



Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale:  
l'Europa investe nelle zone rurali



**Regione Abruzzo**  
**Dipartimento Agricoltura**

**UNIVAQ**  
**Dipartimento di Medicina Clinica,**  
**scienza della vita e dell'Ambiente**

**PSR 2014/2022**

**Sottomisura 7.6**

**Tipologia d'intervento 7.6.1**

**«Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale: l'Europa investe nelle  
zone rurali»**

**Relazione Finale del Progetto**

**“Profili tellurici della biodiversità”**

**Autorità di Gestione: Dott.ssa Elena Sico**

**Servizio Promozione delle Filiere**

**Ufficio Tutela della Biodiversità Agraria**

## SOMMARIO

Lo scopo del presente progetto è stato quello di esaminare le differenze dello stato di salute dei suoli della regione Abruzzo come risultato delle pratiche agro-culturali. Sono stati campionati e analizzati terreni situati nelle maggiori aree produttive della regione Abruzzo – CHIETINO, ALTOPIANO DELLE CINQUE MIGLIA, VALLE PELIGNA, VALLE SUBEQUANA, VAL VOMANO, MONTAGNA AQUILANA, ALTOPIANO DI NAVELLI, FUCINO, campionati sia nel periodo primaverile che autunnale. I terreni sono stati analizzati per la loro composizione fisico-chimica, per la struttura della loro comunità microbica mediante analisi dell'rRNA 16s con tecniche di Next Generation Sequencing (NGS) e la qualità biologica dei suoli mediante campionamento di microartropodi. Dallo studio è stato possibile evidenziare come la gestione agro-culturale, nonostante abbia una certa influenza, non è l'unico fattore ad influenzare la diversità e l'abbondanza microbica, la salute dei suoli e i parametri fisico-chimici del suolo. Dall'elaborazione e integrazione dei dati è stato rilevato un miglior stato di salute nei terreni sottoposti a pratiche agricole biologiche rispetto a quelli sottoposti a pratiche convenzionali. Tuttavia, nonostante la gestione biologica dei campi possa influire positivamente sullo stato di salute dei suoli, in aree ad alta produttività con sfruttamento dei terreni riesce a differenziarsi in modo non significativo rispetto a quella convenzionale. Al contrario, la gestione convenzionale in aree montane con scarso sfruttamento dei terreni, riesce a mantenere una buona salute dello stato di fertilità dei suoli, sia nei profili fisico-chimici che microbiologici. Le tematiche affrontate nel progetto applicando metodiche scientifiche valide sono pionieristiche per la regione Abruzzo, la quale non era mai stata oggetto di studi di questo tipo. Pertanto, lo studio condotto ha una rilevanza scientifica e territoriale importante, la diffusione dei risultati ottenuti, già avviati attraverso la pubblicazione di un articolo scientifico sulla rivista Agriculture (Mantoni et al., 2021, Allegato 1), ha un indotto estremamente positivo sia in termini di sviluppo di un turismo più consapevole dell'importanza dalle zone protette e dai Parchi nazionali esistenti, sia in termini di crescita economica regionale sostenibile e valorizzazione del patrimonio della biodiversità locale. Sulla base delle evidenze scientifiche ottenute è stato possibile stilare le indicazioni operative per la gestione del territorio della regione Abruzzo, comprendenti le linee guida (Allegato 2), regole di comportamento (Allegato 3), allegati tematici (Allegato 4) da divulgare ai parchi, agli agricoltori e allevatori custodi,

## Indice

1. INTRODUZIONE.....	1
1.1. Diversità delle comunità microbiche:.....	5
1.2. La diversità delle comunità edafiche.....	7
1.3. minacce globali alla biodiversità del suolo: il peso dell'agricoltura.....	7
1.4. Agricoltura intensiva o convenzionale.....	9
1.5. Agricoltura conservativa .....	11
1.6. Agricoltura biologica.....	12
2. OBIETTIVI DEL PROGETTO.....	14
3. MATERIALI E METODI .....	17
3.1. Campionamenti .....	17
3.2. Aree Campionate .....	18
3.3. Estrazione del DNA.....	30
3.4. Next Generation Sequencing - NGS .....	34
3.5. Analisi Fisico-Chimiche.....	38
3.5.1. Metodo determinazione dello scheletro.....	39
3.5.2. Metodo per il calcolo della tessitura.....	41
3.5.3. Determinazione carbonio totale (TC).....	42
3.5.4. Determinazione della sostanza organica:.....	47
3.5.5. Determinazione dell'azoto scambiabile (azoto minerale) .....	48
3.5.6. Estrazione, frammentazione e determinazione del carbonio organico estratto ed umificato:.....	50
3.5.7. Determinazione umidità: .....	51
3.5.8. Determinazione del fosforo assimilabile (Metodo Olsen):.....	52
3.5.9. Determinazione della capacità di scambio cationico con ammonio acetato: .....	54
3.5.10. Determinazione del pH e della conducibilità elettrica:.....	56

3.6. Analisi della qualità biologica dei suoli .....	57
4. RISULTATI.....	61
4.1. Analisi chimico-fisiche.....	61
4.2. Analisi comunità microbiche.....	63
4.1. Analisi comunità edafiche .....	76
CAPITOLO 5: DISCUSSIONE .....	80
CAPITOLO 6: CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI.....	82
<i>BIBLIOGRAFIA</i> .....	84

Publicazione realizzata a conclusione del progetto “Profili tellurici della Biodiversità” nel mese di settembre 2022



# 1. INTRODUZIONE

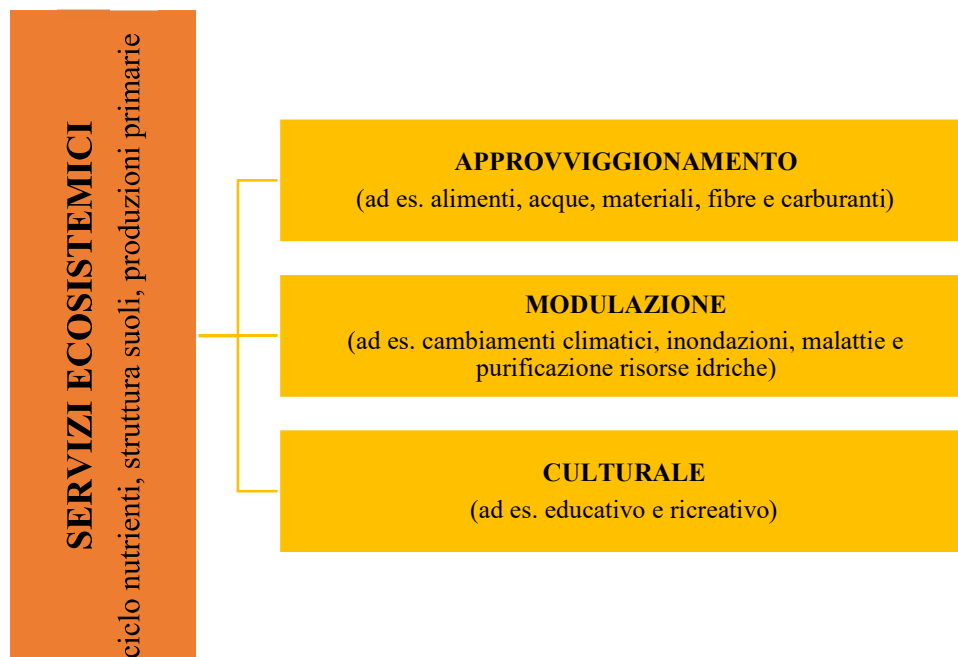
Il suolo, chiamato da William Bryant Logan (2011) “la pelle del pianeta”, è lo strato superficiale che ricopre la crosta terrestre. Esso deriva da un processo di formazione lunghissimo che può durare dai 1.000 ai 100.000 anni, grazie alla trasformazione della roccia madre, attraverso processi chimici, fisici e biologici (Ciccarese, 2012; Violante, 2002). Esso svolge una serie di funzioni di estrema importanza, la Commissione Europea con la COM 2002/179/CE "Verso una strategia tematica per la protezione del suolo", aveva già definito una serie di funzioni chiave dal punto di vista ambientale, economico, sociale e culturale che sono assicurate dal suolo e sono indispensabili per la vita:

- il suolo sostiene oltre il 90% della produzione alimentare globale e di altre biomasse (Blum, 2005): la produzione alimentare agricola, essenziale per la sopravvivenza umana e la silvicoltura dipendono interamente dal suolo. Quasi tutta la vegetazione, tra cui i pascoli, le colture arabili e gli alberi, ha bisogno del suolo per rifornirsi di acqua e sostanze nutritive e per fissare le proprie radici (COM 2002/179/CE);
- fornisce combustibili e materiali per la produzione di energia e industria manifatturiera (Blum, 2005);
- rappresenta un enorme bacino di immobilizzazione dell’anidride carbonica, svolgendo così, un ruolo fondamentale nella lotta al cambiamento climatico (Blum, 2005);
- fonte di materie prime: Il suolo fornisce materie prime, quali argilla, sabbia, minerali e torba;
- fornisce supporto fisico per le infrastrutture e le attività umane ed è sede di testimonianze archeologiche e paleontologiche: rappresenta la piattaforma dell’attività umana, oltre ad essere un elemento del paesaggio e del patrimonio culturale (COM 2002/179/CE);
- grazie alle sue proprietà depurative, svolge un ruolo essenziale per la salvaguardia degli ecosistemi e delle acque;
- il suolo, inoltre, è sede di un’immensa biodiversità microbica, responsabile dei cicli biologici che da milioni di anni sono importantissimi per il mantenimento delle ottimali condizioni di vita sul pianeta (Blum, 2005).

La biodiversità è fonte per l’uomo di beni, risorse e servizi indispensabili per la sua sopravvivenza, dal quale l’uomo dipende in maniera imprescindibile (Monther et al., 2020; McAfee, 1999). Tutti questi benefici che le persone ottengono gratuitamente dagli ecosistemi e sono utilizzati dall’umanità per garantire e aumentare il benessere sono chiamati servizi ecosistemici (Daily, 1997; MA, 2005). Essi sono un potente strumento per aumentare la consapevolezza nella società



umana dei vari benefici che riceviamo e utilizziamo ogni giorno, un prerequisito importante per il loro apprezzamento (Griebler & Avramov, 2015). Un ruolo fondamentale nel consolidamento della cultura della valorizzazione dei servizi offerti dagli ecosistemi e le loro relazioni con il nostro benessere è stato svolto dal progetto Millennium Ecosystem Assessment e dai suoi prodotti. (Daily,1997; MA, 2005). Secondo quanto proposto dal MA (Fig.1), i SE, si possono distinguere in quattro grandi categorie: (MA, 2005).



**Fig.1.** Classificazione dei servizi ecosistemici secondo il Millenium Ecosystem Assessment (MA, 2005).

Ai microrganismi è deputata la conservazione dei servizi ecosistemici che si svolgono nel suolo (Bunning & Jimenez, 2003). Tra i principali troviamo: mantenimento della struttura del suolo e regolazione dei processi idrologici; scambi gassosi e sequestro del carbonio; disinquinamento; sviluppo delle piante, decomposizione e ciclo della sostanza organica ad opera dei decompositori primari: batteri, funghi ed attinomiceti; regolazione della disponibilità degli elementi nutritivi e loro asportazione da parte delle colture, imputabile a funghi micorrizici, attinomiceti, batteri azoto fissatori, batteri e archaea ammonio-ossidanti, ecc.; controllo dei patogeni e difesa, tra cui possiamo ricordare quali biopesticidi i Batteri (*Bacillus thuringensis*, *Pseudomonas fluorescens*, ecc.), funghi (*Tricoderma harzianum*, *Beauvaria bassiana*, ecc.). È stato anche attribuito un valore economico ai diversi servizi ecosistemici garantiti dal biota suolo (Pimentel et al., 1997) (Tabella 1), che vanno dai 6 miliardi di dollari annui per i microrganismi impiegati nelle biotecnologie ai 760 miliardi di dollari annui per i batteri, funghi e attinomiceti coinvolti nel riciclo dei rifiuti.



**Tabella 1.** Alcuni esempi di attribuzione di un valore economico ai servizi ecosistemici garantiti dal biota del suolo (Pimentel et al., 1997).

<b>Biodiversità del suolo</b>	<b>Attività</b>	<b>Beneficio economico (miliardi \$/anno)</b>
Batteri, funghi	Riciclo rifiuti	760
Microrganismi, macrofauna, mesofauna	Formazione di suolo	25
Organismi diazotrofici	Azotofissazione	90
Microrganismi	Biorecupero inquinanti	121
	Biotecnologie	6
	Difesa	160

Un aspetto fondamentale, quando si parla del suolo, è il legame che esso ha con la vita del pianeta: il 25-30% di tutta la biodiversità biologica del pianeta si trova, infatti, nel suolo (Jeffrey et al., 2010) e rappresenta una riserva in continua trasformazione, fondamentale anche per produzioni umane, come gli eccipienti per la composizione dei medicinali o il cibo. (Yunga, 2014). La biodiversità del suolo si riferisce a tutti gli organismi che vivono in esso. La “Convention on Biological Diversity” (CBD) ha definito la biodiversità del suolo come la “varietà e variabilità degli organismi viventi e dei sistemi ecologici in cui essi vivono, evidenziando che essa include la diversità a livello genetico, specifico ed ecosistemico” (Monther et al., 2020; McAfee, 1999). La biodiversità che si può ammirare oggi è il frutto di miliardi di anni di evoluzione, plasmata dai processi naturali e, ultimamente, sempre più influenzata dall’azione dell’uomo. Bisogna tenere presente anche la diversità funzionale, considerato che molti microrganismi possono mantenere la medesima composizione all’interno di una comunità, ma modificare alcuni processi metabolici con conseguenze a livello funzionale ed ecologico. (Giller et al., 1997).

- La diversità genetica: rappresenta le informazioni contenute nei geni degli individui appartenenti ad ogni specie. Rappresenta una diversità intraspecifica, cioè tra individui della stessa specie. Le informazioni contenute nei geni sono sottoposte continuamente ad una serie di mutazioni indotte dal rimescolamento genetico che si attua all’interno di ogni specie. I batteri in particolare svolgono un ruolo fondamentale in un processo definito evoluzione orizzontale,

per la loro particolare capacità di trasferire DNA ad altri esseri viventi (spesso in forma di plasmide) in diverse modalità (anche dopo la morte) andando ad influenzare la speciazione (Hughes et al.,2008).

- La diversità delle specie: fino ad ora sono state descritte circa 2 milioni di specie, tuttavia, il 90% delle specie esistenti sulla Terra è ancora sconosciuto. Il conteggio delle specie prende il nome di censimento ed avviene in un'area prescelta come campione. Il numero di specie e la loro abbondanza relativa in una determinata area, nell'ecosistema o più in generale nell'intera Biosfera, costituiscono la diversità specifica. L'insieme degli organismi che popolano un determinato ecosistema, a qualunque specie essi appartengano, è detta comunità. In alcuni casi, quando non è possibile stimare l'abbondanza relativa delle diverse specie di una comunità, ci si limita a censire il numero di specie presenti, si parla allora non di diversità ma di ricchezza specifica. La conoscenza della diversità specifica o almeno della ricchezza specifica di un determinato ambiente è una delle informazioni ritenute generalmente necessarie alla descrizione di un determinato ambiente per la pianificazione di attività di gestione o conservazione.
- La diversità ecologica: L'insieme delle specie che costituiscono la comunità di una data area (biocenosi) e l'insieme delle caratteristiche abiotiche dell'ambiente (biotopo) costituiscono l'ecosistema (Hamilton, 2005). I fattori chimico-fisici di un ecosistema, come ad esempio l'umidità, il substrato, la latitudine, la temperatura, la salinità, influenzano la composizione della comunità determinando quale specie può vivere in quella determinata area. La diversità ecosistemica include sia le differenze macroscopiche che esistono tra i diversi ambienti sia le differenze tra i processi che li caratterizzano. L'elevato grado di complessità degli ecosistemi rende difficile compiere misure quantitative di diversità, tuttavia, se si focalizza l'attenzione su un particolare aspetto di un ecosistema, è possibile tentare delle stime quantitative e dei confronti numerici (Hamilton, 2005). Nonostante la diversità ecosistemica sia un concetto molto ampio, con infinite sfaccettature, e nonostante la nostra capacità di descriverla sia ancora agli esordi, essa rappresenta una componente essenziale della diversità biologica generale e come tale dovrebbe essere attentamente valutata in ogni stima di biodiversità. La biodiversità, quindi, esprime la complessità di struttura di un ambiente e può essere misurata come diversità di habitat esistenti e utilizzata come strumento analitico quali-quantitativo per tenere monitorate le relazioni ecosistemiche dei sistemi ambientali presenti (Altieri, 1999).
- La diversità funzionale: misura la biodiversità sulla base delle caratteristiche delle specie. Recentemente, sono state scoperte correlazioni tra indici multidimensionali (cioè, indici multitratto) e diverse proprietà complesse degli ecosistemi in risposta a disturbi. Un aumento della varietà di risposte funzionali a una perturbazione, tra le specie che svolgono funzioni simili può aumentare la resilienza dell'ecosistema. È stato dimostrato che una grave frammentazione della macchia mediterranea disabilita meccanismi importanti come l'auto-organizzazione spaziale, la dispersione dei semi, che si traducono in una riduzione della

biodiversità. Inoltre, porta gli ecosistemi ad acquistare funzionalità che non avevano in origine. Questo può influenzare la resilienza delle comunità dopo un disturbo e può avere importanti implicazioni sulla conservazione degli ecosistemi. Una migliore comprensione degli effetti della frammentazione sulla diversità funzionale delle comunità e della resilienza degli ecosistemi è essenziale per la progettazione di strategie di conservazione efficaci (de Frutos et al., 2015).

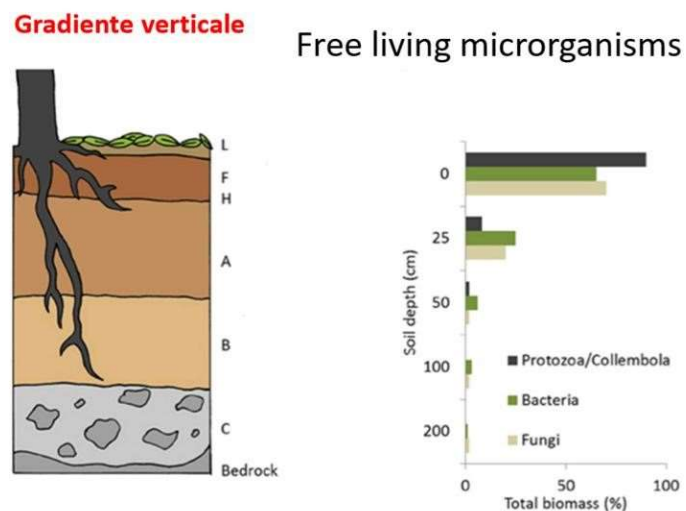
### 1.1. Diversità delle comunità microbiche:

Il suolo è caratterizzato da un'immensa biodiversità microbica (Blum, 2005), si stima infatti, che un grammo di suolo contenga circa 4000 specie microbiche (Torsvik et al., 1990). È stato osservato che meno dell'1% dei microrganismi del suolo sono stati finora isolati e classificati, questo per un'incapacità di isolare e coltivare tutte le specie esistenti a causa dell'impossibilità di riprodurre in laboratorio tutte le condizioni trofiche ed ecologiche che vi sono in natura (Wagner et al., 1993). Tra i vari microrganismi i batteri, gli attinomiceti in particolare, e i funghi sono gli organismi più numerosi del suolo. Questi gruppi rappresentano i principali decompositori della materia organica, regolando il ciclo dei nutrienti, i flussi di energia e la produttività degli ecosistemi e rivestendo un ruolo fondamentale nei cicli biogeochimici, sia dei principali elementi (carbonio, azoto, zolfo, ecc.) che di quelli in traccia (ferro, nichel, mercurio, ecc.). Inoltre, essi contribuiscono in modo importante alla regolazione dei flussi di gas serra (metano, ossidi di azoto e CO<sub>2</sub>) dal suolo (Kaviya et al., 2019).

La diversità dei microrganismi e l'abbondanza relativa di ciascun gruppo microbico variano enormemente sia all'interno di microhabitat con caratteristiche fisiche e chimiche differenti, sia in relazione, ad esempio, alle specie vegetali che agli altri organismi presenti. (Garbeva et al., 2004). Questa diversità all'interno di un ecosistema è un elemento chiave anche per il mantenimento in uno stato qualitativamente salutare del suolo agrario (Borneman et al., 1996). Tra le proprietà che possono andare ad influenzare l'attività microbica e selezionare gli organismi più adatti, vi sono la struttura fisica del suolo, l'umidità, il pH, i nutrienti presenti, la temperatura e la luce (Garbeva et al., 2004). Tra questi, la temperatura agisce direttamente sul metabolismo microbico ed esercita un'azione indiretta sui microrganismi attraverso l'influenza sulla diffusione dei nutrienti e sulla disponibilità di acqua (Van Elsas, 2006). La luce, invece, oltre ad avere un effetto diretto per i microrganismi fotoautotrofi che vivono vicini alla superficie del suolo, esplica l'effetto più importante in maniera indiretta mediante la stimolazione della germinazione dei semi, l'attecchimento delle plantule e la loro crescita (Lambers et al., 1998).

Nel suolo, gli organismi che cooperano per le attività ecologiche più disparate, non sono distribuiti indefinitamente all'interno di una matrice unica, ma si ritrovano maggiormente negli strati superficiali. Nonostante la grande stratificazione del suolo e le profondità raggiunte dal susseguirsi

delle stratificazioni, i microrganismi si distribuiscono quasi totalmente nei primi metri di suolo, andando man mano a diminuire con la profondità, in cui il suolo assume caratteristiche più minerali, secondo un gradiente verticale (Churchland & Grayston, 2014). È stato osservato che nella rizosfera - la porzione di suolo che circonda le radici delle piante - i microrganismi sono dieci volte superiori in numero a quelli presenti nel suolo senza radici, questo perché le piante, che si sono sviluppate in simbiosi con il loro microbioma, secernono degli essudati radicali specifici per la crescita e il nutrimento del proprio microbioma (Hartmann et al., 2008).



**Fig. 2.**

Schematizzazione del gradiente verticale nel suolo (a sinistra). Rapporto tra la biomassa e la distribuzione di microrganismi nel terreno in relazione alla profondità (a destra). (Churchland & Grayston, 2014)

I microrganismi possono, inoltre, essere utilizzati come indicatori della qualità del suolo perché svolgono delle funzioni chiave nella degradazione della sostanza organica e dei nutrienti nonché nel loro riciclo e rispondono prontamente ai cambiamenti del sistema suolo adattandosi alle diverse necessità ambientali (Benedetti & Mocali, 2008). Negli ultimi anni diversi studi hanno dimostrato che le attività antropiche, come l'intensificazione dell'agricoltura e il cambiamento nell'uso del suolo, riducono l'abbondanza microbica e faunistica e la diversità globale degli organismi del suolo (Helgason et al., 1998; de Vries et al., 2013). Uno studio fatto da Wagg et al. nel 2014 ha dimostrato che la perdita di biodiversità del suolo e la semplificazione nella composizione della rispettiva comunità compromettono molteplici funzioni dell'ecosistema, tra cui la diversità delle piante, la decomposizione, la ritenzione di nutrienti e il ciclo dei nutrienti (Wagg et al., 2014).

## 1.2. La diversità delle comunità edafiche

Gli animali edafici, cioè quelle specie che vivono al di sotto della superficie del suolo, svolgono un ruolo fondamentale nel mantenimento di molte caratteristiche del suolo (come porosità, aerazione, infiltrazione e distribuzione della materia organica negli orizzonti del suolo) e importanti servizi ecosistemici attraverso il bioturbamento, il ciclo dei nutrienti, la decomposizione e la mineralizzazione della materia organica (Bernard et al. 2012; Neher et al. 2012).

La specializzazione alla vita edafica comprende vari adattamenti come la forma del corpo affusolata, la presenza di appendici fossorie, la depigmentazione, la riduzione o scomparsa di occhi, ali, appendici, setole o peli.

Non tutti gli animali che vivono nel suolo mostrano però lo stesso livello di adattamento a questo habitat: mentre alcuni, infatti, compiono solo una parte del loro ciclo biologico nel suolo, altri ne sono completamente dipendenti. Il diverso grado di specializzazione mostrato dagli invertebrati edafici suggerisce la possibilità di usare questi organismi come bioindicatori della qualità dei suoli, in quanto gli organismi maggiormente specializzati sono quelli che risulteranno maggiormente sensibili alle alterazioni del loro habitat.

L'indice QBS-ar (Qualità Biologica del Suolo-artropodi), introdotto da Parisi et al. (2005), esprime la qualità biologica del suolo secondo il grado di specializzazione degli artropodi edafici, poiché le forme più specializzate sono particolarmente sensibili alle minacce del suolo e potrebbero non sopravvivere ad alterazioni dovute a, per esempio, la coltivazione agricola e il calpestio.

## 1.3. minacce globali alla biodiversità del suolo: il peso dell'agricoltura

L'aumento della popolazione umana, il cambiamento climatico globale, il degrado del suolo e la perdita di terreni agricoli produttivi hanno dimostrato di aumentare la pressione sulle risorse naturali e minacciare i processi che mantengono la sostenibilità globale (Monther et al., 2020; McAfee, 1999). Secondo recenti rapporti, infatti, la biodiversità globale del suolo è minacciata (fig. 3) in particolare nelle zone con un'elevata popolazione umana e pratiche di uso intensivo del suolo.

Uno dei maggiori problemi che la terra deve affrontare oggi è proprio la crescente ed accelerata estinzione di massa di specie dovuta alle attività umane (Lawton & May, 1995; Purvis & Hector, 2000; Smith et al., 1993). La nostra conoscenza della biodiversità globale e del suo tasso di estinzione è molto limitata, ma dei 3-100 milioni di specie che si ritiene esistano, stime prudenti indicano che ogni anno si perdono circa 3000 specie, cioè otto al giorno (Wilson, 2003; GonzálezOreja, 2008).

Tra i maggiori fattori di stress per la biodiversità del suolo, vi sono: l'uso intensivo dell'uomo, il cambiamento climatico, la perdita di biodiversità in superficie, il pascolo eccessivo, il declino della sostanza organica del suolo, l'inquinamento, l'erosione del suolo e il degrado del suolo (Weldemariam & Eyasu, 2008).

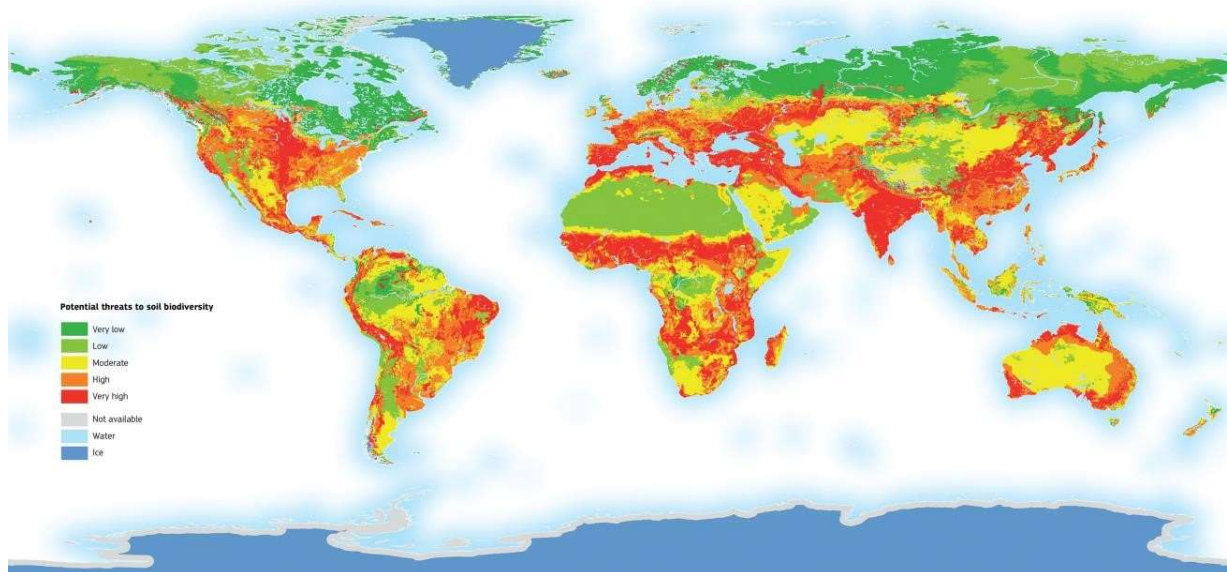
L'erosione è causata dall'azione di acqua e vento, dovuta soprattutto a una inadeguata gestione del territorio, alla deforestazione e al pascolo eccessivo. Data la lentissima velocità di formazione del suolo, qualsiasi perdita di suolo superiore a una tonnellata per ettaro, per anno, può essere considerata irreversibile per un periodo di 50-100 anni. Il compattamento dello strato superficiale rappresenta un altro pericolo per il suolo e si verifica quando il terreno è soggetto alla pressione di macchinari pesanti o al ripetuto passaggio di animali al pascolo, soprattutto nelle zone più umide (Srivastava et al., 1996). A partire dagli anni '60, la meccanizzazione dell'agricoltura ha messo il suolo sotto grande pressione, causandone il compattamento anche in profondità, sotto lo strato arabile. Aumentando la densità del suolo si compromette o si elimina del tutto la capacità di assorbimento dell'acqua. La minore infiltrazione aumenta il deflusso superficiale e causa ulteriore erosione, riducendo al contempo il ricarico delle acque sotterranee. Inoltre, riduce notevolmente sia la capacità delle radici delle colture di penetrare nel suolo, sia la permeabilità ad acqua e ossigeno. Allo stesso modo, l'espansione dell'urbanizzazione ha comportato una nuova minaccia per i suoli globali, quella legata all'impermeabilizzazione del suolo, a causa delle strutture artificiali quali manti stradali, canalizzazioni, sistemi fognari, edifici. Questo è un fenomeno molto pericoloso che causa l'azzeramento delle funzioni ecologiche del suolo (Srivastava et al., 1996).

Un certo numero di funzioni ecologiche del suolo è colpito anche dalla coltivazione. Le piante, infatti, ottengono dal suolo i loro elementi nutritivi, ma anche inquinanti. L'apporto di nutrienti è generalmente specifico a seconda del tipo di terreno e dell'area geografica. Tuttavia, nella moderna agricoltura si applicano misure esterne per aumentare il raccolto: agenti inorganici e organici di protezione delle colture, fertilizzanti organici e minerali, e l'utilizzo di rifiuti organici e minerali; tutto ciò può portare ad inquinamento del suolo e può danneggiare le funzioni del suolo (Stephen et al., 2006).

I Culture Protecting Agents, CPA, ossia gli agenti di protezione delle colture, sono studiati per alterare l'equilibrio della natura a favore delle piante coltivate. Il loro comportamento nel suolo dipende dalle loro proprietà, dal modo in cui vengono utilizzati e dalle condizioni locali. La quantità di CPA applicata, la frequenza di applicazione e il momento in cui viene applicata sono rilevanti per il movimento degli agenti nel suolo e il loro potenziale ingresso nei sistemi idrici. La fertilizzazione e l'utilizzo di materiali di scarto possono portare all'introduzione di inquinanti organici e inorganici nel suolo. A differenza dell'applicazione di agenti fitosanitari, si tratta di una contaminazione involontaria il cui obiettivo è quello di migliorare le condizioni per la crescita delle piante coltivate. I principali inquinanti che entrano nei suoli attraverso la fertilizzazione sono

Cd e Cr, e in misura minore Pb, Ni e As. La maggior parte del carico di metalli pesanti deriva da fosfati e fertilizzanti a base di P (Stephen et al., 2006).

Inoltre, la spinta per un aumento della produzione agricola e dei profitti ha orientato la scelta su un numero limitato di varietà di piante e di razze animali ad alto rendimento. Molti agricoltori, invece di coltivare un'ampia varietà di piante come in passato, si sono concentrati su un'unica coltura da reddito, chiamata monocoltura, che ha ridotto sensibilmente la biodiversità agricola nel mondo. Le piante da monocoltura sono spesso ibride di specie tradizionali. Una migliore varietà produce di più, così gli agricoltori non si preoccupano di piantare la varietà più vecchia, che lentamente sparisce (Srivastava et al., 1996).



**Fig.3.** Potenziali minacce globali alla biodiversità del suolo. La mappa mostra il potenziale piuttosto che il livello reale di minaccia per gli organismi del suolo (Monther et al., 2020 Fonte: <https://antropocene.it/2017/05/14/mappadella-biodiversita-del-suolo/>).

#### 1.4. Agricoltura intensiva o convenzionale

L'agricoltura è un patrimonio, fonte di vita e di cibo. Copre circa il 70% delle terre emerse, e per tale motivo è il custode del pianeta. È fondamentale per la conservazione delle risorse naturali e per la lotta al cambiamento climatico (Ciccarese, 2012).

L'evoluzione dell'agricoltura è sempre andata di pari passo con lo sviluppo delle tecnologie, delle conoscenze e delle tecniche di coltivazione. In base a queste è possibile suddividere i sistemi di produzione come segue:

- Agricoltura convenzionale
- Agricoltura conservativa

- Agricoltura biologica

Con agricoltura intensiva o convenzionale, viene definito quel sistema agricolo produttivo in cui vengono effettuate delle lavorazioni sistematiche di tipo meccanico al terreno e dei trattamenti sistematici alle colture utilizzando prodotti chimici: per la difesa delle piante, per il controllo delle erbe infestanti, per la fertilizzazione del terreno, con grandi vantaggi in termini di aumento delle produzioni e di risparmio di lavoro (Fulton, 1989).

Tra le lavorazioni di tipo meccanico, l'aratura ad esempio, è sempre stata considerata una tecnica fra le più efficaci, ma non è esente da difetti poiché, come altri tipi di lavorazioni intensive (es. fresature), può favorire il processo di erosione del suolo. Questa tecnica di lavorazione fu fondamentale e caratterizzò l'agricoltura americana sin dal 1850. Negli anni '30 la combinazione di pratiche agronomiche scorrette (lavorazioni intensive ed avvicendamenti colturali inadeguati) assieme alla siccità persistente durata per diversi anni, determinò la riduzione in polvere di vaste aree agricole (le grandi pianure americane) cui seguirono fenomeni erosivi intensi con tempeste di polvere e perdita di grandi quantità di suolo. Questa catastrofe determinò la nascita del Soil Conservation Service (SCS) nel 1935, ora diventato Natural Resources Conservation Service (NRCS) del Dipartimento di agricoltura americano (USDA - United States Department of Agriculture), che tuttora si occupa dello studio dei suoli e delle tecnologie che permettono la conservazione del suolo e delle risorse idriche (Carboni, 2017).

Si sono ottenuti risultati molto soddisfacenti in termini di qualità e quantità, con conseguenti vantaggi di tipo economico. Tuttavia, non sono mancate le ripercussioni negative per l'ecologia del sistema agricolo e dell'ambiente in genere (inquinamento del terreno e dell'acqua, eliminazione di insetti innocui ma sensibili ai veleni, perdita di fertilità dei suoli, induzione di resistenza agli antiparassitari, appiattimento della biodiversità) (ARPAV, 2007).

L'uso continuo del sistema di lavorazione convenzionale (CT), fa sì che siano necessari sistemi alternativi che riducono il degrado del suolo e migliorano la sostenibilità. L'utilizzo di pratiche di lavorazione minime, ad esempio, può migliorare le proprietà fisiche, chimiche e biologiche come la struttura macroporosa, la stabilità degli aggregati, la disponibilità di nutrienti e la diversità delle popolazioni microbiche, riducendo al contempo le perturbazioni del suolo. Migliorare la struttura del suolo, migliora la crescita delle radici, che a sua volta può aiutare le colture a esplorare un volume più grande di terreno e utilizzare nutrienti e acqua in modo più efficiente (Gholamreza, 2017).

Secondo molti scienziati del suolo, ecologi, agronomi, e altri professionisti in tutto il mondo, il degrado continuo delle risorse naturali è strettamente associato ad una perdita della qualità del suolo e la loro logica è che se i terreni sono gestiti/mantenuti in modo tale da garantire le proprietà



biologiche, chimiche e fisiche, gran parte della degradazione attuale può essere mitigata (Weldemariam & Eyasu, 2008).

### 1.5. Agricoltura conservativa

Tra i sistemi di gestione alternativi all'agricoltura convenzionale, per la sostenibilità dei sistemi colturali, l'Agricoltura Conservativa (AC) rappresenta uno dei modelli più avanzati in continua e rapida evoluzione. L'AC è definita dalla Food and Agriculture Organization (FAO;a) un sistema di produzione agricola sostenibile per la protezione dell'acqua e del suolo agrario che integra aspetti agronomici, ambientali ed economici. L'AC è diffusa a scala mondiale su una superficie di oltre 116 milioni di ettari corrispondenti ad oltre il 7% delle terre coltivate. L'agricoltura convenzionale esalta l'aspetto conservativo del suolo, attraverso l'incremento della sostanza organica e la biodiversità, riducendo l'erosione, la contaminazione e il compattamento, implementando la "conservazione e il controllo delle risorse naturali". A questi importanti obiettivi si aggiunge anche la possibilità di contribuire a mitigare gli effetti dei cambiamenti climatici, attraverso due modalità: con la riduzione dell'emissione di gas ad effetto serra, in particolare CO<sub>2</sub> (per il minore consumo di combustibili) e di sequestrarla, attraverso la preservazione del carbonio organico nel suolo, migliorando l'efficienza energetica, tutelando la qualità delle acque superficiali, conservando il suolo e la sua fertilità, valorizzando le funzioni di protezione svolte dai residui colturali. L'adozione di pratiche agronomiche conservative, sfruttando a proprio vantaggio i processi naturali utili alla produzione, prevede il minimo disturbo meccanico del suolo e una copertura permanente, integrate da avvicendamenti colturali. (Pisante & Stagnari, 2011)

I principi dell'AC possono essere sintetizzati nei seguenti punti:

- promuovere il minimo disturbo meccanico del suolo, attraverso sistemi di lavorazione ridotta o semina su sodo;
- mantenere una copertura vegetale permanente, in modo da assicurare una sufficiente quantità di biomassa vivente o sotto forma di residui;
- migliorare la fertilità del suolo, attraverso rotazioni colturali, anche con l'uso di tecnologie basate sull'uso integrato di fitofarmaci (Carboni, 2017).

Le tecniche fondamentali di lavorazione del terreno sono:

- la lavorazione ridotta del terreno che viene effettuata su uno strato non superiore a 15 cm di profondità cercando di preparare il letto di semina in un unico passaggio. Talvolta preceduta da un intervento disseccante, questo tipo di lavorazione è generalmente adatta per tutte le colture foraggere;

- la semina su sodo, cioè la semina diretta sui residui colturali del raccolto precedente in un solo passaggio senza smuovere il terreno. La preparazione del terreno si limita a un diserbo in presemina. È adatta alle colture foraggere ma quelle a semi minuti (trifogli e mediche) possono essere un po' lente all'emergenza e soffrire inizialmente la competizione con le infestanti se il terreno non è stato adeguatamente diserbato (Carboni, 2017).

### 1.6. Agricoltura biologica

Per spiegare brevemente in cosa consiste il biologico si farà riferimento a quanto presente sul sito del SINAB (<http://www.sinab.it/>), il Sistema d'Informazione Nazionale sull'Agricoltura Biologica realizzato dal Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali. L'agricoltura biologica è un sistema di produzione agricola che ha come obiettivo il rispetto dell'ambiente, degli equilibri naturali e della biodiversità, e che cerca di offrire al consumatore prodotti genuini ottenuti nel rispetto del ciclo della natura. L'azienda agricola biologica è un unico "agro-eco-sistema" nel quale l'attività dell'uomo si inserisce utilizzando tecniche rispettose della fertilità del suolo, delle singole colture, degli animali e dell'equilibrio ambientale: tali tecniche escludono l'impiego di concimi, fitofarmaci e medicinali veterinari chimici di sintesi, e Organismi Geneticamente Modificati (OGM). Qualora, comunque, si rendesse necessario intervenire per la difesa delle coltivazioni da parassiti e altre avversità, l'agricoltore può fare ricorso esclusivamente alle sostanze di origine naturale espressamente autorizzate e dettagliate dal Regolamento europeo (con il criterio della cosiddetta "lista positiva") European Union Register of Feed Additives pursuant to Regulation (EC, 2003).

L'agricoltura biologica incoraggia a:

- usare l'energia e le risorse naturali in modo responsabile
- mantenere la biodiversità
- conservare gli equilibri ecologici regionali
- migliorare la fertilità del suolo
- mantenere la qualità delle acque.

Inoltre, le norme in materia di agricoltura biologica favoriscono il benessere degli animali e impongono agli agricoltori di soddisfare le specifiche esigenze comportamentali degli animali.

Il logo biologico (Fig. 4) fornisce un'identità visiva coerente ai prodotti biologici venduti nell'UE. Aiuta i consumatori dell'UE a individuare più facilmente i prodotti biologici e gli agricoltori a commercializzarli in tutti i paesi dell'Unione europea. Il logo biologico può essere utilizzato solo

sui prodotti che sono stati certificati come biologici da un organismo o un'agenzia di controllo autorizzato. I dati elaborati dal SINAB (Sistema di Informazione Nazionale sull'Agricoltura Biologica) per il Mipaaf relativi all'anno 2019 dimostrano la salute del settore: dal 2010 il numero degli operatori è cresciuto del 69%, mentre gli ettari di superficie biologica coltivata sono aumentati del 79%. Secondo le analisi, infatti, nel 2019 in Italia si è arrivati a sfiorare i 2 milioni di ettari di superfici biologiche, con un incremento rispetto al 2018 di quasi il 2% di SAU. Ciò si è tradotto in 35 mila ettari in più in soli 12 mesi: una crescita non solo in termini di superfici ma anche di soggetti coinvolti nel settore, che sono saliti a 80.643 unità, con un incremento rispetto all'anno precedente del 2%. L'incidenza della superficie biologica nel nostro Paese ha raggiunto nel 2019 il 15,8% della SAU nazionale (Fig. 5), e questo posiziona l'Italia di gran lunga al di sopra della media UE, che nel 2018 si attestava al 8,0%.



**Fig. 4.** Logo biologico (Fonte: [https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/farming/organic-farming/organiclogo\\_it](https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/farming/organic-farming/organiclogo_it)).



**Fig. 4.** Distribuzione regionale delle superfici biologiche in Italia. Anno 2019. Valori in ettari (Fonte: Elaborazione SINAB su dati Organismi di Controllo).

## 2. OBIETTIVI DEL PROGETTO

Uno degli obiettivi principali del presente progetto è di ampliare le conoscenze tecniche e scientifiche sui suoli anche in rapporto alle diverse pratiche agricole e agro-ambientali e di **ampliare le conoscenze scientifiche relative al concetto di Biodiversità** (cioè l'intima connessione delle diverse forme di vita e dell'ambiente) per ciò che riguarda sia le forme di vita vegetale che animale, per questo ci si è concentrati sul sistema tellurico. Il suolo è in assoluto l'ambiente più ricco di Biodiversità, sia per numerosità delle specie che lo abitano, che per la quantità degli individui che le costituiscono, tanto da poter essere considerato, se guardato nella sua complessità, come l'essere vivente più complesso e variegato. **Dalla ricchezza di Biodiversità del suolo dipende un aspetto fondamentale per la sopravvivenza della specie umana sul Pianeta Terra: la fertilità del terreno destinato alle coltivazioni.**

In questo contesto, quello che si cercherà di **porre in evidenza è la ricchezza di biodiversità nei terreni agricoli di zone protette rispetto a quelli esterni a queste, andando a confrontare i diversi metodi di agricoltura**, in particolare il metodo biologico con il metodo convenzionale spinto oppure con le pratiche di agricoltura sostenibile. Per questo, in ogni zona presa in considerazione, sono stati individuati dei punti di campionamento diversificati, ove possibile, per

gestione agronomica (biologico-convenzionale-conservativo) e per livello di protezione (dentro o fuori area protetta).

Quindi è stata dapprima eseguita un'ampia ricerca bibliografica relativa alla letteratura scientifica specialistica sulle procedure attualmente in uso per la valutazione della qualità biologica dei suoli. Le varie metodiche proposte sono state quindi messe a confronto e criticamente valutate al fine di identificare l'approccio più appropriato al progetto, sia in termini di rigore scientifico che di fattibilità. Per studiare i suoli in modo più completo possibile, sono state programmate analisi di tipo chimico- fisico, microbiologico e zoologico.

Per quanto riguarda la parte zoologica, la scelta è ricaduta sulla metodica che utilizza un indice di qualità biologica (noto come QBS – Qualità Biologica dei Suoli) basato sugli artropodi edafici. Nel QBS-ar, gli artropodi presenti in un campione di suolo ricevono un punteggio tanto maggiore quanto più è alto il loro livello di specializzazione alla vita edafica. In pratica, maggiore è il numero di organismi altamente specializzati, maggiore è il valore del QBS, e quindi la qualità del suolo in esame. Il protocollo standard per il calcolo del QBS prevede l'estrazione degli artropodi da campioni di suolo attraverso un dispositivo noto come imbuto Berlese: poiché gli artropodi del suolo hanno bisogno di un ambiente fresco ed umido, ponendo un campione di suolo in un imbuto riscaldato superiormente, essi tenderanno a spostarsi verso il basso, fino a cadere in un recipiente collocato sotto l'imbuto e contenete una sostanza che ne garantisce la conservazione per il successivo esame al microscopio. Agli animali presenti nel campione viene quindi attribuito un punteggio che va da 1 (animali non specializzati alla vita edafica) a 20 (animali altamente specializzati alla vita edafica, tipicamente privi di occhi, depigmentati, con appendici ridotte e organi di senso più sviluppati). Sommando i punteggi delle forme presenti nel campione, si ottiene il valore del QBS del suolo in esame.

Per quanto riguarda la parte microbiologica, si è scelto di operare con un campionamento randomico, a venti centimetri di profondità, dove ogni campione è il risultato dell'accorpamento di tre ripetizioni operate nell'intorno di un punto e riunite in un solo recipiente. A sua volta, nello stesso campo, vengono eseguite tre repliche in punti diversificati, per garantire una sufficiente affidabilità statistica dei dati, nonché la loro riproducibilità. Ai campioni di suolo, viene estratto il DNA tramite appositi kit, che poi viene fatto sequenziare, per individuare reti trofiche e composizione microbica del suolo, in termini di Batteri e Archea.

Per quanto riguarda la parte chimico-fisica, i campioni di suolo vengono fatti essiccare e fatti analizzare in laboratori esterni, per individuare la composizione chimica di base, la presenza di fosforo, azoto e potassio, carbonio organico e altri parametri, laddove necessario.

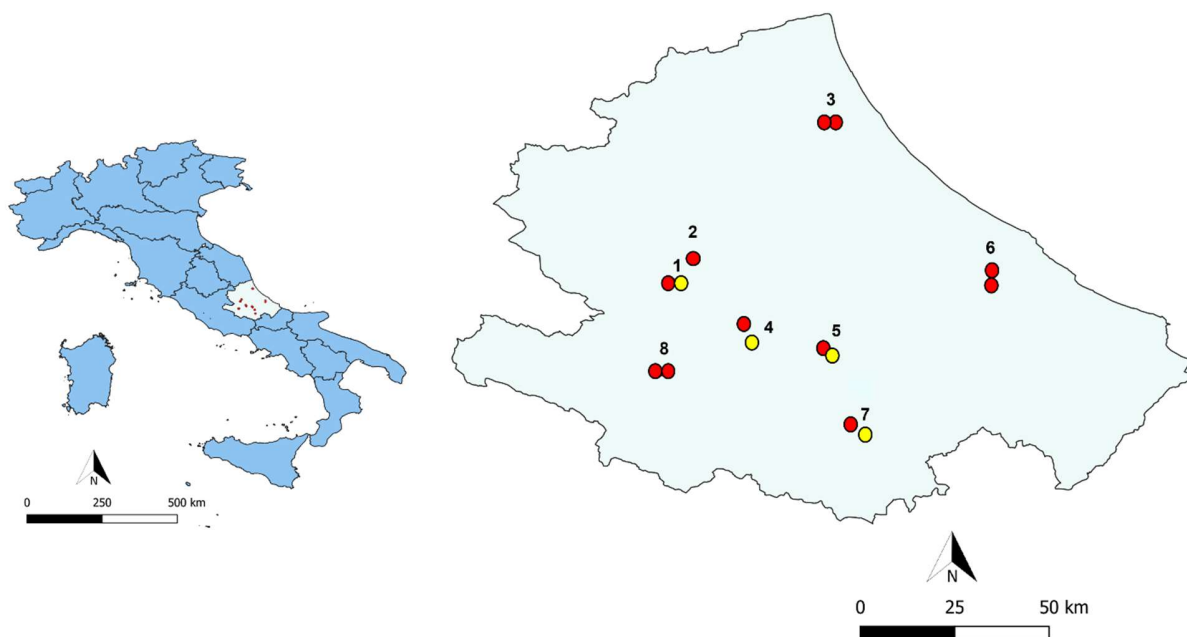
In una seconda fase, è stato stilato il disegno sperimentale, con la messa a punto di un protocollo specifico: dimensione dei campioni di suolo, modalità di prelievo, numero di repliche, numero di

aree e loro tipologia, ecc. Allo stesso tempo, è stato messo a punto il disegno analitico, al fine di avere un adeguato protocollo di analisi statistica.

Le restrizioni imposte dall'emergenza COVID-19 hanno purtroppo ostacolato la fase sperimentale nelle aree di studio e imposto un rimodellamento del disegno sperimentale, al fine di poter acquisire dati comunque validi in un minor tempo. Ciò ha comportato la necessità di adattare i protocolli di campionamenti affinché non venisse pregiudicato il rigore scientifico dei risultati e la loro applicabilità pratica.

A tale scopo, attraverso contatti diretti e sopralluoghi preliminari, si è proceduto alla identificazione delle aree in cui effettuare i campionamenti. Le aree sono state scelte in modo da essere rappresentative delle varie modalità di coltivazione, delle varie aree geografiche e del livello di protezione (presenza di aree naturali protette).

Per quanto riguarda la qualità biologica dei suoli, ad oggi sono stati eseguiti i campionamenti dei terreni situati nelle maggiori aree produttive della regione Abruzzo – CHIETINO, ALTOPIANO DELLE CINQUE MIGLIA, VALLE PELIGNA, VALLE SUBEQUANA, VAL VOMANO, MONTAGNA AQUILANA, ALTOPIANO DI NAVELLI, FUCINO.



**Fig.6.** Localizzazione delle aree sottoposte al campionamento. Le aree selezionate sono distribuite sull'intero territorio regionale, e sono collocate in zone protette o in zone sottoposte a sfruttamento agricolo. Nella figura: 1) Montagna aquilana; 2) Altopiano di Navelli; 3) Val Vomano; 4) Valle Subequana; 5) Valle Peligna; 6) Chietino; 7) Altopiano delle cinque miglia; 8) Fucino. In rosso i siti all'esterno e in giallo i siti all'interno dei Parchi Nazionali.

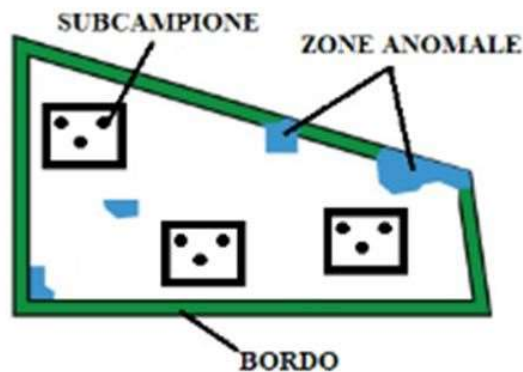
Per quanto riguarda invece la caratterizzazione chimico-fisica e microbiologica, si è costruito un database completo con le zone e i punti campionati, la loro localizzazione con coordinate GPS, e tutti i dati utili. Questo database, di seguito riportato, rappresenta un valido e flessibile strumento di controllo e di gestione dei campioni, perché può essere condiviso e di volta in volta aggiornato.

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1. Campionamenti

Uno degli ostacoli principali nelle analisi microbiologiche e biochimiche del suolo riguarda le tecniche di campionamento, manipolazione e conservazione del campione da analizzare. È noto quanto i microrganismi del suolo rispondano tempestivamente a tutte le variazioni di temperatura e umidità, pertanto i microbiologi, qualora non sia possibile realizzare l'analisi direttamente in campo, devono cercare di operare nelle condizioni più vicine a quelle in cui il suolo si trova prima di venire campionato. (DM Agricoltura 8 luglio 2002. “Approvazione dei metodi ufficiali di analisi microbiologica del suolo”). Le caratteristiche del terreno sono molto variabili e non è possibile ottenere campioni omogenei e attendibili su superfici troppo vaste, superiori a 2 ettari. Dalla superficie da campionare vanno escluse le zone di terreno anomale per aspetto (presenza di scheletro, diversa tessitura, diverso colore ecc.) ed eventualmente quelle con diversa precessione colturale, cioè che in precedenza hanno ospitato colture differenti, con conseguenti differenti concimazioni. Vanno inoltre esclusi i bordi dell'appezzamento, per circa 5 metri dai fossi e dalle capezzagne.

Solitamente è consigliato che il prelievo di suolo destinato ad analisi microbiologiche e biochimiche sia eseguito alla profondità di 0-15 cm poiché, di norma, è questo lo strato di suolo maggiormente colonizzato dai microrganismi. Si tratta comunque di un approccio non sempre valido dal momento che la distribuzione della biomassa microbica lungo il profilo di un suolo è regolata da molteplici fattori e differisce anche in base al tipo di gestione da parte dell'uomo.



**Fig.7.** Schematizzazione del campionamento effettuato: all'interno delle aree campionate sono stati selezionati tre riquadri, all'interno dei quali sono stati effettuati tre diversi prelievi di terreno.

Il campione deve essere formato da almeno 9 campioni elementari (sub campioni), prelevati in punti diversi e accuratamente mescolati, in modo da rappresentare la situazione media del terreno da esaminare. I punti di prelievo vanno scelti seguendo un percorso casuale che attraversi tutto il campo, come indicato nella figura. Il campionamento va effettuato il più lontano possibile dalle precedenti distribuzioni di alcune sue parti come potrebbe avvenire, per effetto della casualità, in altri schemi di campionamento come, per esempio, nel campionamento casuale semplice. Dalla scomposizione della devianza discende che, da un punto di vista dell'efficienza della stima (in via approssimativa), il campionamento sistematico è più efficiente del campionamento casuale semplice nel caso in cui la varianza all'interno dei campioni sistematici sia maggiore della devianza totale della variabile di interesse.

### 3.2. Aree Campionate

Di seguito vengono riportate le informazioni riguardanti i campi sottoposti a campionamento, raggruppati per area produttiva di studio e le date di campionamento per le stagioni primaverile e autunnale delle annualità 2020 e 2021.



## ALTOPIANO DELLE CINQUE MIGLIA

### Campo ACM1/ACM6

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo ACM1/ACM6
GEOLOCALIZZAZIONE	41,8914 Lat. 14,0043 Long.
LOCALITA'	Rocca Pia (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Dentro parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano, semina su sodo
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

### Campo ACM2/ACM7

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo ACM2/ACM7
GEOLOCALIZZAZIONE	42,9005 Lat. 13,9844 Long.
LOCALITA'	Rocca Pia (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano, semina su sodo
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

### Campo ACM3/ACM8

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo ACM3/ACM8
GEOLOCALIZZAZIONE	41,9034 Lat. 13,9839 Long.
LOCALITA'	Rocca Pia (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021

	Campionamento del 1 ottobre 2021
--	----------------------------------

#### Campo ACM4/ACM9

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo ACM4/ACM9
GEOLOCALIZZAZIONE	41,8842 Lat. 14,0281 Long.
LOCALITA'	Rivisondoli (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Dentro parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano, rotazione biennale grano/patate
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

#### Campo ACM5/ACM10

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo ACM5/ACM10
GEOLOCALIZZAZIONE	41,8842 Lat. 14,0282 Long.
LOCALITA'	Rivisondoli
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021



**Fig.8.** Campi sottoposti a campionamento nell'AREA ALTOPIANO DELLE CINQUE MIGLIA dall'alto verso il basso e da sinistra verso destra ACM1/ACM2-ACM5/ACM10.

## VALLE PELIGNA

### Campo VP1/VP4

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo VP1/VP4
GEOLOCALIZZAZIONE	42,0933 Lat. 13,9013 Long.
LOCALITA'	Pratola Peligna (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Integrata a sodo
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Mais
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

### Campo VP2/VP5

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo VP2/VP5
GEOLOCALIZZAZIONE	42,1017 Lat. 13,9021 Long.
LOCALITA'	Pratola Peligna (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Integrata a sodo
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano, rotazione con soia

DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021
-----------------------	---

Campo VP3/VP6

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo VP3/VP6
GEOLOCALIZZAZIONE	42,0853 Lat. 13,9209 Long.
LOCALITA'	Sulmona (AQ), via Morronese
TIPO DI COLTIVAZIONE	Integrata a sodo
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Soia
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021



Fig.9. Campi sottoposti a campionamento nell'area VALLE PELIGNA da sinistra verso destra VP1/VP4-VP3/VP6.

## VALLE SUBEQUANA

Campo VS1/VS4

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo VS1/VS4
GEOLOCALIZZAZIONE	42,1478 Lat. 13,7142 Long.
LOCALITA'	Castelvecchio Subequo (AQ), zona Pretalata
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano a rotazione
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

Campo VS2/VS5

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo VS2/VS5
GEOLOCALIZZAZIONE	42,1220 Lat. 13,7295 Long.
LOCALITA'	Castel di Ieri (AQ), località Sanguineto
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico

POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano a rotazione, attualmente trifoglio
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

Campo VS3/VS6

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo VS3/VS6
GEOLOCALIZZAZIONE	42,0903 Lat. 13,7026 Long.
LOCALITA'	Castel di Ieri (AQ), località Sanguineto
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Dentro parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano a rotazione, attualmente incolto
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021



Fig.10. Campi sottoposti a campionamento nell'area VALLE SUBEQUANA da sinistra verso destra VS1/VS4VS3/VS6.

## MONTAGNA AQUILANA

Campo MA1/MA5

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo MA1/MA3
GEOLOCALIZZAZIONE	42,2574 Lat. 13,5472 Long.
LOCALITA'	San Demetrio (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Convenzionale
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

### Campo MA2/MA6

SIGLA DELL' AREA CAMPIONATA	<b>Campo MA2/MA4</b>
GEOLOCALIZZAZIONE	42,2568 Lat. 13,5592 Long.
LOCALITA'	Fagnano Alto (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Convenzionale
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Dentro parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Orzo
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021



**Fig.11.** Campi sottoposti a campionamento nell'area MONTAGNA AQUILANA da sinistra verso destra MA1/MA3MA2/MA4.

## ALTOPIANO DI NAVELLI

### Campo AN1/AN3

SIGLA DELL' AREA CAMPIONATA	<b>Campo AN1/AN3</b>
GEOLOCALIZZAZIONE	42,3198 Lat. 13,6000 Long
LOCALITA'	Barisciano (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico/Conservativo
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Dentro parco – ALTOPIANO DI NAVELLI
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano a rotazione, attualmente favino
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

### Campo AN2/AN4



SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	<b>Campo AN2/AN4</b>
GEOLOCALIZZAZIONE	42,3148 Lat. 13,5924 Long.
LOCALITA'	Barisciano (AQ)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Conservativo
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco – ALTOPIANO DI NAVELLI
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 11 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021



**Fig.11.** Campi sottoposti a campionamento nell'area ALTOPIANO DI NAVELLI da sinistra verso destra AN1/AN3AN2/AN4.

## VAL VOMANO

### Campo VV1/VV3

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	<b>Campo VV1/VV3</b>
GEOLOCALIZZAZIONE	42,6351 Lat. 13,9284 Long.
LOCALITA'	Morro d'Oro (TE)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Convenzionale
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano, rotazione triennale con orticole
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 5 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

### Campo VV2/VV4

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	<b>Campo VV2/VV4</b>
GEOLOCALIZZAZIONE	42,6361 Lat. 13,9158 Long.
LOCALITA'	Notaresco (TE), bivio Fontanelle

TIPO DI COLTIVAZIONE	Convenzionale
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Grano, rotazione biennale con leguminose
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 26 giugno 2020 Campionamento del 5 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021



**Fig.12.** Campi sottoposti a campionamento nell'area VAL VOMANO da sinistra verso destra VV1/VV3-VV2/VV4.

## FUCINO

### Campo FUC1/FUC5

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo FUC1/FUC5
GEOLOCALIZZAZIONE	42,0385030 Lat. 13,4995580 Long.
LOCALITA'	Strada 11 appezzamento 20
TIPO DI COLTIVAZIONE	Convenzionale
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori Parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Carote
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 3 luglio 2020 Campionamento del 10 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

### Campo FUC2/FUC6

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo FUC2/FUC6
GEOLOCALIZZAZIONE	42,0384870 Lat. 13,4997460 Long.
LOCALITA'	Strada 11 appezzamento 5
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori Parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Carote



DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 3 luglio 2020 Campionamento del 10 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021
-----------------------	--

#### Campo FUC3/FUC7

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo FUC3/FUC7
GEOLOCALIZZAZIONE	42,0432370 Lat. 13,5175190 Long.
LOCALITA'	Strada 12 appezzamento 2
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori Parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Carote
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 15 luglio 2020 Campionamento del 10 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

#### Campo FUC4/FUC8

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo FUC4/FUC8
GEOLOCALIZZAZIONE	42,0160680 Lat. 13,5295100 Long.
LOCALITA'	Strada 13 appezzamento 14
TIPO DI COLTIVAZIONE	Convenzionale
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori Parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Carote
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 15 luglio 2020 Campionamento del 10 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021



**Fig.13.** Campi sottoposti a campionamento nell'AREA FUCINO dall'alto verso il basso e da sinistra verso destra FUC1/FUC5-FUC4/FUC8.

## CHIETINO

### Campo CH1/CH6

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo CH1/CH6
GEOLOCALIZZAZIONE	42,2375920 Lat. 14,2688620 Long.
LOCALITA'	Orsogna (CH)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico Biologico (Sovescio con favino)
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori Parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Vite – Trebbiano
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 29 luglio 2020 Campionamento del 1 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

### Campo CH2/CH7

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo CH2/CH7
GEOLOCALIZZAZIONE	42,2449050 Lat. 14,2716450 Long.
LOCALITA'	Orsogna (CH)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Biologico (Sovescio con favino)
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori Parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Vite – Montepulciano

DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 29 luglio 2020 Campionamento del 1 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021
-----------------------	--

#### Campo CH3/CH8

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo CH3/CH8
GEOLOCALIZZAZIONE	42,2778110 Lat. 14,3040980 Long.
LOCALITA'	Orsogna (CH)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Convenzionale (Diserbo)
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori Parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Vite – Montepulciano
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 29 luglio 2020 Campionamento del 1 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

#### Campo CH4/CH9

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo CH4/CH9
GEOLOCALIZZAZIONE	42,2780310 Lat. 14,3031240 Long.
LOCALITA'	Orsogna (CH)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Convenzionale (Diserbo)
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori Parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Vite – Trebbiano
DATA DI CAMPIONAMENTO	Campionamento del 29 luglio 2020 Campionamento del 1 ottobre 2020 Campionamento del 19 giugno 2021 Campionamento del 1 ottobre 2021

#### Campo CH5/CH10

SIGLA DELL'AREA CAMPIONATA	Campo CH5/CH10
GEOLOCALIZZAZIONE	42,2559200 Lat. 14,2906120 Long.
LOCALITA'	Orsogna (CH)
TIPO DI COLTIVAZIONE	Convenzionale (Diserbo)
POSIZIONE RISPETTO AL PARCO	Fuori Parco
TIPOLOGIA DI CULTURA	Vite – Cabernet

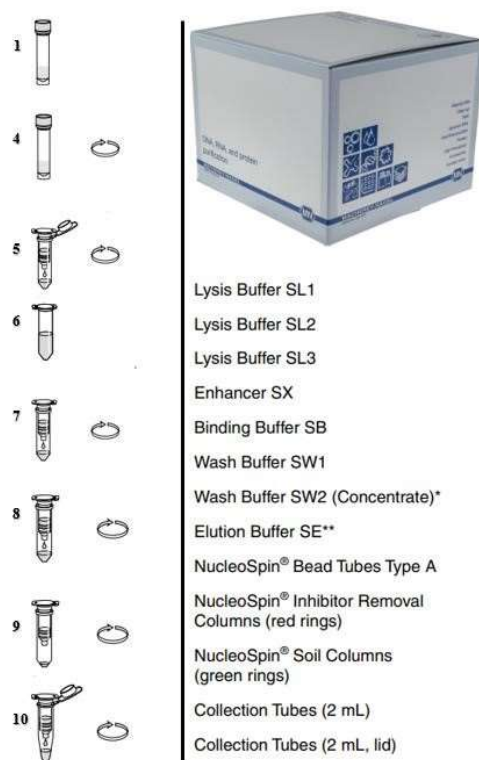
DATA DI CAMPIONAMENTO	<p>Campionamento del 29 luglio 2020</p> <p>Campionamento del 1 ottobre 2020</p> <p>Campionamento del 19 giugno 2021</p> <p>Campionamento del 1 ottobre 2021</p>
-----------------------	---



**Fig.14.** Campi sottoposti a campionamento nell'AREA CHIETINO dall'alto verso il basso e da sinistra verso destra CHI/CH6-CH5/CH10.

### 3.3. Estrazione del DNA

I campioni prelevati dai campi sono stati lavorati in modo da eliminare le variabili legate alla grandezza delle aree campionate e degli operatori che hanno svolto i campionamenti. Per questo motivo i tre prelievi di terreno che sono stati effettuati per ogni area sono stati riuniti in parti uguali in un unico campione globale in laboratorio. Da ciascun campione globale sono state poi effettuate le estrazioni. Al fine di eliminare la variabilità genetica dei campioni raccolti, nonché la variabilità legata al funzionamento del kit utilizzato e degli operatori, sono state effettuate 3 ripetizioni di estrazione per campione. L'estrazione del DNA è stata effettuata utilizzando il Kit NucleoSpin®Soil (MN's World site).



**Fig.15.** Kit di estrazione NucleoSpin®Soil, con schema riassuntivo dei passaggi descritti nel protocollo e lista dei reagenti utilizzati durante la prova.

### **Protocollo estrazione DNA (Bioanalysis,2021)**

1. **PREPARAZIONE CAMPIONE** – Vengono trasferiti 250-500 mg di materiale fresco ad un MN BeadTube tipo A, contenente le perle di ceramica. Successivamente vengono inseriti 700 µl di tampone di lisi SL1 o SL2. (Nel nostro caso utilizziamo buffer SL2)
2. **REGOLAZIONE CONDIZIONI DI LISI** – Si inseriscono 150 µl di Enhancer SX come coadiuvante per la lisi svolta dai buffer per garantire la purezza del materiale estratto.
3. **LISI DEL CAMPIONE** – I campioni sono agitati con l’ausilio di un Vortex orizzontale a piena velocità e temperatura ambiente (18–25 ° C), per 5 minuti, in modo da rompere meccanicamente il materiale del campione attraverso il lavoro delle microsferre in ceramica.

4. **PRECIPITAZIONE DEI CONTAMINANTI** – Si centrifugano i campioni per 2 minuti a 11.000 x g per eliminare la schiuma prodotta dal detergente. Il surnatante viene spostato in una seconda provetta in cui si introducono 150 µl di tampone SL3, in questo modo le proteine e gli inibitori della PCR vengono precipitati. Il surnatante viene rimosso ed eliminato facendolo passare attraverso una colonna NucleoSpin per la rimozione degli inibitori e passato in vortex per 5 s. I campioni sono incubati per 5 minuti a 0–4 ° C e centrifugati per 1 minuto a 11.000 x g.
5. **FILTRAGGIO DEL LISATO** - Posizionare una colonna NucleoSpin per la rimozione degli inibitori (anello rosso) in una provetta di raccolta da 2 ml. Caricare fino a 700 µl di surnatante limpido, del passaggio 4, sul filtro. Centrifugare per 1 minuto a 11.000 x g. Scartare la colonna NucleoSpin per la rimozione degli inibitori.
6. **REGOLAZIONE DEL BINDING** – Si inseriscono 250 µl di tampone SB e si agitano i campioni con Vortex per 5s.
7. **BINDING DEL DNA** – Si posiziona una colonna del suolo NucleoSpin (anello verde) in una provetta di raccolta da 2 ml. Si caricano 550 µl di campione sulla colonna. Il campione viene centrifugato per 1 minuto a 11.000 x g. Il liquido filtrato viene eliminato e la colonna viene riposizionata nel tubo di raccolta. Si carica il campione rimanente sulla colonna e si centrifuga per 1 minuto a 11.000 x g. Il liquido filtrato viene eliminato e la colonna viene riposizionata nel tubo di raccolta.
8. **LAVAGGIO DELLA MENBRANA DI SILICE** – Si eseguono quattro lavaggi:
  - Si inseriscono 500 µl di tampone SB nella colonna del suolo NucleoSpin. Si centrifuga per 30 secondi a 11.000 x g. Il liquido filtrato viene eliminato e la colonna viene riposizionata nel tubo di raccolta.
  - Si inseriscono 550 µl di tampone SW1 nella colonna del suolo NucleoSpin. Si centrifuga per 30 secondi a 11.000xg. Il liquido filtrato viene eliminato e la colonna viene riposizionata nel tubo di raccolta.
  - Si inseriscono 650 µl di tampone SW2 nella colonna del suolo NucleoSpin e si agita su vortex per 2 secondi. Il campione si centrifuga per 30 secondi a 11.000 x g. Il liquido filtrato viene eliminato e la colonna viene riposizionata nel tubo di raccolta.
  - Si inseriscono 650 µl di tampone SW2 nella colonna del suolo NucleoSpin e si agita su vortex 2 secondi. Il campione si centrifuga per 30 secondi a 11.000 x g. Il liquido filtrato viene eliminato e la colonna viene riposizionata nel tubo di raccolta.



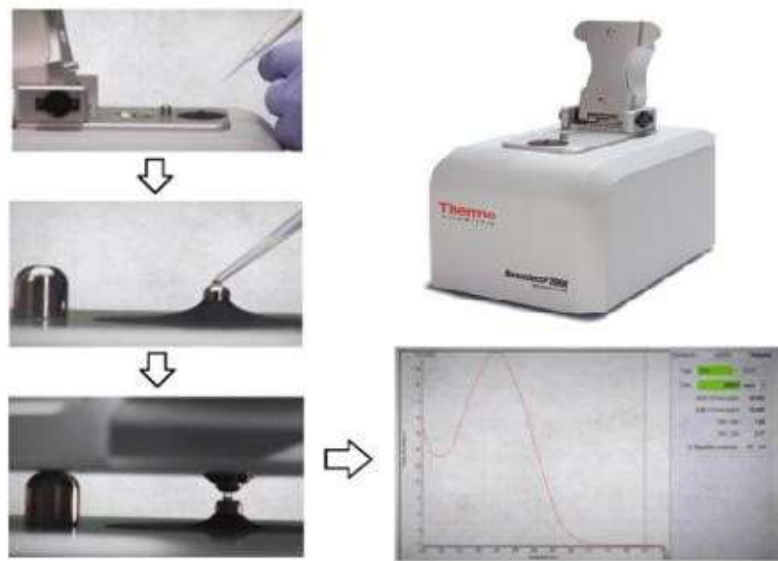
9. **ASCIUGATURA DELLA MEMBRANA** – Il campione viene centrifugato per 2 minuti a 11.000 x g.

10. **ELUIZIONE DEL DNA** – Si posiziona una colonna del suolo NucleoSpin in una nuova provetta per micro-centrifuga. Si inseriscono 30  $\mu$ l (per alta concentrazione), 50  $\mu$ l (per concentrazione media), o 100  $\mu$ l (per alto rendimento) di Buffer SE alla colonna (nel nostro caso sono stati inseriti 35  $\mu$ l). Il campione viene fatto incubare per 1 minuto a temperatura ambiente (18-25 °C) e successivamente centrifugato per 30 secondi a 11.000 x g.



**Fig.16.** Foto dei passaggi effettuati in laboratorio per l'estrazione del DNA dai campioni di suolo prelevati.

È stato analizzato 1  $\mu$ l dei campioni estratti allo spettrofotometro UV-VIS NanoDrop 2000, per testare l'effettiva riuscita dell'estrazione del campione e la relativa purezza. Sono stati successivamente etichettati e conservati in frigo a -20°C fino alle successive analisi.

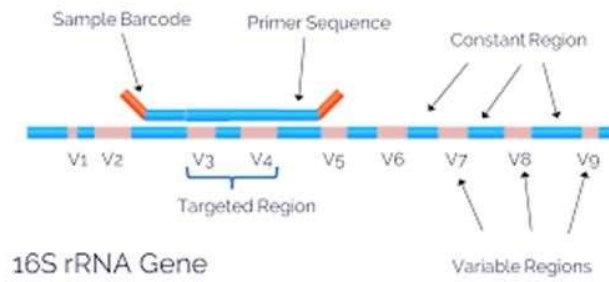


**Fig.17.** Schema riassuntivo passaggi effettuati per la misurazione al Nanodrop.

### 3.4. Next Generation Sequencing - NGS

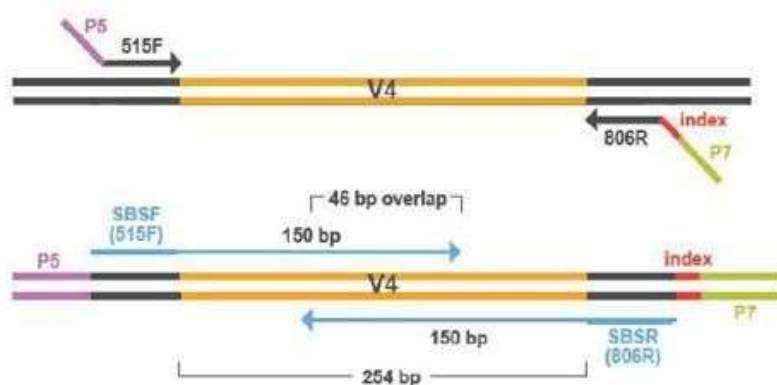
Gli approcci NGS sono basati sul sequenziamento di regioni variabili di RNA ribosomiale 16S (rRNA 16S), per studi tassonomici volti a identificare i generi di batteri e Archea presenti in una comunità microbica e la loro abbondanza relativa. Esempi di studi di metagenomica includono analisi di popolazioni microbiche presenti nell’oceano o nel suolo, la caratterizzazione comparativa della microflora presente nella cavità orale umana o nell’intestino. Il gene batterico che codifica per il 16S rappresenta il marker filogenetico generalmente utilizzato negli studi molecolari di biodiversità (El Sheikha, 2019). La sua struttura di circa 1500 nucleotidi, caratterizzata da sequenze altamente conservate in tutti gli organismi e da sequenze ipervariabili, uniche per gli organismi di una stessa specie, lo rende idoneo per valutare la diversità genetica all’interno di comunità microbiche e per stabilire le relazioni filogenetiche tra i diversi organismi (El Sheikha, 2019). Le sequenze conservate hanno permesso l’individuazione di primer universali che sono utilizzati nelle reazioni di amplificazione del DNA.



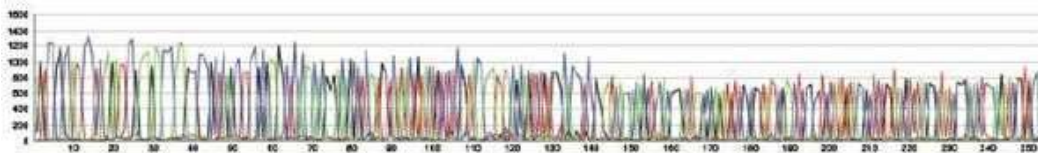


**Fig.18.** Rappresentazione del gene RNA ribosomiale (rRNA 16S). (El Sheikha, 2019)

Per l'amplificazione e il sequenziamento del DNA estratto, in base ai risultati spettrofotometrici (concentrazioni ng/ $\mu$ L), le repliche di ciascun campione sono state unite in miscele equimolari e i campioni sono stati inviati per l'ulteriore elaborazione a Bio-Fab Research S.r.l. Gli acidi umici sono stati rimossi per filtrazione e il DNA è stato amplificato con un protocollo specifico per l'rRNA 16S. L'amplificazione è avvenuta considerando dei primer universali adatti sia per i batteri che per gli Archea, utilizzando il paired-end 16S community sequencing sulla piattaforma Mi-Seq Illumina (Bio-Fab Research, Italia).



**Fig.12.** Schema di amplificazione (ILLUMINA).



**Fig.19.** Esempio dell'output di sequenziamento (ILLUMINA).

L'amplificazione è stata pertanto indirizzata verso le regioni V3 e V4 del 16S (riguardanti Batteri e Archea), mediante sequenze gene-specifiche, aggiungendo sequenze di nucleotidi (Sequencing binding Site e adattatori complementari con gli oligomeri presenti sulla piattaforma Illumina).

Forward Primer:

5'TCGTCGGGGCAGCGGTCAGGTGTGTGTAGGTATAAGAGAGACAGCCTACGGGG  
GGGGGCWGGCAG;

Reverse Primer:

5'GTCTCGGGGGGGGCTCGGGGGAGATGTGTATAAGAGAGACGACTACHVGGGGTAT  
CTAATCTAATCC;

Nel flusso di lavoro bioinformatico è stato seguito il metodo ASV (Amplicon sequence variant) e le assegnazioni tassonomiche sono state ottenute utilizzando il database SILVA 138. Le assegnazioni tassonomiche sono state verificate con il servizio LPSN. I dati sono stati elaborati da QIIME2 e gli indici di diversità sono stati calcolati utilizzando il software statistico R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) e il pacchetto statistico vegan v2.5-6 (Oksanen, 2020). La visualizzazione dei dati mediante Heat-map è stata effettuata attraverso del tool online ClustVis (<https://biit.cs.ut.ee/clustvis/>). La Heat-map è stata creata utilizzando come dataset i taxa microbici a livello di genere con abbondanza relativa superiore al 3%. Le righe sono centrate e il ridimensionamento della varianza unitaria è applicato a tutte le righe. Sia le righe che le colonne sono raggruppate utilizzando la distanza di correlazione (23 colonne x 18 righe). Lo stesso dataset è stato impiegato anche per l'elaborazione di diagrammi di Venn sul sito online (Bioinformatics & Evolutionary Genomics).

L'analisi dei dati effettuata mediante l'utilizzo del software R e il pacchetto vegan v. 2.5-6 ha permesso il calcolo dei diversi indici ecologici, in particolare:

Indice di Simpson (1-D);

Indice di Shannon (H');

Indice di Chao1 (Sest).

L'indice di Simpson (Simpson, 1949), appartiene alla classe degli indici di abbondanza, in quanto pesati sull'abbondanza delle specie più comuni e non misurando in senso stretto la ricchezza di specie. L'indice di dominanza di Simpson misura la probabilità che due individui scelti a caso da un campione appartengono alla stessa specie:

$$D = \sum \left( \frac{n_i}{N} \right)^2$$

Dove:  $n_i$  = numero totale degli organismi appartenenti ad una particolare specie;

$N$  = numero totale degli organismi di tutte le specie.

$D$  varia da 0 a 1; con  $D=1$  non si ha diversità invece con  $D=0$  si ha la massima diversità. Poiché tanto più il valore di  $D$  è grande tanto minore è la diversità così questo viene sottratto ad 1 ottenendo l'indice di Simpson ( $1-D$ ):

$$1-D = 1 - \sum \left( \frac{n_i}{N} \right)^2$$

Il valore dell'indice va da 0 a 1, maggiore il valore, maggiore la diversità nel campione definendo così la probabilità che due individui scelti a caso da un campione appartengano a specie diverse.

L'indice di Shannon è un indice di diversità usato in statistica nel caso di popolazioni con un numero infinito di elementi. Esso considera sia la ricchezza in specie sia la loro Evenness (parametro per il calcolo dell'uniformità) e il vantaggio di tale indice è quello di far risaltare le specie rare.

$$H' = - \sum \frac{n_i}{N} * \log \left( \frac{n_i}{N} \right)$$

$H'$  aumenta all'aumentare della ricchezza in specie e dell'Evenness:

Presenza di una sola specie:  $H'=0$  (assenza di diversità);

Valore massimo:  $H'=\log(S)$ , con  $S$ =ricchezza in specie.

L'indice Chao1 è considerato uno degli indici di diversità assoluta più affidabili considerando la rarità delle specie rappresentate da un individuo (singletons) e due individui (doubletons). Chao1 stima il numero assoluto di specie in un campione, in base al numero di specie rare, come numero di specie realmente osservate sommato al rapporto tra singletons e doubletons. Il problema principale di questo stimatore è che è fortemente influenzato dalla dimensione del campione;

quindi, è importante garantire un campionamento adeguato a non sottovalutare la ricchezza. Inoltre, l'indice Chao1 fornisce una stima minima di ricchezza e assume che ci sia omogeneità tra i campioni. Sarebbe, quindi, inappropriato usarlo per confrontare la ricchezza stimata di siti che hanno una grande differenza nella loro composizione specifica.

$$S_{est} = S_{obs} + \left(\frac{f_1^2}{2f_2}\right)$$

Dove:

- $S_{est}$  = numero stimato di specie;
- $S_{obs}$  = numero di specie osservate;
- $f_1$  = numero di taxa rappresentati da una osservazione;
- $f_2$  = numero di taxa rappresentati da due osservazioni

### 3.5 Analisi Fisico-Chimiche

Le analisi fisico-chimiche sono state effettuate presso i Laboratori ISPA - Istituto Sperimentale Problematiche Ambientali Panetta S.r.l., Atina (FR). Per verificare l'adeguatezza delle metodiche strumentali e affidabilità dei risultati, su alcuni campioni random del primo campionamento è stata effettuata anche l'analisi presso un altro ente accreditato, l'Astra Studio Chimico Associato (TE). Il confronto dei risultati ci ha permesso di confermare la validità dei risultati e il proseguo delle attività in collaborazione con i laboratori ISPA, con cui è stata anche prevista una convenzione per l'attuazione di tirocini formativi.

Le analisi chimico-fisiche hanno riguardato i parametri:

- Scheletro e tessitura
- Carbonio totale (TC), carbonio organico totale (TOC) e carbonio inorganico (IC).
- Azoto totale
- Sostanza organica
- Azoto totale e scambiabile (azoto minerale)
- determinazione del carbonio organico estratto ed umificato
- Fosforo assimilabile (metodo Olsen)
- Capacità di scambio cationico
- Determinazione metalli mediante ICP Massa
- Determinazione del pH e della conducibilità elettrica

Le procedure riportate fanno parte di metodi interni di laboratorio in linea con i “Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo” indicati dal Ministero dell'agricoltura e delle foreste e il comitato per l'osservatorio nazionale pedologico e per la qualità del suolo (Gazzetta ufficiale, 1999).

### **3.5.1. Metodo determinazione dello scheletro**

Il metodo di preparazione del campione da sottoporre ad analisi è finalizzato a consentire che:

- La più piccola pesata prevista dai metodi di analisi sia rappresentativa del suolo in esame
- Non vengano apportate modificazioni di composizione tali da alterare sensibilmente le varie solubilità nei differenti reattivi estraenti
- Possa essere valutata la quantità di particelle con diametro inferiore a 2 mm (Gazzetta Ufficiale, 1999).

#### Procedimento:

##### **1. Campione secco all'aria, setacciato a 2 mm (terra fine)**

Stendere tutto il campione per il laboratorio su una superficie piana, asciutta e pulita. Dopo accurata omogeneizzazione, separare da più punti aliquote rappresentative che, riunite, costituiscono il campione grezzo per l'analisi. Trasferire il campione grezzo per l'analisi su un vassoio di plastica in uno strato di 1-2 cm ed essiccarlo all'aria, in ambiente protetto, a temperatura ambiente. Pesare il campione a temperatura ambiente. Frantumare gli aggregati con un mattarello ricoperto di gomma e passare il campione per setaccio con maglie di 2 mm per separare la terra fine.

##### **2. Campione secco all'aria, setacciato a 2 mm (scheletro)**

Il materiale rimasto sul setaccio costituisce lo scheletro. Lavarlo con un getto d'acqua, per eliminare le particelle di terra fine eventualmente aderenti, essiccarlo e pesarlo (Gazzetta Ufficiale, 1999).



**Fig.20.** (a) Area accettazione campioni. I campioni sono stati lasciati aperti all'aria per 1 giorno e setacciati; (b) I campioni sono stati setacciati a 0,5 mm per tutte le future analisi.

Lo scheletro si esprime in g/ kg, senza cifre decimali.

Lo scheletro si ricava dalla relazione:

$$C = \frac{P1}{P2} \cdot 1000$$

dove:

C è lo scheletro espresso in g/ kg;

P1 è la massa, in grammi, dello scheletro;

P2 è la massa, in grammi, del campione grezzo seccato all'aria.

### 3. Campione secco all'aria, setacciato a 0,5 mm

Pestare in mortaio di agata una aliquota rappresentativa del campione di terra fine e passarla per setaccio con maglie da 0,5 mm. Il materiale, eventualmente rimasto sul setaccio, dovrà essere ulteriormente pestato, finché non passa tutto attraverso il setaccio.

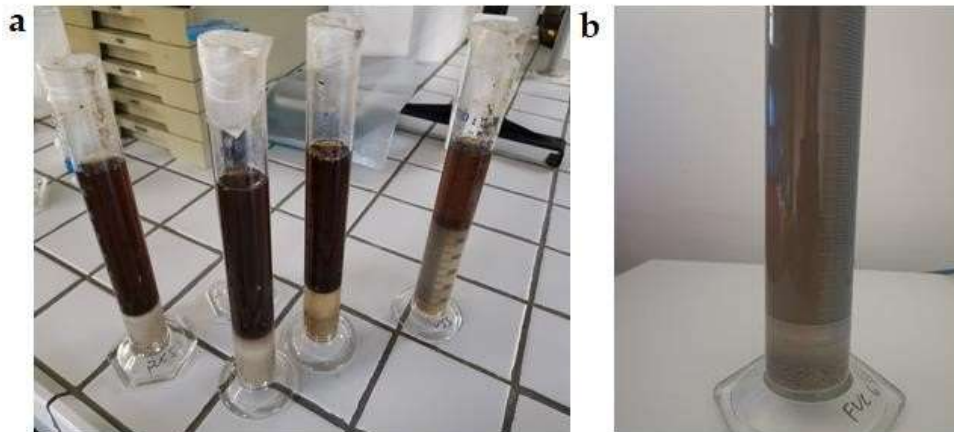
### 3.5.2. Metodo per il calcolo della tessitura

La classificazione del terreno (in classi di tessitura) è basata sul rapporto percentuale dei seguenti elementi che lo compongono: argilla, limo e sabbia. La tessitura di un suolo esprime la distribuzione delle dimensioni delle particelle minerali che ne costituiscono la parte solida. La classificazione USDA (Dipartimento dell'Agricoltura degli Stati Uniti) identifica il terreno in base alle dimensioni (diametro) delle particelle dei diversi elementi in esso presenti:

- argilla (diametro inferiore a 0,002 millimetri)
- limo (da 0,002 a 0,05 millimetri di diametro)
- sabbia (da 0,05 a 2 millimetri di diametro)

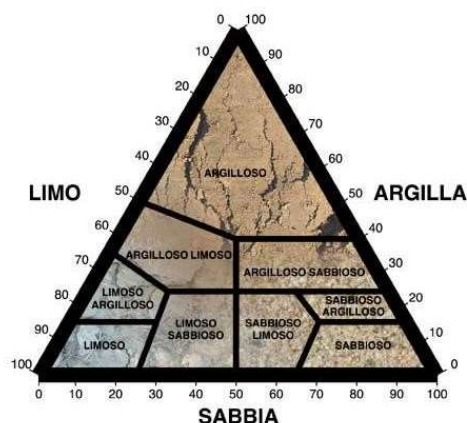
#### Procedimento:

Sul passante che corrisponde alla terra fine (setacciata a 2 mm), pesare 25 g all'interno del cilindro graduato da 100 mL e riempire con acqua distillata ed agitare.



**Fig.21.** (a) Cilindro graduato con 25 g di suolo e acqua distillata; (b) Sono evidenti i 3 strati.

Lasciare riposare un giorno. Il giorno dopo bisogna agitare nuovamente e dopo 2 giorni, quando sono ben riconoscibili i 3 strati che corrispondono ad argilla, limo e sabbia, fare la lettura. Calcolare le percentuali di limo, sabbia e argilla sul cilindro graduato. La maggiore o minore percentuale di sabbia, limo o argilla dà origine a differenti tipi di terreno che possono essere sinteticamente rappresentati con il triangolo della tessitura.



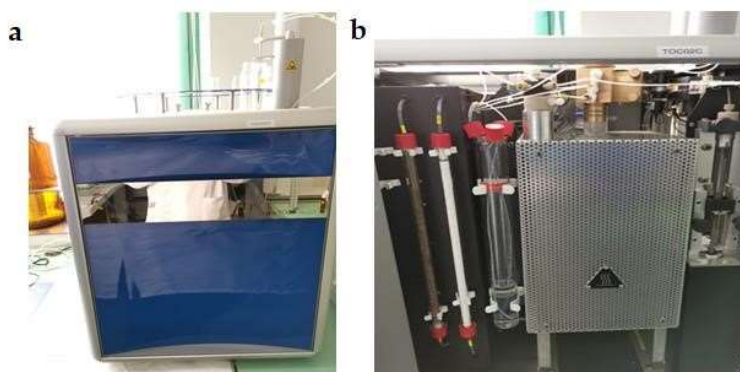
**Fig.22.** Esempio: dall'analisi granulometrica di un terreno risulta il 28% di argilla, il 52% di sabbia ed il 20% di limo. Dal 28% di argilla si traccia una parallela alla base del triangolo e dal 20% di limo una parallela al lato dell'argilla: il punto di incontro permette di classificare il terreno come argilloso-sabbioso.

### 3.5.3. Determinazione carbonio totale (TC)

Principio del metodo (METODO INTERNO ISPA N° 59):

Tale analisi si basa in primis sull'utilizzo di un analizzatore per matrici solide dotato di detector infrarosso per la determinazione del carbonio come  $CO_2$  e di un detector a cella elettrochimica per la determinazione dell'azoto come  $NO_x$ . La  $CO_2$  e gli ossidi  $NO_x$  misurati si sviluppano in seguito a trattamento termico del campione a  $900^\circ C$  in eccesso di ossigeno e in presenza di ossido di rame CuO (catalizzatore). Tale procedura inoltre offre due alternative per risalire al contenuto di carbonio inorganico: **differenza TC-TOC** o tramite **misura diretta con calcimetro**.

Strumentazione utilizzata:



**Fig.23.** (a) Analizzatore vario TOC cube; (b) Interno del vario TOC cube.

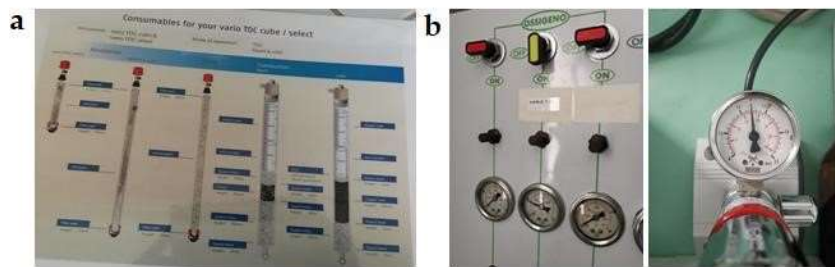


É stato utilizzato l'analizzatore vario TOC cube, ultimo sviluppo degli analizzatori TOC/Tnb di Elementar, il quale combina l'analisi avanzata dell'acqua con l'analisi elementare dei solidi.

I vantaggi cruciali rispetto alla classica chimica umida Chemical Oxygen Demand (COD) procedure sono:

- Diminuzione del tempo di analisi da ore a minuti
- Omissione di inquinanti come  $\text{Cr}^{6+}$  o acido solforico concentrato
- Funzionamento completamente sicuro e automatico
- Nessuna falsificazione del risultato di misura da parte di sostanze inorganiche
- Possibilità supplementare di misurare l'azoto legato (Operating instructions vario TOC cube, 2018)

Il principio di misurazione si basa sulla digestione ad alta temperatura del campione in un flusso di aria/ $\text{O}_2$  a 850 °C. Il carbonio totalmente legato viene convertito in  $\text{CO}_2$  che viene determinato quantitativamente mediante un rivelatore NDIR. Il design del cubo vario TOC utilizza la più recente tecnologia microelettronica in cui tutte le funzioni degli strumenti sono controllate e monitorate in modo preciso. Un PC collegato calcola il contenuto di carbonio dal volume del campione e/o dal peso e il segnale del rivelatore sulla base di una curva di taratura. Per i campioni liquidi la siringa a controllo digitale ben collaudata aspira tutte le aliquote di campione necessarie per il numero di repliche dalla fiala del campionatore in una sola volta. Il tubo di trasferimento viene risciacquato con il campione stesso e ogni aliquota viene iniettata sequenzialmente nel tubo di combustione. Questa procedura elimina la variabilità dovuta alla  $\text{CO}_2$  atmosferica dopo la perforazione del setto. Per i campioni solidi vengono utilizzate delle capsule di stagno che devono essere inserite in un campionatore integrato in connessione con la combustione ad alta temperatura che permette analisi TC fino a 120 campioni. I campioni possono variare da veri solidi a fanghi pesanti a semisolidi pastosi. Questa tecnica può essere utilizzata anche per campioni liquidi in cui esiste solo una quantità limitata (anche diversi  $\mu\text{l}$ ). I crogioli sono diversi a seconda dei liquidi e dei solidi come si può vedere dalla foto. Entrambi sono composti da ceneri di quarzo. I crogioli di ceneri di quarzo sono utilizzati per la separazione e la raccolta dei residui di combustione. La combustione avviene nel crogiolo, e materiali non volatili o incombustibili, come i sali, rimangono indietro. In tal modo si può prevenire la contaminazione del catalizzatore e i residui possono essere facilmente rimossi dal crogiolo. La differenza sostanziale tra solidi e liquidi è che nel crogiolo utilizzato per i solidi è presente l'ossido di rame, mentre per i liquidi il platino.

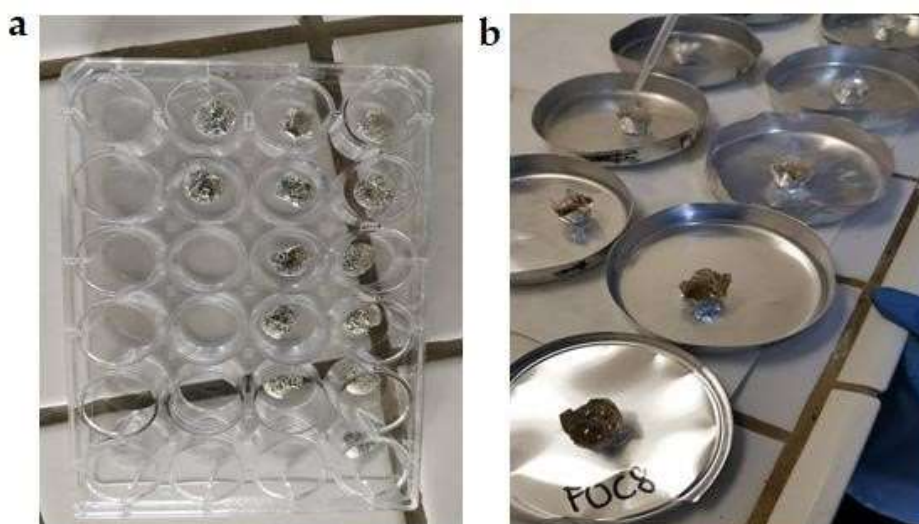


**Fig.24.** (a) I crogioli; (b) Lo strumento ha 3 regolatori di pressione. Un regolatore è quello del laboratorio che deve essere maggiore di 2 bar, il secondo regolatore è quello che trasporta l'O<sub>2</sub> che deve essere intorno a 1,5 bar e l'ultimo è interno allo strumento che deve essere intorno a 1 bar (ossia 1000mL).

Il carbonio inorganico (carbonato), può essere automaticamente definito TIC dopo acidificazione e spurgo nello spargitore. Il TOC è calcolato da TC-TIC. Una determinazione diretta del carbonio organico non purgabile (NPOC) è possibile anche dopo rimozione esterna del TIC (tipicamente nella giostra del campione).

#### Procedimento determinazione TC e N (METODO INTERNO ISPA N° 59):

Il campione viene omogenizzato e successivamente si pesa una piccola aliquota, compresa nell'intervallo 20-50 mg all'interno di un film di stagno a forma di navicella. Si chiude e si pressa il film di stagno in modo da ottenere una capsula con diametro non superiore a 10 mm.



**Fig.25.** (a) Capsule di stagno che vanno inserite nel campionatore del TOC fig. (b) Campioni a cui è stato aggiunto HCl.

Il campione viene posto all'interno del carosello dello strumento per successiva analisi strumentale. Lo strumento opportunamente tarato con materiale di riferimento fornisce il contenuto di carbonio totale (TC) e azoto totale (N) in % m/m.

#### Procedimento determinazione TOC (METODO INTERNO ISPA N° 59):

Il campione viene omogenizzato e successivamente si pesa una piccola aliquota, compresa nell'intervallo 20-50 mg, all'interno di un film di argento a forma di navicella. Si bagna il campione all'interno della navicella di argento con una soluzione di HCl al 10% e si lascia asciugare in stufa a 105 °C per almeno 2 ore. Si chiude e si pressa il film di argento in modo da ottenere una capsula con diametro non superiore a 10 mm. Lo stesso va inserito all'interno del film d'argento, pressato in modo da ottenere una capsula. Il campione viene posto all'interno del carosello dello strumento per successiva analisi strumentale. Lo strumento opportunamente tarato con materiale di riferimento fornisce il contenuto di carbonio organico totale (TOC).

Calcolo carbonio inorganico (IC) dalle due misure precedenti

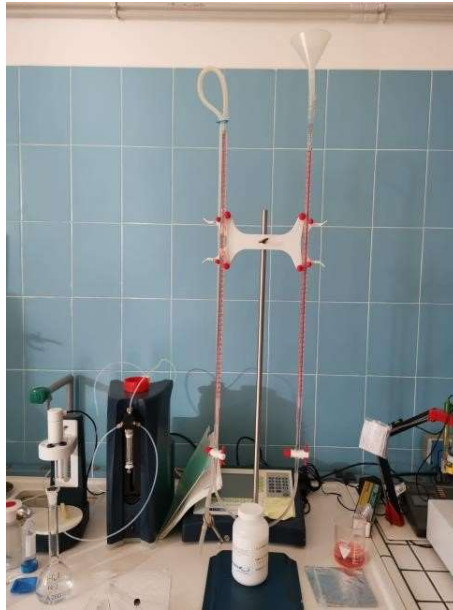
$$IC = TC - TOC$$

#### Procedimento determinazione IC tramite calcimetro:

La calcimetria è un'analisi chimica per la determinazione del calcare, costituito prevalentemente da carbonato di calcio (CaCO<sub>3</sub>) in diversi materiali da costruzione (quali ad esempio: intonaco, malta, tinteggiature, laterizi, pietre calcaree e silicee) o in terreni. La prova calcimetrica viene effettuata con il calcimetro, facendo reagire con acido cloridrico il materiale da analizzare. Assumendo che tutti i carbonati presenti nel campione da esaminare siano costituiti da carbonato di calcio, si sfrutta la seguente reazione chimica:



Come si vede dall'equazione di reazione, per ogni mole di CaCO<sub>3</sub> reagito si forma una mole di CO<sub>2</sub> gassosa che viene misurata.



**Fig. 26.** Il calcimetro.

Procedimento (METODO INTERNO ISPA N° 59):

- Si pesa una quantità di campione compresa tra 500 e 2000 mg e si pone all'interno di una beuta da vuoto ben asciutta.
- Si equilibra il sistema mantenendo la buretta aperta e in modo di avere il livello dell'acqua (contenente metilarancio per renderla maggiormente visibile) corrispondente allo zero della buretta di sinistra.
- Si chiude il sistema con tappo provvisto di setto per l'ingresso dell'ago della siringa di cui dopo, tramite una siringa provvista di ago si inseriscono 3 mL di soluzione contenente HCl (10 %).
- Si agita la beuta in modo da far reagire l'acido cloridrico con i carbonati/bicarbonati presenti nel campione (la reazione sviluppa CO<sub>2</sub>); controllare che il tutto venga a contatto, in modo che la reazione avvenga al 100%.
- Durante la reazione, se è presente un carbonato, si sprigiona anidride carbonica che si accumula nella parte alta del calcimetro (che è ben sigillato), per cui la percentuale del carbonato di calcio nel campione può essere calcolata a partire dalla misurazione della quantità di anidride carbonica (espressa in millilitri). Leggere quindi sulla scala graduata, dall'alto al basso, il volume di CO<sub>2</sub> e annotare il dato.

- Tramite un'appropriata curva di taratura, effettuata utilizzando come materiale di riferimento il carbonato di sodio, si risale al contenuto di carbonio inorganico presente nel campione.
- Conoscendo il valore di TC tale misura consente di risalire al contenuto di carbonio organico totale (TOC) come segue:  $TOC = TC - IC$
- Lavare la beuta e azzerare il calcimetro.

### **3.5.4. Determinazione della sostanza organica:**

La sostanza organica del suolo rappresenta la maggiore riserva di carbonio sulla Terra. Essa è costituita da biomassa e necromassa di origine vegetale, animale e microbica, dalla sostanza organica solubile, dagli essudati radicali, dalle sostanze umiche e dagli enzimi del suolo (Nardi, 2000).

Tutte le tecniche di gestione del suolo che riducono l'ossidazione e mineralizzazione della sostanza organica contribuiscono a ridurre l'emissione di anidride carbonica in atmosfera e quindi le conseguenze negative legate all'effetto serra. Questo ruolo del suolo oltre che delle biomasse vegetali è riconosciuto dal Protocollo di Kyoto per il quale la conservazione e l'aumento delle riserve di carbonio organico del suolo costituiscono una delle priorità da perseguire (ARPAV, 2007).

La deposizione della sostanza organica nel suolo dipende da tre principali processi:

- L'accumulo di residui vegetali, che rappresentano l'input principale;
- La capacità del suolo di stabilizzare e accumulare sostanza organica. Questo dipende dalla profondità del suolo in cui si accumula, dalla quantità e tipo di minerali disponibili a formare composti organominerali;
- l'attività biologica e il tasso di mineralizzazione (aumentano la degradazione della sostanza organica permettendo così l'accumulo di nuova sostanza organica) (Mohammadi et al., 2011).

#### Procedimento (Gazzetta Ufficiale, 1999):

Considerando pari al 58 % il contenuto medio di carbonio nella sostanza organica del suolo, è possibile utilizzare il fattore 1,724 per trasformare i g x kg<sup>-1</sup> di carbonio organico accertati nel corrispondente contenuto di sostanza organica:

Sostanza organica = C • 1,724

### 3.5.5. Determinazione dell'azoto scambiabile (azoto minerale)

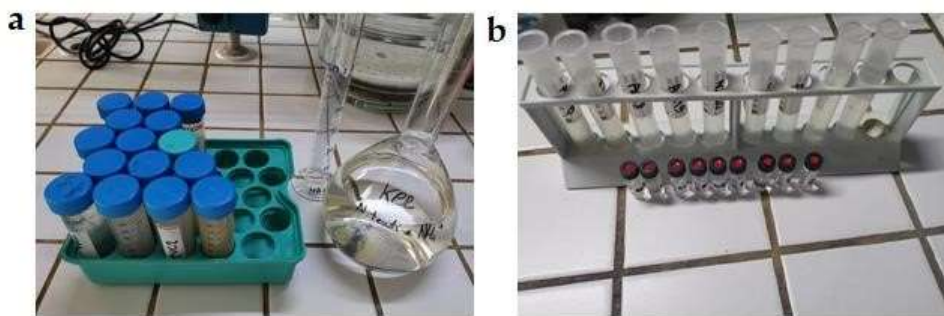
Fra gli elementi che la pianta assorbe con le radici l'azoto è quello più importante in tutti i terreni, acidi e alcalini; le forme chimiche più semplici in cui esso è presente sono gli ioni ammoniacale e nitrico. Soprattutto il primo è in grado di formare legami forti con i composti organici e partecipa alla sintesi di sostanze complesse, come proteine ed acidi nucleici, presenti in notevole quantità anche nel terreno. Nel terreno il 97-99% dell'azoto totale è costituito da azoto organico, mentre il rimanente è presente in forma ammoniacale e nitrica (ARPAV, 2007).

L'azoto scambiabile rappresenta la somma delle frazioni azotate inorganiche solubili (nitrica e nitrosa) e dell'azoto ammoniacale legato ai siti di scambio dei colloidi del terreno. L'insieme di queste forme viene anche definita "azoto minerale". Le diverse forme di azoto minerale presenti nel suolo vengono estratte con soluzioni di KCl a 20 °C ± 1°C. In queste condizioni il potassio rimuove lo ione ammonio legato agli scambiatori del suolo, mentre la frazione azotata comprendente nitriti e nitrati viene portata in soluzione per l'effetto dipolare dell'acqua. Il contenuto in nitriti e nitrati è stato determinato tramite la cromatografia ionica, mentre l'azoto ammoniacale è stato determinato tramite spettrofotometria.

#### Procedimento:

Trasferire 5 g di campione di suolo in un contenitore di materiale plastico da 500 mL. Aggiungere 50 mL della soluzione di potassio cloruro.

Tenere in agitazione per 1 ora a 20 °C. Centrifugare circa 60 mL della sospensione per 10 minuti a circa 3000 giri per minuto<sup>-1</sup>. Trasferire il surnatante limpido in matraccio conico di Erlenmeyer. Preparare la prova in bianco seguendo le stesse modalità operative, omettendo il campione di suolo.



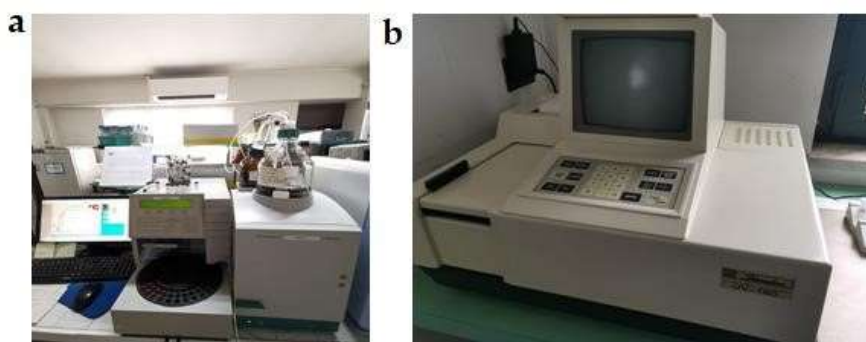
**Fig.27.** (a) I campioni di suolo a cui è stata aggiunta la soluzione di potassio cloruro; (b) Le provette e vial dello stesso campione.

La **cromatografia ionica (IC)** è una tecnica che consente il riconoscimento e la determinazione simultanea di uno o più cationi o anioni in soluzione acquosa. Essa si basa sulla separazione degli ioni mediante colonne a scambio ionico che sfruttano la diversa affinità degli analiti in soluzione per la fase eluente e la fase stazionaria contenuta nella colonna cromatografica.

La fase mobile è costituita da:

- una soluzione di carbonato e bicarbonato di sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ ) o idrossido di potassio (KOH) per gli anioni;
- una soluzione Acido Metansolfonico (MSA) per i cationi.

La fase stazionaria è costituita da un reticolo polimerico di divinilbenzene e etilvinilbenzene. Agli anelli aromatici vengono fissati gli ioni negativi o positivi (siti attivi).



**Fig.28.** (a) IC; (b) spettrometria.

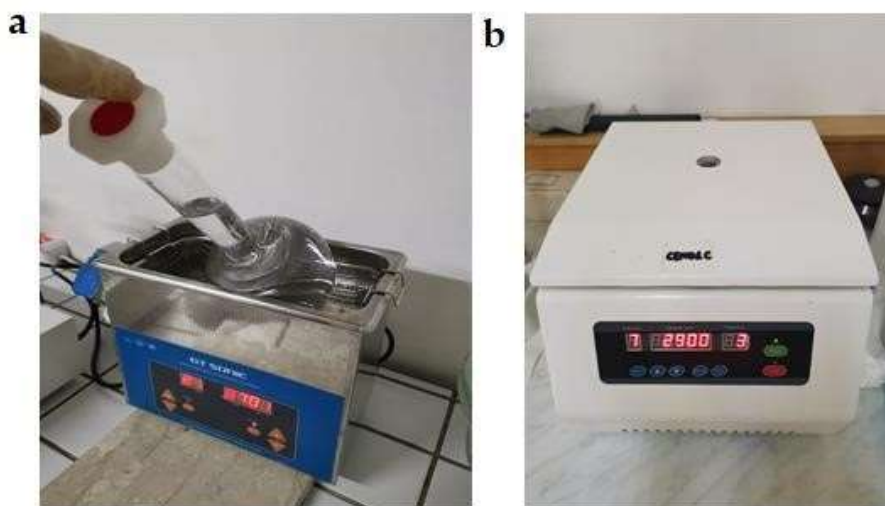
### 3.5.6. Estrazione, frammentazione e determinazione del carbonio organico estratto ed umificato:

#### Procedimento:

Si pesano 1,6 g di terreno. Estrazione con 40 mL di soluzione alcalina ( $\text{NaOH}$  0,1 M e  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0,1M). Agitare i campioni per 24 h e centrifugarli a 2500-2700 rpm (presso il laboratorio, sono stati messi in stufa in provette di vetro).

Per preparare la soluzione estraente di soda e sodio pirofosfato 0,1 mol/l:

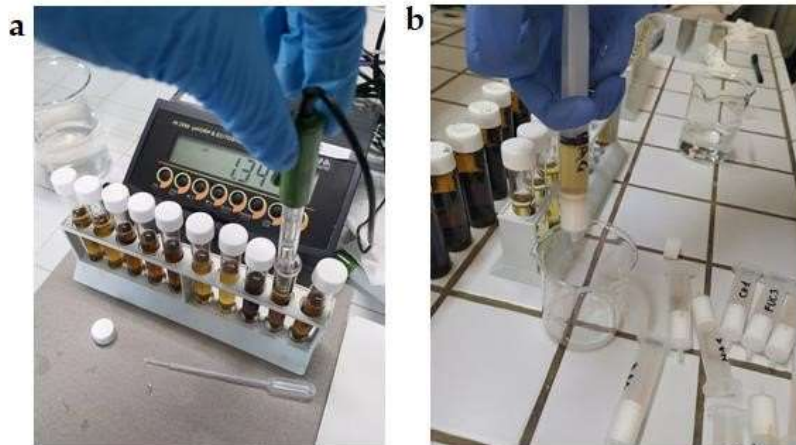
pesare 44,6 g di  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  per 10  $\text{H}_2\text{O}$  in un matraccio da 1000 mL, pesare 4 g di  $\text{NaOH}$ , sciogliere in circa 900 mL di acqua e portare a volume. Se le sostanze non si sciolgono all'interno della soluzione possiamo inserirlo all'interno dell'ultrasuoni.



**Fig.29.** (a) Soluzione nell'ultrasuoni; (b) Campioni in centrifuga.

Il residuo insolubile è composto da umina più la fase minerale, dal quale si può recuperare l'umina con diversi estraenti. Dal surnatante estraiamo 1 mL con diluizione 1:20 e lo leggiamo al TOC per vedere il TEC. Estraiamo ancora 10 mL e acidifichiamo ogni campione fino a PH minore di 2 con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 50 %.





**Fig.30.** (a) Campioni acidificati a PH minore di 2; (b) Purificazione con florasil.

Andiamo a centrifugare i campioni dove il surnatante corrisponde alla frazione fulvica, mentre il precipitato corrisponde agli acidi umici. Il surnatante lo purifichiamo su florasil ed eliminiamo con la siringa il liquido, poi aggiungiamo NaOH e questa fase corrisponde agli acidi fulvici che aggiungiamo nuovamente al precipitato (acidi umici) fino a 10 mL, così da ottenere insieme acidi fulvici e umici. Diluirli 1:20 per leggerli al TOC.

Purificazione con florasil:

estrazione alcalina che porta alla solubilizzazione di residui polisaccaridici e peptidici che si ritrovano nella frazione fulvica. Il PVP permette la separazione della frazione fulvica dal materiale non umico (NH) per adsorbimento dei gruppi acidi (fenoli e carbossili) sulla fase solida.

Il frazionamento chimico permette la separazione in carbonio umico e non umico da cui si possono calcolare diversi parametri:

indice di umificazione:  $HI = NH/(FA + HA)$  grado

di umificazione:  $DH = (HA + FA)/TEC$  tasso di

umificazione:  $HR = (HA + FA)/TOC$

### 3.5.7. Determinazione umidità:

Principio del metodo:

Tramite trattamento termico a 105 °C si risale al contenuto di umidità all'interno del campione.

Procedimento:

Si prende un crogiolo accuratamente lavato, si pesa e si annota su foglio di lavoro. All'interno dello stesso crogiolo si aggiunge un'aliquota di campione di circa 20 g e si annota il peso esatto del sistema crogiolo + campione. Si trasferisce il crogiolo contenente il campione in stufa alla temperatura di 105 °C e si lascia essiccare per 15-24 ore. A termine del trattamento termico si lasciano raffreddare i crogioli contenenti i campioni essiccati all'interno di un essiccatore. Successivamente si misura il peso crogiolo + campione a 105 °C post trattamento a 105 °C.

Calcolo dei risultati:

B = peso crogiolo + campione espresso in grammi

C = peso crogiolo + campione dopo trattamento a 105 °C espresso in grammi

Umidità (% m/m) =  $[(B - C)/B] \cdot 100$



**Fig.31.** Campioni in stufa alla temperatura di 105 °C.

### **3.5.8. Determinazione del fosforo assimilabile (Metodo Olsen):**

Il fosforo si trova nel terreno come fosfati minerali, in particolare di ferro, alluminio e calcio la cui presenza relativa dipende da un equilibrio regolato dal pH del suolo, oppure in forma di fosforo organico presente nei residui animali e vegetali e che viene mineralizzato gradualmente.

L'influenza del pH è funzione dei fenomeni di insolubilizzazione a cui il fosforo è soggetto: a pH inferiori a 6 prevale la formazione di fosfati di ferro ed alluminio insolubili e stabili, mentre a pH superiori a 7 prevalgono per stabilità i fosfati di calcio altrettanto insolubili (ARPAV, 2007).

Il metodo Olsen si basa sulla capacità del sodio bicarbonato di abbassare l'attività degli ioni calcio, consentendo l'estrazione dell'aliquota di fosforo legata al calcio o co-precipitata con il carbonato di calcio. Il metodo è applicabile sia a suoli acidi che a quelli caratterizzati dalla presenza di calcio carbonato. La presenza nella soluzione di sodio bicarbonato di ioni carbonato e ossidrile abbassa l'attività di  $\text{Ca}^{2+}$  e di  $\text{Al}^{3+}$  con conseguente incremento della solubilità del fosforo (P). Nei suoli calcarei, l'aumentata solubilità del calcio fosfato deriva dalla diminuzione della concentrazione del calcio dovuta all'elevata presenza di ioni carbonato ed alla conseguente precipitazione di  $\text{CaCO}_3$ . Nei suoli acidi o neutri, la solubilità di fosfati di alluminio o di ferro viene incrementata dall'aumento della concentrazione degli ioni ossidrile che induce diminuzione della concentrazione di  $\text{Al}^{3+}$ , con formazione di ioni alluminato, e di  $\text{Fe}^{3+}$ , con precipitazione di ossidi.

Deve essere tenuto presente che a PH elevato l'aumento delle cariche negative e/o la diminuzione dei siti di adsorbimento sulle superfici degli ossidi di alluminio e di ferro può portare al desorbimento del fosforo fissato.

### Procedimento:

Trasferire 2 g del campione di terra fine in un contenitore di materiale plastico da 125 mL. Aggiungere 0,5 g di carbone attivo e 40 mL (V1) della soluzione (0,5 moli per Lmeno1) di sodio bicarbonato a PH 8,5. Tenere in agitazione per 30 minuti sull'agitatore a rulli e passare più volte per carta Whatman raccogliendo il filtrato in un contenitore di materiale plastico munito di tappo.



**Fig.32.**

Agitatore a rulli dove si lasciano i campioni ad agitare.

Centrifugare, filtrare, diluire da 1:2 a 1:5 e misurare con IC.

Preparare la prova in bianco seguendo le stesse modalità operative, con la stessa acqua e lo stesso carbone attivo, omettendo il campione di suolo.

$$P_{\text{mg/kg}} = L \times D \times 31/95 \times 40/P$$

Dove:

L è la concentrazione degli ioni fosfato  $\text{PO}_4^{3-}$  (dato dallo strumento)

P è la massa del terreno sottoposto ad analisi, in grammi

D è il fattore di diluizione

31 è la massa molecolare del fosforo

40 è il volume di estrazione

95 sono i fosfati calcolati dallo strumento

- soluzione (0,5 moli per L-1) di sodio bicarbonato

Sciogliere in un bicchiere, contenente circa 900 mL di acqua, 42 g di sodio bicarbonato ( $\text{NaHCO}_3$ ). Aggiungendo goccia a goccia la soluzione (1 mole per L) di sodio idrossido, portare a PH al valore 8,5. Trasferire in matraccio tarato 100 mL e portare a volume con acqua.

- Carbone attivo: È opportuno controllare la purezza di questo reagente effettuando un'estrazione con la soluzione (0,5 moli per L) di sodio bicarbonato. In presenza di fosforo, lavare più volte con la stessa soluzione fino a livelli di P non rilevabili con spettrofotometria.

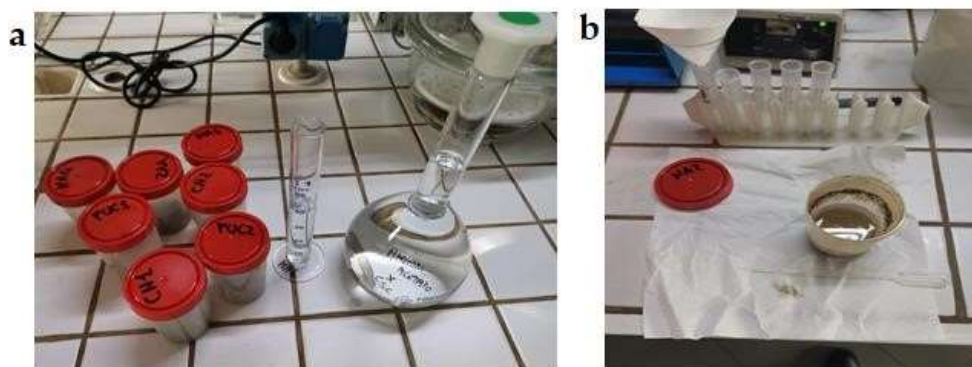
### **3.5.9. Determinazione della capacità di scambio cationico con ammonio acetato:**

Per elementi scambiabili del terreno si intendono quegli elementi chimici che in notevole quantità interagiscono, con un legame di tipo ionico, con le superfici delle particelle organiche e minerali del suolo; poiché le cariche presenti su queste superfici sono negative per i pH più comuni del suolo, tra valori di 5 e 8,5, questi elementi sono dei cationi, cioè ioni con carica positiva. Il più presente è il calcio, seguito da magnesio e potassio in quantità simili, mentre il sodio si trova quasi sempre a basse concentrazioni. Questi fenomeni di scambio si misurano mediante la capacità di scambio cationico (CSC). Maggiore è questa capacità e maggiore è la quantità di potassio, magnesio e calcio scambiabili presenti nel terreno. Poiché potassio, magnesio e calcio, insieme al

sodio, costituiscono la grande maggioranza dei cationi presenti nei suoli neutri ed alcalini, la somma delle loro forme scambiabili corrisponde alla CSC del suolo (ARPAV, 2007). Lo scambio tra i cationi presenti sulle superfici degli scambiatori del suolo e lo ione ammonio della soluzione scambiante di ammonio acetato viene effettuato prima per agitazione e successivamente per lisciviazione. L'eccesso della soluzione di ammonio acetato viene eliminato con ripetuti lavaggi con etanolo. Successivamente, si procede alla determinazione dell'ammonio adsorbito per distillazione secondo Kjeldahl, operando direttamente sul campione o su un'aliquota della soluzione ottenuta lisciviando il  $\text{NH}_4^+$  -suolo con una soluzione di sodio cloruro.

### Procedimento:

Trasferire 25 g del campione di terra fine in matraccio da 250 mL. Aggiungere 50 mL della soluzione di ammonio acetato a PH 7. Tenere in agitazione per 1 ora sull'agitatore a rulli e lasciare a riposo per una notte. Per preparare la soluzione di ammonio acetato a PH 7, bisogna sciogliere in circa 900 mL di acqua 77,08 g di ammonio acetato ( $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ) e portare a volume fino a 1000 mL.



**Fig.33.** (a) Campioni a cui è stata aggiunta la soluzione di ammonio acetato; (b) Campioni di suolo filtrati.

Trasferire il contenuto in un imbuto di Buchner coperto con filtro di carta inumidito. Filtrare applicando, se necessario, una debole aspirazione (Fig.33 b). Sul filtrato fare le basi di scambio e leggere i risultati all'ICP.

Preparare la prova in bianco seguendo le stesse modalità operative, omettendo il campione di suolo.

Il contenuto di ciascun catione di scambio viene espresso in centimoli per kg di suolo o in millequivalenti per 100 g di suolo con una cifra decimale. I due valori risultano numericamente uguali.

Per il calcolo viene usata l'espressione:

$$C = \frac{(A-B) \cdot D \cdot 10}{M \cdot E}$$

Dove:

C è il contenuto di ciascun catione di scambio

A è la concentrazione del catione nella soluzione del campione

B è la concentrazione del catione nella soluzione della prova in bianco

D è il fattore di diluizione

M è la massa del campione di suolo utilizzata, espressa in grammi

E è la massa equivalente del catione  $E_{Ca}= 20,04$   $E_{Mg}=12,16$   $E_{K}=39,10$   $E_{Na}=22,99$

### **3.5.10. Determinazione del pH e della conducibilità elettrica:**

Nei terreni il pH misura la concentrazione di idrogenioni nella soluzione circolante, cioè la fase liquida che si trova negli spazi lasciati liberi dalle parti solide (ARPAV, 2007).

Il pH della soluzione del suolo può mostrare variazioni legate al contenuto di sostanza organica, alla mineralogia, alla eterogeneità del suolo, alle caratteristiche climatiche, all'orientamento dei processi pedogenetici e alla copertura vegetale (Provini et al., 2003).

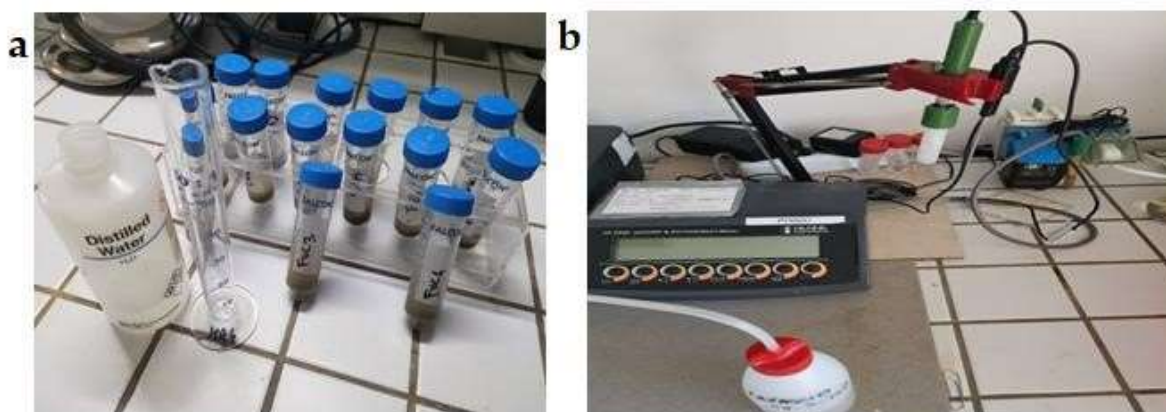
#### Procedimento:

Si pesano 5 g di terreno e si aggiungono 25 mL di acqua distillata (sempre in rapporto 1:5).

Tenere in agitazione per circa 1 ora e misurare il PH, se sono abbastanza limpidi misurare la conducibilità, altrimenti centrifugarli e in seguito misurare la conducibilità. Il piaccmetro è formato da un elettrodo a vetro molto sottile al cui interno è posta una soluzione a pH noto (tamponi). Quando l'elettrodo è immerso in una soluzione a pH incognito si crea una differenza di potenziale tra l'esterno e l'interno dell'elettrodo. La differenza di potenziale è funzione della differenza di pH e il relativo segnale viene inviato a un sensore tarato che indica su una scala il valore di pH. Prima di fare le misure i piaccmetri devono essere tarati: la taratura si fa misurando il pH di 2 soluzioni con pH noto (tamponi), generalmente indicate dal fornitore dello strumento, basta immergere l'elettrodo nella soluzione e leggere il valore del pH sul display. L'elettrodo dovrebbe essere tenuto immerso in apposite soluzioni per conservare la membrana di vetro in

condizioni ottimali. Di solito i pHmetri misurano anche la temperatura e a volte la conducibilità delle soluzioni. I sali solubili presenti nel terreno, siano essi derivati dal suolo stesso, dalle acque di falda o di irrigazione o dalle concimazioni, sono indispensabili per la nutrizione delle piante, ma la loro concentrazione deve essere contenuta entro certi valori. Elevate concentrazioni saline possono, a seconda della specie ionica presente, provocare squilibri nutrizionali, effetti di tossicità per le piante, danni alla struttura del terreno e, in certi casi, modifiche del pH. Nel momento in cui si rileva una condizione di salinità eccessiva è di estrema importanza risalire alle cause che la determinano per cercare di rimuoverle. Essa può essere dovuta alla presenza di falde o acque di irrigazione ricche di sali, ad una naturale dotazione del terreno o all'abuso di fertilizzanti soprattutto in colture protette in cui viene a mancare l'azione dilavante delle piogge (ARPAV, 2007).

La conducibilità si misura con il conduttimetro, il quale deve essere inserito all'interno della soluzione finché non si stabilizza e quella sarà la nostra misura. Per la lettura dei campioni viene utilizzato il pHmetro (piaccametro) in cui c'è un elettrodo in grado di misurare gli  $H^+$ .



**Fig.34.** (a) Campioni a cui è stata aggiunta acqua distillata (b) Fig.13 Phmetro strumento.

### 3.6. Analisi della qualità biologica dei suoli

Lo studio è stato effettuato su 14 campi agricoli distribuiti casualmente in sette principali aree di produzione della regione (Altopiano delle Cinque Miglia, Valle Peligna, Valle Subequana, Val Vomano, Montagna Aquilana, Fucino, Chietino), di cui 4 all'interno dei Parchi Nazionali abruzzesi.

Ogni campo è stato classificato secondo la forma di gestione come biologico (9 campi) o convenzionale (5 campi). I campi organici sono stati coltivati senza erbicidi e pesticidi sintetici.

Nei campi a conduzione biologica non sono state effettuate aratura, erpicatura e letame, fatta eccezione per un sito coltivato a fave (Montagna Aquilana) e un sito coltivato a carote (Fucino). Inoltre, nella maggior parte dei campi a gestione biologica non è stata eseguita fresatura. I campi gestiti in modo convenzionale sono stati trattati con fungicidi, insetticidi ed erbicidi e sono stati sottoposti ad aratura ed erpicatura (30–40 cm) e/o fresatura (20–25 cm). Nei campi a gestione convenzionale è stata effettuata concimazione con prodotti chimici, mentre i campi organici non sono stati fertilizzati, ad eccezione dei due campi soprammenzionati concimati con letame.

In ciascun sito, abbiamo raccolto tre campioni di terreno (10 cm × 10 cm × 10 cm). I microartropodi del suolo sono stati estratti mediante estrattori Berlese–Tullgren (Figura 35) dotati di un vaglio a maglie di 2 mm e una lampada a incandescenza (60 W), per una settimana. Questa è una tecnica di estrazione attiva, infatti gli animali del suolo (igrofilo e lucifughi), per scappare dal calore proveniente dalla lampada ad incandescenza, scendono verso il basso e cadono in un contenitore contenente etanolo al 95%.





**Figura 35.** Estrattori Berlese-Tullgren. Il campione di suolo viene posto su una griglia metallica (maglia di 2 mm) montata sull'estrattore, che consiste in un imbuto sormontato da una lampada ad incandescenza.

Agli animali presenti nel campione viene attribuito un punteggio che va da 1 (animali non specializzati alla vita edafica) a 20 (animali altamente specializzati alla vita edafica, tipicamente privi di occhi, depigmentati, con appendici ridotte e organi di senso più sviluppati) (Figure 36 e 37). Sommando i punteggi delle forme presenti nel campione, si ottiene il valore del QBS del suolo in esame.



**Figura 36.** Microartropodi del suolo esaminati allo stereomicroscopio dopo essere stati estratti. Si possono osservare molti individui di collemboli e di acari (punteggio 20), larve di coleotteri e di ditteri (punteggio 10), pseudoscorpioni (punteggio 20) ed emitteri omotteri (punteggio 1).



**Figura 37.** Dipluro appartenente alla famiglia Japigidae (punteggio 20), piccolo predatore del suolo. Si può osservare la presenza di anoftalmia, depigmentazione, appendici ridotte e organi di senso sviluppati, tutti adattamenti peculiari degli animali strettamente edafici.

## 4. RISULTATI

### 4.1. Analisi chimico-fisiche

I risultati chimico-fisici ottenuti dai diversi campioni sono presentati in tabella 5.

SOSTANZA ORGANICA - tutta l'area ACM, caratterizzata da gestione biologica, ha presentato i valori di sostanza organica maggiori rispetto agli altri campioni, tra i valori maggiori riportiamo: ACM2 (8,1%), ACM6 (6,7%), ACM7 (10,0%). Valori inferiori all'1,8% sono stati ottenuti da CH1 (BIO), CH6(BIO), VV3(CONV), VV4(CONV), VS1(BIO) e VS2(BIO). I dati relativi al carbonio organico totale non sono stati riportati in quanto sovrapponibili alla sostanza organica, essendo parte del calcolo per poterla ricavare.

pH – In tutte le aree campionate risulta essere sub-alcalino/ alcalino, infatti i valori si aggirano tra 7,3 e 8,6. Solo nelle aree ACM è stato riscontrato un PH neutro-sub-alcalino, alcuni campioni hanno riportato valori del PH al di sotto di 7,3.

CONDUCIBILITA' ELETTRICA – i valori di conducibilità elettrica dei terreni sono stati in linea generale maggiori nel periodo primaverile rispetto a quello autunnale. I valori inferiori di questo parametro sono stati riscontrati nei campi delle aree ACM e VS.

ACIDI UMICI E FULVICI – una maggiore presenza di acidi umici e fulvici (> 0.9 %) è stata riscontrata nei terreni dell'area ACM, mentre nelle altre aree i valori registrati sono stati inferiori allo 0.9%.

AZOTO AMMONIACALE E NITRICO – FUC e VP hanno presentato dei valori nettamente superiori di questi due forme di azoto nei diversi terreni coltivati sia in regime biologico che convenzionale e soprattutto nei campioni provenienti dal campionamento primaverile.

POTASSIO, CALCIO, MAGNESIO E FOSFORO – il calcio, presente in quantità variabili in tutti i terreni, è stato riscontrato in maniera inferiore nei terreni fucensi, scarsamente strutturati. Al contrario per quest'area sono stati rilevati alti livelli di fosforo, magnesio e potassio. Il magnesio ha registrato la più alta presenza nei campi dell'area VV, caratterizzati anche da una grande concentrazione di potassio e fosforo. Quest'ultimo ha presentato valori elevati anche nell'area CH e in alcuni campi dell'area AN (AN1/AN3 e AN2/AN4).

SODIO – eccetto CH6, sono state riscontrate concentrazioni variabili di sodio, con un range che va da 16-59 mg/Kg.

CSC – Dai valori riportati in tabella si nota come la componente dei CSC sia mediamente più bassa in quasi tutti i campioni dell'area del Fucino, vengono riportati di seguito i valori più bassi: FUC7 (6.1 meq/100g), FUC8 (9.8 meq/100g), FUC5 (10,2 meq/100g).

I risultati relativi a scheletro e tessitura hanno mostrato le seguenti tessiture: ACM, VV, CH, FUC e VP, Franco sabbiosa; MA e VS, Sabbioso; la maggioranza delle aree presenta terreni strutturati mentre il Fucino è caratterizzato da terreni scarsamente strutturati.

**Tabella 5.** Risultati delle analisi chimico-fisiche svolte sui terreni campionati

Campi	SO	pH	CE	AUF	NH4	HNO3	K	Ca	Mg	P	Na	CSC	
ACM1	4.8	7.57	111.0	1.3	9.7	19.2	14.0	7489.0	81.0	398.0		49.0	39.3
ACM2	8.1	7.73	100.2	2.0	12.3	26.7	8.8	5399.0	70.0	178.0		51.0	28.2
ACM3	3.3	6.58	39.2	0.8	7.3	22.0	2.0	3607.0	193.0	298.0		44.0	20.5
ACM4	2.8	6.9	52.4	0.9	4.1	23.0	2.0	2920.0	147.0	414.0		43.0	17.0
ACM5	5.2			1.3	6.6	9.9	3.6	8709.0					
ACM6		7.75	73.8	1.8		19.0	38.0		101.0	199.0	40.0	45.0	
		8,28	85.4						112.0	234.0	21.0	27.7	
				3.7				232.0					
ACM7	10.0	8,30	94.0	2.2	4.0	19.1	6.0	3132.0	21.0	84.0		22.0	16.1
ACM8	3.5	7,95	34.0	0.9	1.4	17.3	5.0	2397.0	142.0	99.0		18.0	13.5
ACM9	5.9	7,94	83.0	1.3	2.8	16.5	5.0	3455.0	74.0	86.0		16.0	18.1
ACM10	3.3	7,69	56.0	0.9	1.5	19.0	5.0	2423.0	99.0	148.0		22.0	13.4
VP1	2.9	7.8	323.0	0.7	6.7	75.0	2.0	8802.0	176.0	604.0		49.0	47.1
VP2	2.4		142.0	0.6		56.5	11.2	9717.0					
VP3	2.6	7.97		0.8	19.5	54.6	2.0		220.0	704.0	23.0	52.2	
		8.25	126.5		12.9				220.0	366.0	25.0	19.6	
						365.0							
VP4	2.4	8.47	86.2	0.5	1.3	8.6	55.0	6114.0	112.0	208.0		33.0	32.1
VS1	1.7	8.4	91.2	0.9	15.2	10.4	2.0	5493.0	146.0	346.0		37.0	29.7
VS2	1.4	8.4	94.7	0.5	10.5	12.9	3.0	6443.0	134.0	218.0		49.0	34.0
VS3	2.8	8.4	89.0	0.7	10.1	9.3	2.0	7419.0	258.0	50.0	39.1		
				1.8					149.0	14.0	35.9		
VS4	2.2	8.4	83.0	0.5		3.3	1.0		151.0				
									18.0				
VS5	8.6	8.4	76.0	0.3	1.7	4.3	1.0	4755.0	15.0	80.0		18.0	24.1
VS6	2.6	8.4	94.0	0.8	1.6	3.1	1.0	5563.0	14.0	80.0		22.0	28.2
AN1	4.0	8.2	146.0	0.7	2.5	33.4	19.0	4964.0	185.0	932.0	35.0		28.9
AN2	3.6	8.18		0.7		46.7	29.0		446.0	18.0	32.2		
		8,43	96.3						116.0	26.0	8.3		
					1.5								
MA5	2.3			0.4	2.5	23.9	43.0		5908.0		179.0		
									12711.0		182.0		
MA6	2.2	8,52	95.7	0.3	2.1	16.7	13.0	2768.0	230.0	254.0	30.0		16.5
MA7	4.0	8,44	148.0	0.6	1.9	32.1	23.0	6092.0	332.0	558.0	33.0		34.7
MA8	3.0	8,50	105.0	0.6	2.2	14.2	78.0	1982.0	196.0	690.0	85.0		13.6

<b>CH1</b>	1.7	8.26	169.0	0.4	0.8	31.4	20.0	7006.0	174.0	310.0	33.0	37.4
<b>CH2</b>	2.6	8.12	169.0	0.5	0.8	21.9	17.0	8064.0	658.0	312.0	55.0	46.7
<b>CH5</b>	2.4		162.0	0.6	1.8	14.0	82.0	4930.0				
<b>CH6</b>	1.6	8.0		0.2		4.2	26.0		128.0	624.0	19.0	27.3
		8.70	86.8						314.0	276.0	12.1	36.2
				1.8				573.0				
<b>CH7</b>	2.3	8.54	119.0	0.4	1.8	7.2	34.0	8832.0	666.0	250.0	36.0	50.3
<b>CH8</b>	5.7	8.50	148.0	0.6	2.2	17.9	393.0	4960.0	191.0	878.0	40.0	28.7
<b>CH9</b>	3.9	8.94	104.0	0.3	2.0	5.6	155.0	3962.0	157.0	556.0	33.0	22.7

<b>VV1</b>	3.8	8.3	137.0	0.5	2.2	21.9	83.0	4828.0	756.0	526.0	48.0	31.9
<b>VV2</b>	2.2		138.0	0.5	1.1	28.2	14.0	4868.0				
<b>VV3</b>	1.2	8.2		0.2		19.6	36.0		368.0	414.0	76.0	28.7
		8.75	103.0						526.0	186.0	40.0	22.2
				2.4				455.0				
<b>VV4</b>	1.5	8.49	95.7	0.3	2.3	12.3	61.0	4755.0	356.0	240.0	41.0	27.5

<b>FUC2</b>	3.18	1.19	166.0	0.6	2.7	0.59		134.0	3200.0	189.0	454.0	18.0	18.8
<b>FUC3</b>	2.68	2.22	168.0	0.5	10.2	58.9		321.0	3194.0	137.0	322.0	17.0	17.9
<b>FUC4</b>	4.5			0.7		67.3			2529.0				
<b>FUC5</b>	2.68	0.09	223.0	1.52	0.6	6.6		214.0		308.0	768.0	32.0	17.2
		8.73				25.3		196.0		31.0	226.0	22.0	10.2
								858.0					
<b>FUC6</b>	3.38	0.03	412.0	0.7	42.2	180.0		331.0	2130.0	130.0	438.0	59.0	13.1
<b>FUC7</b>	2.88	7.75	112.0	0.5	13.8	7.1		317.0	1042.0	10.0	280.0	19.0	6.1
<b>FUC8</b>	4.08	4.40	260.0	0.9	15.5	72.1		459.0	1547.0	16.0	450.0	49.0	9.2

Nella Tabella: SO, sostanza organica (%); CE, conducibilità elettrica ( $\mu\text{S}/\text{Ccm}$ ); AUF, acidi umici e fulvici (%);  $\text{NH}_4$ , azoto ammoniacale (%);  $\text{HNO}_3$ , azoto nitrico (%); K, potassio (mg/Kg); Ca, calcio (mg/Kg); Mg, magnesio (mg/Kg); P, fosforo assimilabile (meq/100g); Na, sodio (mg/Kg); CSC, capacità di scambio cationico (meq/100g). I campi nelle celle colorate in arancione sono stati campionati nel periodo primaverile mentre quelli verdi nel periodo autunnale.

#### 4.2. Analisi comunità microbiche

I dati del sequenziamento dei campioni di DNA estratto da suolo sono stati sottoposti ad uno studio basato sull'individuazione dei diversi indici relativi alla diversità dei generi: indice di Shannon H, Evenness  $e^H/S$  e indice Chao-1. I risultati delle annualità 2020 e 2021 sono riportati rispettivamente nella tabella 2 e 3.

In linea generale, i conteggi relativi ai taxa e gli individui sono risultati maggiori nell'annualità 2021, ciò è dovuto agli aggiornamenti continui e dinamici dei database su cui l'analisi bioinformatica si basa. Ogni mese vengono caricati un numero elevatissimo di nuovi dati utili al riconoscimento dei nuovi taxa e i database eseguono gli aggiornamenti con cadenza sempre più repentina. Ciò non comporta comunque una qualità dei dati inferiori dell'annualità 2020 rispetto alla 2021. Di seguito vengono riportate le principali informazioni estrapolate dalle tabelle sottostanti trattando separatamente ciascuna area.

ALTO PIANO DELLE CINQUE MIGLIA - in entrambe le annualità è stata evidenziata una biodiversità maggiore in ACM2, ACM3 e ACM4 (indici Chao1 e Shannon H). In generale, in tutti i campi è stato registrato un numero di individui mediamente al di sotto di 2000, fatta eccezione per ACM3 2020 e 2021 e ACM4 2021, con un numero di individui maggiore. I campionamenti primaverili di entrambe le annualità hanno registrato indici ecologici superiori rispetto quelli autunnali, indici della dinamicità delle comunità in funzione delle condizioni climatiche e fattori biotici e abiotici correlati.

VALLE PELIGNA – in quest'area i campi sono tendenzialmente simili sia in struttura che per quanto riguarda lo sfruttamento agricolo. I risultati degli indici di diversità hanno riportato una sostanziale equivalenza anche da questo punto di vista per entrambe le annualità studiate.

VALLE SUBEQUANA – i campi dell'area VS presentano risultati molto differenti tra loro nonostante siano sottoposti tutti e tre ad una gestione biologica. Questa diversità è probabilmente da attribuire alle componenti chimiche del suolo nelle varie aree campionate. Nell'annualità 2021, il campo VS3/VS6 si è mostrato meno influenzato dal cambio della stagionalità, registrando valori simili di diversità microbica.

VAL VOMANO - nelle aree della zona Val Vomano i risultati sono abbastanza omogenei. Questi risultati confermano le caratteristiche simili dei due territori sottoposti a campionamento sia dal punto di vista della composizione del suolo, sia dal punto di vista della gestione agricola di tipo convenzionale. Tuttavia, anche in questi campi è stata registrata una buona diversità microbica dei suoli (valori di Shannon H maggiori di 5).

MONTAGNA AQUILANA – in quest'area il campo con una minore diversità e ricchezza è MA1 (primaverile)/MA3 (autunnale) dell'annualità 2020. Per il campione MA5, tuttavia, è stata registrata una diversità maggiore nell'annualità 2021.

ALTOPIANO DI NAVELLI - dal campionamento primaverile non sono state evidenziate differenze tra i campi biologici (AN1) e convenzionali ( AN2). Dal campionamento autunnale dell'annualità 2020, invece, è stata evidenziata una netta differenza tra il campo biologico (AN3)

rispetto a quelli convenzionali (AN4), con un numero di individui superiore di un fattore 10 e con indici di Shannon H e Chao-1 più elevati. Situazione inversa è stata registrata nell'annualità 2021, con la registrazione di valori di diversità maggiori per il campione AN1 (Shannon H maggiore di 6.5).

FUCINO – nel Fucino si può notare come la diversità espressa dagli indici sia nettamente più bassa in FUC4 (Chao1 37. Shannon H 2.8), sottoposta ad una gestione di tipo convenzionale - tipologia di tecniche che tendenzialmente porta ad un livellamento della biodiversità del suolo; FUC3 con gestione biologica, invece, viene separato da quest'ultimo per una maggiore biodiversità e numero di individui (individuals 21490.0; Chao 267.0). Da FUC1, per entrambe le annualità sono stati registrati valori molto bassi di diversità e di gran lunga sotto la media per l'annualità 2020 (Shannon inferiore a 4) e più bassi rispetto ai campi della stessa zona per l'annualità 2021.

CHIETINO – in questa area non è stata evidenziata una netta differenza tra i campi sottoposti ad agricoltura biologica e convenzionale, i valori degli indici e il numero di Taxa non presentano infatti dissimilarità tra di loro. In entrambe le annualità, il campo con una biodiversità più bassa è il CH9, campo convenzionale campionato durante il periodo autunnale.

**Tabella 2.** Tabella relativa ai campioni analizzati in relazione agli indici di diversità ecologica della prima annualità.

<b>Primaverile</b>	<b>Taxa_S</b>	<b>ACM1</b>	<b>ACM2</b>	<b>ACM3</b>	<b>ACM4</b>	<b>ACM5</b>	<b>VP1</b>	<b>VP2</b>	<b>VP3</b>	<b>VS1</b>	<b>VS2</b>	<b>VS3</b>	<b>VV1</b>	<b>VV2</b>
	<b>Individuals</b>	128	183	182	133	73	178	164	182	209	2275	846	215	821
	<b>Simpson_1-D</b>	1673	2176	2234	1727	815	2258	2077	2120	3157	39623	16140	2344	13598
	<b>Shannon_H</b>	0.987	0.992	0.991	0.988	0.981	0.991	0.991	0.991	0.993	0.998	0.997	0.992	0.998
	<b>Evenness_e^H/S</b>	4.57	4.97	4.94	4.63	4.12	4.92	4.89	4.96	5.10	7.19	6.35	5.10	6.38
	<b>Chao-1</b>	0.75	0.79	0.77	0.77	0.84	0.77	0.81	0.78	0.78	0.58	0.67	0.76	0.72
<b>Autunnale</b>	<b>Taxa_S</b>	<b>ACM6</b>	<b>ACM7</b>	<b>ACM8</b>	<b>ACM9</b>	<b>ACM10</b>	<b>VP4</b>	<b>VP4</b>	<b>VP6</b>	<b>VS4</b>	<b>VS5</b>	<b>VS6</b>	<b>VV3</b>	<b>VV4</b>
	<b>Individuals</b>	122	372	230	128	123	91	182	182	86	280	120	270	270
	<b>Simpson_1-D</b>	595	4863	2800	1481	1535	1064	2283	2192	924	3312	1374	2674	3501
	<b>Shannon_H</b>	0.980	0.995	0.993	0.989	0.984	0.984	0.991	0.990	0.983	0.994	0.987	0.993	0.994
	<b>Evenness_e^H/S</b>	4.67	5.66	5.21	4.66	4.51	4.30	4.92	4.89	4.22	5.36	4.54	5.30	5.36
	<b>Chao-1</b>	0.98	0.77	0.79	0.83	0.74	0.81	0.75	0.73	0.79	0.76	0.78	0.74	0.79
<b>Primaverile</b>	<b>Taxa_S</b>	<b>MA1</b>	<b>MA2</b>	<b>AN1</b>	<b>AN2</b>	<b>FUC1</b>	<b>FUC2</b>	<b>FUC3</b>	<b>FUC4</b>	<b>CH1</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>	<b>CH4</b>	<b>CH5</b>
	<b>Individuals</b>	58	163	147	235	67	247	1264	67	317	347	456	512	270
	<b>Simpson_1-D</b>	663	2167	2246	3446	988	2840	21473	684	4192	5775	9127	11263	3470
	<b>Shannon_H</b>	0.973	0.990	0.985	0.993	0.977	0.994	0.998	0.979	0.965	0.982	0.994	0.994	0.994
	<b>Evenness_e^H/S</b>	3.82	4.85	4.63	5.18	3.93	5.27	6.77	4.00	4.92	5.08	5.62	5.68	5.35
	<b>Chao-1</b>	0.78	0.78	0.70	0.76	0.76	0.79	0.69	0.81	0.43	0.46	0.61	0.57	0.78
<b>Autunnale</b>	<b>Taxa_S</b>	<b>MA3</b>	<b>MA4</b>	<b>AN3</b>	<b>AN4</b>	<b>FUC5</b>	<b>FUC6</b>	<b>FUC7</b>	<b>FUC8</b>	<b>CH6</b>	<b>CH7</b>	<b>CH8</b>	<b>CH9</b>	<b>CH10</b>
	<b>Individuals</b>	14	117	664	105	75	118	116	91	3732	2595	259	311	624
	<b>Simpson_1-D</b>	100	1451	11966	1075	790	1087	1065	1176	100497	69630	3878	3934	46660
	<b>Shannon_H</b>	0.907	0.985	0.996	0.986	0.979	0.988	0.987	0.967	0.999	0.998	0.992	0.994	0.957
	<b>Evenness_e^H/S</b>	2.49	4.47	6.04	4.43	4.06	4.60	4.54	3.94	7.54	7.14	5.22	5.44	4.97
	<b>Chao-1</b>	0.86	0.75	0.63	0.80	0.78	0.84	0.81	0.57	0.50	0.49	0.72	0.74	0.23
		14	117	668	105	75	118	116	92	3736	2598	259	311	624



Taxa\_S  
 Individuals  
 Simpson\_1-D  
 Shannon\_H  
 Evenness\_e^H/S  
 Chao-1

**Tabella 3.** Tabella relativa ai campioni analizzati in relazione agli indici di diversità ecologica della seconda annualità.

		ACM1	ACM2	ACM3	ACM4	ACM5	VP1	VP2	VP3	VS1	VS2	VS3	VV1	VV2
Primaverile	Taxa_S	618	713	1083	1086	738	1133	794	1350	696	1133	1206	1019	1273
	Individuals	11612	10864	20096	25445	12763	23184	16554	29833	12228	32493	28771	22984	28505
	Simpson_1-D	0.996	0.997	0.998	0.997	0.997	0.997	0.997	0.998	0.997	0.996	0.998	0.997	0.998
	Shannon_H	6.00	6.14	6.55	6.46	6.14	6.49	6.29	6.68	6.15	6.44	6.59	6.39	6.64
	Evenness_e^H/S	0.65	0.65	0.65	0.59	0.63	0.58	0.68	0.59	0.68	0.55	0.60	0.59	0.60
	Chao-1	618	713	1084	1087	739	1134	795	1351	697	1133	1206	1040	1274
		ACM6	ACM7	ACM8	ACM9	ACM10	VP4	VP5	VP6	VS4	VS5	VS6	VV3	VV4
Autumale	Taxa_S	1015				1033	1328	1165	1159	1090	1393	1036	1004	1798
	Individuals		647	781	948									
	Simpson_1-D	18038	10632	14105	22415	20271	23269	25355	28521	26917	30070	18070	16421	37833
	Shannon_H	0.998	0.997	0.996	0.997	0.997	0.998	0.997	0.997	0.997	0.998	0.998	0.997	0.999
	Evenness_e^H/S	6.45	6.04	6.13	6.36	6.44	6.72	6.48	6.45	6.49	6.79	6.58	6.47	7.02
	Chao-1	1016	648	781	951	1034	1330	1166	1160	1092	1394	1038	1004	1800

		<b>MA1</b>	<b>MA2</b>	<b>AN1</b>	<b>AN2</b>	<b>FUC1</b>	<b>FUC2</b>	<b>FUC3</b>	<b>FUC4</b>	<b>CH1</b>	<b>CH2</b>	<b>CH3</b>	<b>CH4</b>	<b>CH5</b>
Primaverile	Taxa_S	302	740	1534	933	676	939	1145	1516	1584	1713	1253	1412	1713
	Individuals	4695	13029	30349	20091	12406	17167	22159	35570	31790	38618	23327	32005	54374
	Simpson_1-D	0.993	0.996	0.998	0.997	0.997	0.998	0.998	0.998	0.998	0.997	0.998	0.997	0.998
	Shannon_H	5.34	6.13	6.90	6.35	6.09	6.38	6.57	6.76	6.95	6.82	6.67	6.66	6.82
		0.69	0.62	0.65	0.61	0.65	0.63	0.62	0.57	0.66	0.54	0.63	0.55	0.53
	Evenness_e^H/S	302	742	1535	933	677	939	1146	1518	1585	1715	1255	1418	1713
Chao-1														
		<b>MA3</b>	<b>MA4</b>	<b>AN3</b>	<b>AN4</b>	<b>FUC5</b>	<b>FUC6</b>	<b>FUC7</b>	<b>FUC8</b>	<b>CH6</b>	<b>CH7</b>	<b>CH8</b>	<b>CH9</b>	<b>CH10</b>
Autunnale	Taxa_S	1261	644	683	822	676	939	1145	1516	1253	898	1278	1412	1713
	Individuals	29905	13037	10441	16738	14208	19625	24882	39962	34916	14544	29215	75319	133264
	Simpson_1-D	0.998	0.996	0.996	0.997	0.996	0.997	0.998	0.998	0.997	0.997	0.997	0.983	0.986
	Shannon_H	6.65	6.03	6.01	6.33	6.02	6.31	6.54	6.75	6.55	6.23	6.54	5.66	6.01
		0.62	0.64	0.59	0.69	0.61	0.59	0.60	0.57	0.56	0.56	0.54	0.20	0.24
	Evenness_e^H/S	1264	645	684	822	681	952	1157	1524	1253	898	1302	1418	1713
Chao-1														

I dati NGS sono stati elaborati ulteriormente: le ricchezze percentuali delle ASVs associate ai Phylum delle annualità 2020 e 2021 sono state unite, filtrate al 5% (per poter evidenziare le ASVs con peso maggiore nelle comunità microbiche) e utilizzate per il confronto dei i campioni mediante la rappresentazione grafica Barplot presentata in figura 38. Dal grafico è possibile evidenziare una diversa composizione delle comunità microbiche con la presenza abbondante e ubiquitaria di alcuni Phylum, quali Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi e Proteobacteria. In alcuni campioni è stata riscontrata l'abbondanza di phylum specifici non presenti in altri campioni. Il caso più evidente è il campione ACM6, in cui il phylum Campilobacteriota ha registrato un'abbondanza maggiore del 25%. Quest'ultima, è giustificata dalla presenza del campo nel territorio del parco dove sono frequenti le invasioni di animali selvatici (segnalateci anche dagli agricoltori), soprattutto cervi, serbatoi naturali di specie batteriche (alcune patogene e responsabili di zoonosi) appartenenti a questo phylum.



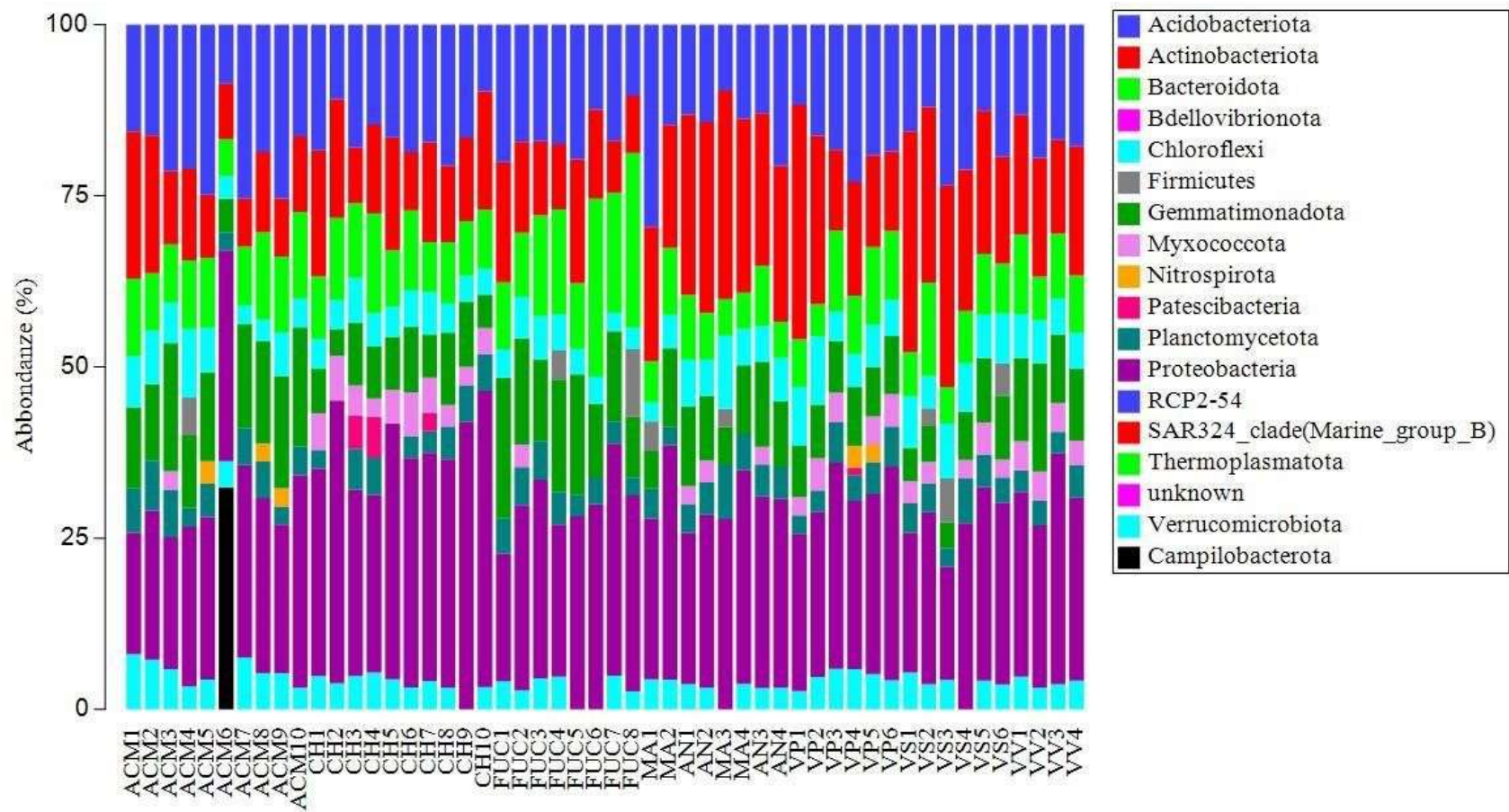


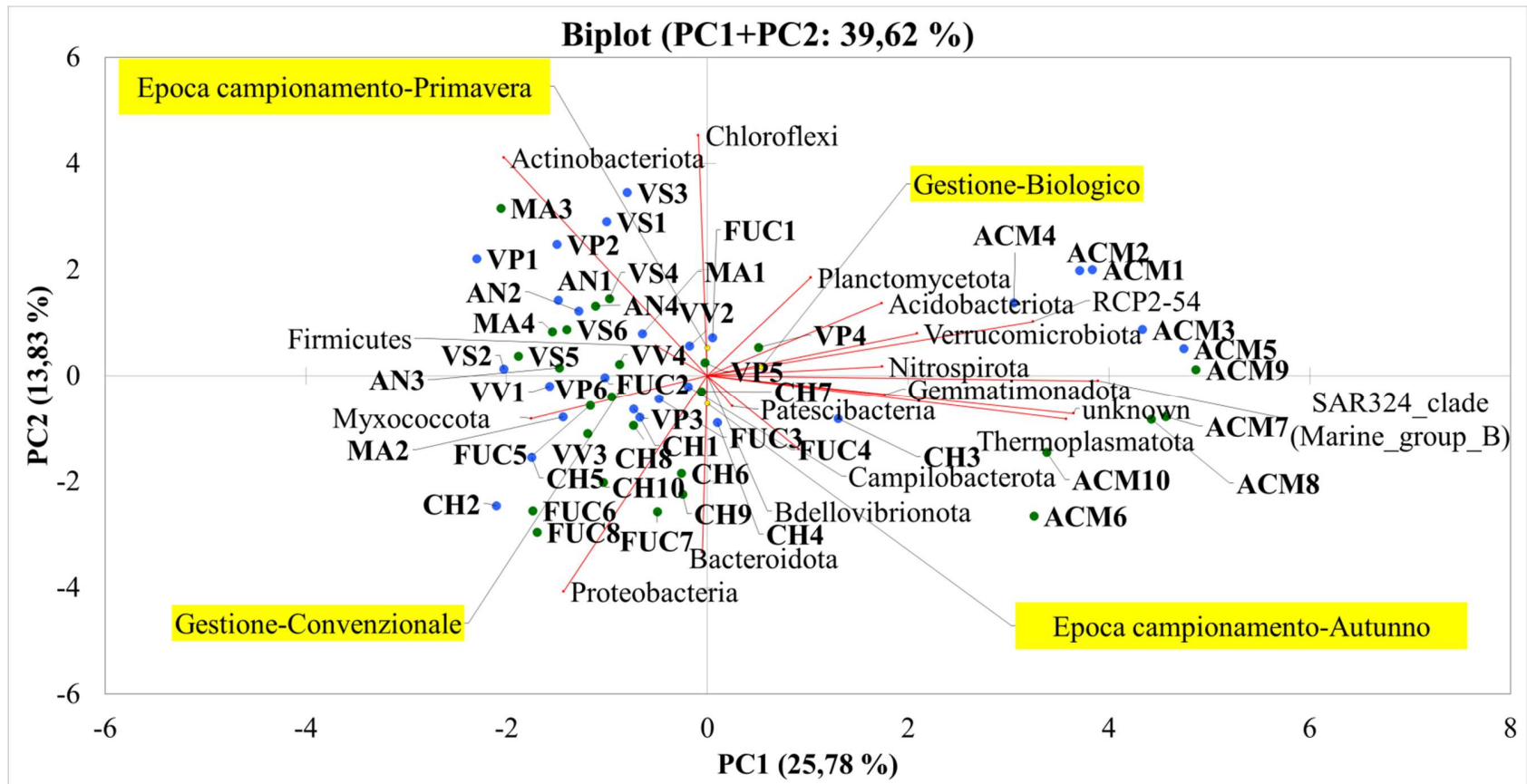
Figura.38. Barplot ASVs a livello di Phylum.

Per evidenziare in maniera più marcata il contributo di questi Phylum nei campioni e visualizzare graficamente eventuali cluster di associazione tra i campioni sulla base della gestione colturale, i risultati dei Phyla Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi e Proteobacteria ottenuti dalla fusione delle due annualità con filtraggio del 5% sono stati processati anche mediante analisi delle componenti principali; nella figura 39 è riportato il grafico biplot relativo a quest'analisi. Il grafico dimostra come ci sia un'evidente distribuzione spaziale negli assi diversa a seconda della tipologia di gestione agronomica. In base alle correlazioni con la prima (PC1) e seconda (PC2) componente principale, la gestione biologica e i Phyla Plantomycetota, Acidobacteriota, Verrucomicrobiota, Nitrospirota e Bdellovibrionota possono essere raggruppati in uno stesso cluster (raggruppamento) con simile contributo su PC1 e PC2. Per quanto riguarda la gestione convenzionale, invece, il phylum Myxococcota è quello con simile contributo. I risultati, inoltre, hanno mostrato una stretta associazione dei Phyla Actinobacteriota e Chloroflexi con il campionamento primaverile e i Phyla Bacteroidota, Patescibacteria, Proteobacteria e Campilobacterota con quello autunnale.

I risultati relativi ai Phyla ubiquitari e abbondanti, Acidobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi e Proteobacteria, inoltre, sono stati integrati con quelli più rilevanti ottenuti dalle analisi fisico-chimiche dei suoli, utilizzando lo stesso approccio statistico; il biplot relativo è presentato nella figura 41. Dal grafico è possibile confermare la netta separazione tra la gestione agronomica biologica da quella convenzionale come descritto precedentemente e il diverso contributo dell'epoca di campionamento su alcuni dei Phyla e parametri fisico-chimici. Questa elaborazione mette in evidenza, inoltre, la presenza di alcuni cluster in funzione del diverso contributo sulla PC1 e la PC2. Il contenuto di calcio e la CSC hanno presentato un contributo su PC1 e PC2 simile a

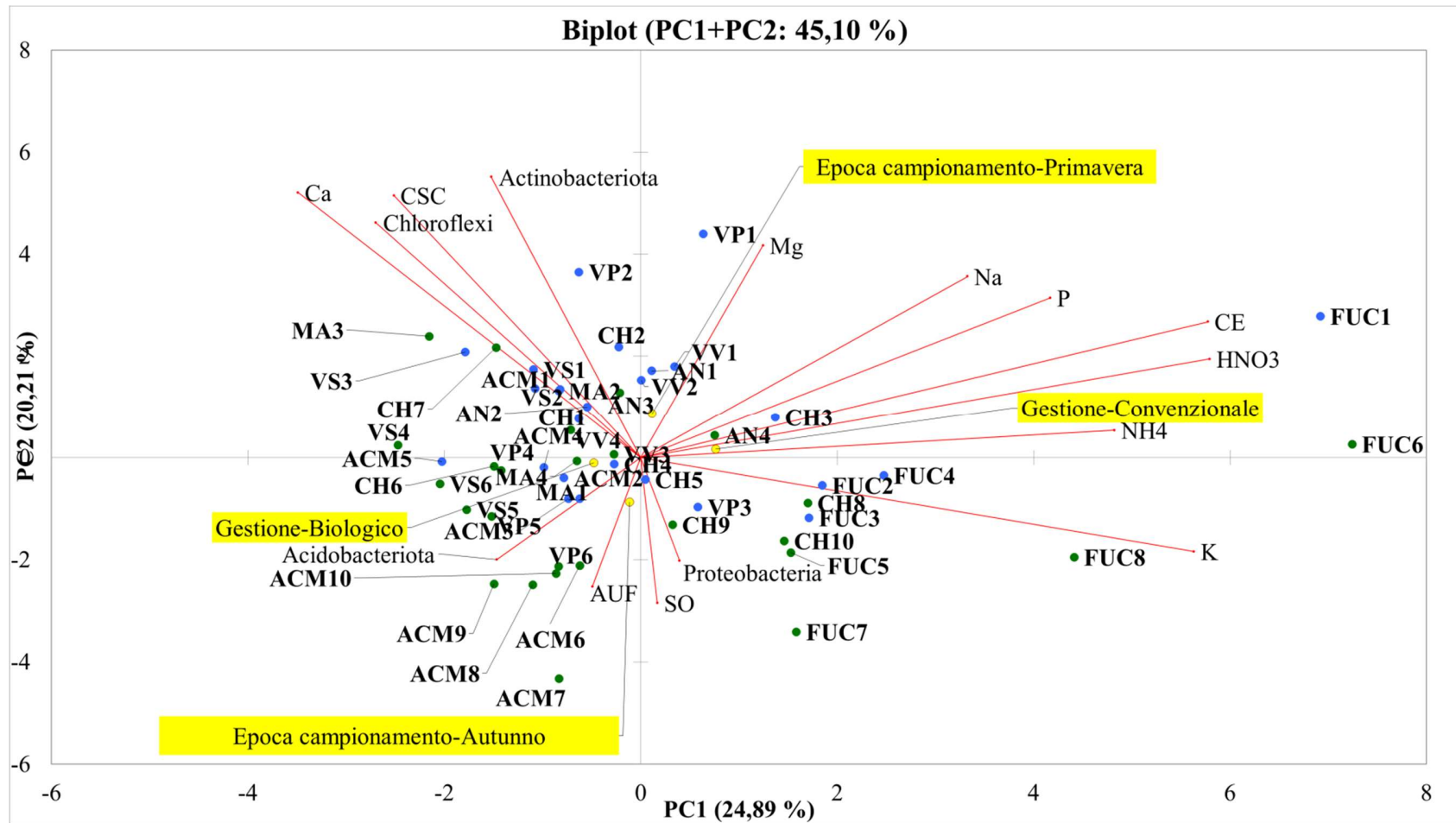
Actinobacteriota e Chloroflexi. I terreni più strutturati come quelli dell'area ACM, CH, VS, NA e MA hanno contribuito maggiormente a questa simile associazione. Altro aspetto importante è quello evidenziato per l'area FUC, ricchissima di nitrati, azoto ammoniacale, potassio, fosforo, magnesio e cloruro di sodio. Queste caratteristiche chimico-fisiche del suolo, legate alle continue campagne di concimazione chimica per la massimizzazione delle rese produttive e un conseguente inquinamento dei suoli e delle acque di irrigazione, hanno portato a una completa separazione dei campioni di questa zona rispetto alle altre insieme ai campioni convenzionali del CH. La presenza di sostanza organica e acidi umici e fulvici, infine, ha avuto un contributo sulla separazione dei campioni con gestione biologica, soprattutto quelli dell'area ACM con una correlazione simile del Phylum Proteobacteria.





**Fig. 39.** Grafico Biplot analisi delle componenti principali dati NGS.





**Fig. 40.** Grafico Biplot analisi delle componenti principali dati Phyla più rilevanti e parametri chimico-fisici suolo.

#### 4.1. Analisi comunità edafiche

Per quanto riguarda i risultati dello studio delle comunità edafiche, durante la prima sessione di campionamento (primavera/estate 2020), in generale, è stata riscontrata una maggiore qualità biologica del suolo in campi coltivati a gestione biologica all'interno dei Parchi Nazionali (Tabella 4).

I valori più alti sono stati osservati nel campo biologico di Valle Subequana all'interno del Parco Nazionale Sirente-Velino (QBS-ar = 198) e nel campo biologico di Valle Peligna all'interno del Parco Nazionale della Majella (QBS-ar = 187). Elevati anche i valori dell'indice per l'Altopiano delle cinque Miglia.

Fa eccezione il vigneto convenzionale di Chieti che ha ottenuto il punteggio più elevato, grazie alla buona qualità del terreno e dove sono stati rinvenuti quattro esemplari di Palpigradi, animali del suolo non comuni da osservare.

Le altre tre sessioni di campionamento (autunno/inverno 2020; primavera/estate 2021; autunno/inverno 2021) hanno confermato valori più alti dell'indice in campi biologici all'interno delle aree protette, ma mostrando generalmente valori più bassi (Tabella 4).

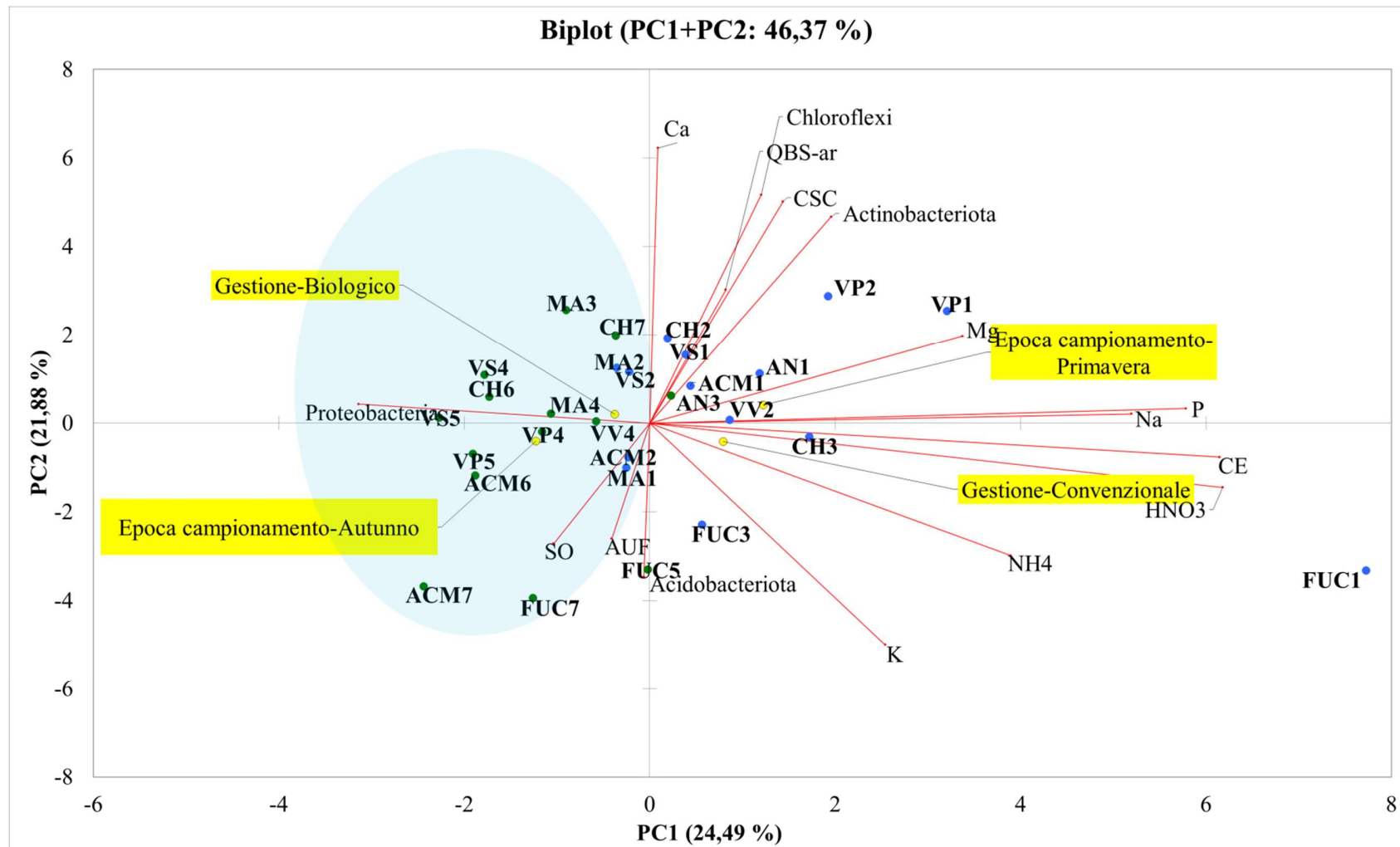
I valori più bassi dell'indice, minori di 100, sono stati osservati sistematicamente in tutte le sessioni di campionamento nell'area della piana del Fucino nel campo coltivato a gestione convenzionale e nell'area di Val Vomano, dove sono stati utilizzati fertilizzanti, pesticidi ed erbicidi, siti soggetti ad agricoltura maggiormente intensiva rispetto alle altre esaminate.

**Tabella 4.** Valori dell'indice QBS-ar (Qualità Biologica del Suolo) nei siti di campionamento all'intero della regione Abruzzo nella seconda (QBS-ar a/i 2020), nella terza (QBS-ar p/e 2021) e nella quarta (QBS-ar a/i 2021) sessione di campionamento.

SITO	QBS-ar p/e 2020	QBS-ar a/i 2020	QBS-ar p/e 2021	QBS-ar a/i 2021
VS1-VS4	198	130	119	77
VS2-VS5	136	115	70	70
VP1-VP4	71	76	126	100
VP2-VP5	187	60	141	60
MA1-MA3	153	71	121	30
MA2-MA4	118	80	46	127
AN1-AN3	177	60	98	61
ACM1-ACM6	143	90	56	91
ACM2-ACM7	117	40	31	80
VV2-VV4	43	70	48	53
FUC1-FUC4	66	56	55	35
FUC3-FUC5	160	41	48	101
CH2	167	100	36	111
CH3	227	101	51	70

I dati QBS-ar delle annualità 2020-2021 appartenenti alla stessa stagione di campionamento sono stati uniti e analizzati mediante PCA, integrando i risultati ottenuti con quelli delle comunità microbica e delle analisi chimico-fisiche, il grafico biplot è mostrato in figura 41.

Questa elaborazione ha messo in evidenza una separazione tra biologico e convenzionale più netta. Anche se con l'inclusione di alcuni punti convenzionali nel quadrante sinistro (evidenziato in verde chiaro) i campi a gestione biologica sono stati inclusi tutti nello stesso cluster. Ciò denota l'importanza di integrare più metodologie di approcci basando gli studi sulla multidisciplinarietà. Dal grafico ottenuto, inoltre, è stata evidenziata una correlazione del QBS-ar con i Phyla Actinobacteriota e Chloroflexi e i parametri chimico fisici del contenuto di calcio e CSC.



**Fig. 41.** Grafico Biplot analisi delle componenti principali dati Phyla più rilevanti, i valori QBS e parametri chimico-fisici suolo.



## CAPITOLO 5: DISCUSSIONE

Dai risultati ottenuti è stato possibile evidenziare come la tipologia di lavorazione del terreno abbia una forte influenza sia sulla composizione chimico-fisica del suolo che della componente microbica. La lavorazione meccanica del suolo modifica fortemente i parametri chimici del terreno (Bossio et al., 2005; Wolińska et al., 2014, 2017). Nel nostro studio di notevole importanza sono stati i valori ottenuti per la sostanza organica, il pH e la CSC.

La sostanza organica è determinante per la fertilità del suolo, in quanto ha una diretta influenza sulle caratteristiche fisiche e chimiche del terreno (Dell'Agnola & Nardi, 1993). Essa, infatti, influenza la struttura del suolo, stabilizza gli aggregati, aumenta la capacità di ritenzione idrica, rappresenta una riserva di nutrienti, ha elevata capacità di scambio cationico, è substrato per i microrganismi e la fauna del suolo, lega ioni metallici e riduce la conduzione di calore (Bullini et al., 1998). Le pratiche agricole, l'aratura in particolare, provocano l'esposizione all'aria del suolo e quindi una maggiore ossigenazione dell'orizzonte superficiale, causando una diminuzione della sostanza organica e dell'humus accumulato, perché consumato dai microrganismi del suolo, con un aumento dell'emissione di CO<sub>2</sub>. Il suolo, infatti, e il suo microbioma, si sono evoluti con concentrazioni di O<sub>2</sub> che vanno dal 2 al 6%, con un accumulo, a lungo andare, di sostanze umiche carboniose, che hanno immobilizzato parte del fotosintato e della CO<sub>2</sub> utilizzata nel suolo. Con le arature meccaniche profonde introdotte dagli anni '50, si sono creati inconsapevolmente innumerevoli problemi che hanno portato alla perdita di sostanza organica nei suoli agrari, alla perdita di struttura degli stessi e alla incapacità di ritenzione di acqua e nutrienti forniti alle colture con i concimi chimici e, appare sempre più evidente, una enorme immissione di CO<sub>2</sub> in atmosfera (FAO;b).

Dai risultati delle analisi chimico-fisiche è stato dedotto che tutta l'area ACM, caratterizzata da gestione biologica, ha presentato i valori di sostanza organica maggiori rispetto agli altri campioni. Secondo ARPAV valori inferiori, al di sotto del quale sono possibili evidenti effetti negativi dovuti alla carenza di materiale organico, si aggirano attorno all'1%, mentre fino al 1.5–1.8% il livello di sostanza organica è considerato comunque scarso per il mantenimento di una adeguata fertilità (ARPAV,2007). Nel presente lavoro valori inferiori all'1% non sono stati ottenuti, mentre valori inferiori all'1.8% sono stati ottenuti per CH1 (BIO), CH6 (BIO), VV3 (CONV), VV4 (CONV), VS1 (BIO) e VS2 (BIO) – Tabella 3. Nei suoli naturali o poco disturbati il livello di sostanza organica risulta in genere più alto di quello dei suoli coltivati in quanto in questi ultimi è maggiore l'asportazione di materiale organico e sono più intensi i fenomeni distruttivi per effetto di una maggiore ossigenazione del terreno dovuta alle lavorazioni (ARPAV,2007). Dalle analisi è

evidente come nel nostro studio abbiano riportato valori bassi non solo campioni a gestione convenzionale, ma anche quelli a gestione biologica.

Il pH di tutte le aree campionate risulta essere sub-alcino/ alcalino; infatti, i valori si aggirano tra 7.3 e 8.6. Solo nelle aree ACM è stato riscontrato un pH neutro-sub-alcino, alcuni campioni hanno riportato valori del pH al di sotto di 7.3. L'attività biologica del suolo può influenzare il pH portando in alcuni casi ad una acidificazione, in altri ad una alcalinizzazione. Anche il processo di decomposizione operato dai microrganismi influenza il pH del suolo, soprattutto in condizioni di saturazione di acqua e carenza di ossigeno, in quanto vengono rilasciati acidi organici che tendono ad acidificarne la soluzione. Infine, gli stessi processi di respirazione che hanno luogo nel suolo possono influire sulla sua acidificazione in quanto la CO<sub>2</sub> prodotta può essere convertita in acido carbonico (Killam, 1994). Il valore del pH del suolo ha grande importanza, infatti la maggior parte dei microrganismi e delle piante tollera un intervallo ristretto di valori, solitamente quelli centrali, gli ambienti troppo acidi o troppo basici esercitano invece un'azione tossica più o meno marcata. Ogni specie presenta dunque un suo pH ottimale di crescita. La conoscenza del valore del pH del suolo può essere quindi utile a stabilire se vi siano le condizioni favorevoli alla crescita di determinate specie (Brock et al., 1994). La maggior parte dei batteri, da cui dipendono azotofissazione, nitrificazione, alcuni processi di decomposizione della sostanza organica, prediligono un ambiente sub-acido o leggermente alcalino (pH 6.8÷7.2); lo scostamento da tali condizioni si ripercuote sia sulla disponibilità di elementi nutritivi sia sul processo di umificazione. I funghi risultano favoriti dall'ambiente acido ed in queste condizioni assicurano la demolizione dei composti organici. In terreni leggermente alcalini (pH 7÷7.5) piuttosto secchi, sciolti e quindi ricchi di ossigeno si sviluppano prevalentemente gli attinomiceti che riescono a sopperire alla scarsa attività di funghi e batteri in periodi di carenza idrica (ARPAV, 2007; Bullini et al., 1998).

Nella valutazione della CSC, infatti i valori inferiori a 5 sono caratterizzati da CSC: molto bassa; tra 5 e 10: bassa; tra 10 e 20: media; superiore a 20: alta. La CSC mediamente più bassa è stata riscontrata in quasi tutti i campioni dell'area del Fucino. Questo aspetto è di notevole importanza in quanto fornisce un'indicazione sulla fertilità potenziale e sulla natura dei minerali argillosi.

L'assorbimento per scambio ionico rappresenta infatti il meccanismo più importante di trattenimento degli ioni e coinvolge quasi esclusivamente i cationi, tra cui quelli utili alla nutrizione vegetale ovvero calcio (Ca<sup>2+</sup>), magnesio (Mg<sup>2+</sup>), potassio (K<sup>+</sup>) e sodio (Na<sup>+</sup>) (Guida18\_61).

Dal punto di vista microbiologico è stato osservato che l'agricoltura crea ambienti altamente selettivi e omogenei che riducono la diversità batterica. Numerosi sono gli studi che sono stati condotti per riportare le differenze nella diversità microbica tra i suoli agricoli a gestione convenzionale e quelli a gestione biologica (Kuffner et al., 2004; Lopes et al., 2011). In questo

contesto, il presente studio è il primo che mette a confronto la comunità batterica nei suoli abruzzesi coltivati nelle maggiori aree produttive. È stato scoperto che la differenziazione tra suoli coltivati con tecniche biologiche e convenzionali, a livello di caratteristiche chimiche, è chiaramente una conseguenza delle diverse pratiche di gestione del suolo e questo è stato anche il motivo della diversificazione della struttura della comunità microbica. Nel nostro studio la gestione dell'uso del suolo ci è sembrato uno dei principali determinanti delle comunità batteriche, ed è stato confermato che le diverse pratiche di gestione hanno influenzato sia la composizione della comunità microbica che la funzione (Wolińska et al., 2014). Tuttavia, abbiamo anche osservato che la composizione totale della comunità batterica è stata influenzata notevolmente dalla struttura chimico-fisica del suolo sottostante, più che dalle diverse pratiche di gestione o dai diversi regimi di coltivazione in questi siti (Arias et al., 2005). Inoltre, è stato dimostrato che il suolo ha un'immensa capacità di diversità e quindi una grande capacità tampone prima che i risultati delle pratiche di gestione possano influenzare i membri dominanti della comunità. In ogni caso, va sottolineato che gli impatti a lungo termine delle pratiche di gestione possono essere molto più significativi di quanto mostrato nello studio attuale.

L'alta produttività del territorio e l'utilizzo di concimi organici, quali letame e pollina, comportano un utilizzo di tecniche fortemente meccanizzate che possono incidere sulla diversità microbica e sulla sua ricchezza anche in zone sottoposte a pratiche biologiche. La Piana del Fucino secondo Puccini et al., 2011 può essere definita come area "fortemente sensibile". In essa la conformazione geomorfologica della conca, l'origine pedologica dei suoli derivati da interventi di bonifica, la presenza di una falda controllata artificialmente in prossimità della superficie per aree molto estese sono tutti elementi che la rendono fragile agli interventi antropici. Da Puccini et al., 2011 è stato riscontrato che in condizioni di idrosaturazione i surplus veicolano nella falda quantitativi di nutrienti e prodotti più o meno inquinanti non solo con danni economici (perdita di fertilizzanti), ma anche con un notevole impatto ambientale (inquinamento idrico). Infatti, sia nelle acque di falda che, in misura maggiore, nelle acque fluenti sono stati riscontrati elevati contenuti in sali solubili, dovuti probabilmente alla perdita di elementi dal suolo durante il periodo autunno-inverno, nel quale si è evidenziato il verificarsi di surplus idrici anche consistenti (Puccini et al., 2011). La quantità di sali alta è stata riscontrata anche nel presente lavoro; infatti, alcuni suoli campionati nell'area del Fucino hanno avuto il valore maggiore di conducibilità elettrica, tra questi FUC6 (412  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) e FUC1 (360  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ).

## **CAPITOLO 6: CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI**

Dal presente studio è stato evidenziato come a livello di diversità microbica e della comunità edafica c'è un'interessante distinzione tra le gestioni biologiche e le gestioni convenzionali.



Tuttavia, in alcune aree, è stata riscontrata un'evidente similarità tra i campi a gestione biologica e convenzionale, soprattutto nell'area del FUCINO. Per quanto riguarda le altre aree, invece, alcuni punti del biologico sono risultati in sovrapposizione con aree convenzionali. Nella zona MONTAGNA AQUILANA e ALTOPIANO DI NAVELLI, infatti, in cui si utilizzano delle tecniche agricole convenzionali ma meno invasive, meno meccanizzate e meno impattanti, con una produttività più bassa e meno soggetta alle pressioni antropiche, è stata riscontrata una maggiore conservazione della biodiversità microbica e qualità dei suoli.

Lo studio ha permesso di rimarcare come i parametri fisico-chimici vadano ad influenzare molto la comunità microbica dei suoli, in particolare la ricchezza e la diversità in specie. Dai risultati ottenuti, infatti, è stato possibile riscontrare come la diversità microbica dei suoli non è legata tanto alle tecniche agricole utilizzate sui terreni ma piuttosto all'intensità delle stesse. Nonostante la conduzione biologica, un uso intensivo del terreno può portare ad un momentaneo accumulo di nutrienti, che permette un ciclo più breve nella crescita vegetale e una maggiore produttività, ma che sono anche responsabili, soprattutto nel lungo periodo, dell'impoverimento della comunità microbica che ha come ruolo proprio il riciclaggio dei nutrienti e il loro trasferimento alle piante. La localizzazione dei terreni in un contesto produttivo è un fattore non meno importante: la prossimità dei terreni a conduzione biologica con irrigazione non differenziata può portare a uno stato di salute del suolo poco ottimale e non in linea con quanto riscontrato solitamente per i terreni biologici.

L'integrazione dei risultati sulle comunità microbiche e edafiche e i parametri fisico-chimici hanno evidenziato l'importanza dell'approccio multidisciplinare, essenziale per la corretta valutazione dello stato di salute dei suoli. Ciò apre la strada a ulteriori studi che possano comprendere dati relativi alla comunità del suolo sotto l'aspetto fungino, del contributo delle specie vegetali spontanee e coltivate presenti sui terreni, e comunità animali (soprattutto selvatici). Ulteriori studi potrebbero inoltre riguardare altri aspetti legati al suolo come le attività enzimatiche. I campionamenti, inoltre, data la natura dinamica delle comunità dovrebbero essere svolti in periodi più ravvicinati, in modo da valutare con più affidabilità le correlazioni tra le diversi variabili studiate.

Ad ogni modo, questo studio ha un grande valore, in quanto, nonostante l'Abruzzo sia una regione che vanta il maggior numero ed estensione di aree protette in Italia, non sono presenti studi precedenti che valutino la biodiversità microbica dei suoli abruzzesi. La Regione Abruzzo con la DGR 1050 del 28 dicembre 2018 e successivi provvedimenti, ha recepito la Legge 194/2015 e sta avviando le procedure per la salvaguardia della sua ampia e preziosa biodiversità, attraverso le fasi del recupero, della conservazione, della caratterizzazione e della valorizzazione.

In riferimento alle disposizioni nazionali, il modello organizzativo prevede di realizzare in Abruzzo:

- l’anagrafe regionale della biodiversità animale;
- l’anagrafe regionale della biodiversità vegetale;
- il registro degli allevatori custodi;
- il registro degli agricoltori custodi;
- la banca de germoplasma;
- la rete della biodiversità di interesse agricolo e alimentare (REGIONE ABRUZZO,2020).

Poiché nei sistemi agricoli sostenibili chi coltiva la terra possiede per tradizione una profonda conoscenza della biodiversità e delle sue componenti, sarebbe auspicabile che questo sapere venisse integrato in schemi di innovazione agricola tesi a conciliare la tutela delle risorse di un territorio rurale con il suo sviluppo. Si è ormai consapevoli che le lavorazioni profonde dei suoli, la pratica di monocoltura e/o mono successione, l’uso di erbicidi e di pesticidi in generale, causano nel tempo una perdita significativa di biodiversità nelle sue diverse forme; al contrario un’agricoltura a basso impatto e i suoi prodotti, soprattutto se a certificazione biologica, hanno un valore aggiunto superiore ai prodotti provenienti da suoli gestiti “industrialmente”. Questo comporta anche un indotto estremamente positivo sia in termini di sviluppo di un turismo più consapevole dell’importanza dalle zone protette e dai Parchi nazionali esistenti, sia in termini di crescita economica regionale sostenibile e valorizzazione del patrimonio genetico locale. Sulla base delle evidenze scientifiche ottenute è stato possibile stilare un manuale delle indicazioni operative per la gestione del territorio della regione Abruzzo (Allegato 2), comprendenti le linee guida regole di comportamento da divulgare ai parchi, agli agricoltori e allevatori custodi,

## ***BIBLIOGRAFIA***

Altieri M.A. (1999) The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 74, 19–31; doi:10.1016/S0167-8809(99)00028-6.

Arias M.E. et al. (2005) Soil health - a new challenge for microbiologists and chemists. *Int. Microbiol.*, 8, 13–21.

ARPA Veneto (2007) L’interpretazione delle analisi del terreno, strumento per la sostenibilità ambientale; ISBN 88-7504-115-6.

Basch G. et al. (2012) Making sustainable agriculture real in cap 2020. The role of Conservation Agriculture in the CAP reform. *ECAF, Brussels*, 43; ISBN 978-84-615-8106-1.

Benedetti A. & Mocali S. **(2008)** Analisi a livello di suolo, in Indicatori di biodiversità per la sostenibilità in agricoltura, Roma, ISPRA, 159-208; ISBN 978-88-448-0337-7.

Bernard, L. et al. **(2012)** Endogeic earthworms shape bacterial functional communities and affect organic matter mineralization in a tropical soil. *ISME*, 6(1), 213–222.

Bioanalysis **(2021)** Genomic DNA from soil, 09:  
<https://www.mnnet.com/media/pdf/f5/e4/7a/Instruction-NucleoSpin-Soil.pdf>

Bioinformatics & Evolutionary Genomics: <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/> .

Blum W.E.H. **(2005)** Functions of Soil for Society and the Environment. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology*, 4, 75–79; doi:10.1007/s11157-005-2236-x.

Borneman, J. et al. **(1996)** Molecular microbial diversity of an agricultural soil in Wisconsin, *App Environ Microbiol*, 62, 1935-1943.

Bossio D.A. et al. **(2005)** Soil Microbial Community Response to Land Use Change in an Agricultural Landscape of Western Kenya. *Microb. Ecol.*, 49, 50–62; doi:10.1007/s00248-0030209-6.

Brock T.D et al. **(1994)** *Biology of Microorganisms*, 7th ed. Prentice Hall; ISBN-10 : 0130421693.

Bullini L. et al. **(1998)** *Il suolo. Ecologia generale*. UTET. Torino.

Bunning S. & Jiménez J.J. **(2003)** Indicators and assessment of soil biodiversity/soil ecosystem functioning for farmers and governments. Paper presented at the OECD Expert Meeting on indicators of soil erosion and soil biodiversity, 25-28 March, Rome, Italy, 22.

Carboni G. **(2017)** L'Agricoltura conservativa. Poster divulgativo Agris Sardegna.

Churchland C. & Grayston, S.J. **(2014)** Specificity of plant-microbe interactions in the tree mycorrhizosphere biome and consequences for soil C cycling. *Front. Microbiol.*, 5; doi:10.3389/fmicb.2014.00261.

Ciccarese D. **(2012)** *Il libro nero dell'agricoltura*. Ponte alle Grazie; ISBN 9788862206419.

CLUSTVIS: uno strumento web per la visualizzazione del clustering di dati multivariati (BETA): <https://biit.cs.ut.ee/clustvis/>.

COM 179/2002/CEE - Verso una strategia tematica per la protezione del suolo.

Daily GC. (1997) Introduzione: cosa sono i servizi ecosistemici? Servizi della natura: dipendenza della società dagli ecosistemi naturali. Island Press, Washington, DC., 1–10.

de Frutos Á. et al. (2015) Inferring Resilience to Fragmentation-Induced Changes in Plant Communities in a Semi-Arid Mediterranean Ecosystem. PLoS One, 10(3): e0118837; doi:10.1371/journal.pone.0118837.

de Vries FT. et al. (2013) Soil food web properties explain ecosystem services across European land use systems. Proc Natl Acad Sci USA, 110, 35, 14296–14301; doi:10.1073/pnas.1305198110.

Dell'Agnola G. & Nardi S. (1993) Ruolo della sostanza organica nella regolazione della fertilità dei terreni. Nannipieri P., editor. Ciclo della sostanza organica nel suolo, 41.

EC (2003) Regulation (European Commission) No 1831/2003. European Union Register of Feed Additives. Edition 185. Appendixes 3, 4 - 12/05/2014. European Union legislation on feed additives: [http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/legisl\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/legisl_en.htm).

El Sheikha A.F. (2019) Tracing insect pests: is there new potential in molecular techniques? Insect Mol. Biol. 28, 759–772; doi:10.1111/imb.12601.

FAO (a): Conservation agriculture web site. [www.fao.org/ag/ca/index.html](http://www.fao.org/ag/ca/index.html).

FAO (b): <http://www.fao.org/about/meetings/global-symposium-on-soilpollution/background/en/>.

Fulton R. T., (1989) Enciclopedia del Novecento, I Supplemento.

Garbeva P. et al. (2004) Assessment of the diversity, and antagonism towards *Rhizoctonia solani* AG3, of *Pseudomonas* species in soil from different agricultural regimes. FEMS Microbiology Ecology 47, 51–64; doi:10.1016/S0168-6496(03)00234-4.

Gazzetta Ufficiale (1999) Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo, 185.

Gholamreza H. et al. (2017) Responses of Soil Microbial Biomass and Enzyme Activities to Tillage and Fertilization Systems in Soybean (*Glycine max* L.) Production., 7, 1730; doi:10.3389/fpls.2016.01730.

Giller K.E. et al. (1997) Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function, Applied Soil Ecology, 6, 3-16; doi:10.1016/S0929-1393(96)00149-7.

González-Oreja J.A. (2008) The encyclopedia of life vs. the brochure of life: exploring the relationships between the extinction of species and the inventory of life on Earth. *Zootaxa*, 1965, 61–68; ISSN 1175-5334.

Griebler C. & Avramov M. (2015) Groundwater ecosystem services: a review. *Freshwater Science*, 34(1),355–367; doi: 10.1086/679903.

Guida18\_61: [http://www.agricoltura.regione.campania.it/concimazione/pdf/Guida18\\_61.pdf](http://www.agricoltura.regione.campania.it/concimazione/pdf/Guida18_61.pdf).

Hamilton A.J. (2005) Species diversity or biodiversity? *J. Environ. Manage.*, 75, 89–92; doi:10.1016/j.jenvman.2004.11.012.

Hartmann A. et al. (2008) Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant Soil*, 312, 7–14; doi:10.1007/s11104-007-9514-z.

Helgason T. et al. (1998) Ploughing up the wood-wide web? *Nature*, 394 (6692), 431; doi:10.1038/28764.

Hughes A.R. et al. (2008) Ecological consequences of genetic diversity. *Ecol. Lett.*, 11, 609–623; doi:10.1111/j.1461-0248.2008.01179.x.

Iaquaniello M (2021). Caratterizzazione chimico-fisica e microbiologica dei profili tellurici della regione Abruzzo. Tesi magistrale Biologia Ambientale e Gestione degli Ecosistemi - Università dell'Aquila.

ILLUMINA: [https://www.illumina.com/documents/products/appnotes/appnote\\_miseq\\_16S](https://www.illumina.com/documents/products/appnotes/appnote_miseq_16S).

Jeffrey S. et al. (2010) *European Atlas of Soil Biodiversity*, European Commission, Publications Office of the European Union, Luxemburg; ISBN 978-92-79-15806-3.

Kaviya N. et al. (2019) Role of Microorganisms in Soil Genesis and Functions. In *Mycorrhizosphere and Pedogenesis*, 25–52; doi:10.1007/978-981-13-6480-8\_2.

Killam K. (1994) *Soil ecology*. Cambridge University press; doi:10.1017/9780511623363.

Kuffner M. et al. (2004) DGGE-fingerprinting of arable soils shows differences in microbial community structure of conventional and organic farming systems. *Food, Agriculture & Environment*, 2, 259–267.

Lambers H. et al. (1998) *Plant Physiological Ecology*, Springer, New York; ISBN 978-1-47572855-2.

Lawton J.H. & May R.M. (1995) *Extinction Rates*. Oxford University Press, Oxford. Leather, S.R., 2009. Institutional vertebratism threatens UK food security. *Trends in Ecology and Evolution*, 24, 413–414; ISBN:0-19-854829.

Lopes A.R. et al. (2011) Comparative study of the microbial diversity of bulk paddy soil of two rice fields subjected to organic and conventional farming. *Soil Biol. Biochem.*, 43, 115–125; doi:10.1016/j.soilbio.2010.09.021.

Mantoni C. et al. (2021) Comparison of Soil Biology Quality in Organically and Conventionally Managed Agro-Ecosystems Using Microarthropods. *Agriculture*, 11, 1022. <https://doi.org/10.3390/agriculture11101022>

Mcafee K. (1999) Selling Nature to save It? Biodiversity and Green Developmentalism. *Environ. Plan. D Soc. Sp.*, 17, 133-154; doi:10.1068/d170133.

Millennium Ecosystem Assessment. (2005) *Ecosystems and human well-being: the assessment series (4 vol + Summary)*, Island Press, Washington DC.

MN's World site: <https://www.mn-net.com/nucleospin-soil-mini-kit-for-dna-from-soil740780.50>

Mohammadi K. et al. (2011) Soil management, microorganisms and organic matter interactions: A review. *Afr J Biotechnol*, 10, 1984-1989.

Monther M. T. et al. (2020) Soil Health and Sustainable Agriculture, 12, 4859; doi:10.3390/su12124859.

Nardi S. (2000) Sintesi e trasformazione della sostanza organica del profilo del suolo. Sanesi G. *Elementi di pedologia. I suoli, loro proprietà, gestione e relazioni con l'ambiente*. Calderioni edagricole, 5.

Neher, D.A. et al. (2012) Linking invertebrate communities to decomposition rate and nitrogen availability in pine forest soils. *Appl. Soil Ecol.*, 54, 14–23.

Oksanen J. et al. (2020) The vegan package Available online: <https://cran.rproject.org/web/packages/vegan/vegan.pdf>.

Operating instructions vario TOC cube (2018) *Elementar Analysensysteme GmbH*.

Parisi, V. et al. (2005) Microarthropod community as a tool to asses soil quality and biodiversity: a new approach in Italy. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 105, 323–333.

Pietrosanti A. (2020) Profili tellurici microbici della Regione Abruzzo. Tesi magistrale Biologia Ambientale e Gestione degli Ecosistemi - Università dell'Aquila.

Pimentel D. et al. (1997) Water resources: agriculture, the environment, and society. *BioScience* 47, 2, 97-106; doi:10.2307/1313020.

Pisante M. & Stagnari F. (2011) Agricoltura Blu - La via italiana dell'agricoltura conservativa. Manuale abbreviato.

Provini A. et al. (2003) Ecologia applicata. Città studi edizioni.

Puccini C. et al. (2011) Valutazione della qualità dei suoli della Piana del Fucino ai fini della sostenibilità dell'irrigazione. *Geologia dell'Ambiente*, 3.

Purvis A. & Hector A. (2000) Getting the measure of biodiversity. *Nature*, 405, 212–219; doi:10.1038/35012221.

REGIONE ABRUZZO (2020) Biodiversità agraria: <https://www.regione.abruzzo.it/content/biodiversit%C3%A0-agraria>.

SINAB - Sistema d'Informazione Nazionale sull'Agricoltura Biologica: <http://www.sinab.it/>.

Smith F. et al. (1993) How much do we know about the current extinction rate? *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 375–379. doi:10.1016/0169-5347(93)90223-C.

Srivastava J.P. et al. (1996) Biodiversity and agriculture; World Bank Technical Papers; The World Bank; ISBN 978-0-8213-3616-8.

Stephen N. et al. (2006) Definition, Function, and Utilization of Soil; doi: 10.1002/14356007.

Torsvik V. et al. (1990) Comparison of phenotypic diversity and DNA heterogeneity in a population of soil bacteria. *Appl. Env.Microbiol.* 56, 776–781.

Van Elsas J.D. et al. (2006) Modern soil microbiology second edition. CRC press Boca raton, London New York; ISBN: 9781420015201 1420015206.

Violante P. (2002) Chimica del suolo e della nutrizione delle piante. Il Sole 24 Ore Edagricole; ISBN: 8850649126

Wagg C. et al. (2014) Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality, *PNAS* 111 (14), 5269; doi:10.1073/pnas.1320054111.

Wagner M. et al. **(1993)** Probing activated sludge with oligonucleotides specific for proteobacteria: inadequacy of culture-dependent methods for describe microbial community structure. *Applied and Environmental Microbiology*, 56, 1520-1525.

Weldemariam S. & Eyasu E. **(2018)** Soil Quality Attributes and Their Role in Sustainable Agriculture: A Review, 26(3), 1-26; ISSN: 2320-7035.

Wilson E.O. **(2003)** On global biodiversity estimates. *Paleobiology*, 29, 14; doi:10.1666/00948373(2003)029<0014:OGBE>2.0.CO;2.

Wolińska A. et al. **(2014)** Biological degradation of agricultural soils from Lublin region (SE Poland). *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 3, 558–571.

Wolinska A. et al. **(2015)** The effect of environmental factors on total soil DNA content and dehydrogenase activity. *Arch. Biol. Sci.* 2015, 67, 493–501; doi:10.2298/ABS140120013W.

Wolińska A. et al. **(2017)** Microbial biodiversity in arable soils is affected by agricultural practices. *Int. Agrophysics* 2017, 31, 259–271; doi:10.1515/intag-2016-0040.

Yunga **(2014)** Soils Challenge Badge, FAO, Roma; ISBN: 978-92-5-108433-5.





*ALLEGATO 1*

*PUBBLICAZIONE SCIENTIFICA SU DATI PARZIALI ANNUALITA' 2021*



## Article

# Comparison of Soil Biology Quality in Organically and Conventionally Managed Agro-Ecosystems Using Microarthropods

Cristina Mantoni <sup>1</sup>, Marika Pellegrini <sup>1</sup>, Leonardo Dapporto <sup>2</sup>, Maria Maddalena Del Gallo <sup>1</sup>, Loretta Pace <sup>1</sup>, Donato Silveri <sup>3</sup> and Simone Fattorini <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Life, Health and Environmental Sciences, University of L'Aquila, Via Vetoio, 67100 L'Aquila, Italy; cristina.mantoni@univaq.it (C.M.); marika.pellegrini@univaq.it (M.P.); mariamaddalena.delgallo@univaq.it (M.M.D.G.); lorettagiuseppina.pace@univaq.it (L.P.)

<sup>2</sup> Department of Biology, University of Florence, Via Madonna del Piano 6, 50019 Firenze, Italy; leonardo.dapporto@unifi.it

<sup>3</sup> Regione Abruzzo, Ufficio Attività Culturali di Sulmona e Castel di Sangro—Centro Regionale Beni Culturali, Via Passolanciano 75, 66124 Pescara, Italy; donato.silveri@regione.abruzzo.it

\* Correspondence: simone.fattorini@univaq.it

**Abstract:** Since management practices profoundly influence soil characteristics, the adoption of sustainable agro-ecological practices is essential for soil health conservation. We compared soil health in organic and conventional fields in the Abruzzi region (central Italy) by using (1) the soil biology quality (QBS) index (which expresses the level of specialisation in soil environment shown by microarthropods) and (2) microarthropod diversity expressed by Hill numbers. QBS values were calculated using both the original formulation based on only presence/absence data and a new abundance-based version. We found that organic management improves soil biology quality, which encourages the use of organic farming to maintain soil health. Including arthropod abundance in QBS calculation does not change the main outcomes, which supports the use of its original, speedier formulation. We also found that agricultural fields included in protected areas had greater soil health, which shows the importance of the matrix in determining agricultural soil health and highlights the importance of land protection in preserving biodiversity even in managed soils. Finally, we found that soil biology quality and microarthropod community structure are distinctly influenced by certain physical and chemical characteristics of the soil, which supports the use of microarthropods as biological indicators.

**Keywords:** organic agriculture; soil properties; soil biological quality; soil health; arthropods; Hill numbers; land protection; soil biodiversity



Citation: Mantoni, C.; Pellegrini, M.; Dapporto, L.; Del Gallo, M.M.; Pace, L.; Silveri, D.; Fattorini, S. Comparison of Soil Biology Quality in Organically and Conventionally Managed Agro-Ecosystems Using Microarthropods. *Agriculture* 2021, 11, 1022. <https://doi.org/10.3390/agriculture11101022>

Academic Editors: Margarita Kos and José Antonio Pascual

Received: 10 September 2021

Accepted: 14 October 2021

Published: 19 October 2021

Disponibile all'indirizzo: <https://www.mdpi.com/2077-0472/11/10/1022>





Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale:  
l'Europa investe nelle zone rurali



**Regione Abruzzo**

**Dipartimento Agricoltura**

**UNIVAQ**

**Dipartimento di Medicina Clinica,  
scienza della vita e dell'Ambiente  
Sezione Scienze Ambientali  
Laboratorio di microbiologia Agro-Ambientale**

# MANUALE DELLE INDICAZIONI OPERATIVE PER LA GESTIONE DEL TERRITORIO DELLA REGIONE ABRUZZO

# Sommario

1. Presentazione del Manuale .....	3
2. Il Progetto “Profili Tellurici” .....	4
3. I risultati del progetto, le linee guida e le regole di comportamento .....	8
3.1 La corretta lavorazione dei terreni .....	8
3.2 La promozione di strategie colturali sostenibili .....	9
3.3 Il mantenimento sostenibile dello stato nutritivo dei suoli .....	10
3.4 Il mantenimento della biodiversità del suolo .....	11
4. Il confronto dei risultati della ricerca con i documenti e le normative vigenti nella Regione Abruzzo .....	13
5. Conclusioni .....	14

# 1. Presentazione del Manuale

Il presente manuale comprende le linee guida e le regole di comportamento da divulgare ai parchi, agli agricoltori e allevatori custodi, per la gestione sostenibile del suolo. Il contenuto di questo documento è stato sviluppato sulla base dei risultati ottenuti dal progetto “Profili tellurici di biodiversità” PSR 2014-2020 Regione Abruzzo –Tipologia di Intervento 7.6.1 - CUP C11E19000040007, e ha lo scopo di divulgare un elenco completo di buone pratiche da applicare per la corretta gestione sostenibile del suolo agrario del territorio della Regione Abruzzo. Nei diversi paragrafi verrà presentato un riassunto del progetto sviluppato, dei risultati ottenuti e le linee guida e regole di comportamento da adottare per risolvere problematiche e/o promuovere il mantenimento di condizioni ottimali riscontrate. Le linee guida e le regole di comportamento sono state stilate in linea con quanto previsto dalla FAO nelle “Linee Guida Volontarie per la Gestione Sostenibile del Suolo” pubblicate nel 2019 e disponibili presso il sito web <https://www.fao.org/documents/card/es/c/i6874it/>.

## 2. Il Progetto “Profili Tellurici”

Il Progetto “Profili Tellurici” è nato con lo scopo di ampliare le conoscenze tecniche e scientifiche sui suoli agricoli abruzzesi, in particolare in rapporto alle diverse pratiche agronomiche e agro-ambientali, e di ampliare le conoscenze scientifiche relative al concetto di Biodiversità. Si parla molto di biodiversità ma spesso non se ne comprende il significato e l'importanza. La Biodiversità comprende tutte le diverse forme di vita di un ecosistema, sia vegetali, che animali, che microbiche e considera l'intima connessione delle diverse forme di vita e l'ambiente. Più un ambiente è biodiversificato, cioè più specie vegetali, animali e microbiche vi vivono, più è in equilibrio e riesce a contrastare i cambiamenti, le perturbazioni e le avversità. Il suolo è in assoluto l'ambiente più ricco di Biodiversità, sia per numerosità delle specie che lo abitano, che per la quantità di individui che le costituiscono, tanto da poter essere considerato, se guardato nel suo insieme, come l'essere vivente più complesso e variegato della Terra.

La Regione Abruzzo, seguendo le indicazioni dell'Unione Europea, ha avviato precedentemente progetti per lo studio della Biodiversità sia a livello vegetale che animale. Il progetto dei Profili Tellurici (dal latino *tellus*, suolo), invece, si è proposto lo studio della Biodiversità dei suoli a livello microbico (batteri, archea, funghi e artropodi). Dalla ricchezza di Biodiversità del suolo, infatti, dipende un aspetto fondamentale per la sopravvivenza della specie umana sul Pianeta Terra: la fertilità del terreno destinato alle coltivazioni.

In questo contesto, quello che si è cercato di porre in evidenza è la ricchezza di biodiversità nei terreni agricoli situati in zone protette rispetto a quelli esterni a queste, andando a confrontare i diversi metodi di conduzione agricole, in particolare le conduzioni biologiche contrapposte alle convenzionali, senza tralasciare la conduzione con le pratiche di agricoltura sostenibile. Per questo, in ogni zona presa in considerazione, sono stati individuati dei punti di campionamento diversificati, ove possibile, per

gestione agronomica (biologico-convenzionale-conservativo) e per livello di protezione (dentro o fuori area protetta).

E' stata dapprima eseguita un'ampia ricerca bibliografica relativa alla letteratura scientifica specialistica sulle procedure attualmente in uso per la valutazione della qualità biologica dei suoli. Le varie metodiche proposte sono state quindi messe a confronto e criticamente valutate per identificare l'approccio più appropriato al progetto, sia in termini di rigore scientifico che di fattibilità. Per studiare i suoli in modo più completo possibile, sono state programmate analisi di tipo chimico- fisico, microbiologico e zoologico.

Per quanto riguarda la parte animale, la scelta è ricaduta sulla metodica che utilizza un indice di qualità biologica (noto come QBS – Qualità Biologica dei Suoli) basato sugli artropodi edafici (dal greco *edaphos*, suolo). Nel QBS-ar, gli artropodi presenti in un campione di suolo ricevono un punteggio tanto maggiore quanto più è alto il loro livello di specializzazione alla vita edafica. In pratica, maggiore è il numero di organismi altamente specializzati, maggiore è il valore del QBS, e quindi la qualità del suolo in esame. Il protocollo standard per il calcolo del QBS prevede l'estrazione degli artropodi da campioni di suolo attraverso un dispositivo noto come imbuto Berlese: poiché gli artropodi del suolo hanno bisogno di un ambiente fresco ed umido, ponendo un campione di suolo in un imbuto riscaldato superiormente, essi tenderanno a spostarsi verso il basso, fino a cadere in un recipiente collocato sotto l'imbuto e contenete una sostanza che ne garantisce la conservazione per il successivo esame al microscopio. Agli animali presenti nel campione viene quindi attribuito un punteggio che va da 1 (animali non specializzati alla vita edafica) a 20 (animali altamente specializzati alla vita edafica, tipicamente privi di occhi, depigmentati, con appendici ridotte e organi di senso più sviluppati). Sommando i punteggi delle forme presenti nel campione, si ottiene il valore del QBS del suolo in esame.

Per quanto riguarda la parte microbiologica, si è scelto di operare con un campionamento chiamato "randomico", a venti centimetri di profondità, dove ogni campione è il risultato dell'accorpamento di

tre prelievi effettuati intorno a un punto e riuniti poi in un solo recipiente. A sua volta, nello stesso campo, vengono eseguite tre repliche in punti diversificati, per garantire una sufficiente affidabilità statistica dei dati, nonché la loro riproducibilità.

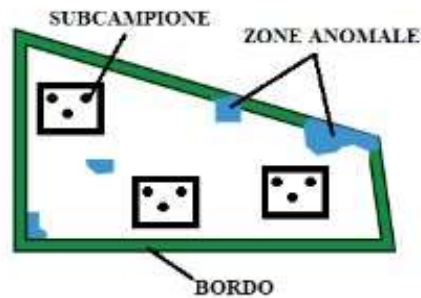


Figura 1 - Schematizzazione del campionamento effettuato: all'interno delle aree campionate sono stati selezionati tre riquadri, all'interno dei quali sono stati effettuati tre diversi prelievamenti di terreno.

Ai campioni di suolo, viene estratto il DNA tramite appositi kit, che poi viene fatto sequenziare, per individuare reti trofiche e composizione microbica del suolo, in termini di Batteri, Archea e Funghi.

Per quanto riguarda la componente chimico-fisica, i campioni di suolo vengono fatti essiccare e fatti analizzare in laboratori esterni, per individuare la composizione chimica di base, il contenuto di fosforo, azoto e potassio, carbonio organico e altri parametri, laddove necessario.

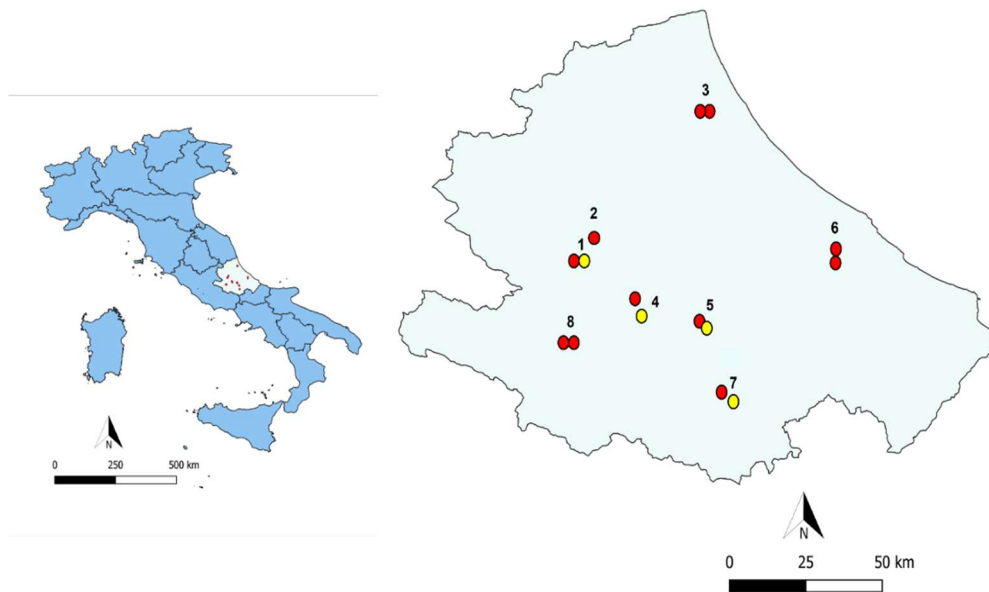
Il disegno sperimentale stilato ha previsto la messa a punto di protocolli specifici (dimensione dei campioni di suolo, modalità di prelievo, numero di repliche, numero di aree e loro tipologia, ecc.) e il disegno analitico, al fine di avere un adeguato protocollo di analisi statistica.

Attraverso contatti diretti con gli agricoltori e sopralluoghi preliminari, si è proceduto alla identificazione delle aree in cui effettuare i campionamenti. Le aree sono state scelte in modo da essere rappresentative dei vari sistemi di conduzione, delle varie aree geografiche e del livello di protezione (presenza di aree naturali protette).

Per quanto riguarda la qualità biologica dei suoli, ad oggi sono stati eseguiti i campionamenti dei terreni situati nelle maggiori aree produttive della regione Abruzzo – CHIETINO, ALTOPIANO



DELLE CINQUE MIGLIA, VALLE PELIGNA, VALLE SUBEQUANA, VAL VOMANO, MONTAGNA AQUILANA, ALTOPIANO DI NAVELLI, FUCINO. Per quanto riguarda invece la caratterizzazione chimico-fisica e microbiologica, si è costruito un database completo con le zone e i punti campionati, la loro localizzazione con coordinate GPS, e tutti i dati utili. Questo database, di seguito riportato, rappresenta un valido e flessibile strumento di controllo e di gestione dei campioni, perché può essere condiviso e di volta in volta aggiornato.



**Figura 2.** Localizzazione delle aree sottoposte al campionamento. Le aree selezionate sono distribuite sull'intero territorio regionale, e sono collocate in zone protette o in zone sottoposte a sfruttamento agricolo. Nella figura:

- 1) Montagna aquilana;
- 2) Altopiano di Navelli;
- 3) Val Vomano;
- 4) Valle Subequana;
- 5) Valle Peligna;
- 6) Chietino;
- 7) Altopiano delle cinque miglia; 8) Fucino.

In rosso i siti all'esterno e in giallo i siti all'interno dei Parchi Nazionali.

### 3. I risultati del progetto, le linee guida e le regole di comportamento

#### 3.1 La corretta lavorazione dei terreni

Dai risultati ottenuti dalle analisi chimico-fisiche e delle comunità microbica del suolo è stato possibile evidenziare come la lavorazione del terreno abbia una forte influenza. Nei terreni nei quali vengono effettuate numerose lavorazioni meccaniche, infatti, COME NELLA CONCA DEL FUCINO, è stato riscontrato che questa pratica modifica fortemente i parametri chimici del terreno, in particolare i valori ottenuti per la sostanza organica, il pH e la CSC (capacità di scambio cationico), strettamente legati all'erosione del suolo. La corretta lavorazione dei suoli è determinante per il mantenimento della sostanza organica, elemento essenziale della fertilità del suolo. Alcune pratiche agronomiche, l'aratura in particolare, portano all'esposizione all'aria del suolo e quindi una maggiore ossigenazione dell'orizzonte superficiale, causando una diminuzione della sostanza organica e dell'humus accumulato, perché consumato dai microrganismi del suolo, con un aumento dell'emissione di anidride carbonica. Le linee guida e le regole di comportamento relative alla **corretta lavorazione dei suoli**, pertanto, riguardano:

- La diminuzione delle lavorazioni, applicando arature minime, rippature, o semine dirette e assicurando un'adeguata copertura organica attraverso la riduzione dell'uso di erbicidi, l'utilizzo di colture di copertura, la rotazione e l'alternanza colturale e la compresenza di più specie colturali (aumento della biodiversità vegetale).
- L'utilizzo di macchinari e i veicoli adeguati alla resistenza del terreno.
- Il mantenimento delle zone più soggette a erosione, attraverso l'instaurazione di fasce tampone (zone umide, zone di raccolta dell'acqua e colture di copertura) per ridurre lo scorrimento di particelle di terreno superficiali. e di relative sostanze nutritive e contaminanti dal sistema suolo, e sistemi di "vetratura" (alberi e arbusti) o artificiali (muri di pietra) che riducano la velocità del

vento. Altra misura da adottare nel caso di terreni in pendenza è la lavorazione “a girapoggio”, non a “cavalcapoggio”, che è quella generalmente preferita dall’agricoltore perché più facile da attuare: lavorare il terreno risalendo il poggio è più agevole che lavorarlo orizzontalmente con il trattore inclinato da una parte. La lavorazione a girapoggio, tuttavia, trattiene l’acqua piovana e mantiene i nutrienti e la sostanza organica, mentre le lavorazioni a cavalcapoggio favoriscono ruscellamenti e trasporto a valle del suolo.

- L’eliminazione della bruciatura dei residui vegetali e ridurre al minimo l’erosione promuovere la ri-vegetazione in terreni soggetti a incendi. I residui vegetali lasciati in loco, opportunamente trinciati, costituiscono una fonte di nutrienti per i microrganismi del suolo che la trasformeranno e la stabilizzeranno in humus arricchendo e migliorando il suolo. Questo aspetto è legato anche alle rotazioni colturali: infatti, maggiore è la varietà di specie che vengono coltivate su un terreno, maggiore è la biodiversità vegetale, maggiore è la biodiversità microbica. Questo permette una degradazione della biomassa dei residui colturali più veloce, lasciando meno residui indecomposti sul terreno.
- L’efficientamento dell’uso delle risorse idriche con interventi adeguati alla struttura del suolo e scelta di colture e tempistiche colturali adatte allo scenario pedoclimatico.

### **3.2 La promozione di strategie colturali sostenibili**

Dai risultati delle analisi chimico-fisiche è stato riscontrato che tutta l’area dell’ALTOPIANO DELLE CINQUE MIGLIA, caratterizzata da gestione biologica, ha presentato i valori di sostanza organica maggiori rispetto agli altri campioni. Nei suoli naturali o poco disturbati, il livello di sostanza organica risulta in genere più alto di quello dei suoli coltivati in quanto, come detto in precedenza, in questi ultimi è maggiore l’asportazione di materiale organico e sono più intensi i fenomeni distruttivi per effetto di una maggiore ossigenazione del terreno dovuta alle lavorazioni. Dalle analisi è evidente

come nel nostro studio abbiano riportato valori bassi non solo campioni a gestione convenzionale, ma anche quelli a gestione biologica presenti in aree con agricoltura intensiva, come quella del FUCINO. La gestione dell'uso del suolo, inoltre, è risultato determinante nella ricchezza e composizione delle comunità batteriche e edafiche. Pertanto, le linee guida e le regole di comportamento relative alla **promozione di strategie colturali sostenibili** riguardano:

- La protezione dei terreni ricchi di carbonio organico (ad es., forestali e da pascolo), evitando le conversioni a terreni agricoli o per altre attività antropiche che potrebbero comportare una perdita degli elementi nutritivi e della qualità biologica e il conseguente squilibrio dei servizi ecosistemici associati.
- L'incremento del contenuto di sostanza organica, attraverso le pratiche di gestione dei residui vegetali (utilizzo dei foraggi da pascolo piuttosto che da raccolta, la pratica dell'agricoltura organica, come quella biologica o integrata).
- Utilizzo di prodotti naturali con elevato apporto organico (effluenti zootecnici non trattati e con caratteristiche adeguate).
- La diminuzione dei tassi di decomposizione della sostanza organica del suolo praticando un'aratura minima o nessuna aratura, senza aumentare l'uso di erbicidi.
- L'uso della rotazione colturale, l'alternanza colturale e la compresenza di più specie colturali con impegno di leguminose per arricchire i suoli di azoto.

### **3.3 Il mantenimento sostenibile dello stato nutritivo dei suoli**

I risultati chimico-fisici hanno evidenziato valori di pH variabili, con un intervallo di 7.3 e 8.6. L'area dell'ALTOPIANO DELLE CINQUE MIGLIA ha registrato valori di pH neutro-sub-alcalino, utile alla coltivazione e al mantenimento dell'attività biologica del suolo. La maggior parte dei batteri, da

cui dipendono azotofissazione, nitrificazione, solubilizzazione dei fosfati ed alcuni processi di decomposizione della sostanza organica, prediligono un ambiente sub-acido o leggermente alcalino (pH 6.8÷7.2), promuovendo una disponibilità ottimale di elementi nutritivi. I risultati relativi alla CSC, indice della fertilità potenziale del suolo in termini di ioni utili alla nutrizione vegetale ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ), ha invece evidenziato valori mediamente più bassi in quasi tutti i campioni dell'area del FUCINO caratterizzati invece da alte quantità di sali, azoto, fosforo e potassio. In merito al **mantenimento sostenibile dello stato nutritivo dei suoli**, dunque, le linee guida e le regole di comportamento sono relative a:

- La valutazione dello stato nutritivo dei suoli con analisi fisico-chimiche del terreno precedentemente alla fertilizzazione, evitando l'uso di prodotti combinati di sintesi chimica e introduzioni di elementi già presenti in eccesso nei terreni.
- La promozione di fertilizzazioni naturali mirate, con uso di compost proveniente da residui colturali e animali, il sovescio di colture di copertura, prodotti biofertilizzanti (ad es., a base di microrganismi, alghe, idrolizzati vegetali).
- L'ottimizzazione dei metodi di applicazione dei biofertilizzanti, seguendo le tipologie, i quantitativi e le tempistiche adeguate e volte a limitare le perdite degli elementi nutritivi e promuoverne l'assorbimento.
- Il monitoraggio del pH e della CSC del suolo e utilizzando ammendanti adeguati al mantenimento dei valori ottimali.
- Il monitoraggio e la gestione delle risorse idriche, evitando problemi di salinizzazione e contaminazione da stratificazione dei nutrienti non assorbibili dalla pianta.

### 3.4 Il mantenimento della biodiversità del suolo

L'integrazione dei risultati sulle comunità microbiche e edafiche e i parametri fisico-chimici hanno evidenziato l'importanza dell'approccio multidisciplinare per la corretta valutazione dello stato di salute dei suoli e della biodiversità. I risultati ottenuti hanno evidenziato un'interessante distinzione tra le gestioni biologiche e le gestioni convenzionali ma in alcuni casi la distinzione è più complessa; il biologico viene difficilmente discriminato dal convenzionale in zone ad alta produttività (ad es. Fucino) o, nel caso opposto, in zone dove le pratiche agricole convenzionali sono poco applicate (ad es. Altopiano delle Cinque Miglia). La biodiversità dei suoli è strettamente correlata a tutti gli aspetti discussi nei paragrafi precedenti e può essere migliorata solo attraverso:

- una corretta lavorazione dei suoli;
- la promozione di strategie colturali sostenibili;
- il mantenimento sostenibile dello stato nutritivo dei suoli.

Oltre a questi aspetti, le linee guida e le regole di comportamento da seguire per il **mantenimento della biodiversità del suolo** riguardano:

- L'introduzione di programmi di monitoraggio della biodiversità del suolo, con l'identificazione di indicatori biologici adeguati e introduzione di limiti per evidenziare situazioni di interesse.
- L'incoraggiamento dell'uso di specie leguminose in compresenza e nelle rotazioni, per la fissazione dell'azoto.
- La promozione dell'uso di biofertilizzanti (inoculanti microbici, compost di micro-, meso- e macro- organismi del suolo, idrolizzati vegetali).
- La diminuzione dell'uso di fertilizzanti di sintesi chimica e dei pesticidi.
- Il ripristino della biodiversità vegetale negli ecosistemi.
- Monitoraggio, classificazione e regolamentazione nell'utilizzo dei suoli in aree con elevata biodiversità in linea con strumenti nazionali e internazionali.

## **4. Il confronto dei risultati della ricerca con i documenti e le normative vigenti nella Regione Abruzzo**

I risultati ottenuti dal Progetto “Profili Tellurici” e le linee guida e le regole di comportamento sviluppate sulla base degli stessi, hanno messo in evidenza la presenza di suoli ricchi di sostanza organica e biodiversità in areali da tutelare. Questi territori, localizzati principalmente in zone montane, sia dentro che fuori i territori dei parchi, sono gestiti da operatori agricoli che seguono le disposizioni regionali per le buone pratiche agricole e per la sostenibilità in agricoltura. Le linee guida stilate, infatti, sono pienamente in linea con le suddette disposizioni, normate dalla legge 09.03.2022 n. 23 sulla gestione biologica – reperibile dal sito <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ita209627.pdf> – e prescritte attraverso il disciplinare di produzione integrata (con attuale aggiornamento nel mese aprile 2022) – reperibile dal sito web <https://www.reterurale.it/>. Seppur già esistenti e conosciute dagli operatori agricoli operanti nel territorio abruzzese, le linee guida e le regole di comportamento stilate nel presente manuale hanno particolare rilevanza in quanto sviluppate su risultati e evidenze scientifiche ottenuti dal territorio della Regione Abruzzo. L'importanza di questo aspetto è sottolineata, ad esempio, dalla ricchezza di sostanza organica e biodiversità dei suoli dell'Altopiano delle Cinque Miglia o ancora dalla particolare fragilità del territorio del Fucino: il semplice recepimento di normative nazionali o europee che non consideri le proprietà dell'areale e le sue caratteristiche pedoclimatiche potrebbe portare alla diffusione di linee guida e regole di comportamento non pienamente consone allo stesso, mettendo a rischio non solo i patrimoni naturali e produttivi ma anche le produzioni d'eccellenza legati ad essi. Sulla base di queste considerazioni, pertanto, ci si propone di continuare la sinergia stabilita con la Regione Abruzzo, e in particolare con l'Ufficio Tutela della Biodiversità Agraria e il Servizio Promozione delle filiere e biodiversità del Dipartimento Agricoltura, e con gli agricoltori coinvolti nel progetto con l'obiettivo di rendere il

progetto “Profili Tellurici” l’inizio di una missione di tutela e salvaguardia del patrimonio naturale e agricolo della Regione Abruzzo. Per perseguire questo obiettivo ci si propone la diffusione dei risultati ottenuti attraverso eventi divulgativi creati per lo scopo e con interventi in eventi già in programma per il coinvolgimento di agricoltori, allevatori custodi e gestori dei parchi della Regione Abruzzo.

## **5. Conclusioni**

In conclusione, i risultati del Progetto “Profili Tellurici” hanno messo in evidenza come l’Altopiano delle Cinque Miglia, seguito da tutte le altre zone montane (Altopiano di Navelli, Montagna Aquilana), sia dentro che fuori parco, abbiano una ricchezza di sostanza organica e biodiversità del suolo da preservare. I terreni convenzionali in aree ad alta produttività come quelle di Fucino, Val Vomano e Chietino, invece, hanno evidenziato una situazione di sfruttamento eccessivo su cui porre l’attenzione. In particolare, l’area del Fucino, più sensibile alle attività antropiche data la storia pedologica e gli interventi di bonifica, dovrebbe essere maggiormente preservata da sfruttamento eccessivo. Solo l’uso di pratiche agronomiche sostenibili e il mantenimento dello stato di fertilità e benessere dei suoli permetteranno di mantenere anche in futuro una produttività dei prodotti d’eccellenza che questi territori hanno da offrire.

In particolare, quindi, sono altamente consigliate le concimazioni organiche, evitando il più possibile quelle chimiche; le lavorazioni dei terreni, del resto piuttosto sciolti, vanno ridotte al minimo, le arature sostituite da rippature e morganature (anche queste ridotte più possibile); quando è possibile effettuare semine su sodo. Andrebbero ridotti gli interventi di diserbo e i trattamenti antiparassitari con fitofarmaci, sostituiti con trattamenti microbici. Al momento stanno entrando in commercio sempre più numerosi inoculanti microbici che possono sostituire le concimazioni chimiche, gli



antiparassitari e gli anticrittogamici. Sono tutti sistemi innovativi che non disturbano la biodiversità agraria, anzi spesso la arricchiscono, e ci permettono di produrre cibi molto più sani e nutrienti, non danneggiando l'ambiente e riducendo le immissioni in atmosfera di anidride carbonica e, di conseguenza, i cambiamenti climatici. Non dimentichiamoci che l'agricoltura di tipo convenzionale è tra le maggiori cause dei cambiamenti climatici e dei disastri ambientali ad essi legati. Se continuiamo a sfruttare i suoli come si è fatto negli ultimi cinquanta anni, lasceremo suoli degradati, impoveriti, sterili e non più produttivi alle generazioni future. E' possibile ancora continuare a gestire i suoli in questo modo, ma tra pochi anni i concimi a base di fosfati finiranno, i concimi azotati stanno inquinando massicciamente tutti i corpi acquiferi compresi laghi, fiumi, mari e le falde acquifere sotterranee.

In conclusione, dunque, in linea con quanto messo in evidenza da diversi organismi scientifici nazionali e internazionali, i risultati hanno confermato che l'intensificazione dello sfruttamento dei suoli, in atto da decenni, non è la strategia ottimale per rispondere alle crescenti necessità agroalimentari di una popolazione mondiale in aumento; l'intensificazione delle attività agricole deve essere sviluppata con un approccio sostenibile e deve avere l'obiettivo di incrementare le produzioni riducendo gli impatti ambientali di tutti i processi coinvolti per la salvaguardia del suolo, dell'ambiente, della salute dell'uomo. Il presente manuale costituisce uno strumento divulgativo da poter utilizzare come un elenco completo di buone pratiche da applicare per la corretta gestione sostenibile del suolo del territorio della Regione Abruzzo. È indirizzato ai gestori dei parchi, agli agricoltori e allevatori custodi, i principali attori della gestione sostenibile del suolo, ed è una base per lo sviluppo di protocolli operativi tecnici regionali più dettagliati.