.9 $\mu\text{g C-CO}_2 \text{mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (LS). Diversamente dal carbonio microbico, per la respirazione basale (RB, Figura V.) sono stati osservati valori medi più elevati per TRA e MIN rispetto a COM2.

Tale risposta indica che non sempre ad un incremento della respirazione corrisponde un incremento della biomassa microbica, in particolare per la gestione convenzionale (TRA) nella stazione di Salerno (A). Questo è confermato dal quoziente metabolico ($q\text{CO}_2$), un indice derivato dal rapporto tra la respirazione del suolo ed il carbonio microbico. Valori più elevati di $q\text{CO}_2$ sono stati misurati nel suolo A (Salerno) per la gestione convenzionale (TRA), mentre, si ha un decremento dell'indice per la fertilizzazione organica (COM2) e la minima lavorazione (MIN). Nel suolo LS (Torino) per i tre trattamenti sono stati ottenuti valori simili e con un andamento simile a quanto osservato per la respirazione basale. Per la tesi sperimentale POR ed il controllo NO POR nel suolo agricolo A

(Salerno) le parcelle con ferro-porfirina hanno in media valori di qCO_2 più bassi rispetto al controllo. Come riscontrato per gli altri indici, questo andamento è opposto rispetto al suolo LS.

Per il micelio totale ed attivo il suolo di Salerno (A) mediamente ha valori più elevati (**Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.**) rispetto a Torino (LS), in media è di $0.50 \text{ mg g}^{-1} \text{ p.s.}$ (A) e di $0.30 \text{ mg g}^{-1} \text{ p.s.}$ (LS), mentre, per il micelio attivo sono stati misurati i seguenti valori medi $0.36 \text{ mg g}^{-1} \text{ p.s.}$ (A) e $0.2 \text{ mg g}^{-1} \text{ p.s.}$ (LS).

Per il micelio totale nella tesi POR si può osservare quanto riportato per l'indice BM, infatti, anche la biomassa fungina totale (**Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.**) è più elevata nelle parcelle POR per il suolo argilloso ed ha valori simili al controllo per il suolo limo-sabbioso. Diversamente, il micelio attivo tende a diminuire per il trattamento con ferro porfirina in entrambi i suoli. Infine, i due indici derivati BFA/BFT e F/B

2009

Tenore idrico

La misura del tenore idrico è stata eseguita per ciascun tipo di trattamento e gestione agricola nei diversi campionamenti (marzo, maggio, giugno, luglio e settembre). Dall'analisi della varianza il tenore idrico è statisticamente significativo per tra i campionamenti, ma non tra le differenti gestioni agricole. Anche per i trattamenti POR e NO POR, il tenore idrico non mostra differenze statisticamente significative legate alla gestione agronomica, come per le altre gestioni il contenuto di acqua è differente tra i prelievi, statisticamente più elevato a marzo ($P < 0.001$, Student-Newman-Keuls Method). L'andamento del tenore idrico rispecchia le caratteristiche climatiche dell'area di campionamento ed in particolare il regime pluviometrico, nonostante l'irrigazione estiva alla quale questi suoli sono stati sottoposti.

Micelio fungino totale ed attivo

Per il micelio fungino totale ed la frazione attiva sono stati ottenuti in media valori più elevati per i suoli campionati a maggio (BFT= $0.33 \text{ mg g}^{-1} \text{ p.s.}$; BFA= $0.18 \text{ mg g}^{-1} \text{ p.s.}$) mentre, i valori medi minimi sono stati registrati a giugno per il micelio totale ed a luglio per la biomassa fungina attiva (BFT= $0.20 \text{ mg g}^{-1} \text{ p.s.}$; BFA= $0.08 \text{ mg g}^{-1} \text{ p.s.}$). Per le parcelle POR, solo per il campionamento di marzo (rizosoil), la biomassa fungina è più elevata rispetto alle parcelle NO POR.

BFA/BFT

Trattamenti su colture di mais: studio dell'impatto della lavorazione e di differenti pratiche di fertilizzazione

Per il 2008 **Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.** la biomassa microbica (BM) e la biomassa fungina totale (BFT) mettono in risalto che nel suolo argilloso la gestione conservativa favorisce la comunità microbica, in particolare per la minima lavorazione (MIN) e l'aggiunta di compost (COM2), mentre per la gestione convenzionale (TRA) si ha un decremento di questi due indici. La respirazione basale (RB) tendenzialmente è più elevata per MIN e TRA, per COM2 è tendenzialmente più bassa, mentre la BFA è simile per le tre tesi sperimentali. Si può osservare che non sempre ad un incremento della respirazione microbica è associata un proporzionale incremento della biomassa, (Fig.) questo è confermato dal qCO_2 . Valori più elevati di quoziente metabolico sono stati misurati per la gestione convenzionale (TRA), mentre, si ha un decremento dell'indice per la fertilizzazione organica (COM2) e la minima lavorazione (MIN).

Nel suolo limoso sabbioso di Torino, non sono state osservate differenze per la BM, tuttavia, si ha un incremento della RB per la lavorazione minima, ed un decremento del micelio fungino totale per la gestione TRA.

I risultati ottenuti sono in accordo con quanto riportato in letteratura in studi su suoli agricoli, in cui viene riportato che le pratiche conservative quali *no tillage* e *minimum tillage*, determinano in generale un aumento della biomassa microbica in particolare in superficie ed un decremento del quoziente metabolico, trovando differenze statisticamente significative tra gestioni convenzionali e conservative (Ferreira et al. 2010). Per il regime di fertilizzazione e la concimazione organica quanto osservato è in accordo con un lavoro condotto Ge e collaboratori (2010), i quali trovano incrementi significativi di BM e di RB ed un decremento di qCO_2 in suoli agricoli in un regime di fertilizzazione organica rispetto all'uso di fertilizzanti inorganici. La diminuzione della biomassa microbica osservata in questi ultimi sistemi è spesso interpretato come un effetto della tossicità di elementi contenuti nei fertilizzanti e della riduzione del pH (Hopkins e Shiel 1996).

Nel nostro caso studio abbiamo confrontato l'impatto della lavorazione del suolo sugli indicatori microbici in due stazioni sperimentali Salerno (A) e Torino (LS), caratterizzate sia da una diversa tipologia di suolo sia da differenti condizioni climatiche. Gli indici microbici mostrano che la gestione agricola potrebbe avere un esito differente in base alle caratteristiche del suolo, prevalentemente argilloso e con un maggiore contenuto di macroaggregati per Salerno (A) rispetto al suolo con più alto contenuto di sabbia e microaggregati per Torino (LS). Come riportato in letteratura la lavorazione intensiva può impattare negativamente i suoli con maggior contenuto di

macroaggregati, in quanto sono più suscettibili alla frantumazione meccanica rispetto ai microaggregati (Aon et al. 2001).

Infine, nel 2008 nel nostro studio per la gestione con compost (COM2) si ha tendenzialmente un decremento della respirazione basale (RB), contrariamente a quanto riportato in letteratura (Ros et al. 2006).

Tuttavia, il quoziente metabolico indica che la comunità microbica non è in uno stato di stress ed i risultati potrebbero essere in accordo con quanto riportato da alcuni autori (Piccolo et al., 1999; Spaccini et al., 2002) sulla protezione della frazione organica facilmente degradabile operata da componenti più umificate ed idrofobiche, come il compost.

Nel 2009 le misure di biomassa fungina confermano quanto inizialmente ipotizzato per i risultati del 2008, ovvero, che la gestione convenzionale in un suolo argilloso ha un effetto negativo in particolare per il micelio totale. Infatti, in grafico (FIGURA), si può osservare per l'andamento di BFT e di BFA che per i suoli campionati a maggio i valori di tutte le gestioni agricole superano il valore medio eccetto che per la gestione tradizionale (TRA). Per le gestioni conservative (MIN e COM2) e per la parcella controllo (D), in questo campionamento il valore di BFT e di BFA raddoppia rispetto agli altri campionamenti.

I valori della BFT più elevati nelle parcelle controllo D potrebbero indicare che in condizione di zero fertilizzazione azotata la biomassa fungina totale aumenta rispetto alla lavorazione intensiva con fertilizzazione inorganica (TRA). L'indice BFA/BFT per la gestione TRA rispetto al controllo D, potrebbe essere più elevato poiché la fertilizzazione azotata potrebbe fornire ai funghi azoto disponibile, pronto per essere utilizzato. La frazione attiva del micelio fungino totale è più elevata nei mesi di marzo, maggio e settembre, mentre sono fortemente ridotti nei mesi di giugno e di luglio. Questi dati mostrano la sensibilità dei funghi alla lavorazione del suolo e confermano che la biomassa fungina risponde positivamente all'assenza di lavorazione come riportato da Cookson e collaboratori (2008) i quali hanno dimostrato che ad una intensificazione della lavorazione del suolo corrisponde un decremento sia della biomassa fungina sia batterica, anche se in proporzione l'impatto negativo è soprattutto a carico dei funghi. Un'importante variabilità della comunità fungina in funzione del periodo di campionamento e della stagionalità delle variazioni climatiche è stata riportata per i sistemi agricoli da vari studi (Smalla et al. 2001; Petersen et al. 2002; Buckley and Schmidt 2003).

Il rizosoil presenta valori di biomassa microbica più alti rispetto al bulksoil probabilmente per effetto degli essudati radicali che forniscono substrato facilmente utilizzabile dai microrganismi del suolo. Le radici secernono una varietà di composti consistenti principalmente in zuccheri, acidi

organici ed aminoacidi, che possono influenzare la microflora e la microfauna del suolo (Rovina, 1969) influenzandone il numero e la composizione in specie (Liljeroth et al. 1990). In bibliografia, Gomes e collaboratori (2003) riportano un caso studio sulle dinamiche della comunità fungina nel bulksoil e rizosoil di una coltura di mais, la ricerca è stata condotta per due anni consecutivi, coincidenti con il caso studio di questa tesi. Gli autori hanno ottenuto interessanti risultati sulla composizione della comunità fungina, trovando nella rizosfera di piante giovani di mais più Ascomiceti dell'ordine Pleosporales, mentre, durante le fasi di senescenza della pianta sono selezionati differenti rappresentanti della comunità fungina. Infine, gli autori hanno osservato che in tutte le fasi fenologiche della pianta si ha un effetto della rizosfera sulla popolazione fungina, in particolare, l'estrazione di DNA dal suolo ha messo in evidenza pronunciati cambiamenti nella composizione della comunità durante lo sviluppo della pianta. Quando hai esposto i risultati in effetti non hai mai parlato in maniera esplicita di bulk e rizo

Inoltre, per quanto riguarda le condizioni climatiche le due stazioni sperimentali presentano un differente regime termo pluviometrico. Le temperature più basse per il mese di settembre nella stazione di Torino, potrebbero influenzare l'attività microbica. Questi dati sono in accordo con quanto riportato in letteratura, diversi autori riportano che la temperatura e l'umidità del suolo sono due fattori chiave che controllano il tasso di respirazione (Emmerling et al. 2001; Chen et al. 2003; Feng and Simpson 2009; GE ET AL 2010).

Trattamenti su parcelle coltivate con frumento: protezione della sostanza organica nel suolo, sperimentazione con una ferro-porfirina

Nel 2008 per la sperimentazione con ferro porfirina (**Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.**) è stata osservata una diversa risposta della biomassa microbica all'aggiunta del foto polimero, per il suolo argilloso (Salerno A) e limoso sabbioso (Torino LS), come riportato per le altre gestioni sopra discusse per le sperimentazioni su mais. In particolare, nelle parcelle POR rispetto al controllo, per il 2008 è stata osservata una maggiore BM, una più bassa RB, e un qCO₂ più basso; per la comunità fungina è stata stimata una maggiore BFT e minore BFA.

Diversamente, nel il suolo limoso sabbioso la sperimentazione POR, è possibile riportare quanto segue, minore BM, mentre i valori medi di RB sono simili rispetto al controllo, qCO₂ più elevato per la tesi POR e valori medi di BFT e BFA confrontabili con il controllo. Tuttavia, in entrambi i suoli A ed LS, le parcelle POR hanno un rapporto biomassa fungina/Biomassa microbica totale più elevato. La ferro porfirina sembra determinare delle variazioni a carico della componente fungina attiva soprattutto nel suolo argilloso dove le parcelle POR hanno un rapporto BFA/BFT minore

rispetto al controllo. Per il campionamento di bulksoil effettuato nel mese di settembre 2009 (non è stata aggiunta la ferro porfirina) le parcelle POR rispetto al controllo hanno un andamento diverso se confrontato con i campioni prelevati nel 2008, anno in cui è stata aggiunto il fotopolimero. In particolare, si può osservare che in media le parcelle POR hanno più BFT e valori medi di BFA simili al controllo (NO POR). Ciò potrebbe far ipotizzare un effetto della ferro porfirina sul micelio attivo come discusso anche per il 2008.

Per quanto riguarda il confronto tra rizosoil e bulksoil nei suoli delle parcelle POR campionati nel 2009, si può osservare che in corrispondenza della fase di pre viraggio, la BFT e la BFAPOR presentano valori più elevati rispetto al NO POR, come si può osservare anche dal rapporto delle due misure. Il rilascio di sostanze organiche sottoforma di essudati radicali può influenzare la disponibilità di nutrienti nella rizosfera e indirettamente agire sui microrganismi del suolo durante le fasi di crescita della pianta (Sorensen 1997; Grayston et al.1998; Semenov, 1999). La diminuzione del micelio fungino attivo potrebbe essere ricondotta alle reazioni di fotopolimerizzazione mediate dalla ferro-porfirina che stabilizza la sostanza organica e riduce la frazione attiva dei funghi presenti nei suoli campionati a marzo rispetto a settembre 2009, nel mese di marzo per un effetto della rizosfera vi potrebbe essere una maggiore disponibilità di nutrienti nel suolo, in questa fase la ferro porfirina sembra agire di più sulla BFA, come si può osservare dai risultati ottenuti. Inoltre, bisogna considerare anche la diversa sensibilità dei funghi ai fattori ambientali, Hamer e collaboratori (2008) riportano i dati di campionamento in suoli agricoli sotto differenti gestioni, riscontrando una forte influenza dei cambiamenti stagionali, in particolare sui funghi. Le differenze nella risposta dei suoli delle due stazioni sperimentali di Napoli e Torino fanno ipotizzare che le ferro-porfirine, agiscano diversamente in base al tipo di suolo ed alle condizioni macroclimatiche e microclimatiche che influenzano la comunità microbica del suolo.

Inoltre, confrontando i dati ottenuti nel settembre 2009 con i dati del 2008, si può osservare che nel 2009 la tesi POR ha valori simili al controllo sia di BFT sia di BFA, mentre, nel 2008 le parcelle POR hanno fatto registrare valori significativamente più elevati. Infine, nel nostro, caso studio, la componente fungina soprattutto attiva sembra più suscettibile alle variazioni stagionali ed alle diverse fasi fenologiche della pianta quando varia anche il rapporto di *uptake* di nutrienti tra suolo e pianta.

Primo caso studio: conclusioni

Nel presente caso studio gli indicatori microbici misurati hanno risposto alle differenti gestioni agricole TRA, MIN e COM2, e la sperimentazione POR e NO POR, per i due anni di indagine, mettendo in risalto tre punti fondamentali;

1) la comunità microbica risponde sia al regime di fertilizzazione sia all'intensità di lavorazione del suolo

In questo caso studio, la lavorazione minima (MIN) ed il compost (COM2) sembrano avere un effetto positivo sulla conservazione della sostanza organica nel suolo. Come riportato in letteratura la gestione tradizionale in un suolo argilloso tende ad avere meno biomassa microbica rispetto a lavorazioni meno profonde o in sistemi no-tillage (Hu et al., 1997; Breland and Eltun, 1999). In altri studi (Schröder et al., 2002; von Lützow et al., 2002) è confermato ed evidenziato come la comunità microbica del suolo possa trarre benefici da un tipo di gestione con lavorazione minima associata all'apporto di sostanza organica, per esempio lasciando sul suolo i residui colturali.

Inoltre, per la gestione convenzionale TRA è stato riportato un quoziente metabolico più elevato, possiamo ipotizzare che la lavorazione intensa sia un fattore di stress per la comunità microbica. Il qCO_2 può essere interpretato come un indice fisiologico di stress della comunità microbica, descrive l'efficienza microbica e misura l'energia necessaria al mantenimento dell'attività metabolica in relazione all'energia necessaria per sintetizzare la biomassa microbica (Silvana et al 2005-GAOFEI GE ET AL 2010). Suoli disturbati hanno valori di qCO_2 più elevati che quelli non stressati. Sparling (1997), il quoziente metabolico deve essere interpretato con cautela, in quanto una bassa attività può indicare che parte della comunità edifica è poco attiva a causa di carenza di substrato (Anderson 1994).

Ge e collaboratori (2010) in particolare trovano un incremento della biomassa e della respirazione microbica ed un decremento del quoziente metabolico nei suoli con fertilizzazione organica ed un andamento opposto per i suoli con fertilizzazione inorganica. Gli autori concludono che questo effetto non è positivo per la conservazione della fertilità del suolo e per un'agricoltura sostenibile.

2) l'effetto delle gestioni agricole potrebbe avere un esito differente in funzione sia delle proprietà chimiche, fisiche e biologiche del suolo sia delle condizioni climatiche

Confrontando le differenti gestioni agronomiche su uno stesso tipo di suolo, gli indici microbici mettono in risalto che in un suolo argilloso la gestione conservativa e la fertilizzazione organica, favoriscono la conservazione della sostanza organica nel suolo. Ciò potrebbe far ipotizzare che vi possa essere un beneficio sull'intero sistema dovuto ad una maggiore efficienza delle interazioni trofiche tra microrganismi-suolo e pianta. Inoltre, sia per il 2008 sia per il 2009 si può riportare che

le condizioni climatiche e le variazioni stagionali, influenzano la comunità microbica, in accordo con quanto riportato in letteratura (Ge et al 2010). Gli effetti dell'aggiunta di substrati organici sulle caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche del suolo per esempio, sono fortemente influenzati dalle caratteristiche del suolo, in particolare dalla tessitura (Van Diegingens et al., 2006).

Inoltre, come più volte messo in risalto nella discussione degli indici è stato osservato che i valori medi della stazione di Salerno sono più elevati che a Torino, ipotizzando che i suoli delle due stazioni abbiano di partenza una comunità microbica diversa per biomassa, diversità ed attività. In un recente lavoro Stark e collaboratori (2007) ottengono che alcune caratteristiche chimiche fisiche e biologiche come, carbonio (C), azoto (N) e carbonio microbico, sono influenzati maggiormente dall'origine del suolo più che dalla gestione agricola, che invece può influenzare altre caratteristiche, come il rapporto C/N ed il contenuto di azoto minerale.

3) i cambiamenti sono soprattutto a carico della frazione attiva del micelio fungino

Per la stazione di Salerno è stato osservato che la lavorazione del suolo influenza la biomassa fungina ed all'incremento dell'intensità si ha un decremento della biomassa fungina totale, la gestione TRA è al di sotto del valore medio riportato per entrambe le stazioni. Per contro il micelio attivo per la stazione di Salerno e di Torino non mette in risalto un netto andamento in risposta alla lavorazione del suolo. Infine, si può osservare che in generale i valori medi più bassi sono stati ottenuti per la stazione di Torino (LS), molto probabilmente rispecchiando per i due suoli, un valore di partenza di biomassa microbica maggiore per il suolo argilloso.

Confermando, insieme, agli indici sopra discussi che il suolo di Salerno ha una comunità microbica totale più elevata rispetto a quello dell'azienda agricola di Torino, dettata da caratteristiche di base diverse nei due suoli, come riportato anche da Stark e collaboratori (2007).

4) l'effetto della rizosfera

nel 2009 la comunità fungina mette in risalto come queste interazioni trofiche siano influenzate non solo dalla presenza della pianta, confrontando il bulksoil ed il rizosoil, ma variano anche in base alle diverse fasi fenologiche della coltura come riportato da Gomes e collaboratori (2003).

In conclusione, quindi, nel presente caso studio è stato osservato un incremento non eccessivo della biomassa fungina in seguito all'aggiunta di compost, diversamente da quanto riportato in altri studi. Ad esempio, in uno studio su suoli agricoli sottoposti a trattamenti di recupero con diversi tipi di ammendanti organici, dopo trenta anni di agricoltura intensiva (Sabia et al., 2002), è stato osservato che la fertilizzazione organica favorisce l'attività fungina, determinandone un incremento. Questo risultato è stato ottenuto anche in altre ricerche in cui è stato riportato che elevate quantità di

sostanza organica stimolano sia lo sviluppo della microflora totale sia del micelio fungino (Rutigliano et al. 2001, 2002).

Ancora, nello studi di Sabia e collaboratori (2002) l'aggiunta di ammendanti organici è stato esteso a tesi con e senza presenza di piante, nello specifico di frumento *Triticum aestivum*. In presenza di piante, viene enfatizzato l'effetto della fertilizzazione organica, suggerendo una sinergia tra l'aggiunta di ammendanti e la presenza di vegetazione.

Inoltre, la discussione dei nostri risultati potrebbe essere riportata alla quantità di ammendante organico 20 t ha⁻¹ nel trattamento COM2, ad esempio Lèon-Gonzalez e collaboratori (2000) prevedono somministrazioni di compost maggiori, pari a 40 t ha⁻¹. D'altra parte, è importante sottolineare che in questa ricerca lo scopo della utilizzazione del compost era quello di proteggere la sostanza organica (Piccolo et al., 1999; Spaccini et al. 2002).

Bisogna anche precisare che due anni di sperimentazione con un certo tipo di lavorazione può essere un tempo troppo breve affinché la diversa gestione del suolo possa avere degli effetti significativi sulla comunità edafica. La necessità di periodi di minima lavorazione più lunghi dei due anni previsti in questa ricerca, è sostenuta da dati di letteratura. Ad esempio, Bausenwein e collaboratori (2008), riportano come la comunità microbica del suolo si ristabilisca dopo 11 anni di minima lavorazione del terreno, raggiungendo dopo questo periodo, una condizione paragonabile ad un sistema naturale. Simmons e Coleman (2008), hanno studiato la variazione della composizione della comunità microbica nel suolo lungo una cronosequenza di suoli agricoli, che rappresentano suoli con una gestione agricola tradizionale, suoli con minima gestione, fino ad ex suoli agricoli non coltivati da 30 anni. I ricercatori hanno riscontrano differenze significative tra la struttura della comunità microbica in suoli sottoposti a gestione tradizionale rispetto ai suoli con gestione minima. Comunque la protezione che il compost fornisce alla sostanza organica potrebbe spiegare la più bassa biomassa fungina sia attiva che totale che è stata registrata nei suoli trattati con ammendante.

I nostri risultati potrebbero suggerire come già dopo soli due anni di sperimentazione l'utilizzo del compost possa favorire la biomassa microbica, analogamente a quanto riportato anche in altri studi condotti su suoli agricoli trattati con il compost oppure con altri tipi di ammendanti organici (Zaman et al.; 2002).

Generalmente comunque, effetti evidenti della fertilizzazione organica sulla componente microbica del suolo, sono riscontrati in sperimentazioni a lungo termine, ad esempio è quanto riportano da Vineela e collaboratori (2008) in un lavoro condotto in suoli sottoposti a vari tipi di fertilizzazione organica dopo 16, 17 e 23 anni.

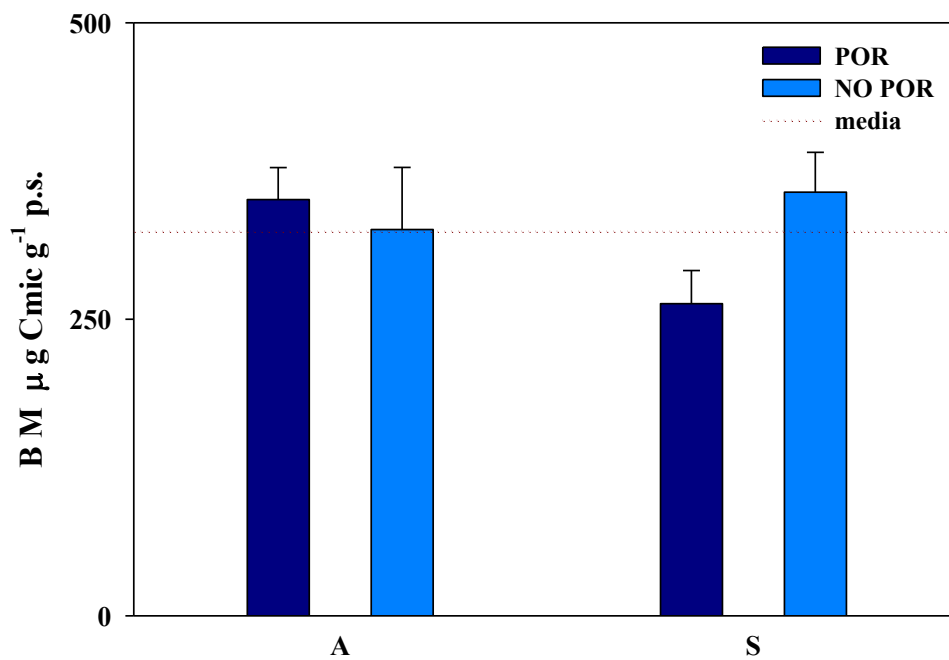
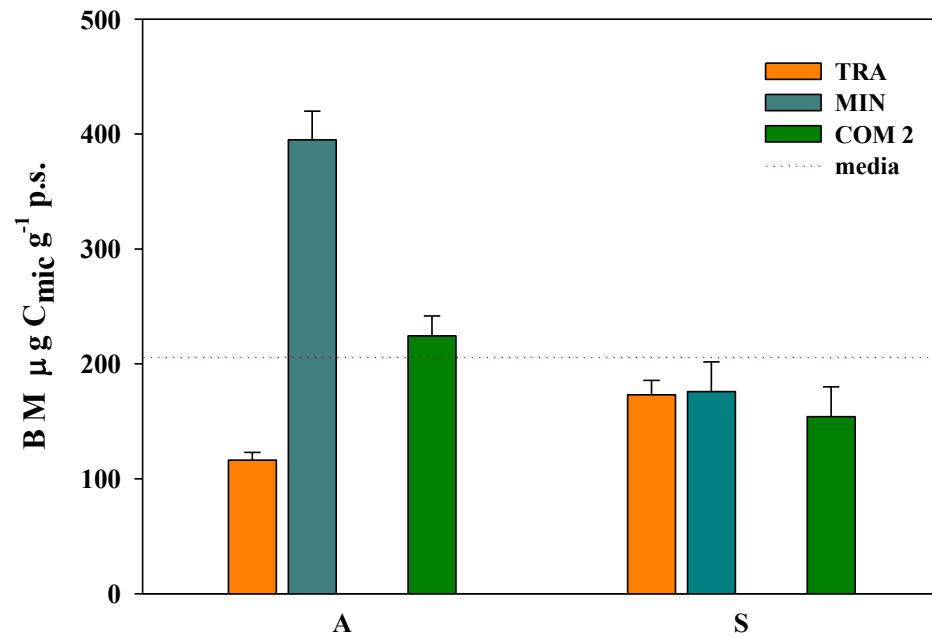


Figura V.01: biomassa microbica BM ($\text{Cmic g}^{-1} \text{ p.s.}$) per la gestione tradizione (TRA), minima lavorazione (MIN) e fertilizzazione organica (COM2) e per la sperimentazione con ferroporfirina (POR) ed il controllo (NO POR). Il bulksoil è stato prelevato nella stazione di Salerno (A=argilloso) e di Torino (LS=limoso-sabbioso). Il campionamento è stato effettuato a settembre 2008, effettuato su bulksoil I dati riportati sono medie delle repliche di campo \pm er. st.

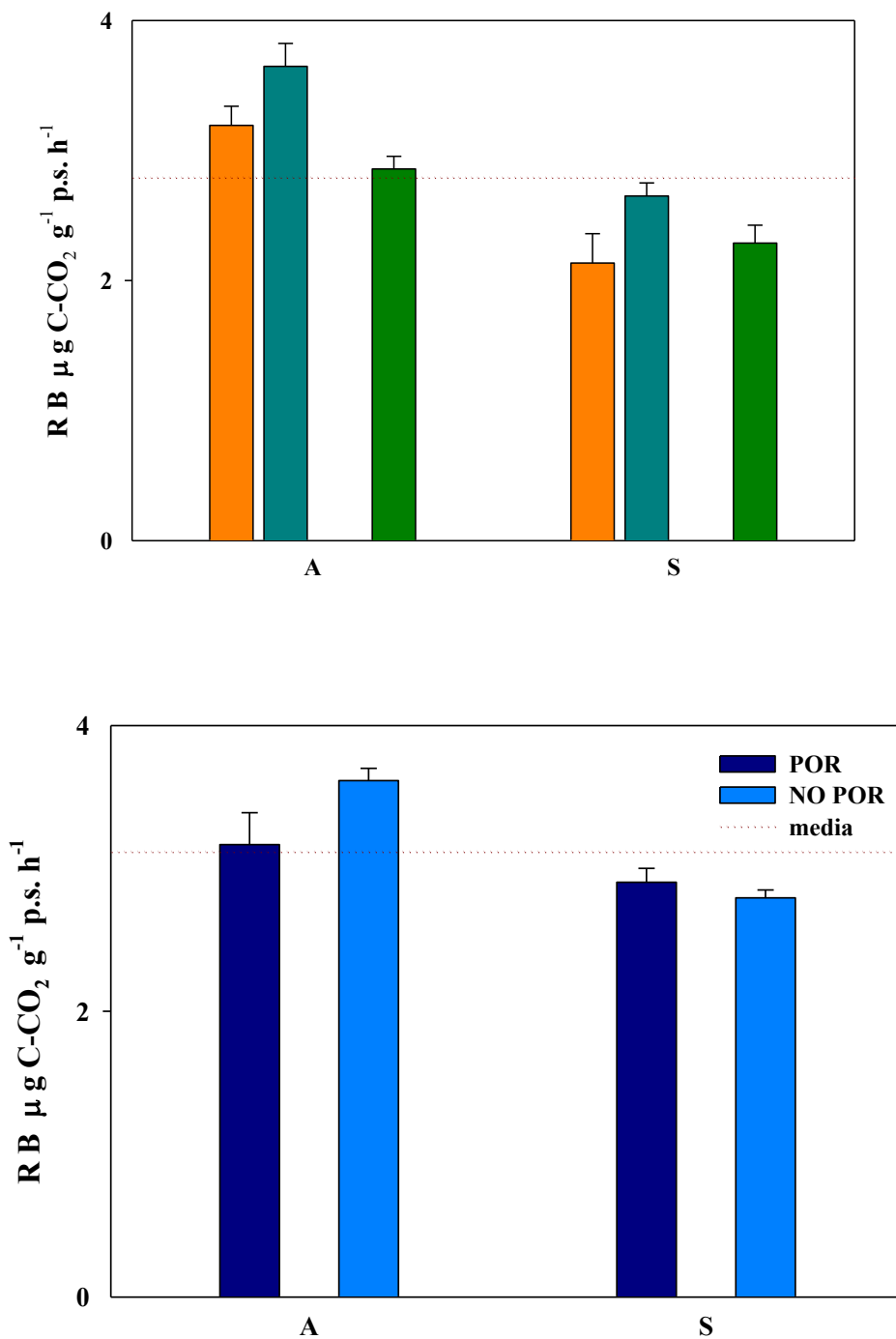


Figura V.2: respirazione basale RB ($\mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ p.s. h}^{-1}$) per la gestione tradizione (TRA), minima lavorazione (MIN) e fertilizzazione organica (COM2) e per la sperimentazione con ferroporfirina (POR) ed il controllo (NO POR). Il bulksoil è stato prelevato nella stazione di Salerno (A=argilloso) e di Torino (LS=limoso-sabbioso). Il campionamento è stato effettuato a settembre 2008, effettuato su bulksoil. I dati riportati sono medie delle repliche di campo \pm er. st.

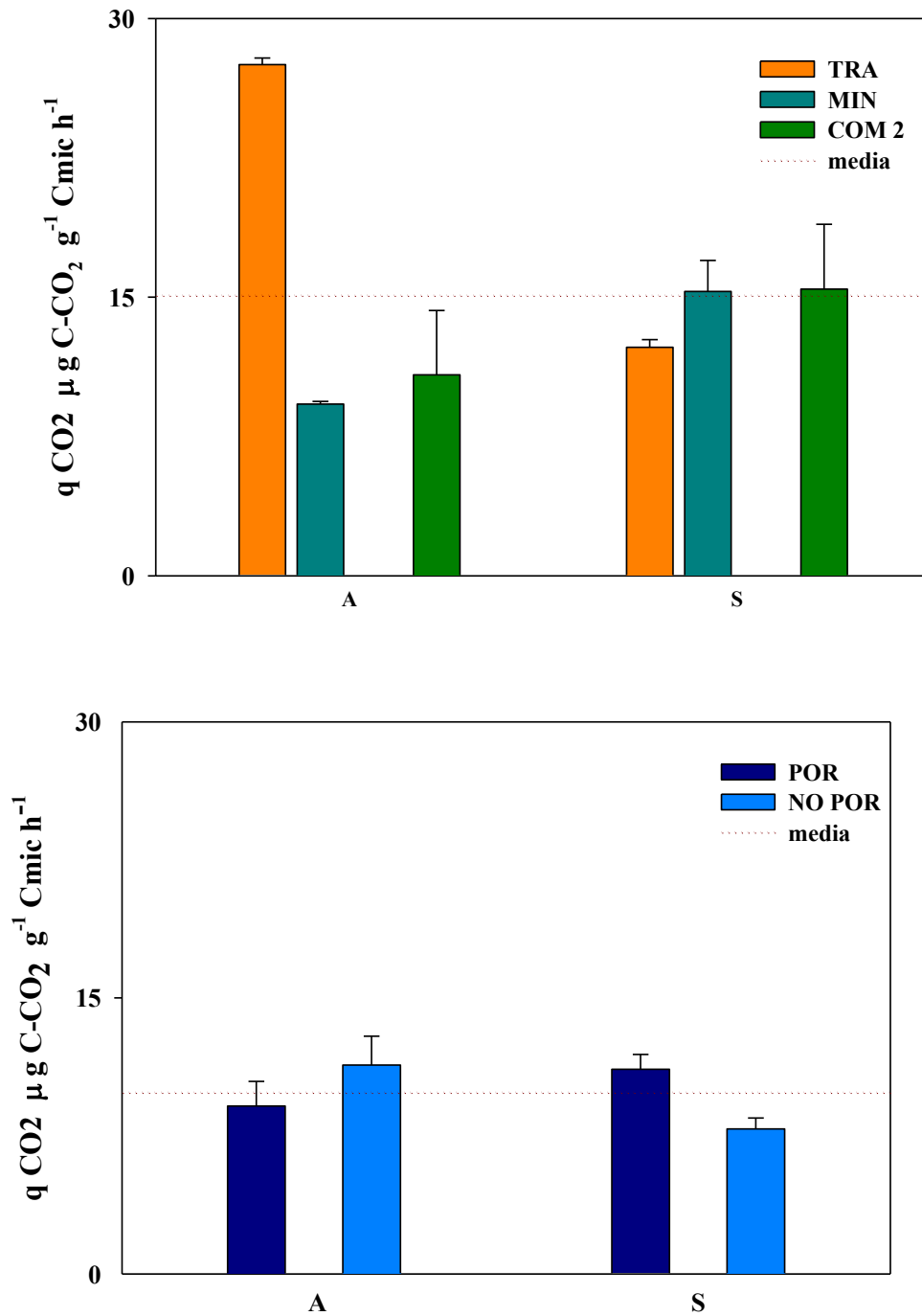


Figura 0.3: quoziente metabolico q_{CO_2} ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ Cmic h}^{-1}$) per la gestione tradizione (TRA), minima lavorazione (MIN) e fertilizzazione organica (COM2) e per la sperimentazione con ferroporfirina (POR) ed il controllo (NO POR). Il bulksoil è stato prelevato nella stazione di Salerno (A=argilloso) e di Torino (LS=limoso-sabbioso). Il campionamento è stato effettuato a settembre 2008, effettuato su bulksoil. I dati riportati sono medie delle repliche di campo \pm er. st.

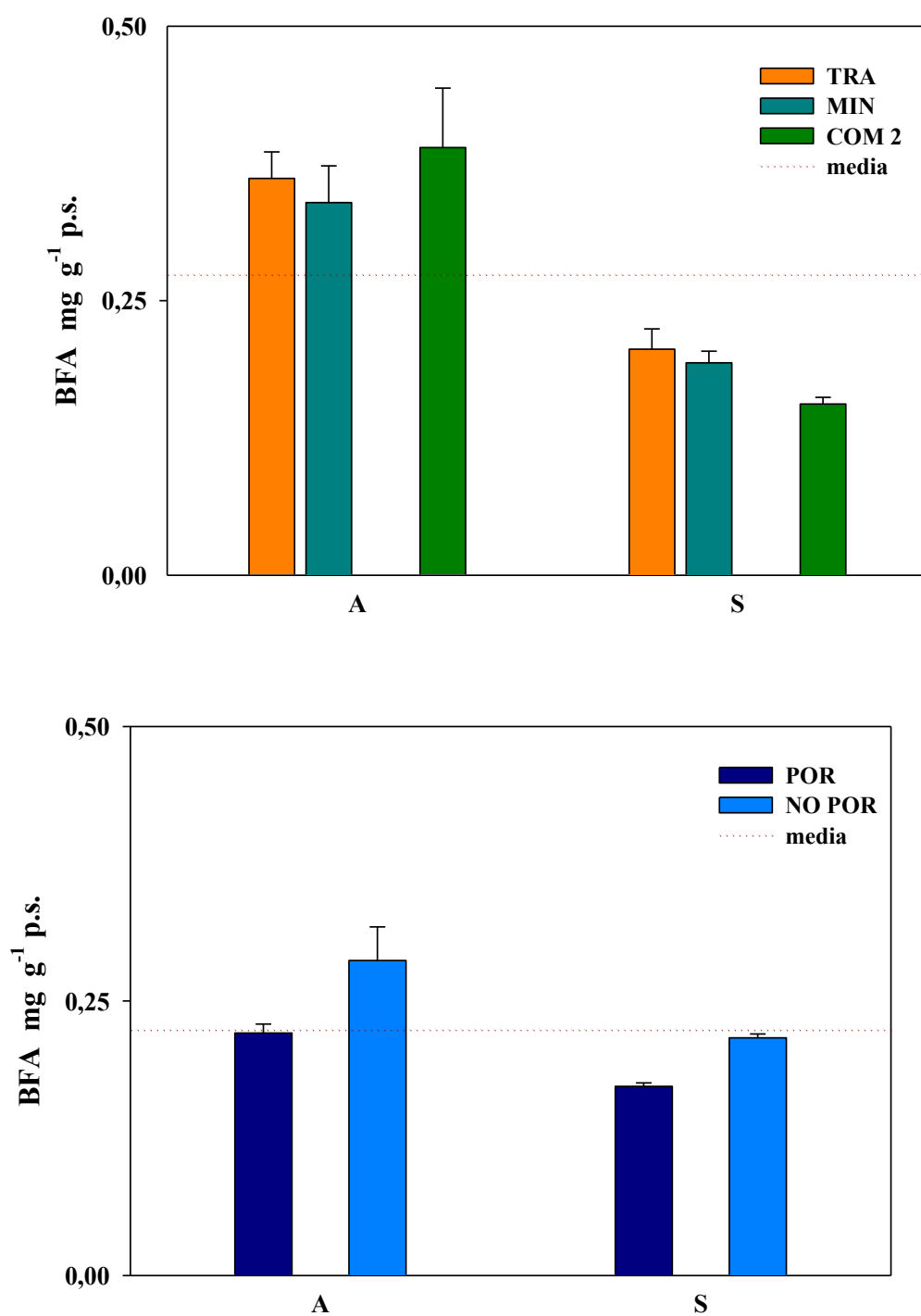


Figura V0.1: BFA (mg g⁻¹ p.s.) per la gestione tradizione (TRA), minima lavorazione (MIN) e fertilizzazione organica (COM2) e per la sperimentazione con ferroporfirina (POR) ed il controllo (NO POR). Il bulksoil è stato prelevato nella stazione di Salerno (A=argilloso) e di Torino (LS=limoso-sabbioso). Il campionamento è stato effettuato a settembre 2008, effettuato su bulksoil. I dati riportati sono medie delle repliche di campo ± er. st.

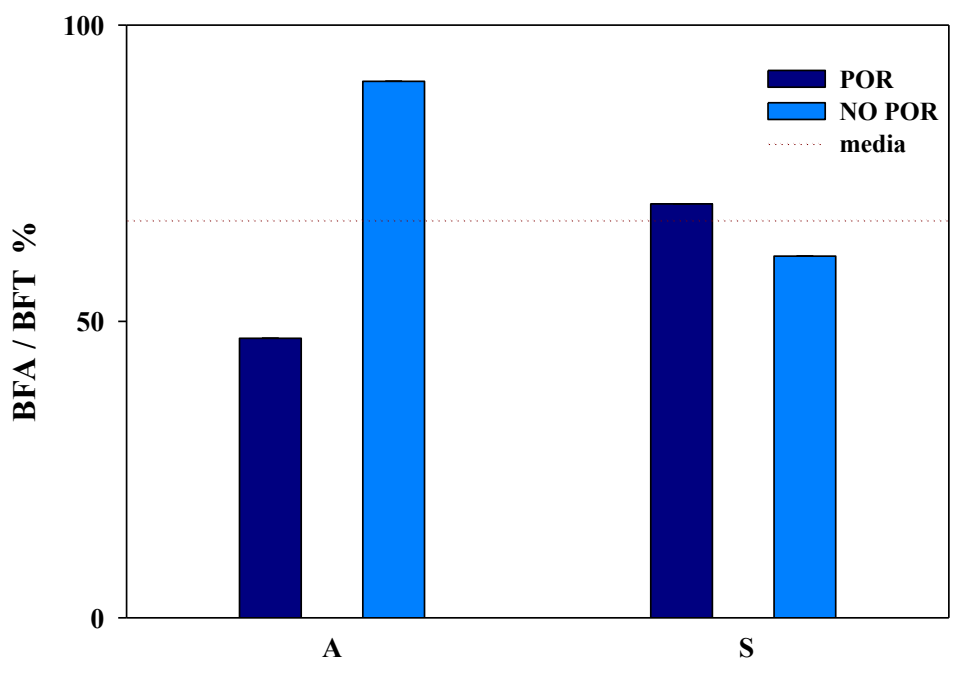
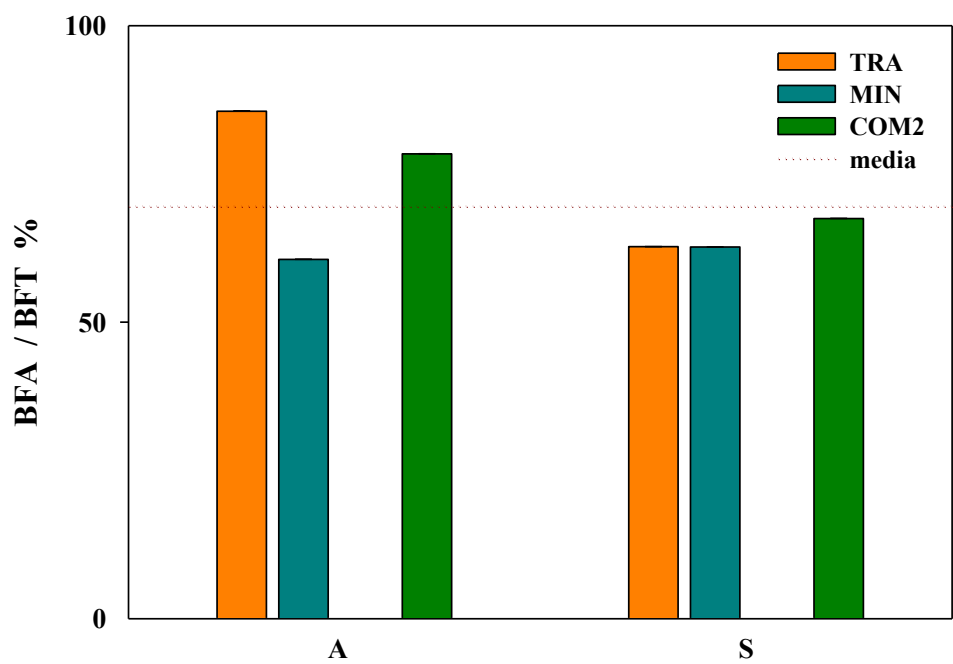


Figura V0.5: BFT (mg g^{-1} p.s.) per la gestione tradizione (TRA), minima lavorazione (MIN) e fertilizzazione organica (COM2) e per la sperimentazione con ferroporfirina (POR) ed il controllo (NO POR). Il bulksoil è stato prelevato nella stazione di Salerno (A=argilloso) e di Torino (LS=limoso-sabbioso). Il campionamento è stato effettuato a settembre 2008, effettuato su bulksoil. I dati riportati sono medie delle repliche di campo \pm er. st.

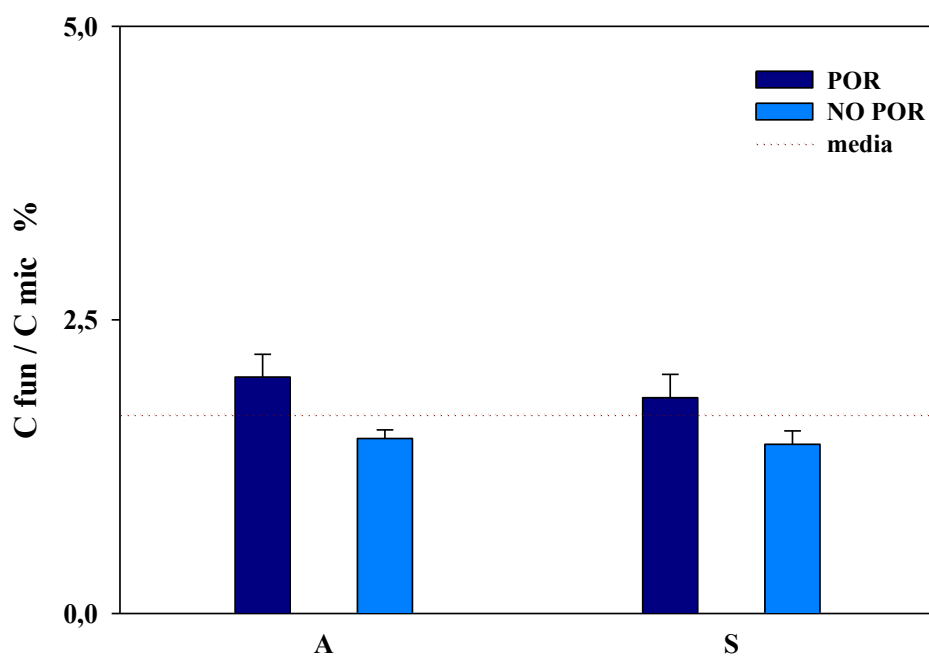
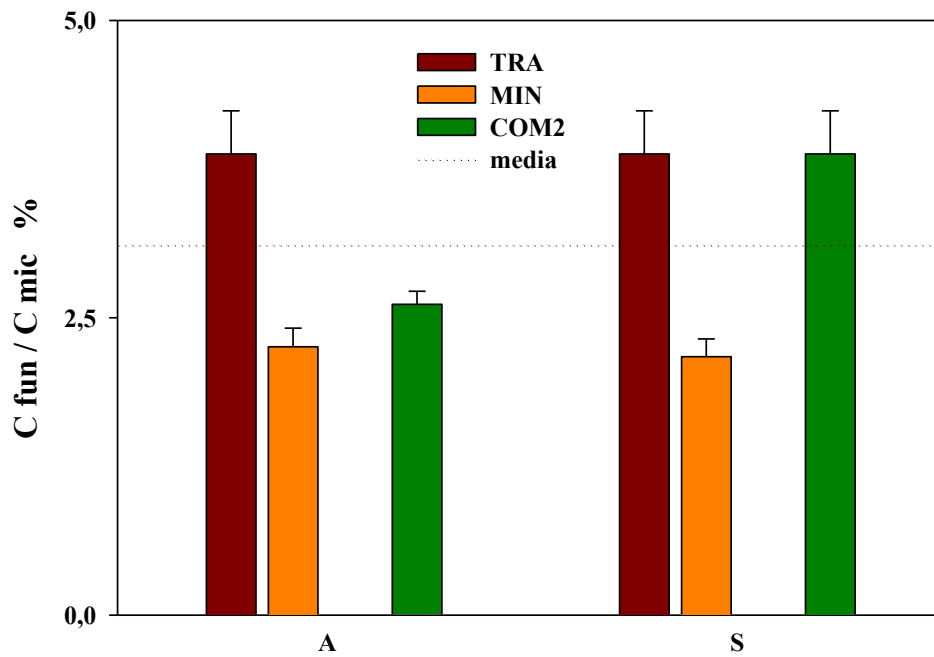


Figura V0.6: C_f/C_m per la gestione tradizione (TRA), minima lavorazione (MIN) e fertilizzazione organica (COM2) e per la sperimentazione con ferroporfirina (POR) ed il controllo (NO POR). Il bulksoil è stato prelevato nella stazione di Salerno (A=argilloso) e di Torino (LS=limoso-sabbioso). Il campionamento è stato effettuato a settembre 2008, effettuato su bulksoil. I dati riportati sono medie delle repliche di campo \pm er. st.

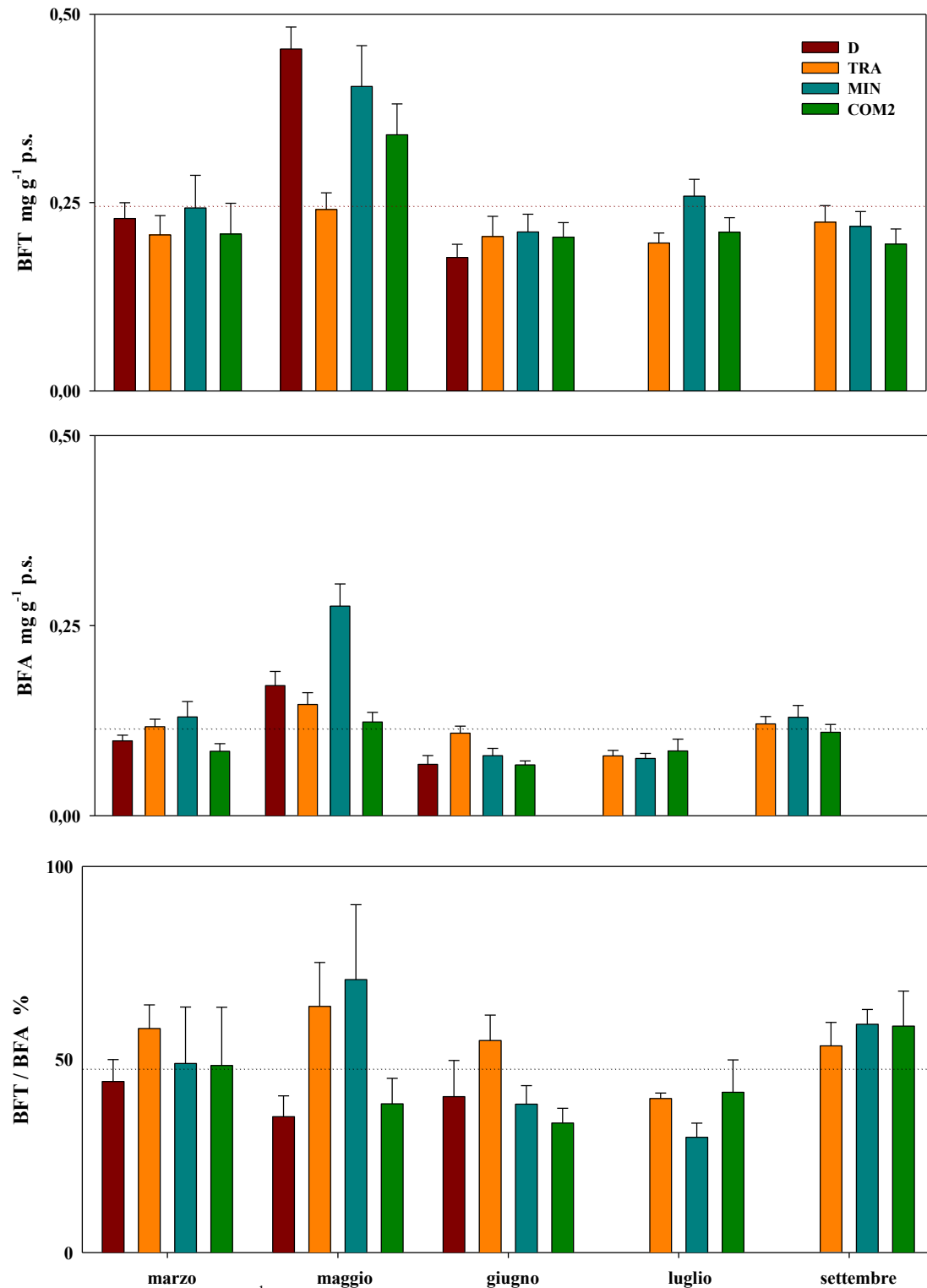


Figura V.6: BFA-BFT (mg g⁻¹ p.s.) e BFA/BFT % per la gestione tradizione (TRA), minima lavorazione (MIN) e fertilizzazione organica (COM2) e per la sperimentazione con ferroporfirina (POR) ed il controllo (NO POR). I dati riportati sono medie delle repliche di campo ± er. st.

Capitolo VI

Introduzione

secondo caso studio: applicazione di compost in sistemi di mesocosmi.
Valutazioni sul sistema microrganismi-suolo-pianta

Il suolo per cause naturali o per impatto antropico può andare incontro a diverse forme di degradazione, un suolo degradato può perdere la propria struttura e funzionalità non rendendo più i servizi ecosistemici che garantiscono la qualità dell'ambiente. Pertanto, gli effetti della perdita di suolo possono ripercuotersi su una vasta scala ambientale, tanto che, la protezione del suolo può essere considerata uno dei maggiori problemi a livello globale. Basti pensare che i naturali processi di formazione del suolo sono molto lenti e per ricostruire naturalmente la perdita di oltre $1 \text{ t ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ di suolo occorre un periodo di tempo che va da 50 ai 100 anni, considerando che solo il tasso di erosione eolica è di $17 \text{ t ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$, il suolo può essere considerato una risorsa non rinnovabile se consideriamo la vita media dell'uomo (Huber et al. 2008). Nei più recenti rapporti sulla qualità ambientale emerge che l'incremento della sostanza organica in un suolo può arginare i processi di degradazione e migliorarne la qualità (EEA, 2010). D'altronde in letteratura viene spesso riportato l'uso di ammendanti organici in studi di riqualificazione o di recupero di suoli degradati per inquinamento da metalli pesanti, per processi di erosione, oppure per ripristinare il contenuto di sostanza organica nei sistemi agricoli o più semplicemente migliorare la fertilità di un suolo (Tandy et al. 2009; Grenni et al. 2009; Dutta et al. 2003).

L'apporto di matrici organiche può stimolare la microflora edafica lungo il profilo di un suolo, anche se vi possono essere degli effetti negativi sulla diversità e sulla biomassa microbica, per la presenza in queste matrici di contaminanti organici ed inorganici (Gomez 1998; Zheljzkov e Warman 2003). Molti studi, sull'applicazione del compost e gli effetti sulla comunità microbica sono stati condotti su sistemi di microcosmi ed in condizioni controllate, data l'elevata eterogeneità della risposta della comunità edafica a diversi fattori ambientali biotici ed abiotici .

Nel secondo caso studio proposto in questa tesi gli indicatori microbici sono stati misurati per valutare gli effetti di un ammendante organico in un l'effetto sulla comunità microbica, dell'aggiunta di un ammendante organico, in un suolo costituito principalmente da materiale di risulta. Lo studio degli indicatori microbici e delle principali caratteristiche chimiche e fisiche è stato condotto lungo il profilo del suolo. Inoltre, il progetto potrebbe avere un risvolto applicativo

nell'allestimento di aiuole o spazi verdi pubblici e comunali, per limitare le spese dei capitolati per il verde pubblico cittadino. I risultati potrebbero sostenere diverse questioni sulla sostenibilità dei sistemi per la conservazione della natura e per una gestione ambientalista e consapevole delle risorse. L'incremento della produzione di rifiuti biosolidi urbani, come compost, fanghi di depurazione e scarti della produzione agricola, mette in risalto la necessità del loro riciclaggio, sia per diminuire l'impatto ambientale, dovuto ad un incremento di questi rifiuti, sia per l'impatto economico in termini di costi di smaltimento. L'uso di matrici organiche per la riqualificazione dei suoli oppure per migliorarne il contenuto di sostanza organica, potrebbe fornire delle risposte a quanto sopra riportato. Ad esempio, in un paesaggio urbano sono presenti aree costituite da superfici incolte e luoghi degradati, che si tenta di rivalutare con piante ornamentali tradizionali per migliorarne l'apprezzamento estetico. Tuttavia, queste specie non trovano "terreno fertile" nei suoli urbani poiché sono piante particolarmente esigenti da un punto di vista nutrizionale o che hanno bisogno di suoli ben strutturati, di conseguenza la loro gestione spesso risulta economicamente dispendiosa ed onerosa nel bilancio pubblico comunale. Tali suoli, invece, potrebbero rappresentare una valida risorsa per lo sviluppo di una vegetazione composta da specie autoctone per la costituzione di una comunità auto-sostenibile (Bretzel e Hitchmough, 2000).

Generalmente i suoli urbani sono noti per essere differenti da quelli agricoli e naturali, le loro caratteristiche occupano un ampio range e variando da suoli naturali "non disturbati" a completamente artificiali, poco fertili che a causa dell'aggiunta di materiali inerti da costruzioni, presentano una scarsa struttura. Inoltre, a causa del riporto, non presentano un profilo pedologico definito in quanto sono il risultato del rimescolamento di diverse matrici. Questi suoli, possono avere, un basso contenuto di sostanza organica, una forte compattazione associata con una degradazione della struttura e dal punto di vista biologico risulta modificata sia l'attività e sia la struttura della comunità biotica del suolo (Bretzel et al. 2000 a). Tuttavia, questi suoli sono colonizzati da fauna e flora nativi che trovano le loro ideali condizioni di crescita, anche in substrati poco fertili, con basso contenuto di nutrienti, soprattutto, azoto e fosforo. Da questo punto di vista i suoli urbani potrebbero essere una risorsa potenziale per la formazione di habitat e la conservazione della natura, compensando la perdita di questa vegetazione nel paesaggio e svolgendo la funzione di elementi di raccordo con il paesaggio circostante creando dei "corridoi ecologici". In questi sistemi le piante possono costituire delle "aree di rifugio" per altre specie, così come già dimostrato per la componente entomologica degli agroecosistemi e può altresì consentire il recupero di aree incolte o di difficile gestione migliorandone la fruibilità da parte dei cittadini (Wilson e Tilman 2002; Pywell et al. 2002, Nicoli 1996; Maini 1995).. Recentemente, diversi studi si sono interessati della gestione

di queste aree con specie spontanee (*wildflowers*) o con specie native dell'area. Queste potrebbero essere una valida alternativa alle classiche piante ornamentali poiché sono in grado di colonizzare velocemente suoli poveri di nutrienti, richiedere meno acqua e fertilizzanti supplementari, migliorare gli habitat naturali e rendere gli ambienti marginali un'attrazione. Nello stesso tempo queste possono aiutare nella conservazione delle popolazioni di piante native. Molte specie botaniche, specialmente arbusti ed alberi, sono stati reintrodotti per scopi ambientali, come il ri-inverdimento, reimpianti di pachi naturali, la rinaturalizzazione di discariche municipali (De Mei e Di Mauro 2006) oppure come piante ornamentali in floricoltura o aromatiche (Hammer et al. 2004).

Le caratteristiche fogliari funzionali delle piante, possono rappresentare, nel tempo, un valido strumento di monitoraggio di un effettivo cambiamento dello stato nutritivo nel suolo. La stretta relazione tra tali attributi fogliari e la fertilità di un suolo può riflettere lo stato nutrizionale del suolo tanto quanto lo stretto rapporto tra la crescita della pianta e la fertilità del suolo. In un recente studio del 2009, Ordoñez e collaboratori hanno analizzato la variazione dei "leaf economy traits" (Wright et al. 2004) in funzione del clima e della fertilità del suolo. Diversi studi, riportano come le caratteristiche fogliari possano essere dei buoni "predittori" della risposta delle piante nei riguardi della fertilità di un suolo. In particolare, le piante che attingono i nutrienti da suoli fertili, presentano una maggiore area fogliare specifica ed un alto contenuto di azoto (Poorter and Garnier 1999; Westoby et al. 2002). Come riportato da Ordoñez e collaboratori, anche in altri studi è stato osservato che un basso contenuto di azoto (Meziane e Shipley 2001) e di fosforo (Paoli 2006) nel suolo comportano una riduzione di area fogliare specifica e del contenuto di azoto e fosforo nelle foglie.

Capitolo VII

Materiali e metodi

secondo caso studio: applicazione di compost in sistemi di mesocosmi. Valutazioni sul sistema microrganismi-suolo-pianta

L' area studio

Il sito di studio è ubicato nel Campus dell'Università degli Studi di Napoli Federico II, in località Monte Sant'Angelo, Fuorigrotta (NA) ed è rappresentato da vasconi di cemento costruiti durante l'edificazione del Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale con l'esposizione a nord est-nord ovest (NE-NW). L'area di studio è completamente all'aperto e quindi esposta alle condizioni climatiche esterne con variazioni stagionali, tipiche dell'area Mediterranea. I vasconi sono in totale 18 suddivisi in tre blocchi A-B-C (Figura VII.1).

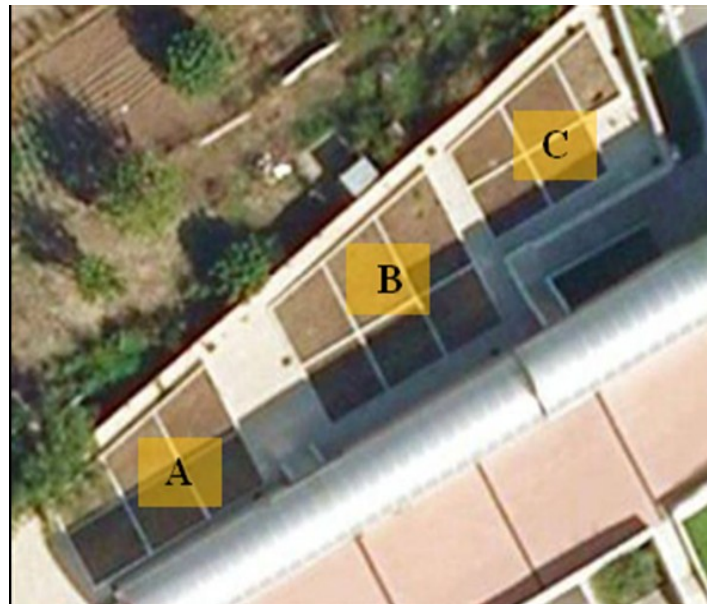


Figura VII.1: I vasconi sono in totale 18 suddivisi in tre blocchi A-B-C. L'area studio è composta da 12 vasconi (blocco A + blocco B).

Per il progetto sono stati utilizzati 12 vasconi in totale, 6 del blocco A e 6 del blocco B. La superficie media è di 16 m^2 ed la profondità di un circa metro; durante l'edificazione del complesso universitario, nei vasconi è stato sversato del materiale di risulta ricavato dai cantieri e ricoperto in superficie da uno strato di suolo di pochi centimetri, riportato dalle aree limitrofe. Nel tempo il

suolo è stato colonizzato da una vegetazione spontanea rappresentata da erbacee annuali, principalmente graminacee e specie pluriennali.

Piano sperimentale

L'allestimento dei mesocosmi

Dopo una caratterizzazione iniziale che ha previsto l'analisi delle caratteristiche del suolo e delle misure di biomassa epigea, l'area studio è stata preparata per il piano sperimentale.

L'allestimento dei mesocosmi è stato compiuto e completato nel mese di dicembre 2010 (6-21/12/2010) durante il quale sono state previste le seguenti fasi:

1) rimescolamento del substrato: questa fase si è resa necessaria per facilitare le operazioni d'interramento dell'ammendante organico. Tutte le parcelle sono state smosse manualmente con l'ausilio di utensili per il dissodamento, fino ad una profondità di circa 20-30 cm. Al momento le parcelle si presentavano ricoperte da una scarsa vegetazione erbacea spontanea, pertanto, la biomassa vegetale è stata incorporata con il suolo ad eccezione di *Malva Sylvestris*, per consentire le misure previste sulle piante.

E' stato stimato l'apporto di biomassa vegetale totale. Dopo il rimescolamento, la superficie del suolo è stata livellata.

2) parcellazione: i mesocosmi sono stati suddivisi in quadrati di lato 1 metro.

3) spargimento di compost: l'applicazione di ammendante organico ha interessato 8 vasconi dei 12 totali, sono stati interrati circa 2 Kg m⁻² di polvere di composta. La superficie del suolo è stata livellata nuovamente.

4) impianto delle specie scelte per la prova: a circa una settimana dall'interramento del compost le piante (*Q. ilex* L. e *Ph. Angustifolia* L.) sono state sistemate in 8 mesocosmi dei quali, 4 sono stati trattati senza ammendante e 4 con compost. Le specie di nuovo impianto potrebbero avere un effetto sia sulla stabilizzazione della sostanza organica del suolo sia avere un effetto rizosfera con il rilascio degli essudati radicali. In ciascun mesocosmo sono state sistemate 6 piante, 3 individui rappresentativi per ciascuna sclerofilla, per un totale di 24 individui per *Q. ilex* e 24 per *Ph. angustifolia*.

5) la gestione dei mesocosmi: durante l'anno di sperimentazione le parcelle sono state sfalciate ed irrigate. Nelle fasi di sfalcio i residui sono stati lasciati sulla superficie, sia per non esporre totalmente i suoli all'azione degli agenti atmosferici sia quale contributo all'apporto di sostanza organica al sistema. Ciascun mesocosmo ha ricevuto al suolo quanto prodotto dalla stessa parcella,

per stimarne la produttività, la componente vegetale è stata raccolta e valutata la biomassa durante la sperimentazione.

Per quanto riguarda l'irrigazione, si è tenuto conto dei giorni di pioggia e in media le parcelle sono state irrigate con frequenza bisettimanale o trisettimanale nei mesi più caldi, con un irrigatore a pioggia solitamente per 40 minuti. In media le parcelle hanno ricevuto un quantitativo di acqua di circa 17 L m⁻².

Le tesi sperimentali

Per l'allestimento delle prove sperimentali, si è tenuto conto di due fattori: 1) la diversa esposizione alla luce solare dovuta all'influenza di costruzioni vicine all'area di studio; 2) la suddivisione in due blocchi separati dei 12 mesocosmi, 6 mesocosmi per il blocco A e 6 per il blocco B.

Il piano sperimentale è stato realizzato allestendo tre ipotesi, equivalenti a tre trattamenti differenti:

NCP: senza aggiunta di compost e interrimento di piante di *Q. ilex* e *Ph. angustifolia*.

CP: apporto di compost pari a 2 kg m⁻² e interrimento di piante di *Q. ilex* e *Ph. angustifolia*.

C: apporto di compost pari a 2 kg m⁻², senza impianto delle sclerofille.

Ciascuna tesi è rappresentata da 4 repliche di campo, tutte le 12 parcelle durante l'allestimento dei mesocosmi hanno ricevuto l'apporto della componente vegetale presente in ciascuna parcella rimescolata con il suolo e la superficie è stata livellata.

L'ammendante

La composta utilizzata nel progetto è stata rifornita dalla Gesenu-igiene ambientale- S.p.A (ai sensi dell'allegato del D.Lgs.217/06) prodotta nell'impianto di Pietramelina (Pg). Il prodotto è iscritto nell'elenco dei fertilizzanti consentiti in Agricoltura Biologica (MIPAAF). La matrice organica è di origine mista, derivata da rifiuti organici della raccolta differenziata, scarti di potatura, sfalci d'erba e scarti vegetali della lavorazione dei prodotti agricoli, non sono stati aggiunte deiezioni animali e fanghi di depurazione. In Tabella VII.VII.1) sono riportate le caratteristiche del compost, analizzato dall'Istituto Sperimentale per la nutrizione delle piante per conto del MIPAAF. Il prodotto ha ottenuto il marchio di qualità certificata dal C.I.C (Consorzio Italiano Compostatori).

Il compost utilizzato è stato prodotto dallo stesso impianto che ha fornito il l'ammendante organico per il primo caso studio.

Tabella VII.VII.1: caratteristiche della polvere di composta utilizzata (GESENU-Igiene Ambientale- S.p.A.). ss= sostanza secca

Elementi e/o sostanze utili	Udm	Analisi media
Umidità	%	35,0
Reazione	pH	7,9
Carbonio organico (C)	%ss	28,0
Acidi umici e fulvici	%ss	14,2
Azoto totale (N)	%ss	2,1
Azoto organico (N)	%ss	2,0
Fosforo (P₂O₃)	%ss	0,8
Potassio (K₂O)	%ss	1,8
Rapporto C/N		13,3
Rame totale (Cu)	ppm	67,2
Zinco totale (Zn)	ppm	146,0
Salinità	Meq/100g	53,2

Per la sperimentazione è stato utilizzato un compost di qualità ottenuto da matrici vegetali, in quanto, ammendanti ottenuti dai fanghi di depurazione o deiezioni animali avrebbero potuto apportare metalli pesanti al suolo, inoltre, il loro uso, benché ampiamente diffuso in agricoltura, poco si sarebbe adattato allo scopo del progetto per la gestione delle aree verdi in un paesaggio urbano.

I campionamenti

Il progetto ha avuto inizio nel mese di Marzo 2010, in questo lavoro sono riportati i dati raccolti fino a Settembre 2011, durante questo periodo sono stati effettuati più campionamenti di suolo e diverse misure sulle piante.

Per il campionamento di suolo è stato seguito uno schema di campionamento non sistemico a “W”, sono state evitate le aree anomale e di bordo, considerando almeno 50 cm di distanza dal perimetro dei mesocosmi (Figura VII.2).

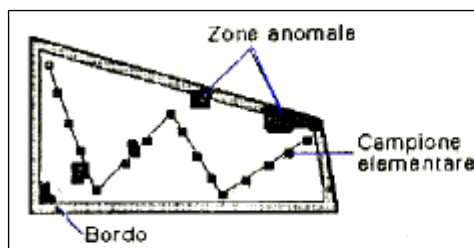


Figura VII.2: schema di campionamento utilizzato per il prelievo dei campioni.

Le date dei campionamenti sia sul suolo sia sulle piante e le misure effettuate sono state riassunte nella tabella (**Errore. Il segnalibro non è definito. Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.**).

In particolare, per il suolo il prelievo di Marzo 2010 è stato utile per fornire dei dati preliminari sui suoli, fino a quel momento mai caratterizzati e per definirne alcune proprietà chimiche, fisiche e biologiche. Il campionamento di Novembre 2010 è stato effettuato prima del trattamento con il compost per fornire delle misure effettuate in condizioni climatiche simili e vicine alla successiva fase di spargimento del compost (Dicembre 2010). Il campionamento di Gennaio 2010 è stato effettuato dopo circa 30 giorni dall'allestimento dei mesocosmi e dal trattamento con il compost, mentre, il campionamento di Maggio 2011 è stato effettuato a circa 5 mesi dall'inizio della sperimentazione.

Il suolo

Il suolo è stato campionato mediante un carotatore (Eijkelkamp ($\varnothing = 5$ cm, $h = 40$ cm), inserito fino ad una profondità di 20 cm. Ciascuna carota di suolo, è stata suddivisa in tre livelli di profondità: 0-3 cm, 3-10 cm e 10-20 cm. La suddivisione è stata realizzata in laboratorio considerando la presenza di radici e le variazioni di colore lungo il profilo. Lo strato 0-3 cm si presenta di colore più scuro rispetto a quelli più profondi, probabilmente, la presenza delle piante erbacee spontanee, delle radici e degli essudati radicali hanno arricchito lo strato più superficiale di sostanza organica. Tra la profondità 3-10 cm e 10-20 cm, di colore grigio scuro, non è stata notata un'evidente variazione di colore, tuttavia, la suddivisione è stata realizzata per evidenziare cambiamenti lungo il profilo delle

caratteristiche differenti del suolo, in particolare per il contenuto di sostanza organica e le proprietà biologiche.



Figura VII.3: il carotatore (Eijkelkamp ($\varnothing=5$ cm, $h=40$ cm) e la carota di suolo prelevato

Al fine di ottenere una popolazione campionaria rappresentativa, per ognuno dei 12 mesocosmi è stato ottenuto un singolo campione di suolo per ciascuna delle tre profondità indagate, ciascuno ottenuto dal mescolamento di tre sub campioni, ovvero, tre carote di suolo per ciascun mesocosmo. Le 4 repliche di campo per i tre trattamenti (CP, NCP e C) sono state mantenute separate.

La biomassa vegetale totale

Per il campionamento di biomassa vegetale totale è stato utilizzato un quadrato di metallo di 20 cm x 20 cm, all'interno del quale è stata raccolta la biomassa. Il prelievo è stato realizzato fino alla profondità di estensione delle radici e considerando che in media la rizosfera nei mesocosmi oggetto di studio, non si estende oltre i 3-4 centimetri dalla superficie. Per ciascun campionamento, in ogni parcella sono state effettuate due repliche di campo ad eccezione del campionamento di Marzo 2010, in cui il prelievo è stato eseguito su tre repliche.

Le piante

Sulle tre specie *Q. ilex*, *Ph. angustifolia* e *M. Sylvestris* sono state campionate le foglie prive di evidenti segni di danni strutturali, completamente espanse ed esposte alla luce solare. Per ciascun individuo sono state raccolte due foglie per un totale di 6 foglie di *Q. ilex* e *Ph. Angustifolia* per ciascuna tesi sperimentale con piante (CP e NCP), mentre, le foglie di *M. Sylvestris* sono state raccolte in tutti i mesocosmi in cui era presente la pianta e per le tre prove sperimentali (CP, NCP e C).

Inoltre, sulle due specie sclerofille impiantate sono state effettuate anche delle misure di altezza, lunghezza e diametro del fusto.

Le analisi sul suolo

Le analisi sono state eseguite sulla frazione fine del suolo setacciato a 2 mm e per le tre profondità, dove si è proceduto diversamente è stato riportato nel relativo paragrafo. Alcune caratteristiche fondamentali del terreno quali scheletro e tessitura, reazione (pH), carbonati totali, calcare attivo, capacità di scambio cationico e conduttività elettrica, non si modificano nel tempo, se non lentamente. Pertanto, esse potranno essere esaminate una tantum solo in funzione di specifiche esigenze (MIRAAF, 1995).

I parametri chimici

Il pH

Il pH è stato misurato sulla sospensione acquosa di suolo in rapporto 1:2.5, come descritto precedentemente nel paragrafo IV.3.1 pag.xx.

La sostanza organica

La sostanza organica è stata determinata per incenerimento, i campioni sono stati pretrattati con una soluzione al 10% di acido cloridrico (HCl). In capsule di ceramica ($\varnothing = 10 \text{ cm}$) sono stati pesati 3 g di terreno secco setacciato a 0,5 mm ai quali stati aggiunti 8 ml di una soluzione di HCl 10%. Il pretrattamento consiste in una prima fase in cui i campioni sono stati lasciati per una notte a contatto con la soluzione acida (8 ml), seguita da una seconda aggiunta di 8 ml di HCl 10%. L'eccesso è stato fatto evaporare sotto cappa su una piastra riscaldata, le capsule con il terreno trattato sono state poi inserite in muffola ed il suolo è stato incenerito per circa 2 ore a 550°C (Allen, 1989).

La determinazione del contenuto di sostanza organica nel suolo è stata eseguita su ciascuna profondità per i dodici mesocosmi.

Il contenuto di sostanza organica è stata riportata in g g^{-1} p.s. ed espressa come percentuale:

$$[SO = (\text{peso secco iniziale} - \text{peso incenerito}) / \text{peso secco iniziale}) \times 100]$$

Dal valore della sostanza organica è stato calcolato il carbonio organico considerando che è il 58% della sostanza organica.

Per ciascuna profondità sono state eseguite due repliche di laboratorio, per un totale di 72 campioni per ciascun campionamento di suolo.

Gli elementi

Il suolo setacciato a 2 mm è stato polverizzato in un mortaio di agata ed utilizzato per determinare il contenuto di alcuni elementi (C, Cd, Cr, Cu, Fe, N, Na, Ni, Mg, Mn, K, Pb, Zn).

Contenuto di carbonio ed azoto totale

Il contenuto di C e N del suolo è stato determinato per gascromatografia (Elemental Analyser, Flash 112 Series EA). Circa 15mg di campione polverizzato, sono stati pesati in capsuline di stagno. L'analizzatore elementare è dotato di un campionatore automatico che immette le capsuline in una camera di combustione (900°C) dove i campioni vengono ossidati completamente e istantaneamente producendo CO₂ e NO_x, gli ossidi di azoto vengono ridotti ad azoto molecolare (N₂) da uno specifico catalizzatore (ossido di cobalto argentato e ossido di cromo). I ppm di CO₂ ed NO_x sono rilevati da un detector a conduttività termica (TCD- thermal conductivity detector) che, al passaggio degli ossidi, registra i segnali come variazioni della differenza di potenziale necessarie a mantenere costante la temperatura del detector stesso (60°C).

Il contenuto di carbonio e quello di azoto totale, espressi come percentuale su peso secco di campione, sono forniti direttamente dallo strumento sulla base della curva lineare di taratura elaborata dal software di gestione dell'analizzatore (EAGLE 2000) realizzata utilizzando una serie di campioni a peso noto di uno standard certificato (Carlo Erba) C= 49,81%; N=1,86%.

Per ciascuna profondità sono state eseguite tre repliche di laboratorio, per un totale di 108 campioni per ciascun campionamento di suolo.

Contenuto di Cd, Cr, Cu, Fe, Na, Ni, Mg, Mn, K, Pb, Zn

L'estrazione degli elementi totali, Cu, Pb, Cd, Cr, Ni, Fe, Zn, Mn, K, Mg, Na, è stata ottenuta attacco attraverso una mineralizzazione con acidi dei campioni.

Circa 250 mg di suolo polverizzato, è stato pesato in tubi di digestione (TFM) in teflon, sono stati aggiunti HNO₃ (65%) e HF (50%) nel rapporto 2:1= v:v, parallelamente è stata preparata la prova per il bianco per la quale è stata usata la medesima quantità dei due acidi per il trattamento del campione ma senza il suolo. I tubi sono stati chiusi ermeticamente con appositi tappi a pressione e posti in un fornello a microonde Milestone (Digestor/Dryng Module mls 1200) col seguente programma per la digestione:

1. 250 watt per 5 minuti;
2. 400 watt per 5 minuti;
3. 0 watt per 2 minuti;
4. 500 watt per 5 minuti;

5. 0 watt per 2 minuti;
6. 400 watt per 5 minuti;
7. 0 watt per 2 minuti;
8. 400 watt per 5 minuti;
9. 0 watt per 2 minuti;
10. 400 watt per 5 minuti.

Dopo il raffreddamento in un bagnetto d'acqua a temperatura ambiente, i tubi sono stati aperti e la soluzione ottenuta dalla digestione è stata trasferita in palloni volumetrici e diluita con acqua deionizzata fino ad un volume di 50 ml.

Frazione disponibile di Cd, Cr, Cu, Fe, Na, Ni, Mg, Mn, K, Pb, Zn

Per la determinazione nel suolo della frazione disponibile di Cd, Cr, Cu, Fe, Na, Ni, Mg, Mn, K, Pb, Zn Mn, i campioni sono stati trattati con una soluzione estraente dell'acido dietilentriamminopentacetico (DTPA) preparata con 1,97 g di (DTPA), 1,47 g di calcio cloruro idratato e 14,92 g di trietanolammina (TEA), portata pH di $7,3 \pm 0,05$ con HCl 1N, e poi a volume di 1000 ml con acqua deionizzata.

Circa 50 ml della soluzione estraente sono stati aggiunti a 25 g di terra fine essiccata in stufa a 75°C ($\text{Ø} < 2\text{mm}$). I campioni sono stati posti in agitazione per 120 minuti e passati su filtri di carta (Whatmann n°42) raccogliendo il filtrato in un contenitore di materiale plastico munito di tappo a vite.

L'estrazione del contenuto disponibile di K, Mg e Na è stata effettuata mediante una soluzione di cloruro di bario (BaCl_2) e TEA a $\text{pH}=8,1$, preparata con 100 g di bario cloruro ($\text{BaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) e 22,5 mL di trietanolammina (TEA), la soluzione è stata portata a pH 8,2 con HCl 1N ed a volume con H_2O deionizzata in matraccio tarato da 1000 mL.

In questo caso sono stati pesati 2,5 g di terreno a cui sono stati aggiunti 50 ml soluzione estraente, i campioni sono stati posti in agitazione per 60 minuti e poi filtrati come per i precedenti.

I bianchi contengono solo la soluzione estraente, DTPA per gli elementi Cu, Pb, Cd, Cr, Ni, Fe, Zn, Mn ed BaCl_2 per K, Mg e Na.

L'analisi degli elementi Cu, Pb, Cd, Cr, Ni, Fe, Zn, Mn, K, Mg, Na è stata condotta su due profondità 0-10 cm e 10-20 cm, per un totale di 72 campioni per ciascuna estrazione. Per ogni campione lo strumento esegue due letture la cui media fornisce il singolo valore. L'analisi degli elementi sopra riportati è stata eseguita nel campionamento preliminare Marzo 2010.

La determinazione quantitativa di Cu, Pb, Cd, Cr, Ni totale e disponibile è stata effettuata in spettrometria di massa in assorbimento atomico con atomizzazione in fornetto di grafite (Spectra AA220 FS, Varian), sotto flusso di argon.

La determinazione quantitativa di Fe, Zn, Mn, Na, K, Mg totale e disponibile è stata ottenuta con la modalità di atomizzazione con fiamma aria-acetilene (FAAS, AAnalyst 100, Perkin Elmer).

Le concentrazioni sono determinate da una curva di taratura costruita utilizzando soluzioni a concentrazioni note e crescenti di ciascun elemento considerato, lo strumento legge i valori di assorbanza convertiti automaticamente in concentrazione dal software di gestione interfacciato con lo strumento. La concentrazione di Cu, Pb, Cd, Cr, Ni è espressa in $\mu\text{g L}^{-1}$ e trasformata in $\mu\text{g g}^{-1}$, per Fe, Zn, Mn Na, K, Mg, lo strumento fornisce la concentrazione in mg L^{-1} ed è stata espressa in mg g^{-1} .

Il contenuto dei nutrienti è stato calcolato utilizzando la seguente espressione:

$$[C = (A-B)*D*V/m]$$

dove:

C = contenuto del metallo nel suolo, espresso in mg g^{-1} o $\mu\text{g g}^{-1}$

A = concentrazione del metallo nella soluzione del campione, espressa dallo strumento

B = concentrazione del metallo nella prova in bianco, espressa in mg/l ;

D = fattore di diluizione (D=1 se la soluzione in esame non è stata diluita);

V = volume finale espresso in millilitri;

m = massa del campione di terra fine, espressa in peso.

I parametri fisici

La composizione fisica del terreno

Per quanto riguarda la struttura fisica del terreno è stata fatta una caratterizzazione fisica dello scheletro e della terra fine. I campioni sono stati preparati come riportato dal Metodo Ufficiale II.1². Tuttavia, considerando la natura del substrato, ho ritenuto essere necessarie delle modifiche, in particolare, il suolo non è stato martellato e frantumato come riportato dal metodo.

Il suolo è stato prelevato lungo il profilo 0-20 cm ed è stato raccolto per i 6 vasconi del blocco A ed i 6 del blocco B. Dal campione è stata prelevata un'aliquota rappresentativa. Per l'analisi è stato utilizzato un separatore automatico dotato dei seguenti setacci con luce netta delle maglie da 2 mm, 0.5 mm; minore 0.2 mm. L'analisi è stata condotta presso il CIRAM- Centro Interdipartimentale di

²MIPAAF-"Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo" Gazz. Uff. Suppl. Ordin.. n°248 del 21.10.1999.

Ricerca Ambientale ed è stato utilizzato un setacciatore automatico IG3-EXP (Giuliani), scegliendo un tempo di 10 minuti.

Per la separazione delle frazioni fini un'aliquota di suolo setacciato a 2mm è sciolto in un becker contenente acqua. La miscela suolo ed acqua è stata passata in setacci a maglie da 0.25 mm e 0.04 mm. Le frazioni sono state raccolte in recipienti di vetro e pesati dopo evaporazione dell'acqua.

La capacità di campo, la bulk density e WFPS

La capacità idrica massimale, o capacità di campo, è stata determinata con il metodo gravimetrico su suolo fresco. Sono stati utilizzati per le misure, cilindri di plastica ($\varnothing = 5$ cm, $h = 15$ cm), a peso noto, aperti sulla sommità e con fondo forato ricoperto internamente da carta assorbente. I cilindri sono stati immersi parzialmente in acqua fino ad ottenere la completa imbibizione del campione. Dopo una notte è stato determinato il peso a saturazione ed i campioni sono stati essiccati in stufa a 75°C fino a raggiungimento del peso costante.

Il valore della capacità idrica massimale è stato calcolato con la seguente formula ed è espressa come %:

$$[CIM = (\text{peso netto a saturazione} - \text{peso netto secco}) / \text{peso netto secco} * 100]$$

La determinazione della CIM è stata eseguita per ciascun mesocosmo.

La *bulk density* è stata ottenuta dalla seguente formula ed espressa in g cm^{-3} .

$$[\text{bulk density} = \text{peso secco netto} / \text{volume del carotatore}]$$

La porosità del suolo e la WFPS (*water filled pore space*) sono misurate indirettamente dalla *bulk density* (ρ).

La porosità del suolo è espressa in % ed è data dalla seguente formula:

$$[\text{porosità} = 1 - (\rho / 2.65) * 100]$$

dove il valore 2.65 g cm^{-3} è la densità di una particella media di sabbia (Rowell, 1993).

La WFPS è l'acqua che occupa i pori del suolo, è espressa come percentuale ed è ricavata dalla seguente formula:

$$[WFPS = (\text{volume di acqua} / \text{porosità del suolo}) * 100]$$

dove il volume di acqua è espresso in g cm^{-3} ed è dato da:

$$[\text{volume di acqua} = \text{contenuto di acqua nel suolo} * \text{bulk density}]$$

il contenuto di acqua nel suolo è riportato in g g^{-1} e la *bulk density* in g cm^{-3} .

Il tenore idrico

Il tenore idrico è stato determinato con metodo gravimetrico, come esposto nel paragrafo IV.3

I parametri microbici

Le analisi sono state eseguite sulle 4 repliche di campo per ciascuna delle tre ipotesi sperimentali, i dati sono stati ottenuti dalla media dei 4 valori.

Per i dodici mesocosmi sono stati ottenuti 36 campioni per ogni campionamento. Il suolo fresco è stato conservato in frigorifero ad una temperatura di 3-4°C fino al momento delle analisi.

La biomassa e l'attività microbica

Per determinare la durata dell'incubazione è stata eseguita una prova d'incubazione a 3-5-10 giorni, scegliendo un tempo di 5 giorni.

La biomassa e l'attività microbica sono state determinate come evoluzione di anidride carbonica (CO₂) dopo 5 giorni d'incubazione in camera calda a circa 25 °C, al buio. La CO₂ è stata determinata con una doppia titolazione.

Per la biomassa microbica è stato utilizzato il metodo della respirazione indotta da substrato con aggiunta di una soluzione di glucosio 75 mM (SIR, Anderson e Domsch, 1978). La respirazione basale è stata determinata come evoluzione di anidride carbonica (CO₂) da suoli incubati solo con aggiunta di acqua. Per entrambe le misure sono state eseguite le medesime fasi.

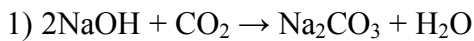
In una capsulina di vetro sono stati pesati circa 3 g di suolo fresco setacciato a 2 mm, per la pesata ci si è riferiti al contenuto di acqua per grammo di suolo di ciascun campione, per riportare i valori al grammo di suolo secco.

Subito prima dell'incubazione ai campioni sono stati aggiunti 3 ml (rapporto 1:1 con il terreno) di substrato.

In un barattolo di vetro a chiusura ermetica, 500 ml di volume, sono stati inseriti la capsulina di vetro contenente il campione più il substrato ed un becker contenente 15 ml d'acqua distillata, per evitare che l'ambiente all'interno del barattolo durante l'incubazione risultasse troppo secco. Sul fondo di ciascun barattolo sono stati inseriti 10 ml di NaOH (0.1 N), come trappola di CO₂.

Parallelamente alla preparazione dei campioni sono stati preparati cinque bianchi, con il becker con 15 ml di acqua e 10 ml di NaOH (0.1 N) sul fondo, ma senza le capsule contenenti il terreno. I bianchi sono stati utilizzati per sottrarre al campione l'eventuale anidride carbonica presente nel barattolo e non derivante dalla respirazione microbica.

Durante l'incubazione l'idrossido di sodio, aggiunto sul fondo del barattolo, reagisce con la CO₂ racchiusa nel barattolo ed evoluta dagli organismi del suolo, producendo Na₂CO₃, secondo la seguente reazione:



Al termine dei 5 giorni d'incubazione è stata determinata la CO_2 evoluta dal terreno che si è legata alla soda mediante doppia titolazione con HCl (0.05 N).

Durante la prima titolazione, nella quale si utilizza come indicatore la fenolftaleina in 1% di etanolo, l'acido cloridrico neutralizza la soda in eccesso, che non ha reagito con la CO_2 .

L'acido reagisce con il carbonato di sodio ottenuto dalla reazione, quando tutto il carbonato è stato convertito in bicarbonato, la fenolftaleina vira da violetto ad incolore. Nella seconda titolazione viene usato come indicatore il metilarancio, che vira da giallo ad arancio quando tutta la CO_2 viene liberata dal bicarbonato di sodio secondo la seguente reazione:

La quantità di CO_2 evoluta da ciascun campione è ricavata mediante la formula seguente:

$$[mg \text{CO}_2 = 2 \cdot (a - b) \cdot 1.1]$$

dove:

a = ml di HCl utilizzati nella seconda titolazione del campione;

b = ml di HCl utilizzati nella seconda titolazione del bianco,

2= è dato dal rapporto stechiometrico della reazione. Corrisponde al numero di moli di HCl 0,05 N che occorrono per liberare una mole di CO_2

1.1= mg C- CO_2 liberata per ogni millilitro di HCl utilizzato nella titolazione corrispondono 1.

Per ottenere il titolo reale della soluzione titolante di HCl ho eseguito una titolazione con un titolante primario, il sodio carbonato (Na_2CO_3). Una quantità di soluto compresa tra 0,08 e 0,12 g è stata disciolta in 100 ml di acqua distillata, la soluzione è stata titolata con metilarancio.

Le moli ed i mg di C- CO_2 liberati per mL di HCl N20, considerate nel calcolo, sono state riportate al titolo reale della soluzione.

Calcolo della biomassa microbica

La quantità di carbonio della biomassa microbica dai campioni di terreno è ricavata dalla SIR:

$$[C_{mic} = mg \text{C-CO}_2 * 0.14]$$

dove:

0,14= è il valore arrotondato della frazione di carbonio della biomassa mineralizzata a CO_2 durante l'incubazione (Jenkinson e Ladd, 1981);

$$[mg \text{C-CO}_2 = mg \text{CO}_2 * 0.27]$$

dove:

0.27= è dato dal rapporto (12/44) tra il peso atomico del carbonio e massa molecolare di una molecola di anidride carbonica.

La biomassa microbica è stata riportata ai giorni d'incubazione ed espressa in $\mu\text{g C}_{\text{mic}} \text{ g}^{-1} \text{ p.s.}$

Calcolo del quoziente metabolico

$$[q\text{CO}_2 = \text{mg C-CO}_2 / \text{mg C micr}]$$

Il quoziente metabolico è stato riportato in $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ C}_{\text{micr.}} \text{ h}^{-1}$.

Calcolo coefficiente endogeno di mineralizzazione

Il coefficiente di mineralizzazione endogena (CEM) rappresenta il rapporto tra il carbonio evoluto come CO_2 durante l'incubazione ed il contenuto di carbonio organico del suolo:

$$[CEM = \text{mg C-CO}_2 / \text{g C org}]$$

Di conseguenza il CEM fornisce una misura dell'efficienza di un suolo nel mineralizzare il proprio carbonio organico

Biomassa fungina attiva e totale

Per la determinazione della biomassa fungina è stato applicato il metodo della conta delle intersezioni al microscopio ottico per il micelio totale, (Olson, 1950), ed al microscopio a fluorescenza per la frazione attiva (Söderström, 1977; Söderström, 1979). Si rimanda al paragrafo IV.3

La biomassa vegetale

Con l'aiuto di un setaccio a maglie di 2 mm da ciascun campione è stata recuperata la frazione fine del suolo la quale è stata mescolata al corrispettivo strato 0-3 cm del campione di terreno. La biomassa vegetale è stata sottoposta a ripetuti risciacqui per eliminare le parti di suolo che potrebbero interferire con il peso finale.

L'essiccazione del materiale vegetale è stata ottenuta in stufa a 75°C fino al raggiungimento del peso costante. Per la determinazione finale del peso g p.s. m^{-2} sono state sottratte le ceneri, ottenute per incenerimento in muffola a 550°C per 2 ore di circa 1 g di campione secco.

Sono stati analizzati un totale di 24 campioni per ciascun campionamento ad esclusione del campionamento di Marzo 2010. In tale fase preliminare per l'analisi della composizione vegetale sono state effettuate tre repliche di campo per un totale di 36 campioni. In laboratorio il campione è stato suddiviso in tre gruppi, graminacee, leguminose ed altro, che raccoglie le specie non appartenenti ai primi due gruppi. Per ciascun gruppo è stata stimata la biomassa epigea ed ipogea, per un totale di 72 campioni.

Le piante

Per ciascun campionamento sono state analizzate un totale di circa 48 foglie per *Q. ilex* e *Ph. Angustifolia* e circa 72 foglie di *M. Sylvestris*, campionate nei mesi in cui la pianta presentava le foglie.

I dati sono stati ottenuti sulla media dei valori delle due foglie raccolte per ciascun individuo e mediati per le quattro repliche di campo.

La fluorescenza

Per valutare se la crescita su compost potesse comportare un qualche beneficio alle piante, sono state condotte in campo nei diversi mesocosmi misure di emissione di fluorescenza da parte della clorofilla a, utilizzando come indice fotochimico il rapporto F_v/F_m . Tale parametro è un indice molto usato in ecofisiologia per valutare la potenziale efficienza di conversione della luce ai centri di reazione da parte dei fotosistemi. La differenza tra F_m e F_0 rappresenta la fluorescenza variabile al buio (F_v) ed il rapporto F_v/F_m indica la massima efficienza fotochimica del PSII in una foglia adattata al buio (Maxwell & Johnson 2000, Chlorophyll fluorescence – a practical guide. Journal of Experimental Botany, 51(345): 659-668).

F_v/F_m è stato misurato con un fluorimetro a luce modulata (mini-PAM, Walz, Germany) su foglie giovani (cresciute dopo l'aggiunta di compost) pienamente espanse adattate al buio per un tempo di 30 minuti.

La determinazione delle caratteristiche fogliari

Le caratteristiche fogliari funzionali sono state misurate secondo Cornelissen et al. (2003).

In ciascun mesocosmo sono state prelevate 2 foglie per pianta e sono state eseguite le misure di: area fogliare (*LA-leaf area*), area fogliare specifica (*SLA-specific leaf area*), grado di sclerofillia (*GS-leaf sclerophylly*), contenuto fogliare di materia organica secca (*LDMC-leaf dry matter content*) e contenuto idrico relativo delle foglie (*RWC-relative water content*).

L'area fogliare, l'area fogliare specifica ed il grado di sclerofillia

L'area fogliare (LA) è stata determinata per ciascuna delle tre specie oggetto di studio: leccio, fillirea e malva nei diversi mesocosmi sperimentali. Una volta raccolte le foglie in campo, esse sono state velocemente pesate per la determinazione del peso fresco, successivamente, si è proceduto alla determinazione dell'area fogliare, mediante fotocopia cartacea della foglia con semplici calcoli di proporzione. Una volta determinato il peso fresco, le foglie sono state collocate in una stufa a 70°C

e ivi tenute per la determinazione del peso secco (solitamente raggiunto nell'arco delle 48 h). Una volta ottenuto il peso secco è stata calcolata l'area fogliare (LA) come:

$$[SLA = \text{peso secco della foglia} / \text{area della foglia}]$$

Lo SLA, si esprime in cm^2 di superficie fogliare per grammo di peso secco, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$.

Il grado di sclerofillia GS è l'inverso dello SLA ed è espresso in g cm^{-2} .

Il contenuto fogliare di materia organica secca

Il contenuto fogliare di materia organica secca (LDMC), può essere considerato un indice di densità tissutale delle foglie. Per la determinazione dell'indice di densità tissutale, è necessario ottenere il peso a turgore per ciascuna foglia, immergendo il picciolo in acqua. Dopo 48 ore di imbibizione, il peso della foglia raggiunge il massimo turgore (la foglia non aumenta più di peso). Dopo aver misurato il peso a turgore la foglia è stata collocata in una stufa a 75°C per altre 48 ore per il peso secco.

Con questi due valori di peso si è proceduto infine alla determinazione dell'indice di densità tissutale calcolato come:

$$[LDMC = \text{peso secco} / \text{peso turgore}]$$

LDMC è stato espresso in g g^{-1} come massa secca su massa fresca di foglia portata a saturazione.

Il tenore idrico delle foglie

Il tenore idrico fogliare è la quantità di acqua presente nella foglia al momento del campionamento. Per il calcolo del tenore idrico, le foglie prelevate dalle tre specie (leccio, fillirea e malva) presenti nei diversi mesocosmi, sono state immediatamente pesate (onde evitare una sottostima del peso dovuta alla perdita di acqua dal tessuto fogliare per evaporazione) e successivamente seccate in stufa a 75°C . Al raggiungimento del peso costante, le foglie sono state nuovamente pesate per la determinazione del peso secco. Il tenore idrico fogliare è stato espresso in percentuale:

$$[TIf = ((\text{peso fresco} - \text{peso secco}) / (\text{peso secco}) \times 100)]$$

Il contenuto idrico relativo delle foglie

La determinazione dell'RWC, è stata eseguita scegliendo accuratamente per una corretta determinazione, foglie pienamente sviluppate di età comparabile. Per il calcolo del contenuto idrico relativo, le foglie prelevate dalla pianta sono state pesate per la determinazione del peso fresco e successivamente immerse con il picciolo in capsuline di vetro per ottenere l'assorbimento dell'acqua da parte della foglia. Dopo circa 48 h, i campioni, raggiunto il massimo turgore, sono stati nuovamente pesati al fine di determinarne il peso a saturazione. Infine i campioni sono stati

essiccati in stufa a circa 75° C fino al raggiungimento del peso costante. Il contenuto idrico relativo della foglia è stato espresso come:

$$[RWC = ((\text{peso fresco} - \text{peso secco}) / (\text{peso alla saturazione} - \text{peso secco}) \times 100)]$$

Il valore è riportato come %.

Le caratteristiche chimiche delle foglie

C e N totale

Le foglie di *Q. ilex*, *Ph. angustifolia* e *M. Sylvestris*, sono state caratterizzate per il contenuto di carbonio ed azoto totale, determinati tramite gascromatografia con analizzatore elementare (Elemental Analyser, Flash 112 Series EA).

Per l'analisi di carbonio ed azoto nelle foglie sono stati pesati in capsuline di stagno circa 5 mg di campione polverizzato. Si rimanda a

il paragrafo VI.xxx.

Per l'analisi del contenuto di carbonio ed azoto fogliare, le foglie campionate per ciascuna delle tre specie sono state separate per trattamento (CP, NCP e C per *M. Sylvestris* e CP ed NCP per *Q. ilex*, *Ph. angustifolia*). Per ciascun trattamento e per ciascuna specie sono state effettuate tre repliche di laboratorio, per un totale di 12 e 18 campioni.

Analisi statistica dei dati

La significatività delle differenze è stata valutata mediante l'analisi delle varianze (ANOVA, $P < 0.05$) utilizzando il programma Sigma Stat (in SigmaPlot 11, Systat Software Inc.). Nel caso in cui sia stata riscontrata una differenza significativa ($P < 0.05$) è stato eseguito il test Student-Newman-Keuls.

L'analisi della varianza è stata eseguita sui singoli valori per ciascun indice ottenuto dalla media delle quattro repliche di campo. I dati che non hanno superato il test di normalità sono stati normalizzati in Log_{10} , per i valori minori di 1 è stata utilizzata la seguente trasformazione ($1 - \text{Log}_{10}$)

Capitolo VIII

Risultati e discussione

*secondo caso studio: applicazione di compost in sistemi di mesocosmi.
Valutazioni sul sistema microrganismi-suolo-pianta*

I.1 Caratterizzazione chimico fisica del suolo

In tabella sono riportate le caratteristiche chimiche e fisiche valutate per la caratterizzazione iniziale dell'area studio (Tabella VIII.1). Dall'analisi fisica i suoli esaminati sono risultati prevalentemente sabbiosi.

Tabella VIII.1: Valori ottenuti per le caratteristiche fisiche e chimiche dei 12 mesocosmi oggetto di studio. Il contenuto totale e la frazione disponibile dei metalli è riportato tra le proprietà chimiche ed è suddiviso per le due profondità 0-10 cm e 10-20 cm, e per i mesocosmi del gruppo A e del gruppo B. In tabella, (*) indica le differenze significative tra A e B; (#) è riportato per gli errori standard minori di 0.005. Inoltre, dall'analisi della varianza risultano il contenuto totale e disponibile dei metalli e dei nutrienti è risultato significativo tra le due profondità 0-10 e 10-20 in ciascun gruppo per i disponibili ed il Pb totale ($P < 0.05$, Student-Newman-Keuls Method).

	CIM % p.s.	WFPS %p.s.	ρ g cm ⁻³	P % p.s.	scheletro % p.s.	sabbia grossa % p.s.	sabbia fine % p.s.	limo argilla % p.s.
Proprietà chimiche	42±1.1	42±1	0.9±0.03	65±1.2	21	24	31	44
Proprietà chimiche	<u>Cd</u>	<u>Cr</u>	<u>Cu</u> μg g ⁻¹ p.s.	<u>Ni</u>	<u>Pb</u>			
0-10	tot. i.r.	1.3±0.2*	11±2*	1±0.05	42±1*			
	disp. i.r.	i.r.	1 10 ⁻² #	4 10 ⁻³	0.3±0.05			
10-20	tot. i.r.	1.2±0.1	10±1	0.9±0.1	47±3			
	disp. i.r.	i.r.	7 10 ⁻² #	9 10 ⁻³	0.8±0.1*			
Proprietà chimiche	<u>Fe</u>	<u>Mg</u>	<u>Mn</u> mg g ⁻¹ p.s.	<u>Na</u>	<u>K</u>	<u>Zn</u>		
0-10	tot. 13±1*	3.7±0.2	0.7±0.4*	20±0.5	515±3*	0.1#		
	disp. 4 10 ⁻³ #	4 10 ⁻² #	6·10 ⁻³ #	0.3±0.06*	0.8#	4 10 ⁻³ #		
10-20	tot. 13±1	3.6±0.1	0.8±0.4	20±0.5	515±3*	0.1#		
	disp. 1.6 10 ⁻² #	2 10 ⁻² #	4 10 ⁻³ *	0.2±0.03	0.8#	4 10 ⁻³ #		

Dall'analisi della varianza i mesocosmi non sono differenti per le caratteristiche fisiche di bulk density, CIM e tessitura del suolo. L'area di studio per le proprietà chimiche è stata caratterizzata anche lungo il profilo 0-10 cm e 10-20 cm per il contenuto totale e disponibile degli elementi, le

differenze sono risultate significative per il suolo dei due gruppi A e B dell'area studio, inoltre sono risultate significative anche le differenze della frazione disponibile lungo il profilo indagato ($P < 0.05$, Student-Newman-Keuls Method).

Per il contenuto di sostanza organica dall'analisi della varianza si ha un decremento significativo ($P < 0.001$, Student-Newman-Keuls Method) lungo il profilo del suolo 0-3 cm, 3-10 cm, 10-20 cm. Per lo strato 0-3 cm i valori medi sono di circa il 6.5% p.s. ad eccezione del campionamento di novembre per il quale è stato stimato un contenuto medio di SO dell'8% p.s., mentre, per le profondità 3-10 cm e 10-20 cm, il valore medio è rispettivamente di circa il 4 % e 3% p.s. C-N e C/N

In particolare, l'analisi della varianza mette in risalto che le differenze di SO lungo il profilo del suolo sono significative per il pretrattamento (marzo'10 e novembre'10) per 3-10 cm e 10-20 cm per marzo'10. Ad un mese e cinque mesi dalla sperimentazione, le differenze tra gli strati non sono significative, questo potrebbe essere dovuto al rimescolamento del suolo con la lavorazione che potrebbe aver ridistribuito la SO lungo il profilo. I campioni di marzo e novembre sono "indisturbati" da almeno 6 anni per tanto potrebbe essersi creata una diversa distribuzione degli elementi e del contenuto di carbonio organico lungo il profilo del suolo.

Il pH ha un valore di circa 8, secondo quanto riportato dalla classificazione dell' USDA (USDA-United States Department of Agriculture 1993) può essere considerato da debolmente alcalino per lo strato 0-3 cm ($pH=7.8$) a moderatamente alcalino per 3-10 e 10-20 cm ($pH=8.3$). Le differenze di pH sono significative per i vari strati tra i diversi campionamenti ($P < 0.001$, Student-Newman-Keuls Method). Il tenore idrico è più elevato in superficie e decresce in profondità e le differenze sono significative ($P < 0.001$, Student-Newman-Keuls Method) tra 0-3 e 3-10 cm, mentre, non è significativa la differenza tra 3-10 e 10-20 cm. Questo parametro è molto influenzato dalle condizioni ambientali e tende ad essere più basso nei periodi più caldi quando aumentano le temperature e diminuiscono le precipitazioni (clima mediterraneo). Per i mesocosmi le differenze tra i campionamenti sono significative ($P < 0.001$, Student-Newman-Keuls Method) ad eccezione di gennaio e marzo.

Biomassa totale della comunità vegetale spontanea

I valori di biomassa vegetale totale variano tra 0.300 e 1.3 Kg m^{-2} , rispettivamente per novembre 2011 e marzo 2010. La produttività per ciascun mesocosmo è di circa 0.700 g m^{-2} , con il valore minimo di circa 0.400 Kg $m^{-2} a^{-1}$ per il mesocosmo 7 e massimo per il 10 di circa 1 Kg $m^{-2} a^{-1}$.

La produttività totale dell'area studio è stata ottenuta dalla media dei tre prelievi effettuati marzo e novembre 2010, e maggio 2011, le differenze sono significative tra i tre campionamenti ($P < 0.001$, Student-Newman-Keuls Method).

Per il campionamento di marzo 2010 è stata fatta un'analisi della composizione della comunità vegetale spontanea dei mesocosmi (Fig...), la biomassa epigea raccolta è stata suddivisa in graminacee, leguminose ed altro. Le graminacee ed il terzo gruppo, sono la componente predominante in tutti mesocosmi, mentre, le leguminose sono poco rappresentate, le differenze tra le tre componenti sono significative ($P < 0.05$, test di Dunn).

Indicatori microbici

I risultati per gli indici microbici sono stati riportati in grafico per due campionamenti preliminari, marzo-novembre 2010 e per i due campionamenti successivi la fase di sperimentazione, gennaio e maggio 2011.

In generale per gli indici microbici è stato osservato un decremento significativo lungo il profilo del suolo per il carbonio microbico ($P < 0.05$) ed altamente significativo per la respirazione microbica ($P < 0.01$), per il grado di significatività è stato scelto il test di Student-Newman-Keuls. Inoltre significative risultano le differenze tra i campionamenti, in particolare sono risultati significativi i valori misurati per gli indici microbici tra il pretrattamento ed i trattamenti con compost e tra 1 mese e 5 mesi dalla sperimentazione ($P < 0.05$, Student-Newman-Keuls Method).

La biomassa microbica (BM) è elevata per tutti i campionamenti, e si può osservare che anche per la profondità 10-20 cm sono stati ottenuti valori elevati di carbonio microbico. Per la variazione del carbonio microbico lungo il profilo, è significativa tra 0-3 cm e 10-20 cm ma non tra 3-10 cm e 10-20 cm, per tutti i campionamenti ad esclusione di gennaio '11.

In particolare, sono significative le differenze tra tutte le tre profondità; per il pre-trattamento le differenze sono significative tra 0-3 cm e 3-10 cm (3-10 cm = 10-20 cm). A trenta giorni dal compost 0-3 cm e 3-10 cm sono diversi da 10-20 cm, mentre, a 6 mesi dal compost, le differenze tra le tre profondità indagate sono tutte significative ($P < 0.05$, Student-Newman-Keuls Method).

Si può osservare che la RB è molto elevata per lo strato 0-3 cm per tutti i campionamenti ad esclusione del campionamento ad un mese dalla sperimentazione, indicando che la comunità microbica risponde al disturbo ma in tempi abbastanza brevi (5 mesi) ripristina una nuova situazione di equilibrio (SAISON). Questo è confermato dal CEM ma non dal qCO_2 . I dati sembrano quindi evidenziare un effetto del disturbo sul sistema dovuto al rimescolamento dei

substrati ed all'interramento della biomassa vegetale che ha interessato tutti i mesocosmi dell'area studio nonché per 8 vasche di cemento è stato interrato il compost.

Il quoziente metabolico si può osservare che il campionamento di marzo 2010 ha i valori più elevati rispetto con valori medi di $0.6 \mu\text{g C-CO}_2 \text{ mg Cmic h}^{-1}$, per 0-3 cm e circa $0.3 \mu\text{g C-CO}_2 \text{ mg Cmic h}^{-1}$, per 3-10 e 10-20 cm. Le differenze sono significative sia tra i due campionamenti del pretrattamento, sia tra i due successivi.

I valori elevati per lo strato più superficiale 0-3 cm per marzo potrebbe essere dovuto ad effetto della rizosfera, infatti, è il campionamento con maggiore produttività di biomassa vegetale, inoltre, i residui dello sfalcio sono lasciati sulla superficie dei mesocosmi. Durante il prelievo della biomassa vegetale di marzo è stato osservato che le radici si concentrano soprattutto nello strato 0-3 cm, formando un'intricata rete ed soprattutto in alcuni mesocosmi, questo potrebbe sia creare un effetto di competizione tra le specie vegetali sia per i nutrienti sia per ossigeno ed acqua. Questo effetto potrebbe ripercuotersi sull'attività microbica del profilo 3-10 cm e 10-20 cm, infatti, più che per mancanza di nutrienti questi suoli potrebbero essere poco efficienti per la diffusione di ossigeno ed acqua. Inoltre, sia a marzo sia a novembre si ricorda che il suolo è indisturbato, ovvero non vi è stata lavorazione.

Il CEM descrive l'efficienza di mineralizzazione della sostanza organica da parte dei microrganismi, nel nostro caso studio mette in risalto l'eterogeneità dei suoli indagati, in accordo con la variazione della sostanza organica anche il CEM diminuisce lungo il profilo del suolo, tuttavia, si può osservare che tendenzialmente ad un mese dalla sperimentazione si ha un incremento del CEM per il trattamento C alla profondità 10-20 cm, questo non viene riscontrato per il campionamento effettuato a cinque mesi dal disturbo poiché la presenza di compost ed il rimescolamento del profilo del suolo può aver favorito la BM che come discusso prima è elevata anche per la profondità 10-20 cm.

Per il micelio fungino totale ed attivo si ha un decremento statisticamente significativo ($P < 0.001$, Student-Newman-Keuls Method), particolarmente evidente per la biomassa fungina totale (BFT), lungo il profilo del suolo. Anche per la BFT ed BFA, si può osservare che nel campionamento a trenta giorni lo strato 0-3 cm tende a diminuire ed ad aumentare per il 10-20 cm rispetto al campionamento di novembre prima del trattamento ($P < 0.05$, Student-Newman-Keuls Method). Il rapporto tra il micelio attivo e totale è molto variabile lungo il profilo del suolo rispetto a BFT e BFA è molto variabile sia lungo il profilo sia tra i campionamenti, tuttavia si può osservare che tra i campionamenti di novembre e gennaio, per lo 0-3 cm vi è un decremento del rapporto BFA/BFT ed un incremento per 3-10 cm e 10-20 cm ($P < 0.05$, Student-Newman-Keuls Method). Infine, il

rapporto F/B mette in evidenza cambiamenti nella composizione della comunità tra il pretrattamento ed il trattamento e per i campionamenti a 30 giorni e 5 mesi dalla sperimentazione.

Osservando che lungo il profilo indisturbato (marzo e novembre) si ha un netto decremento del rapporto funghi e batteri, si evidenzia come la comunità microbica si sia distribuita nel sistema, trovando un proprio equilibrio, l'inizio della sperimentazione con compost e la gestione dei mesocosmi potrebbe aver alterato questo equilibrio iniziale del sistema.

Il campionamento a 30 giorni mette ancora una volta in evidenza gli effetti del disturbo a carico della comunità microbica, ma a differenza del CEM in cui è netto l'incremento dell'efficienza di mineralizzazione per lo strato 10-20 cm, il F/B diminuisce lungo il profilo come riportato anche in letteratura.

A differenza della BM, la BFT cambia tra le diverse profondità (vedi F/B); la comunità fungina quindi è sensibile ai cambiamenti lungo il profilo, e i valori più elevati sono stati ottenuti per lo strato 0-3cm per marzo e novembre, l'andamento dei funghi è simile non solo per marzo e novembre indicando che la biomassa fungina dei mesocosmi si differenzia già inizialmente, lo stesso andamento lungo il profilo si può osservare anche per gennaio. Dopo 5 mesi dalla sperimentazione, come per gli altri indici, i valori di BFT sono simili lungo il profilo.

Caratteristiche fogliari

Al fine di valutare la risposta delle diverse specie vegetali alla crescita su compost, è stato effettuato un monitoraggio nel tempo relativo ad un anno di alcuni parametri eco-fisiologici. In particolare su piante di *M. sylvestris* (malva), *Ph. angustifolia* (fillirea) e *Q. ilex* (leccio) cresciute su suolo controllo e su suolo con aggiunta di compost sono state condotte *in vivo* misure di emissione di fluorescenza della clorofilla *a* e determinate alcune caratteristiche fogliari funzionali. Le misure di massima resa quantica del fotosistema II (F_v/F_m) hanno permesso una stima qualitativa della capacità fotosintetica, mentre gli attributi fogliari funzionali hanno fornito un'indicazione della capacità delle diverse specie di utilizzare le risorse come acqua e nutrienti. E' noto infatti dalla letteratura il ruolo importante che assume il monitoraggio degli attributi fogliari funzionali come indice dello status nutrizionale (Poorter e Garnier 1999; De Marco et al. 2008; Ordoñez et al. 2009). La differente risposta ottenuta dalle diverse specie vegetali utilizzate in questo studio in termini fotochimici e di caratteristiche fogliari funzionali è verosimilmente attribuibile alle differenti strategie di utilizzare le risorse, proprie di specie erbacee (malva) e sclerofille (fillirea e leccio). L'esame di alcune caratteristiche fogliari, quali area fogliare (LA), area fogliare specifica (SLA), contenuto di materia secca (LDMC) e contenuto di azoto e carbonio ha evidenziato, in modo

particolare, la differente strategia di crescita adottata da leccio e fillirea, due specie sclerofille a differente portamento (arboreo per il leccio ed arbustivo per la fillirea) e dalla malva, una pianta erbacea annuale o poliennale. In particolare, nelle due specie sclerofille è stato riscontrato un basso SLA associato ad alti valori di LDMC ed un più elevato rapporto C/N nelle foglie, mentre, nella specie erbacea si è osservato un trend opposto di tali parametri. Le differenze tra specie sono probabilmente attribuibili al fatto che le specie sclerofille adottano, rispetto alle erbacee, una differente strategia di allocazione delle risorse (Aerts e Chapin 2000). Un basso valore di SLA è generalmente associato ad alti valori di densità fogliare (LDMC) che sottintende una maggiore allocazione delle risorse nella biomassa e nelle strutture piuttosto che nelle componenti metaboliche (pigmenti fotosintetici, proteine). Questa strategia, dal punto di vista ecologico aumenta la resistenza e la permanenza delle foglie sui rami (Terashima e Hikosaka, 1995). Infatti, le due specie sclerofille impiegate in questo lavoro sono tipiche di ambienti, come quelli mediterranei, caratterizzati da una limitata disponibilità di nutrienti nel suolo ed una marcata stagionalità nella disponibilità della risorsa acqua.

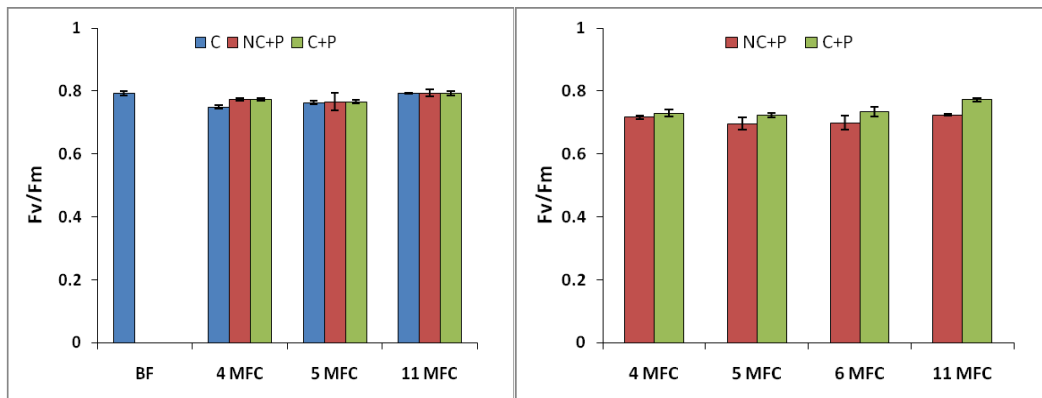
Diversamente, le specie con una maggiore quantità di azoto fogliare e valori di SLA più elevati sono caratterizzate da un alto metabolismo poiché investono più C ed N negli enzimi fotosintetici e nei pigmenti, aumentando così l'efficienza fotosintetica, ma riducendo al contempo le difese fisiche verso gli agenti abiotici e biotici (erbivori) (Coley et al., 1985; Reich et al, 1992).

Le foglie di malva raccolte dalle piante in mesocosmi ammendati con compost hanno mostrato un contenuto di azoto significativamente più elevato e quindi un rapporto C/N significativamente più basso rispetto alle piante presenti nelle parcelle senza compost. Al contrario, le due specie sclerofille cresciute sui suoli ammendati non hanno mostrato alcun incremento del contenuto fogliare di C e N. Ciò suggerisce che le due specie sclerofille investono prevalentemente il carbonio dei fotosintati in carbonio strutturale (cfr valori più elevati di LDMC) con la conseguenza di un metabolismo più lento rispetto alle piante erbacee, che rispondono dunque più prontamente alla disponibilità di risorse. Queste ultime, pur crescendo in suoli con un basso contenuto di sostanza organica, non presentano carenze dal punto di vista nutrizionale. Questo è un dato che non risulta inatteso poiché la malva, essendo una pianta che cresce spontanea nei mesocosmi ammendati e non, risulta intrinsecamente ben adattata su suoli degradati e poveri di nutrienti.

Tabella VIII.2 il contenuto di azoto (N % p.s.), carbonio (C %p.s.) ed il rapporto (C/N p.s.) a T4. Le lettere (a-b) indicano le differenze statisticamente significative per il contenuto di C, N ed il rapporto C/N nelle foglie di malva raccolta nei mesocosmi con compost (C) e senza compost (NCP), on way ANOVA ($P < 0.05$ - Student-Newman-Keuls Method).

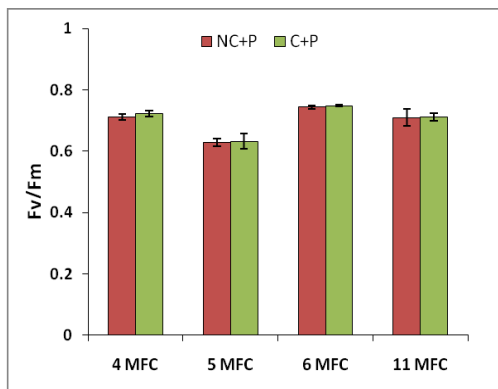
Specie	trattamento	C % p.s.	N % p.s.	C/N
Ph. angustifolia	C	56±1.7	1.3±0.03	41±0.8
	NC	55±0.7	1.4±0.04	40±0.5
Q. ilex	C	52±0.3	1.3±0.06	41±1.7
	NC	51±0.8	1.3±0.03	40±1.6
M. sylvestris	C	48±0.13 a	4.5±0.13 a	12±0.2 a
	NC	43±0.5 b	3.6±0.05 b	11±0.1 b

Per quanto concerne la fotochimica, sia le specie impiantate che la specie spontanea hanno mostrato valori comparabili di massima efficienza fotochimica. Tale parametro esprime il rapporto tra fluorescenza massima e fluorescenza variabile (F_v/F_m) e viene largamente utilizzato in eco-fisiologia come indicatore potenziale dell'efficienza di conversione della luce ai centri di reazione nel processo fotosintetico. Più precisamente, malva dopo circa un anno sulle parcelle con aggiunta di compost (C+P) non ha mostrato valori più alti di F_v/F_m rispetto alle parcelle non compostate (NC+P), indicando che l'aggiunta di ammendante non ha influito sulla capacità potenziale dell'apparato fotochimico di convertire energia luminosa, che è rimasta dunque inalterata (Fig. 1 A). La specie fillirea, cresciuta su compost (C+P) ha fatto registrare un incremento di questo parametro rispetto ai suoli non compostati, seppur non significativo per i primi 5 mesi dall'impianto. Un effetto significativamente positivo è stato però riscontrato, dopo circa un anno di crescita su substrato ammendato (cfr 11 MFC), suggerendo che a lungo termine l'apparato fotochimico di fillirea riesce a trarre benefici da un incremento dello stato nutrizionale del suolo (Fig. 1 B). Differentemente da fillirea, la specie leccio ad 11 mesi dall'impianto, come pure nei mesi precedenti, non ha mostrato su compost variazioni di F_v/F_m rispetto a suolo non ammendato, indicando nessun effetto del miglioramento dello stato nutrizionale del suol. Ciò potrebbe essere attribuito alla crescita più lenta di leccio rispetto a fillirea (come confermano anche i dati di elongazione del fusto che, dopo circa un anno, sono apparsi più pronunciati in fillirea che essendo una specie più legnosa alloca carbonio prevalentemente nei tessuti di sostegno.



A

B



C

Figura 1: Valori di dell'indice fotochimico Fv/Fm sulle foglie di *M. sylvestris* (A), *Q. ilex* (B) e *Ph. angustifolia* (C), cresciute su parcelle con compost (C+P) e su parcelle senza compost (NC+P) a 4, 5 ed 11 mesi dall'aggiunta di compost (MFC = Mesi From Compost). Per la specie malva è presente anche la misura prima dell'aggiunta di compost alle parcelle (BC = Before Compost).

Un dato interessante è che a 5 mesi dall'inizio dell'esperimento è sopravvissuto un ugual numero di individui per le specie leccio e fillirea, indicando, al di là delle differenti strategie di utilizzazione delle risorse, una comparabile capacità di resistere agli stress ambientali per entrambe le specie.

Osservazioni sulla risposta della comunità microbica per il secondo caso studio

Dai risultati ottenuti dagli indici misurati per il secondo caso studio è possibile riassumere le seguenti conclusioni:

- 1) una elevata eterogeneità tra i mesocosmi e lungo i diversi profili, sia per le caratteristiche chimico-fisiche del suolo che a livello di biomassa vegetale; questa eterogeneità influenza la comunità microbica del suolo ed in particolare la sua attività, come messo in evidenza dal CEM.
- 2) l'eterogeneità, i fattori climatici, la biomassa vegetale interrata per i 12 mesocosmi e la esigua quantità di compost apportata, potrebbero mascherare l'effetto dell'aggiunta dell'ammendante

organico sulla comunità microbica. Gli indici di biomassa e di attività microbica evidenziano infatti in misura maggiore una risposta al disturbo dovuto al rimescolamento del suolo, con il quale probabilmente sono stati ridistribuiti i nutrienti presenti lungo il suolo piuttosto che all'aggiunta del compost. Infatti, si è ottenuto un incremento del CEM e della RB anche alle profondità 10-20 cm nel campionamento a 30 giorni dal trattamento in tutti i mesocosmi indipendentemente dall'aggiunta del compost.

L'interramento della biomassa vegetale per tutti i mesocosmi e la redistribuzione lungo il profilo della sostanza organica potrebbero aver mascherato l'effetto del compost; infatti, non vi sono differenze statisticamente significative tra i mesocosmi con o senza ammendante né a 30 giorni né a 5 mesi dal trattamento.

3) analogamente a quanto detto per l'attività microbica anche la biomassa fungina risponde alla lavorazione (riduzione della compattazione), all'apporto di biomassa vegetale e alla redistribuzione della sostanza organica. I campionamenti a 30 giorni ed a 5 mesi dal compost indicano che la comunità fungina risponde prontamente al disturbo del sistema ma ristabilisce una situazione di equilibrio già dopo 5 mesi. Questi risultati sono concordi con quanto ottenuto da Saison e collaboratori (2006) in uno studio condotto in microcosmi sull'alterazione e sulla resilienza della comunità microbica del suolo in risposta a diversi livelli di compost.

Per quanto riguarda la risposta delle piante alla riqualificazione dei suoli disturbati oggetto di studio ed in particolare il monitoraggio della relazione pianta-suolo, possiamo concludere che:

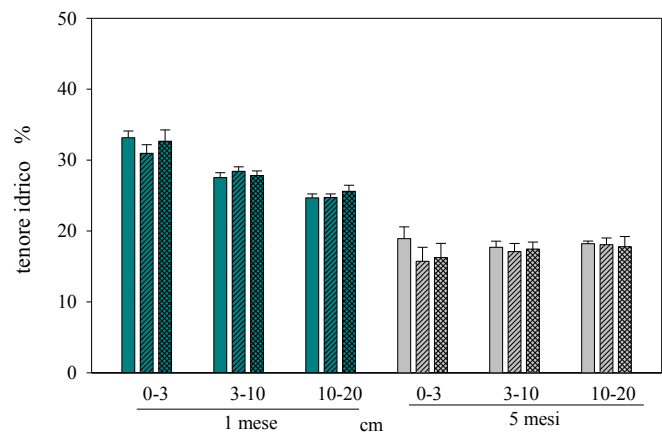
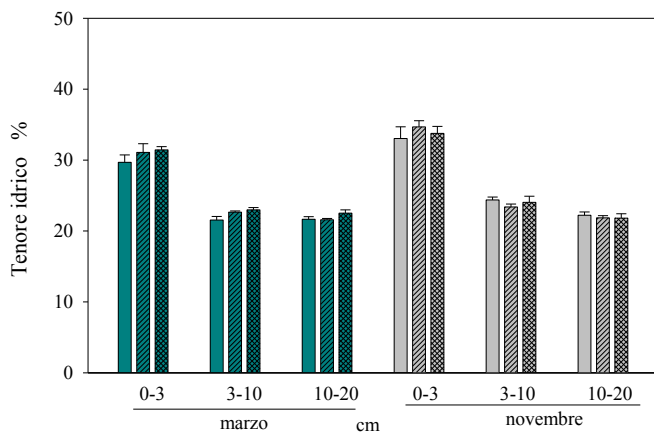
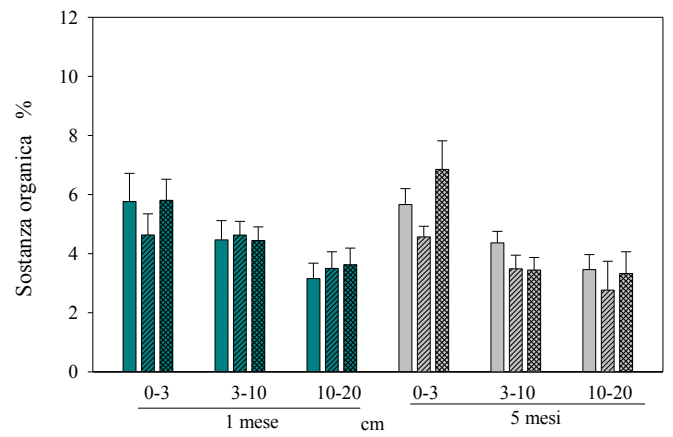
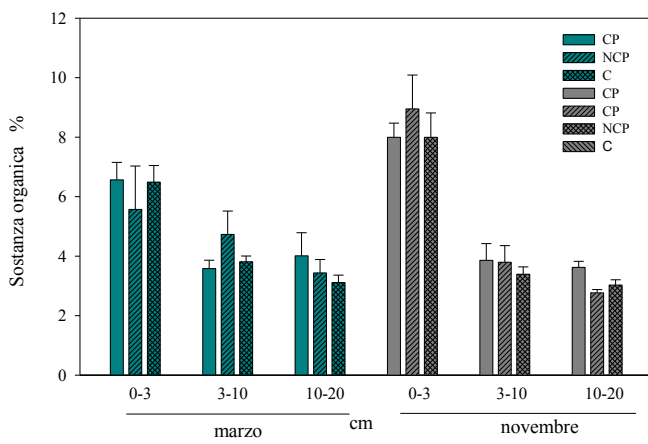
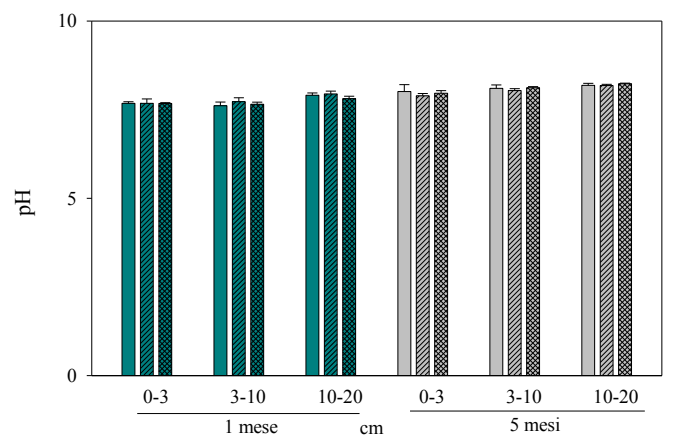
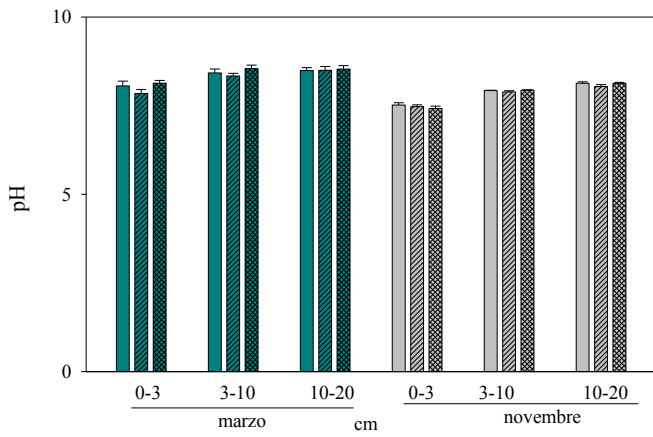
1) Il contenuto di N, C e C/N fogliare di *M. sylvestris* è significativamente più elevato per i mesocosmi con compost rispetto ai controlli dopo 5 mesi dal trattamento. Questo risultato evidenzia che nei mesocosmi trattati con compost si potrebbe avere un effettivo miglioramento della fertilità del suolo e che i microrganismi potrebbero in realtà essere più efficienti nel ciclo dei nutrienti e migliorare lo status nutrizionale del suolo e quindi delle piante.

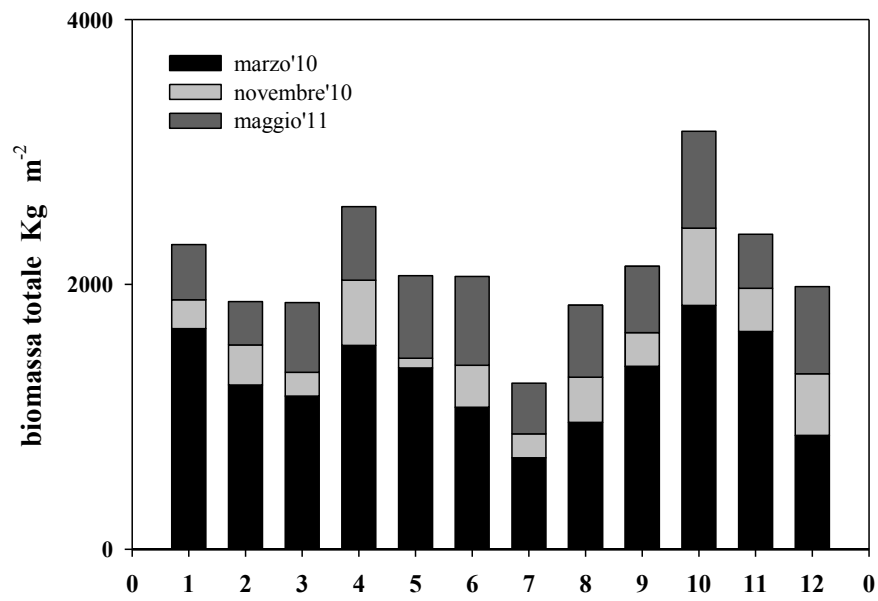
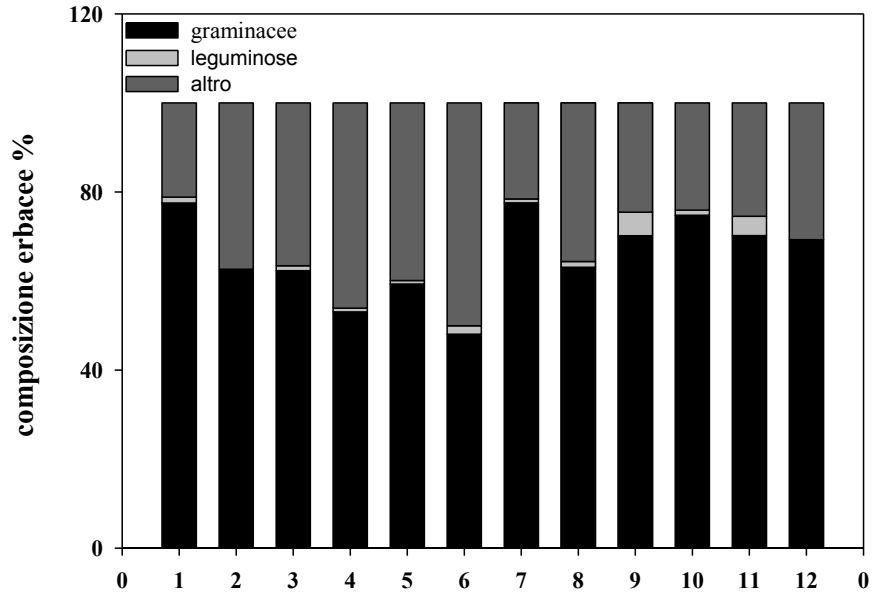
Come atteso, il C ed N fogliare per le sclerofille non aumenta significativamente con l'aggiunta di compost. Infatti, le sclerofille hanno un metabolismo più lento rispetto alle piante erbacee ed hanno anche una differente strategia di crescita ed impiego delle risorse energetiche, le sclerofille investono maggiormente in carbonio strutturale come evidenziato da l'indice fogliare LDMC.

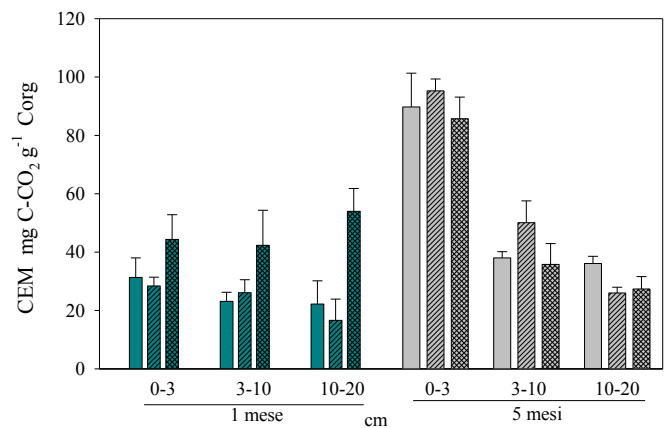
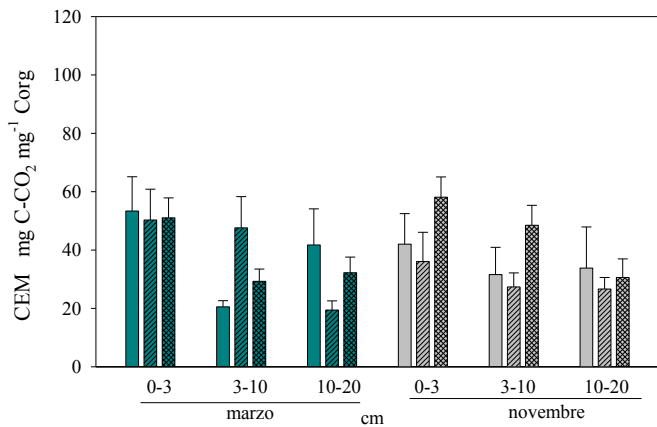
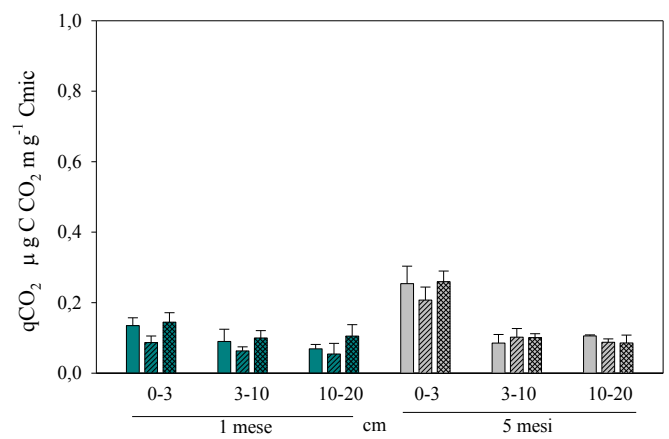
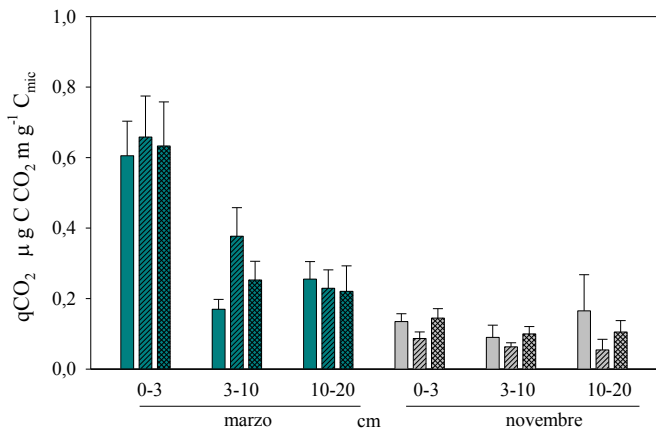
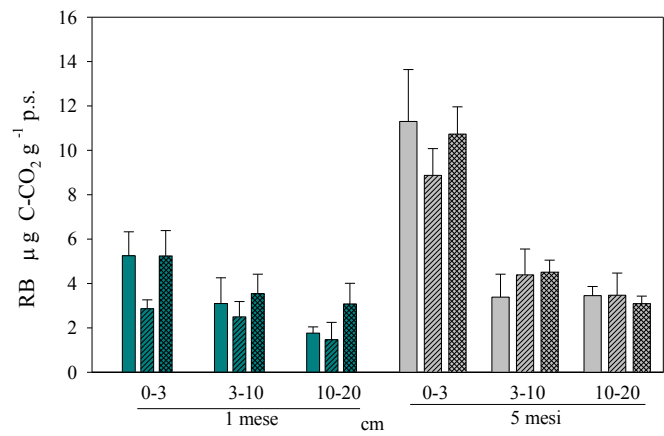
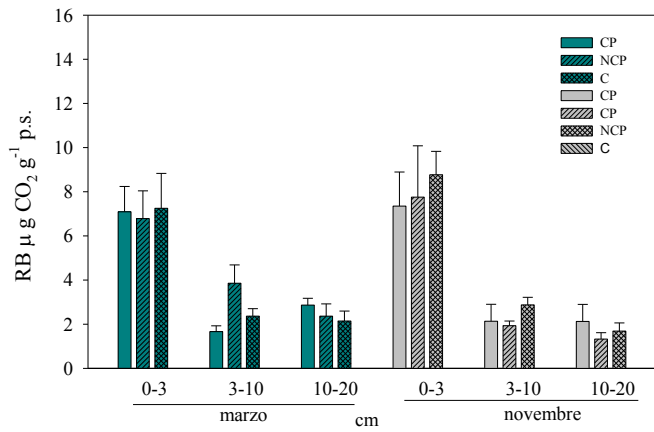
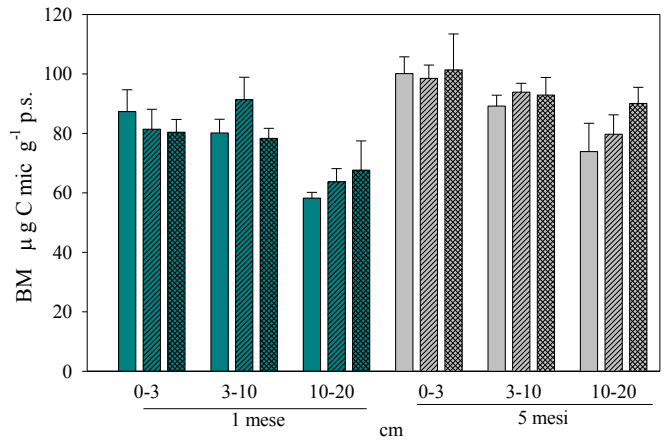
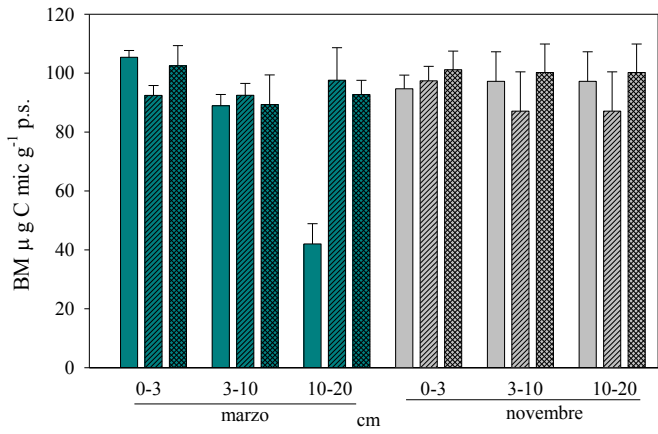
5) L'indice Fv/Fm, legato all'efficienza dell'apparato fotosintetico, indica che il fotosistema è efficiente sia per la specie spontanea sia per le sclerofille, indicando che le piante non sono in stato di stress.

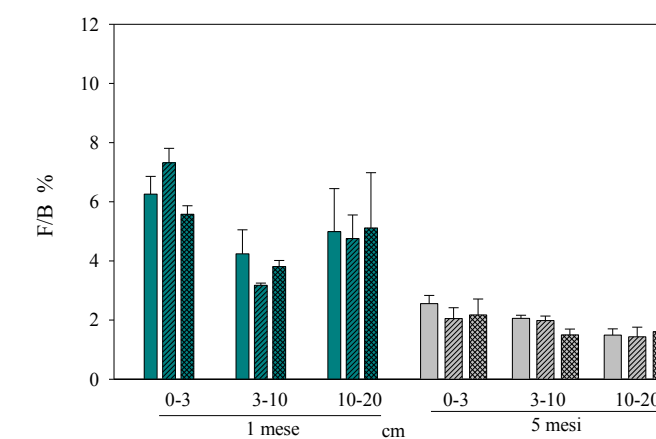
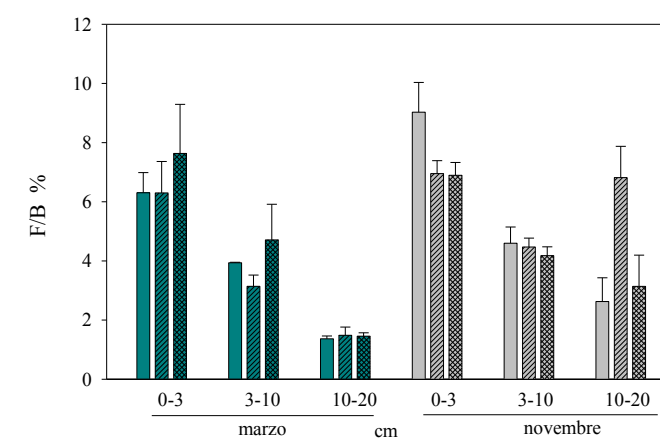
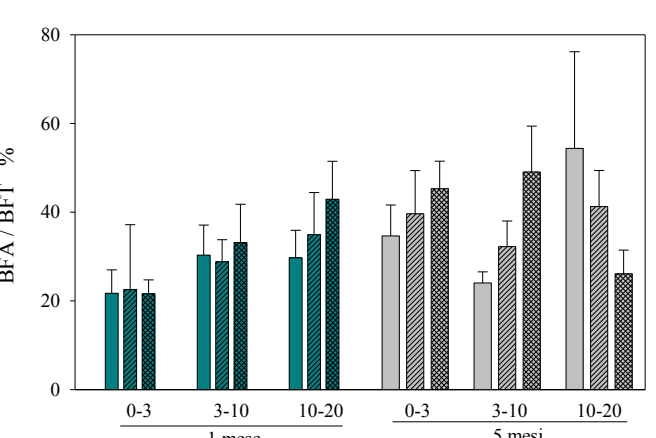
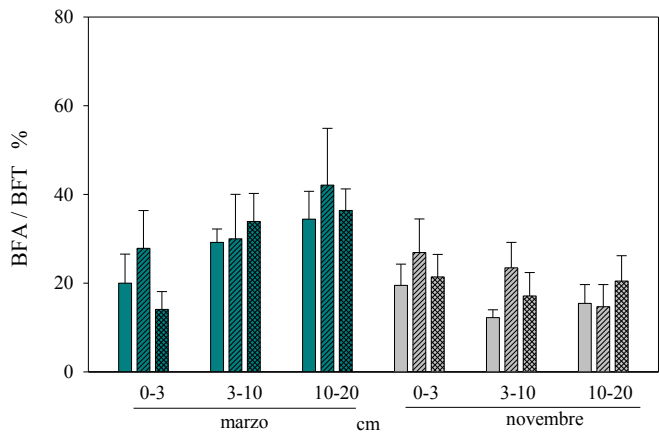
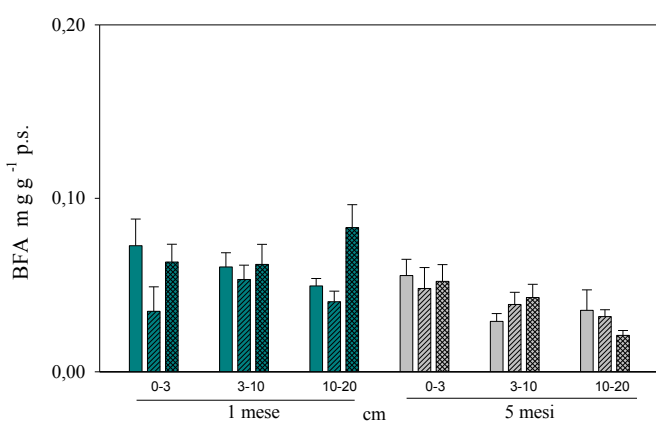
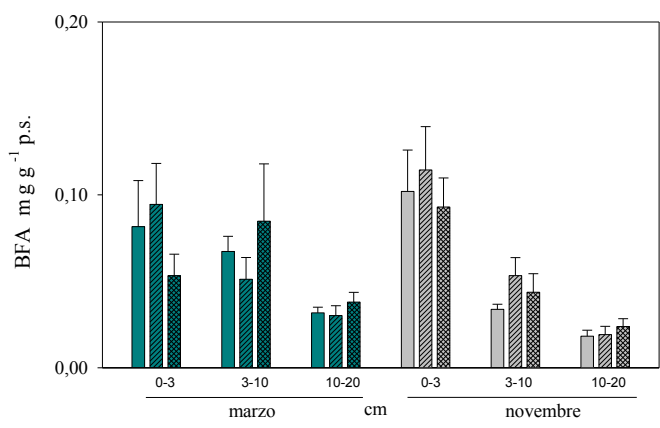
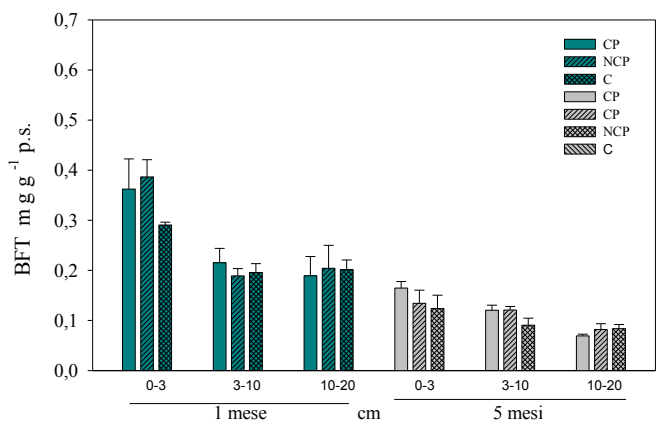
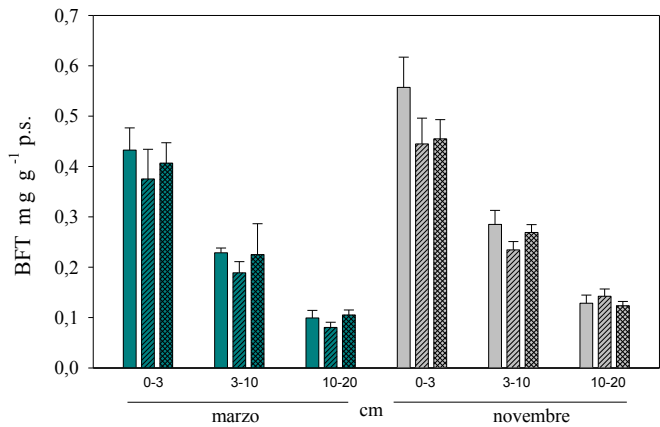
6) Inoltre, la stima delle piante sopravvissute a T5, dopo 11 mesi dalla sperimentazione indica sia per *Q. ilex* sia per *Ph. angustifolia* che lo stesso numero di individui impiantati è sopravvissuto.

In conclusione la sopravvivenza delle specie impiantate e l'indice F_v/F_m misurato per le sclerofille, indicano che queste piante hanno una buona attesa di crescita anche su suoli degradati e bassi valori di sostanza organica. Leccio e fillirea si presentano come due specie che potrebbero essere utilizzate per la riqualificazione delle aree verdi urbane o per aree dismesse come riportato da De Mei e Di Mauro. Inoltre, sono specie tipiche della macchia mediterranea, e ben si prestano alla conservazione della natura.









Bibliografia

- Allen T. F. H., Starr, B., 1982. *Hierarchy: Perspectives for ecological complexity*. Chicago: The University of Chicago Press. 310 pp.
- Aciego Pietri, J.C P.C. Brookes, 2008. Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. *Soil Biology & Biochemistry* 40, pp. 1856–1861.
- Aon M.A., Cabello M.N., Sarena D.E., Colaneri A.C., Franco M.G., Burgos J.L., and Cortassa S., 2001. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Appl. Soil Ecol.*, 18, 239-254
- Anderson J.P.E., Domsch K.H., 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 10: 215-221.
- Aslam T, Choudhary MA, Saggarr S (1999) Tillage impacts on soil microbial biomass C, N, e P, earthworms and agronomy after two years of cropping following permanent pasture in New Zealand. *Soil Till Res* 51:103–111
- Benedetti A. e de Bertoldi S. 2000. Qualità del suolo: criteri di definizione. In memorie di Scienze Fisiche e Naturali volume 118, “Rendiconti della Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL” serie V, vol.XXIV, parte II pp.189-204.
- Bretzel F., Pezzarossa B., Benvenuti S., Bravi A., Malorgio F., 2009. Soil influence on the performance of 26 native herbaceous plants suitable for sustainable Mediterranean landscaping. *Acta Oecologica*, 35:657-663
- Bretzel F., Pezzarossa B., Benvenuti S., Bravi A., Malorgio F., 2009. Soil influence on the performance of 26 native herbaceous plants suitable for sustainable Mediterranean landscaping. *Acta Oecologica*, 35:657-663
- Bretzel, F., Hitchmough, D.J., 2000. Suitability of urban demolition soils in Sheffield for wildflower meadows. In: Burghardt, W., Dornauf, C. (Eds.), *Proceedings First International Conference on Soils of Urban, Industrial, Traffic and Mining Areas*, 2, pp. 511–515. Essen (Germany), July 2000
- Brussaard, L., de Ruiter, P.C., Brown, G.G., 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture Ecosystems and Environment* 121, 233–244.
- CCE. (2000). *Indicatori per l'integrazione della problematica ambientale nella politica agricola comune*. Bruxelles: Commissione delle Comunità Europee.
- De Mei M. e Di Mauro M., 2006. Study of some Characteristic Mediterranean Vegetation Species Best Suited for Renaturalization of Terminal-Phase Municipal Solid Waste (MSW) Landfills in Puglia (Southern Italy). *Acta Oecologica*, 30: 78-87
- Doran J.W., Gregorich E., 2002. Soil quality and sustainable agriculture. In: Rattan Lal

(Ed.), Encyclopedia of Soil Science. Marcel Dekker Publisher., Lincoln Way, NJ.

- Doran J.W., Parkin T.B., 1994. Defining and Assessing Soil Quality. In Doran J.W., Coleman D.C., Bezdicek D.F., Stewart B.A. (eds) Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. Soil Science Society of America, Special Publication No. 35, Madison Wisconsin pp.3-21; 677
- Doran J.W., Safley M., 1997. Defining and assessing soil health and sustainable productivity in ‘Biological indicators of soil health’ . Eds CE Pankhurst BM Doube and VVSR Gupta, pp 1- 8 CAB International, Wallingford.
- Fliesbach A., Mader P., 2000. Microbial biomass and size-density fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems. Soil Biology and Biochemistry vol.32, pp. 757-768
- Frey S.D., Elliott E.T., Paustian K., 1999. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. Soil Biology and Biochemistry 31, 573–585.
- Ge G, Li Z, Fan F, Chu G, Hou Z, Liang Y 2010. Soil biological activity and their seasonal variations in response to long-term application of organic and inorganic fertilizers. Plant & Soil 326, 31-44
- Gomez A., 1998. The evaluation of compost quality. Trends Anal. Chem. 17: 310–314
- Grenni P., Barra Caracciolo A., Rodriguez-Cruz M.S., Sanchez-Martin M.J., 2009. Changes in the microbial activity in a soil amended with oak and pine residues and treated with linuron herbicide. Applied Soil Ecology 41:2-7
- Halvorson J. J., Smith, J. L. and Papendick R. I.,1997. Issues of scale for evaluating soil quality. Journal of Soil and Water Conservation January- February:26-30.
- Hammer, K., Laghetti, G., Pistrick, K., 2004. *Calamintha nepeta* (L.) Savi and *Micromeria thymifolia* (Scop.) Fritsch cultivated in Italy. Genetic Resources and Crop Evolution 52, 215–220
- Hooper, D. U., and P. M. Vitousek. 1998. Effects of plant composition and diversity on nutrient cycling. Ecological Monographs 68:121–149
- Hopkins DW, Shiel RS (1996) Size and activity of soil microbial communities in long-term experimental grassland plots treated with manure and inorganic fertilizers. Biol Fert Soils 22:66–70.
- Huber, S., Prokop, G., Arrouays, D., Banko, G., Bispo, A., Jones, R., et al. (2008). Environmental Assessment of Soil for Monitoring: Volume I, Indicators & Criteria. Luxembourg: EUR 23490 EN/1, Office for the Official Publications of the European Communities.
- INEA. (2004). Misurare la sostenibilità. Ministero delle Politiche Agricole e Forestali.

- Karlen D.L., Mausbach M.J., Doran J.W., Cline R.G., Harris R.F. and Schuman G.E., 1997. Soil quality: a concept, definition and framework for evaluation. *Soil Science Society of America Journal*. Vol. 61, pp. 4-10.
- MIRAAF-Ministero delle Risorse Agricole, Alimentari e Forestali (1995). Guida alla lettura ed interpretazione del Codice di Buona Pratica Agricola per la protezione delle acque dai nitrati. Quaderno n. 2. Edagricole.
- Moore, J.C., 1994. Impact of agricultural practices on soil food web structure: theory and application. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 51, 239–247
- Odum E. P., 1985. Trends expected in stressed ecosystems. *Bioscience* 35: 419-422.
- Parker L.W., Doxtader K.G., 1983. Kinetics of microbial degradation of 2,4-D in soil: effects of temperature and moisture. *Journal of Environmental Quality* in press.
- Piccolo A., Spaccini R., Haberhauer G., Gerzabek M.H., 1999. Increased sequestration of organic carbon in soil by hydrophobic protection. *Naturwissenschaften*, vol. 86 pp. 496-499
- Piccolo, 2007. Relazione MESCOSAGR I anno.
- Pywell, R.F., Bullock, J.M., Hopkins, A., Walker, K.J., Sparks, T.H., Burke, M.J.W., Peel, S., 2002. Restoration of species-rich grassland on arable land: assessing the limiting process using a multi-site experiment. *Journal of Applied Ecology* 39, 294–309.
- Ricklefs R. E., 1983. *The economy of nature*. New York: Chiron Press. 510 pp.
- Rodale Institute, 1991. Conference Report and Abstract, Int. Conf. On the Assessment and Monitoring of Soil Quality. Rodale Press Emmaus, P.A. 11-13 July 1991
- Ros M., Klammer S., Knapp B., Aichberger K., Insam H., 2006. Long-term effects of compost amendment of soil on functional and structural diversity and microbial activity. *Soil Use and Management*, June vol. 22, pp. 209–218.
- Rutigliano F.A., D' Ascoli R., De Marco A., Virzo De Santo A., 2002 (a). Soil microbial community as influenced by experimental fires of different intensities. In: Trabaud L., Prodon R. (eds.) *Fire and Biological Processes*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp. 137-150
- Schutter M.E., Dick R.P.; 2002. Microbial Community Profiles and Activities among Aggregates of Winter Fallow and Cover-Cropped Soil. *Soil Science Society of America Journal*, vol.66, pp. 142-153.
- Spaccini R. Piccolo A., Conte P., Haberauer G., Gerzabek, M.H., 2002. Increased soil organic carbon sequestration through hydrophobic protection by humic substances. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 34:1839-1851
- Spain, A.V., Isbell, R.F., Probert, M.E., 1983. Soil organic matter. In: *Soils: an Australian Viewpoint*. CSIRO, Melbourne/Academic Press, London, pp. 551-563.

- Sparling G.P., 1997. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In *Biological Indicators of Soil Health* eds C.E. Pankhurst B. M. Double V.V.S.R. Gupta pp. 97-119.
- Turco R.F., Kennedy A.C., Jawson M.D., 1994. Microbial indicators of soil quality. In Doran JW (ed) *Defining soil quality for a sustainable environment*, vol. 35. Madison Wisconsin Soil Science Society of America, Special Publication, pp 73-90.
- USDA, 1951. Soil survey manual. USDA Handbook No.18. U.S. Gov. Print Office. Washington, D.C.
- WECD, (1987). *Our common future*. World Commission on Environment and Development. Oxford: Oxford University Press.
- Wilhjelm committee (2001). *En rig natur i et rigt samfund*. Skov- og Naturstyrelsen, Miljøministeriet, Copenhagen, Denmark. (in Danish).
- Xu YC, Shen QR, Ran W (2002) Effects of zero-tillage and application of manure on soil microbial biomass C, N, and P after sixteen years of cropping. *Acta Pedol Sinica* 39:85–96
- Zheljazkov V.D., Warman P.R., 2003. Application of high Cu compost to Swiss chard and basil. *Sci. Tot. Environ.* 302: 13–26
- Zhiping and Dawson. (2005). Modelling circulation function in agroecosystems. *Ecological Modelling*, 181, pp. 557-565. , 557-565.
- Zhiping and Dawson. (2005). Modelling circulation function in agroecosystems. *Ecological Modelling*, 181, pp. 557-565.
-