



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

Effetto rizosfera in graminacee coltivate: frumento e farro

Rhizosphere effect on cultivated gramineae: wheat and spelt

TIPO TESI: (sperimentale)

Studente:

VALENTINA TRONTI

Relatore:

PROF. STEFANIA COCCO

Correlatore:

PROF. GIUSEPPE CORTI
DOTT. ANDREA SALVUCCI

ANNO ACCADEMICO 2020-2021

SOMMARIO

SOMMARIO	2
Capitolo 1 INTRODUZIONE	3
1.1 Effetto rizosfera.....	4
1.1.1 Rizosfera	4
1.1.2 Proprietà biologiche della rizosfera.....	6
1.1.3 pH della rizosfera	8
1.1.4 Proprietà chimiche della rizosfera	9
1.2 Graminacee e la loro evoluzione	11
1.2.1 Principali specie di Triticum	13
Capitolo 2 SCOPO DELLA TESI	16
Capitolo 3 MATERIALI E METODI	17
3.1 Descrizione del sito	17
3.2 Terrazzi pleistocenici	18
3.3 Metodo di campionamento	20
3.4 Preparazione del campione.....	21
3.5 Analisi chimiche	21
3.5.1 Determinazione del pH in H ₂ O.....	21
3.5.2 Determinazione pH in KCl.....	22
3.5.3 Determinazione Carbonio Organico.....	23
3.5.4 Determinazione Capacità Scambio Cationico	25
3.5.5 Analisi statistica dei dati	27
Capitolo 4 RISULTATI E DISCUSSIONI.....	28
4.1 Controllo fuori coltura: transetto	34
Capitolo 5 CONCLUSIONI	37
Capitolo 6 BIBLIOGRAFIA	38

Capitolo 1 INTRODUZIONE

Il suolo è un sistema complesso, costituito da una fase solida, una liquida e una gassosa che interagendo tra di loro creano l'ambiente di crescita per i vegetali e l'habitat per microrganismi, microfauna e mesofauna. Esso svolge numerose funzioni ecosistemiche:

- Produzione di biomassa,
- Filtrazione e mutamento di sostanze e nutrienti,
- Presenza di pool di biodiversità,
- Funzione di piattaforma per le attività umane,
- Fornitura di materie prime,
- Funzione di accumulo di carbonio e sostanze nutritive.

Il suolo rappresenta una risorsa non rinnovabile poiché la rapidità di degradazione è particolarmente decisa, mentre i processi di formazione sono estremamente lenti. Si tratta di un sistema aperto, in equilibrio dinamico con le altre componenti ambientali ed in continua evoluzione (Benedetti & Mocali, 2009).

Per la varietà unica delle funzioni che esplica, indispensabili alla vita, e per il fatto che rappresenta un nodo importante negli equilibri ambientali, al suolo è stato riconosciuto un ruolo di primo piano ai fini della sostenibilità a lungo termine della comunità (Garbisu, Alkorta, Epelde, Herrick, 2000).

Le caratteristiche che si possono osservare in superficie non sempre corrispondono a quelle in profondità; infatti, il suolo ha un'organizzazione ben precisa che comprende orizzonti o strati di spessore variabile, distinguibili dal materiale iniziale come risultato di trasferimenti, trasformazioni, aggiunte (residui vegetali, ioni, particelle solide trasportate da vento) e perdite (allontanamento sali solubili).

Procedendo dalla superficie in profondità, gli orizzonti individuabili sono contraddistinti dalle lettere O, A, B, C, e R:

- Orizzonte O: orizzonte organico di superficie, sopra il suolo minerale, formato da sostanza organica indecomposta o parzialmente decomposta.
- Orizzonte A: orizzonte minerale, caratterizzato da accumulo di sostanza organica che ne determina il colore scuro. Non ci sono tracce di parent material allo stato inalterato.
- Orizzonte B: orizzonte minerale con scarsa incorporazione di sostanza organica, colore generalmente rosso-giallastro. Tracce di parent material <10%.
- Orizzonte C: orizzonte minerale privo di aggregati, generalmente di colore grigio. Si tratta di roccia sedimentaria semi-coerente
- Orizzonte R: substrato pedogenetico coerente.

In particolare, nell'orizzonte O, esseri viventi come funghi, batteri ed organismi terricoli insieme alle radici delle piante espellono vari composti alterano e degradano i residui vegetali e animali nella porzione di suolo che circonda le radici nota come rizosfera. Questi decompositori, mineralizzano sostanza organica attraverso complessi processi di trasformazione (Hinsinger et al., 2009).

1.1 Effetto rizosfera

1.1.1 Rizosfera

«Il volume del suolo che interagisce direttamente e immediatamente con le radici delle piante viventi, l'ambiente vicino alla radice da nanometri a centimetri di distanza radiale dalla superficie della radice». (Hiltner, 2009)

Hiltner definì la rizosfera come la porzione di suolo intorno alle radici di una pianta, abitata da una popolazione unica di microrganismi (come micorrize e rizobi), e influenzata dalle sostanze chimiche secrete dall'apparato radicale. In base alla vicinanza alla radice la rizosfera può essere suddivisa in (**Fig. 1**):

- Bulk soil (suolo al di fuori della rizosfera) ovvero il suolo non penetrato dalle radici;
- LAR (loosely adhering rhizosphere) ovvero la frazione 'sciolta' di suolo intorno alle radici che comprende particelle debolmente adese ad esse;
- TAR (tightly adhering rhizosphere) ovvero le particelle fortemente adese alle radici.

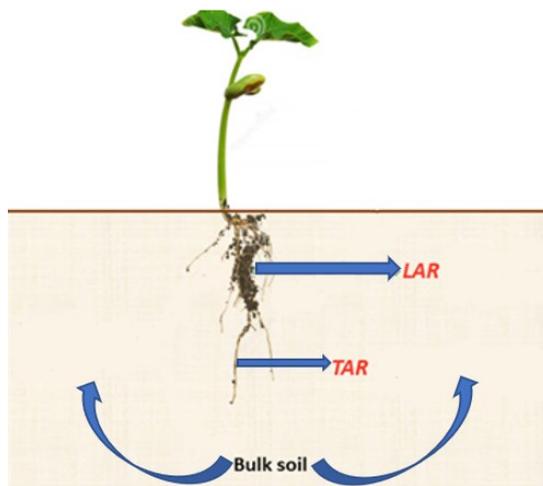


Figura 1: Bulk soil, TAR e LAR (Campillo et al., 2019)

La porzione più intimamente a contatto con le radici si differenzia poi in tre nicchie ecologiche (Fig. 2):

- Endorizosfera: gli strati di cellule colonizzati o potenzialmente colonizzabili dai microrganismi;
- Rizoplano: zona mediale direttamente adiacente alla radice, compresa l'epidermide della radice e la mucillagine;
- Ectorizosfera: gli strati di suolo che si trovano in diretto contatto con le radici (Corti et al., 2007).

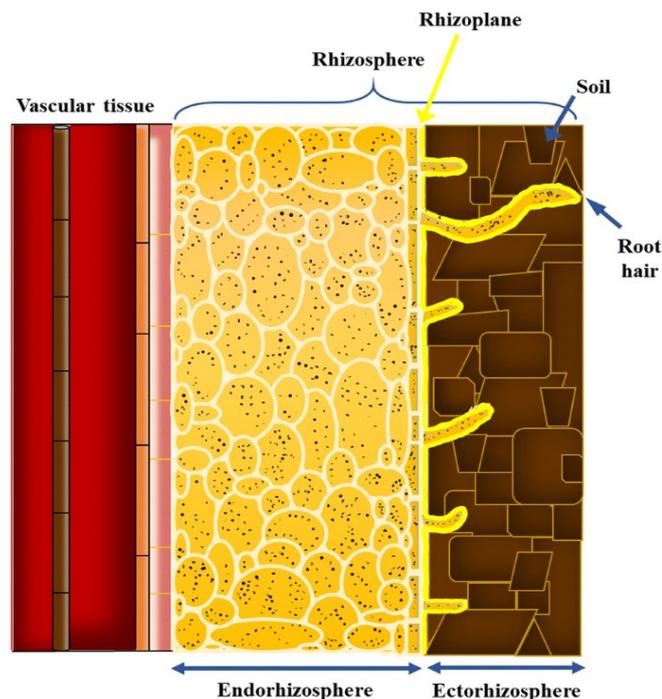


Figura 2: schema della rizosfera

La rizosfera è quindi una porzione di suolo circostante le radici di piante vascolari e influenzata da esse. Questa zona è caratterizzata da un'intensa attività biologica grazie alla produzione di essudati radicali, che stimolano o inibiscono gli organismi della rizosfera (Kennedy & De Luna, 2005). A causa della complessità e della diversità degli apparati radicali, non è una regione di dimensioni o forma definibile, ma è influenzata dalle proprietà chimiche, fisiche e biologiche che variano radialmente e longitudinalmente lungo la radice.

1.1.2 *Proprietà biologiche della rizosfera*

I processi di sviluppo delle piante sono controllati da segnali interni che dipendono dall'adeguato apporto di nutrienti dal suolo alla radice, e dalla radice al germoglio. Pertanto, la disponibilità di nutrienti vegetali può essere un vincolo importante per la crescita delle piante in molti ambienti del mondo. Le piante assorbono la maggior parte dei nutrienti minerali attraverso la rizosfera dove i microrganismi interagiscono con gli essudati delle radici. Essi contengono molecole a basso peso molecolare, con anelli aromatici che diffondono nelle immediate vicinanze della radice e promuovono simbiosi benefiche o bloccano l'attacco di organismi dannosi e la crescita di piante concorrenti (Prisa, 2019). Gli essudati delle radici delle piante sono costituiti da una complessa miscela di acidi organici in forma anionica, zuccheri, vitamine, amminoacidi, purine, nucleosidi, ioni inorganici (es.: HCO_3^- , OH^- , H^+), molecole gassose (CO_2 , H_2), enzimi e cellule di confine delle radici, che hanno importanti effetti diretti o indiretti sull'acquisizione di nutrienti minerali necessari per la crescita delle piante (Dotaniya, 2015).

Durante la germinazione dei semi e la crescita, infatti, la pianta in via di sviluppo interagisce con una serie di microrganismi presenti nel suolo circostante. Man mano che i semi germinano e le radici crescono attraverso il suolo, il rilascio di materiale organico fornisce la forza trainante per lo sviluppo di popolazioni microbiche attive in una zona che comprende la radice delle piante e il terreno circostante in pochi mm di spessore. Si vanno a creare simbiosi con funghi e batteri a cui sono strettamente associati, sia strutturalmente che funzionalmente, così tanto che è poi difficile isolare ciò che è pianta da ciò che è microrganismo. Le comunicazioni radice-radice e radice-microbo sono continuamente presenti in questa zona del suolo biologicamente attiva (**Fig. 3**). Questo fenomeno è indicato come effetto rizosfera che può quindi essere visto come la creazione di un ambiente dinamico, in cui i microbi possono svilupparsi e interagire (Nihorimbere et al., 2011).

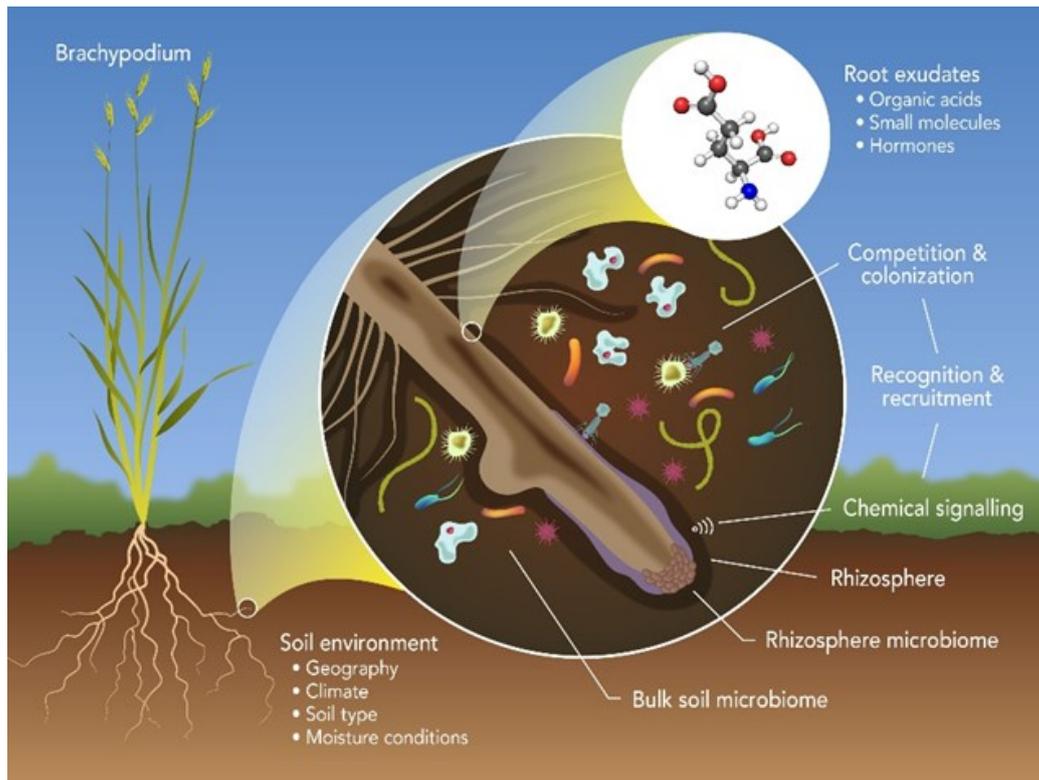


Figura 3: meccanismi della rizosfera (White, 2017)

Microrganismi come i funghi micorrizici, ad esempio, forniscono alla pianta i nutrienti presenti nel terreno, ricevendo in cambio carboidrati indispensabili alla loro sopravvivenza, instaurando un rapporto di mutuo vantaggio. Il trasferimento di sostanze con l'aiuto delle micorrize, la diffusione dell'umidità e il trasferimento di massa sono considerati i tre meccanismi principali che sostengono il trasporto di sostanze nella rizosfera (T. A. Sokolova, 2015). Un esempio di rapporto vantaggioso è lo scambio glucidi-acqua: la pianta convoglia gli zuccheri dalle foglie all'apparato radicale in modo da fornire nutrimento ai funghi, il micelio di questi offre la sua alta capacità di assorbire l'acqua e sali minerali dall'ambiente per dissetare la pianta. Questi fenomeni portano allo stimolo della fotosintesi clorofilliana a tal punto da ripagare ampiamente il costo energetico dei funghi: le piante micorrizzate riescono a fotosintetizzare fino al 25% in più rispetto a quelle non micorrizzate (Saia, 2011).

L'effetto rizosfera è perciò il complesso di tutte le azioni che si svolgono in questa particolare area.

1.1.3 pH della rizosfera

Il pH rappresenta la misura dell'acidità, della neutralità o della basicità nel suolo, o più propriamente, della reazione del suolo. Le condizioni chimiche che si accompagnano alle diverse tipologie di reazione sono in grado di condizionare molti processi fisici, chimici e biologici: regolando la disponibilità di elementi nutritivi, modificando l'attività dei microrganismi responsabili della decomposizione della sostanza organica e di gran parte delle trasformazioni chimiche che avvengono nel suolo.

Il pH del suolo, influenza notevolmente (Giandon & Bortolami, 2007) :

- L'attività microbiologica: influisce sulla tipologia e la densità della popolazione microbica. La maggior parte dei batteri da cui dipendono azoto-fissazione, nitrificazione e decomposizione della sostanza organica, esigono un ambiente sub-acido o leggermente alcalino (pH 6,8-7,2). Se il pH tende all'acidità viene favorito lo sviluppo di funghi e ciò si ripercuote quindi sia sulla disponibilità di elementi nutritivi sia sul processo di umificazione.
- La disponibilità di elementi minerali: il pH del suolo condiziona la solubilità dei vari elementi minerali determinando il loro accumulo in forme più o meno disponibili per le piante o la loro lisciviazione verso orizzonti più profondi. Il pH gioca un ruolo chiave nell'insolubilizzazione del fosforo, sia in suoli acidi che in quelli ad alcalinità fisiologica (presenza di CaCO_3), con formazione rispettivamente, di fosfati di ferro ed alluminio (FePO_4 e CaCO_3) e forme insolubili di fosfati di tipo apatitico. Gli elementi nutritivi come Fe^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , si trovano liberi nella soluzione circolante quando questa ha bassi valori di pH. Valori estremamente bassi di pH causano un'elevata disponibilità di questi elementi che si traduce in fitotossicità, mentre, all'aumentare del pH, la loro concentrazione diminuisce per insolubilizzazione, arrivando a provocare sintomi di fitocarenza (ad esempio la clorosi delle foglie dovuta a mancanza di ferro). Inoltre, pH acidi determinano, la mobilità e la conseguente tossicità dell'alluminio che si va ad accumulare sulle pareti cellulari delle radici, impedendo la traslocazione dei nutrienti e riducendo lo sviluppo delle radici stesse.

1.1.4 Proprietà chimiche della rizosfera

Le radici non solo alterano fisicamente i minerali del suolo, ma interagiscono chimicamente con essi su un'ampia gamma di scale spaziali. Di seguito, si pone l'attenzione su tre processi della rizosfera che influenzano l'acidificazione (Ritcher, 2007) del suolo. I processi di acidificazione che avvengono nella rizosfera includono:

- Assorbimento vegetale dei nutrienti

L'assorbimento dei nutrienti avviene tramite l'apparato radicale, i capillari radicali infatti, assorbono sia l'acqua che gli elementi nutritivi in essa disciolti. Questi elementi nutritivi vengono suddivisi in due gruppi: macronutrienti, presenti nella pianta in una concentrazione $> 1 \text{ gkg}^{-1}$ di sostanza vegetale secca, rappresentati da azoto (N), fosforo (P), potassio (K^+), zolfo (S), calcio (Ca) e magnesio (Mg); micronutrienti, elementi chimici presenti in concentrazioni $< 0,1 \text{ gkg}^{-1}$, che includono ferro (Fe), cloro (Cl), manganese (Mn), zinco (Zn), rame (Cu), nichel (Ni), molibdeno (Mo). Tutti questi nutrienti sono presenti nella soluzione del suolo e sono resi disponibili per l'assorbimento vegetale.

La disponibilità di questi nutrienti dipende poi da:

1. pH: interferisce con l'assorbimento degli elementi perché ne condiziona la solubilità e quindi la disponibilità;
2. Argilla: è la frazione più attiva dal punto di vista biologico poiché, data la sottigliezza delle sue particelle, è in grado di comportarsi da colloide con carica negativa grazie alla sostituzione isomorfa di Al al posto di Si (Pinton et al., 2016). Le argille hanno quindi la capacità di trattenere i cationi sulla loro superficie, permettendo alle piante nutrizione;
3. Contenuto di sostanza organica: la sua importanza dipende sia dal fatto che la sua decomposizione rilascia nel suolo gli elementi che la caratterizzano, ad esempio azoto, sia perché ha una funzione colloidale dato che è in grado di trattenere sulla sua superficie gli elementi nutritivi;

Una delle principali cause di acidificazione del suolo è proprio connessa all'assorbimento di nutrienti da parte della vegetazione. L'assorbimento radicale di cationi e anioni influenza direttamente il pH del suolo poiché tale processo fisiologico deve essere elettro-neutro. La pianta, prelevando cationi e anioni, rilascia nella rizosfera H^+ e OH^- così da mantenere in equilibrio il bilancio tra le cariche assorbite e quelle emesse. Se prevale l'assorbimento cationico, le radici emettono una maggiore quantità di protoni nella rizosfera con conseguente acidificazione.

Le radici delle piante assumono le sostanze nutritive prima elencate, sottoforma di cationi carichi positivamente (K^+ , Ca^{2+} o Mg^{2+}) o come anioni, con carica negativa (nitrati, fosfati o solfati). Quando un catione viene assorbito da una pianta, un protone viene liberato nel suolo per mantenere l'equilibrio elettrico. Quando un anione viene assorbito, uno ione idrossido caricato negativamente viene liberato. In un sistema naturale, quando le piante muoiono vengono decomposte e restituite al terreno, bilanciando l'acidità causata dagli ioni idrogeno (R. J. Haynes, 1990). Questo fenomeno viene descritto come "assorbimento eccessivo di cationi" ed è comune in molti ecosistemi terrestri, comprese le aree coltivate e le foreste (Pierre et al. 1998).

- Produzione di acidi organici

Gli acidi organici svolgono ruoli significativi nell'acidificazione della rizosfera e nell'alterazione di minerali, contribuendo con i protoni e fungendo da leganti per i metalli complessi (Buol et al. 1973). Gli acidi promuovono anche reazioni redox con metalli carenti di elettroni (es. Fe) con conseguenze potenzialmente importanti sulla produzione e consumo di protoni. Oltre ad essere una fonte di protoni, molti acidi organici sono ligandi capaci di complessare cationi metallici come Al e Fe, facilitando la dissoluzione dei minerali e la traslocazione dei metalli all'interno del suolo. In generale, gli acidi organici sono tipicamente più concentrati negli orizzonti O e diminuiscono bruscamente con la profondità nel suolo minerale (Herbert e Bertsch 1995, Fox e Comerford 1990, Richter e Markewitz 1995).

- Produzione di CO_2

La respirazione è un processo centrale degli ecosistemi, infatti la decomposizione della materia organica e la respirazione delle radici elevano notevolmente la CO_2 sotterranea. Quando la CO_2 presente nel suolo si scioglie in H_2O tramite reazione di solubilizzazione, si formano i seguenti composti: H_2CO_3 (acido carbonico), HCO_3^- (ione bicarbonato) e CO_3^{2-} (ione carbonato) come segue:



C'è un eccesso di H^+ quindi questa soluzione diluita è acida. Con un ulteriore rilascio di H^+ si verifica:



In particolare, l'acido carbonico è un acido debole ed innocuo per piante e animali, ma per un periodo di tempo prolungato è in grado di alterare rocce, come ad esempio feldspato e calcare.

(Reuss e Johnson 1986, Amundson e Davidson 1990, Richter e Markewitz 1995, Oh e Richter 2004).

1.2 Graminacee e la loro evoluzione

Le Graminacee, o Poacee, generalmente hanno radici fascicolate o rizomi sotterranei, si crea un reticolo fitto che permette loro di risultare ben ancorate e salde al suolo. Le popolazioni microbiche che compongono la rizosfera delle Graminacee comprendono: attinomiceti, funghi, protozoi, alghe, batteri ammonificanti e denitrificanti. Ne troviamo maggiore quantità nel suolo rizosferico piuttosto che nel bulk soil dove il loro numero cala in maniera evidente. (Dotaniya, 2015).

Le Poacee o Graminacee (Gramineae) sono la più numerosa famiglia botanica, comprendente specie spontanee e coltivate, annuali e perenni, da granella e da foraggio. Hanno un'elevata diffusione mondiale, essendo ampiamente utilizzate nell'alimentazione umana, animale e per numerosi altri usi.

Le specie maggiormente coltivate al mondo oggi sono:

- Cereali autunno vernini: comprendono tutti i frumenti quali tenero duro e farro, orzo segale e avena ovvero quelli caratterizzati da un ciclo lungo e che devono essere sminati prima dell'inverno, da metà ottobre a metà novembre. Questi cereali prediligono i climi moderati e cessano di crescere quando le temperature sono troppo elevate.
- Cereali primaverili-estivi: riso, miglio, sorgo, mais ovvero quelli che hanno elevate esigenze termiche, vengono seminati a metà marzo e svolgono il loro ciclo nel periodo estivo, quando le temperature sono sufficientemente elevate (30-32 C°).

All'interno della famiglia delle Graminacee troviamo il genere *Triticum* composto da specie che si differenziano per il numero complessivo di cromosomi:

- Frumenti diploidi (farro monococco)
- Frumenti tetraploidi (frumento duro)
- Frumenti esaploidi (frumento tenero)

Il genere *Triticum* che è ancora oggi quello più studiato per comprendere i fenomeni di domesticazione, cioè il passaggio di una specie dalla forma selvatica a quella coltivata.

Questa transizione tra le forme selvatiche e quelle coltivate ha riguardato principalmente tre caratteristiche: le dimensioni del chicco, la fragilità della spiga e la capacità del chicco di liberarsi dal suo rivestimento.

Il primo frumento coltivato è stato il farro piccolo (monococco) poi abbandonato a causa di una selezione (9000 anni fa) che ha portato a preferire tipi di frumento a spiga non fragile che progressivamente hanno sostituito quelli a spiga fragile. La domesticazione delle forme tetraploidi ha poi dato origine al farro dicocco, specie di frumento più diffusa nella Mezzaluna Fertile, in Mesopotamia e nel Bacino del Mediterraneo fino alla comparsa di quelli a cariosside nuda (frumento duro).

Solo dopo l'avvio della coltivazione delle specie diploidi e tetraploidi, si iniziano ad utilizzare anche frumenti esaploidi (frumento tenero) dei quali non si conosce la loro esatta origine. Nonostante alcune incertezze, si può affermare che la comparsa delle specie a cariosside nuda (frumento tenero e duro), rappresenti la fase finale della domesticazione del *Triticum* (Fig.4).

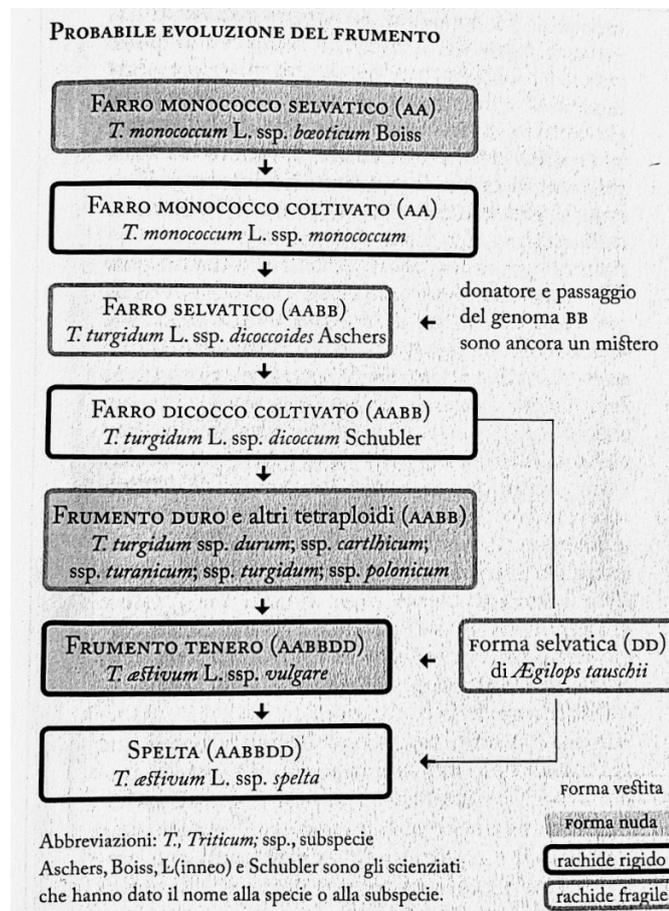


Figura 1: probabile evoluzione del frumento (Porfiri, 2013)

1.2.1 Principali specie di *Triticum*

- Farro monococco (*Triticum monococcum* subsp. *monococcum*)

Detto anche farro piccolo (**Fig. 5 e 6**), è la prima specie di *Triticum* domesticata utilizzata dall'uomo intorno a 10-12 mila anni fa.

La pianta ha una struttura più ridotta rispetto a quella degli altri *Triticum*, con fusto e foglie sottili, spiga e cariossidi piccole e un basso contenuto di amido. Si presta bene alle coltivazioni condotte con metodo biologico dato che è una coltura molto rustica e di conseguenza non necessita di cure fitosanitarie e nemmeno di irrigazione. Il forte e diffuso apparato radicale, la sua densità e la sua altezza bloccano anche la crescita delle erbe infestanti.

Nel corso dei secoli è stato abbandonato a favore di frumenti più produttivi, per poi essere riscoperto in tempi recenti grazie alle sue caratteristiche nutrizionali.

La presenza in Italia di varietà locali di monococco, a differenza del dicocco, è decisamente limitata (solo qualche decina di ettari).



Figure 5 e 6: spighe di farro sottospecie monococco

- Farro dicocco (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccum*)

È la specie di farro più diffusa e coltivata nell'area mediterranea, in Italia in particolare (**Fig. 7 e 8**). La sua coltivazione ha sostituito nei secoli quella del monococco, perché più produttiva e a granella è più grande, con maggiori rese nella macinazione.

Anche il dicocco, come il monococco, è una specie molto rustica, può essere coltivata in suoli poveri, con sistemi estensivi, tipici delle zone di medio-alta collina e montagna.

Anche la coltivazione di questo farro ha subito nei secoli un progressivo declino, dovuto alla sua sostituzione con frumento duro e tenero. La sua riscoperta risale a circa vent'anni fa e oggi è una specie ben inserita nei sistemi colturali italiani, biologici in particolare. Si tratta infatti una pianta rustica, capace di adattarsi a terreni e temperature in cui la produzione di altri cereali risulta difficoltosa. Inoltre, è meno suscettibile alle malattie che normalmente colpiscono le piante di frumento e compete meglio con le erbe infestanti.



Figure 7 e 8: spighe di farro sottospecie dicocco

- Frumento duro (*Triticum turgidum* subsp. *durum*)

Specie discendente dal dicocco (**Fig. 9 e 10**), dal quale differisce per la cariosside nuda che si libera completamente della pula (involucro che circonda la cariosside) al momento della raccolta.

La sua diffusione è tipicamente mediterranea, così come mediterraneo è il suo utilizzo, prevalentemente indirizzato alla produzione di pasta.

L'Italia è il maggiore produttore europeo di frumento duro e uno dei maggiori al mondo. La produzione nazionale copre il 50% del fabbisogno interno dell'industria di trasformazione, e la sua estensione ricopre poco più di un milione di ettari.



Figure 9 e 10: spighe di frumento sottospecie duro

- Frumento tenero (*Triticum aestivum* subsp. *vulgare*)

In termini evolutivi è la specie più ‘giovane’ di *Triticum* (**Fig. 11 e 12**): la sua comparsa risale a circa 9000 anni fa. Nelle piante è elevata la capacità adattativa e possiedono un patrimonio genetico più ampio, per queste ragioni il frumento tenero ha avuto una maggiore diffusione nel mondo rispetto ad altre specie.

In Italia questa specie era il cereale più diffuso fino agli anni Settanta, quando la sua coltivazione è stata superata quella del frumento duro. La presenza in tutti gli ambienti agricoli e la sua ampia utilizzazione sono legati alle tradizioni locali e agli usi molto diversi fra loro.



Foto 11 e 12: spighe di frumento sottospecie tenero

Capitolo 2 SCOPO DELLA TESI

In questo lavoro sono state condotte analisi su Bulk (suolo al di fuori della rizosfera), LAR (loosely adhering rhizosphere) e TAR (tightly adhering rhizosphere) sotto frumento tenero, frumento duro, farro dicocco e farro monococco.

Lo scopo è stato quello di studiare l' 'effetto rizosfera' in differenti specie e sottospecie di *Triticum*, ossia l'insieme di cambiamenti biologici, fisici e soprattutto chimici nei suoli e il contributo di essudati radicali e detriti organici delle radici all'interno della rizosfera.

Nello specifico, lo scopo di questa tesi è stato quello di studiare l'influenza della rizosfera nell'assorbimento di micro e macronutrienti fondamentali alla vita della pianta.

Capitolo 3 MATERIALI E METODI

3.1 Descrizione del sito

Il sito di studio è localizzato all'interno della Riserva Naturale Statale Abbazia di Fiastra (**Fig. 13**), che si estende per una superficie di circa 1800 ha nel territorio dei comuni di Tolentino e Urbisaglia (MC). L'area, tipico esempio del paesaggio agrario delle colline marchigiane, include la Selva, uno dei più importanti lembi forestali ancora presenti nella fascia basso collinare e costiera marchigiana.

La riserva naturale dell'Abbadia di Fiastra è un'area naturale protetta situata nel cuore sia delle Marche fra i 130 ed i 306 m. Si trova nei comuni di Tolentino e Urbisaglia. L'ambiente naturale è caratterizzato da due corsi d'acqua (torrente Entogge e fiume Fiastra) con la loro caratteristica fauna e vegetazione ripariale, nonché il lago "le Vene", piccolo bacino lacustre, di origine artificiale, che è stato oggetto di

un interessante progetto di riqualificazione naturalistica. L'area, entro 3 chilometri dal fiume Fiastra, è coperta da alberi (48%), terre coltivate (35%) e prato (11%), entro 16 chilometri da alberi (47%) e terre coltivate (32%), ed entro 80 chilometri da terre coltivate (45%) e alberi (33%).

La Selva è un bosco di oltre 100 ettari, giunto quasi intatto fino ai giorni nostri grazie alla cura dei monaci cistercensi, della famiglia Bandini ed infine della Regione Marche che lo ha dichiarato "Area Floristica Protetta".



Figura 13: sito di campionamento

La vegetazione è specifica a seconda degli ambienti che attraversa, ma quello della Selva è importante poiché costituisce un esempio del bosco che ricopriva il territorio collinare marchigiano:

- Paesaggio fluviale: vegetazione ricca di essenze floristiche fluviali.
- Paesaggio agrario: querce secolari, roverella, cerro, cipressi, e pini.
- Paesaggio forestale: cerro, orniello, acero campestre (*Acer campestre*), bosso (*Buxus*), carpino orientale (Regione Marche).

Il sito in cui sono stati svolti i campionamenti è caratterizzato da plot sperimentali di leguminose e di graminacee quali farro monococco, farro dicocco, frumento tenero e frumento duro. La carta geologica riporta alluvioni ghiaioso-sabbiose del II ordine dei terrazzi fluviali del fiume Fiastra.

In queste zone il clima è caldo e temperato. La piovosità è significativa durante tutto l'anno e viene riscontrata anche nei mesi più secchi. Si ha una piovosità media annuale di 784 mm. Il mese con maggiori piogge è aprile, con una media di 81 mm mentre quello più secco è luglio con 39 mm. Si registra una temperatura media di 13.8 °C.

Secondo la classificazione Köppen e Geiger l'area rientra nel gruppo Cfa ovvero clima temperato umido con estate calda (Climate-data, 2021).

3.2 Terrazzi pleistocenici

Un terrazzo alluvionale è una superficie pianeggiante, corrispondente ad un'antica pianura alluvionale, originata da processi deposizionali e/o erosivi, e delimitata da scarpate fluviali. Un terrazzo climatico deve la sua origine a variazioni nella dinamica fluviale indotta da cambiamenti climatici.

Sono quindi formati da un fiume o un canale di torrente e dall'abbandono e dall'erosione laterale della sua ex pianura alluvionale. L'erosione di fondo, l'abbandono e l'erosione laterale di un'ex pianura alluvionale possono essere il risultato di : cambiamenti nel livello del mare, sollevamento tettonico locale o regionale, cambiamenti nel clima locale o regionale, cambiamenti nella quantità di sedimenti trasportati dal fiume o dal torrente, cambiamento nello scarico del fiume (**Fig. 14**), o una miscela complessa di questi e altri fattori.

Le fonti più comuni delle variazioni nei fiumi e nei torrenti che creano terrazzi fluviali sono le risposte vegetative, geomorfiche e idrologiche al clima. Questi equilibri però non sono

permanenti e, con il tempo, i sedimenti depositati nella terrazza possono venire erosi, a causa di un elevato flusso d'acqua (Vandenberghe, 2014).

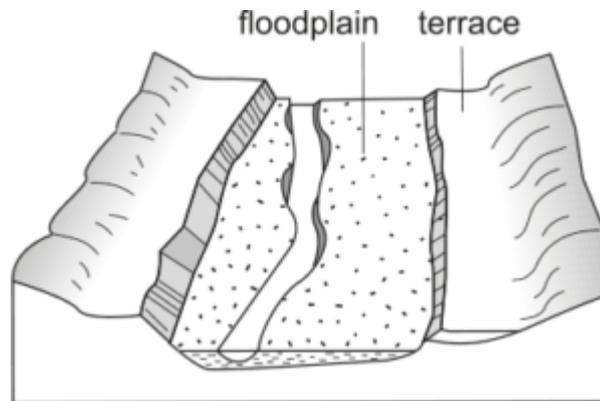


Figura 14: Terrazzo fluviale

I terrazzi possono essere situati ad altezze più o meno costanti al di sopra dell'attuale pianura alluvionale o pianeggiante della valle. I singoli terrazzi sono solitamente separati da basse scogliere, rialzi o scarpate. In alcuni punti, i terrazzi inferiori possono essere lunghi e creare delle strisce continue per centinaia di chilometri, ma i livelli più alti sono per la maggior parte irregolari lasciando intravedere solo macchie isolate.

Dal punto di vista cronologico la superficie deposizionale sommitale del terrazzamento più antico (1° ordine) è da riferire al termine della fase glaciale denominata stadio 8 (Coltorti, 1991,1996) secondo gli stratigrafi a isotopica, e quindi avrebbe un'età di circa 240.000 anni (Pleistocene Medio superiore). Le superfici terrazzate più recenti invece risalirebbero, rispettivamente, a 130.000 anni fa (2° ordine fine Pleistocene Medio) e a 12.000 anni fa (3° ordine fine Pleistocene Superiore) (**Fig n. 15**) (Ranciaro, 2017).

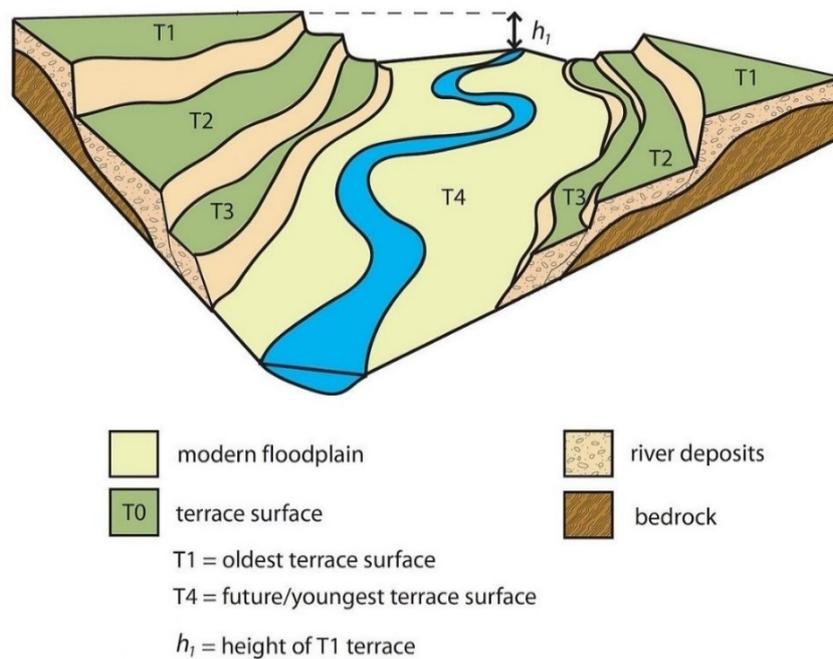


Figura 15: ordini di terrazzi

3.3 Metodo di campionamento

Prima dello svolgimento delle analisi in laboratorio si è iniziato con il campionamento in campo, necessario per definire le proprietà del suolo (L. Lulli, 1994).

Il profilo del suolo è una sezione che mostra il suolo dalla superficie fino alla roccia inalterata; la cui profondità può variare generalmente da qualche decimetro a 1-2 m. L'apertura dei profili è condotta manualmente e con l'aiuto di attrezzi quali pale e picconi. Lo scavo viene condotto in modo da formare una parete verticale che possa essere adeguatamente osservata e descritta scendendo al suo interno. Ciascuna fase di descrizione del suolo è preceduta da una fase di accurata pulitura/rettifica del profilo, durante la quale vengono rimossi i primi 3-4 cm di suolo dalla faccia dello scavo che si sceglie di descrivere (Colombo e Miano, 2015).

A causa della mancanza di una delimitazione morfologica precisa tra rizosfera e bulk soil, spesso la raccolta di tali campioni è complicata. I procedimenti che possono essere seguiti per ottenere la rizosfera e bulk soil separatamente sono molteplici (spazzolatura, essiccazione, agitazione). In questo caso è stato utilizzato il metodo dell'agitazione del suolo con l'ausilio di fogli di giornale che ha permesso la separazione di bulk soil, LAR e TAR direttamente in campo. Le radici sono state agitate leggermente per rimuovere tutte le particelle debolmente

adese, mentre quelle fortemente adese sono state raccolte scuotendo vigorosamente (Corti et al. 2005).

La descrizione dei profili di suolo di questa tesi è stata poi condotta secondo il metodo Schoeneberger (2012). Si è proceduto poi con il rilievo fotografico, che comprende le foto del profilo pedologico e quelle della stazione (elementi geomorfologici).

I campioni sono conservati in sacchetti di plastica muniti di etichette di riconoscimento su cui sono stati indicati: data del campionamento, sigla identificatrice, numero progressivo, designazione dell'orizzonte.

Durante il prelievo sono stati scartati frammenti grossolani, pietre, grosse radici o foglie.

3.4 Preparazione del campione

I campioni di suolo sono stati conservati all'interno di sacchetti in plastica e sottoposti a tre operazioni principali: essiccamento, setacciatura a 2 mm e rimozione dello scheletro.

L'essiccamento all'aria del campione è finalizzato a ridurre l'attività biologica nel campione in modo da limitare al minimo le alterazioni dello stesso durante il tempo necessario per effettuare le analisi. Le analisi chimiche sono effettuate per convenzione internazionale, sulla terra fine (diametro <2 mm) la frazione di suolo più reattiva ed omogenea.

3.5 Analisi chimiche

3.5.1 Determinazione del pH in H₂O

Sono stati prelevati 5 g di campione, posti in un barattolo di plastica nel quale è stata aggiunta acqua deionizzata in rapporto 1:2.5 (12.5 ml). Il tutto è stato messo in agitatore meccanico per 2 ore, lasciato riposare per 10 minuti.

I valori di pH sono espressi con due cifre decimali. Prima dell'utilizzo dello strumento è stato calibrato il piaccametro con due soluzioni standard dal pH noto. Sono state utilizzate soluzioni tampone a pH 7,01 (neutra) e una a pH 4,01 (acida).

Terminata la calibrazione, l'elettrodo è stato sciacquato con acqua distillata, asciugato e immerso nel campione (**Fig. 16**).

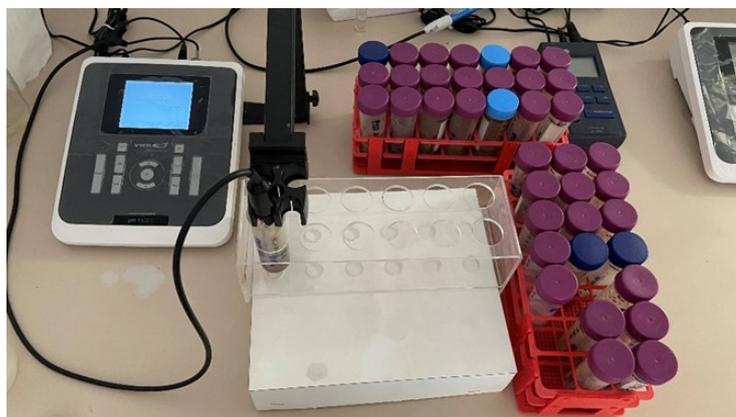


Figura 16: pH in H₂O

3.5.2 Determinazione pH in KCl

La determinazione del grado di reazione del suolo avviene attraverso la misurazione del suo pH. Per convenzione si prepara una sospensione formata da cloruro di potassio (KCl) in proporzione 1:2,5. Il pH misurato utilizzando soluzioni saline del tipo KCl esprime, oltre alla concentrazione degli ioni H⁺ presenti in soluzione, anche quella degli ioni H⁺ scambiati dagli ioni K⁺ (acidità potenziale).

Preparazione dei reagenti:

Potassio Cloruro soluzione (1 Mol/litro): sciogliere in acqua in un matraccio tarato da 1000 ml, 74,6 g di KCl e portare a volume con acqua.

Acqua deionizzata

Attrezzatura da laboratorio:

pH-metro; agitatore magnetico

Procedimento:

Tarare il sistema facendo uso di almeno due soluzioni tampone di riferimento.

Pesare 5g di campione secco di terra e aggiungere KCl in rapporto 1: 2,5, lasciare in agitazione la sospensione per 2 ore. Si procede poi con la misurazione del pH tramite elettrodo opportunamente pulito dopo la misurazione di ogni campione (**Fig. 17**). La misura del valore

di pH in soluzione KCl è uno dei metodi più utilizzati per definire il grado di reazione dei suoli (Peech (1965), Conyers e Davey (1988) e Davey e Conyers (1988)).



Figura 17: pH in KCl

3.5.3 Determinazione Carbonio Organico

La determinazione del contenuto di carbonio organico viene eseguita su un campione di soluzione estratto con il metodo Walkley e Black (1934). Il metodo si basa sull'ossidazione della sostanza organica presente nel campione, a contatto con una soluzione acida di dicromato di potassio (**Fig.18**) in presenza di acido solforico concentrato. Il dicromato riducendosi, ossida il C della sostanza organica da 0 (valore medio) a +4 (dell'anidride carbonica, la forma più ossidata).

L'entità di dicromato che non ha reagito con la sostanza organica, viene quantificata con una soluzione di ferro ammonio solfato, detta sale di Mohr (**Fig.19**) in presenza di acido solforico concentrato e dell'indicatore difenilammina (1 grammo di difenilammina in 100 ml di acido solforico).

Il metodo Walkley-Black utilizza solo il calore di diluizione dell' acido solforico e non risulta pertanto sufficiente alla completa ossidazione dei composti organici. Solamente le forme più attive del C vengono ossidate e misurate tramite titolazione col dicromato che non ha reagito (McLeod, 1975). La percentuale di carbonio organico ossidato, secondo gli autori del metodo,

oscilla tra il 75% e l'86%. Il metodo prevede l'utilizzo di una quantità variabile di campione (0,5-2 grammi). Il volume di soluzione scelta è trasferito in becker al quale vengono aggiunti 10 cc di soluzione di dicromato di potassio e 20 cc di acido solforico concentrato al 96% (operazione da effettuare sotto cappa).

Dopo 30 minuti, la reazione viene spenta con l'aggiunta di 200 ml di acqua deionizzata poi si aggiungono 5ml di acido fosforico e 10-15 gocce di difenil-ammina e si titola con il sale di Mohr 0,5 N, mantenendo il campione in agitazione, fino al viraggio dal blu al verde. Parallelamente si eseguono due prove in bianco, omettendo il campione, per avere lo zero del viraggio.

Metodo per la determinazione del Carbonio organico (Allison, 1990)

Si prevede l'ossidazione del carbonio organico ad anidride carbonica tramite soluzione di dicromato di potassio e acido solforico concentrato, i campioni vengono sottoposti ad uso di calore (163°C per 30 minuti) in modo tale che tutto il carbonio organico viene determinato. Dopo il tempo stabilito la reazione viene interrotta con l'aggiunta di acqua (200ml), acido fosforico e difenil-ammina e si titola con sale di Mohr come descritto precedentemente.

Preparazione dei reagenti:

Dicromato di potassio ($K_2Cr_2O_7$), soluzione 1/6 Mol/l: in un matraccio tarato da 1000 ml sciogliere 49,032 g di $K_2Cr_2O_7$ portare a volume con acqua e omogeneizzare.

Sale di Mohr, ferro ammonio solfato ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$), soluzione 0,5 Mol/l: in un matraccio tarato da 1000 ml contenente 600 ml di acqua sciogliere 196,06 g di $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$, aggiungere 15 ml di H_2SO_4 portare a volume con acqua ed omogeneizzare.

Il contenuto di Carbonio organico si esprime in g/Kg e si ricava dalla reazione:

$$C = 1000 * ((B - B1) * 10 * 0,003 / (B * P))$$

dove:

- Il fattore di correzione 0,77 va omissso nel calcolo del TOC
- C è il contenuto in carbonio organico espresso in g/kg;
- B è la media dei volumi espressi in ml di sale di Mohr consumati per le prove in bianco;
- B1 è il volume espresso in ml di sale di Mohr consumato per titolare il campione;
- P è la massa del terreno sottoposto ad analisi in g;

- 0,003 è il peso equivalente del carbonio.



Figura 18 e Figura 19: titolazione con : Dicromato di potassio e Sale di Mohr

3.5.4 Determinazione Capacità Scambio Cationico

La capacità di scambio cationico (CSC) è la quantità di cationi scambiabili, che un materiale, chiamato scambiatore, dotato di proprietà di adsorbimento può trattenere per scambio ionico. Lo scambio ionico rappresenta un meccanismo con cui il suolo trattiene e mette a disposizione delle piante e dei microrganismi elementi quali Ca, Mg , K , N ; perciò, la CSC è un indice della potenziale fertilità chimica del suolo.

Preparazione dei campioni

Attrezzatura da laboratorio:

- agitatore oscillante;
- mortaio;
- centrifuga;
- tubi da centrifuga da 50 ml con tappo a vite.

Il suolo utilizzato è caratterizzato da particelle molto fini (0,5 mm) ottenute con l'ausilio di un mortaio. Sono stati poi prelevati dei sotto campioni rappresentativi (3 g) della terra fine e sono

stati collocati in provette da 50ml con 30 ml soluzione di BaCl₂ 0,2 M (rapporto solido: liquido 1:10).

I campioni sono stati agitati delicatamente per 5 minuti, lasciati riposare per 3 minuti e agitati di nuovo per 5 minuti; dopo 20 min le sospensioni sono state agitate per alcuni secondi e centrifugate per 5 minuti. Quello che si ottiene in provetta è la separazione della parte solida da quella liquida.

La prima estrazione è avvenuta 40 minuti dopo la miscelazione delle fasi solida e liquida (**Fig.20**) (Corti et. al 1997).



Figura 20 : separazione parte liquida

Misurazione CSC

I cationi Ca, Mg, Na, K, Mn, Fe e Al sono stati misurati con l'utilizzo dell' ICP-OES optima 8300 (**Fig. 21 e 22**).

L'ICP-OES, o ICP-AES (spettrometria di emissione ottica), è uno strumento utilizzato in laboratorio per la determinazione dei metalli.

L'acronimo ICP-OES sta per "Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectroscopy". Con questa definizione si identifica uno strumento in grado di misurare la luce (emissione ottica) generata da un campione liquido introdotto in un plasma di gas argon, accoppiato induttivamente. Tramite questo sistema è possibile quantificare i metalli contenuti nel campione misurandone, per ognuno, l'intensità della luce emessa con uno specifico banco ottico (sistema di specchi, lenti e reticoli). Per la determinazione in ICP-OES è necessario avere campioni in forma liquida (casa produttrice PerkinElmer).



Figure 21 e 22 : ICP-OES Optima 8300

3.5.5 Analisi statistica dei dati

L'analisi della varianza (ANOVA) è stata eseguita, attraverso l'ausilio del software R (R core team, 2013) al fine di testare l'effetto rizosfera sulle caratteristiche fisico-chimiche di suolo sotto farro monococco, farro dicocco, frumento duro e tenero. Gli assunti di applicabilità dell'analisi ANOVA (distribuzione normale dei dati e l'omoschedasticità della varianza) sono stati testati.

In caso di dati non parametrici (distribuzione non normale e/o eterogeneità della varianza), ogni variabile numerica è stata trasformata secondo la procedura di Box e Cox (1964).

Gli assunti di applicabilità dell'analisi sono stati poi verificati sui residui delle variabili trasformate attraverso il test statistico di Shapiro-Wilk (pacchetto "stats") e il test di Levene (pacchetto "car"), entrambi con un livello di significatività del 5%.

Nel caso di distribuzione non normale dei dati, il test di Kruskal-Wallis è stato eseguito per valutare eventuali differenze significative. Nel caso di eteroschedasticità dei dati trasformati, è stato applicato il test Welch one-way ANOVA.

Il test ANOVA è considerato significativo con $p \leq 0.05$; le differenze tra le medie sono state indagate con il test Tukey's Honest Significant Difference (HSD) con $p \leq 0.05$ (R core team 2013).

Capitolo 4 RISULTATI E DISCUSSIONI

In **Tabella n. 1** e in **Figura 23** sono riportati i valori di TOC, pH in H₂O, pH in KCl e CSC riferiti alle frazioni di suolo rizosferico analizzate dove possiamo notare che non ci sono evidenti differenze tra Bulk, LAR e TAR in ciascuna specie. Questo può essere dovuto alla difficoltà di distinzione delle frazioni del *Triticum* dato l'apparato radicale fascicolato. La presenza di fitte ed intricate radici, infatti, rende impegnativa prima la separazione e la differenziazione di suolo Bulk, LAR e TAR.

I valori di pH in H₂O riscontrati rispettivamente in Bulk, LAR e TAR (**Fig. 23**) hanno valori di: 6,003 6,001 5,995 nel farro monococco; 6,145 6,073 6,044 nel farro dicocco, 6,829 6,921 7,218 nel frumento tenero; 6,574 6,635 6,781 nel frumento duro (**Tab. n.1**). Questi risultati non sono così alti da consentire la movimentazione di elementi come l'alluminio. I valori di pH in H₂O risultano essere in generale più bassi nel suolo sotto farro monococco e dicocco rispetto al frumento duro e al frumento tenero che presenta invece valori tendenti o superiori al 7 nel LAR e nel TAR.

Il pH in KCl ci consente invece di conoscere l'acidità potenziale del suolo, K infatti si va a sostituire con i protoni sul complesso di scambio liberando ioni H⁺ portando un abbassamento del pH. I risultati che si osservano nel Bulk, LAR e TAR (**Fig. 23**) sono: 4,018 4,013 4,036 nel farro monococco; 4,170 4,152 4,251 nel farro dicocco; 5,688 5,652 6,188 nel frumento tenero; 4,996 4,948 5,159 nel frumento duro.

Il TOC risulta più alto nel frumento duro e tenero dove troviamo valori di Bulk, LAR e TAR rispettivamente di: 14,35 13,98 15,69 (g kg⁻¹) nel frumento duro; 12,10 12,56 13,93 (g kg⁻¹) nel frumento tenero. Nei farri invece troviamo valori più bassi di: 12,29 8,96 10,67 (g kg⁻¹) nel farro monococco e 10,85 13,75 12,58 (g kg⁻¹) nel farro dicocco.

Per quanto riguarda i valori di CSC dell'alluminio (Al) (**Tab n. 1**) in Bulk, LAR e TAR si hanno: 0,113 0,089 0,046 (cmol(+))kg⁻¹). Questi esiti sono collegati ai risultati ottenuti nel pH in KCl in cui di sottolineava la movimentazione dell'alluminio. Nel farro monococco; nel farro dicocco, nel frumento tenero nel frumento duro sono stati invece riscontrati valori <LD (minore limite detezione).

In **Tabella n. 2** e in **Figura 24** sono riportati i dati statistici dei parametri sopra menzionati riferiti alle varie sottospecie.

Negli esiti della CSC degli elementi sotto descritti, come confermato dall'analisi statistica in **Tabella 2**, non sono state riscontrate particolari differenze: ferro (Fe) valori <LD ovvero sotto il limite di detezione, in tutte le frazioni di tutte le sottospecie ; calcio (Ca) 22,523 18,393 16,134 (cmol(+) kg^{-1}) nel farro monococco, 16,649 14,289 22,650 (cmol(+) kg^{-1}) nel frumento tenero, 25,675 24,001 21,476 (cmol(+) kg^{-1}) nel frumento duro; magnesio (Mg) 6,420 5,183 4,608 (cmol(+) kg^{-1}) nel farro monococco, 3,774 3,197 5,260 (cmol(+) kg^{-1}) nel farro dicocco, 3,197 3,224 3,144 (cmol(+) kg^{-1}) nel frumento tenero, 3,9043,654 3,196 (cmol(+) kg^{-1}) nel frumento duro; sodio (Na) 0,115 0,042 0,031 (cmol(+) kg^{-1}) nel farro monococco, 0,057 0,055 0,414 (cmol(+) kg^{-1}) nel farro dicocco, 0,044 0,050 0,023 (cmol(+) kg^{-1}) nel frumento tenero, 0,119 0,299 0,108 (cmol(+) kg^{-1}) nel frumento duro.

In **Figura 24** si evidenzia netto distacco tra i valori di pH in H_2O e pH in KCl. Si rilevano dei valori tali da permettere, ad esempio, la mobilità dell'alluminio, infatti, l'alluminio disponibile a questi pH risulta maggiore nei farri piuttosto che nei frumenti.

L'alluminio è uno degli elementi più abbondanti nel suolo. I processi di acidificazione naturale comportano un aumento della sua solubilità e, man mano che i suoli diventano moderatamente acidi (pH < 4,5), l'alluminio inizia ad apparire come catione scambiabile che domina negli orizzonti minerali inferiori (J.L Domingo, 2003). La fitotossicità da alluminio è un problema che riguarda molti suoli in tutto il mondo e più in particolare in quei luoghi in cui l'elevata acidità del suolo rende solubili questi metalli. Nei suoli acidi, alte concentrazioni di alluminio impediscono lo sviluppo degli apparati radicali, limitando in modo marcato la produttività agricola e bloccando anche l'assorbimento del calcio (Ca^{2+}) un elemento importante per lo sviluppo della pianta. Il meccanismo d'azione dell'alluminio nelle piante prevede che esso blocchi la divisione cellulare, danneggiando il DNA e quindi interrompendo la crescita della pianta (University of California, Riverside (USA), 2008). Le piante tolleranti all'Al hanno diversi meccanismi per alleviare questa tossicità. Nei cereali l'esclusione di Al è il meccanismo più comune. Il rilascio di acidi organici sottoforma di essudati e la formazione di forti composti chelanti con Al nelle radici, sono i meccanismi di esclusione esistenti in queste colture. Il processo di tolleranza consente alle piante di assumere e accumulare in modo sicuro. Al nelle loro cellule. Esistono due tipi di meccanismi di tolleranza: interna ed esterna (Sathyaseelan et al. 2019).

- La tolleranza interna consiste nella ripartizione di Al nei vacuoli e negli organelli, riducendone l'effetto tossico.

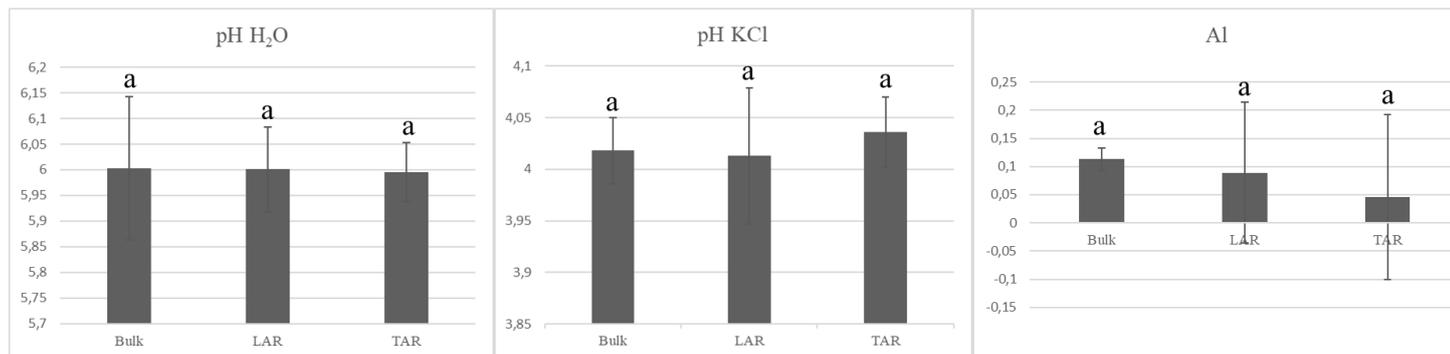
- La tolleranza esterna è legata alla capacità delle piante di controllare l'assorbimento e il trasporto dell'alluminio all'interno di essa.

Le piante tolleranti all'Al sono note per secernere acidi organici dalle loro radici in risposta ad Al. Citrato, malato, carbossilato, ossalato sono alcuni dei ligandi organici secreti dalle piante a partire dai primi millimetri degli apici radicali per prevenire la tossicità. Un altro essudato fondamentale è il fosfato che interviene nella complessazione di Al e nell'alcalinizzazione del pH della rizosfera legando protoni. Fondamentale è infine il legame di Al alla mucillagine presente nelle punte delle radici, proteggendola. Nel frumento, ad esempio, questo fenomeno aiuta a ridurre al minimo le lesioni da Al. (Sathyaseelan et al. 2019).

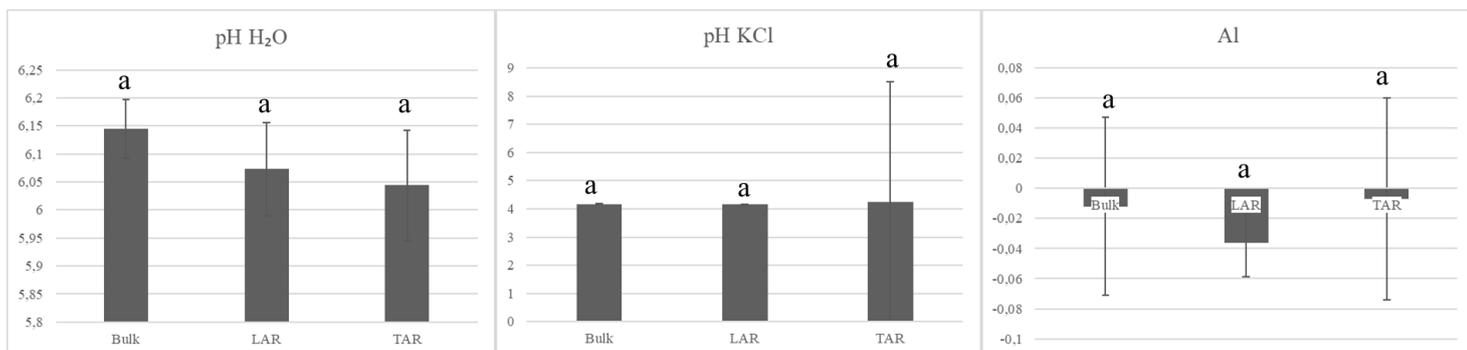
Tabella 1: Tabella di TOC, pH in H₂O, pH in KCl, CSC dei campioni considerati (<LD= minore limite deteazione)

	TOC g kg ⁻¹	pH H ₂ O	pH KCl	Al cmol(+)kg ⁻¹	Fe cmol(+)kg ⁻¹	Ca cmol(+)kg ⁻¹	Mg cmol(+)kg ⁻¹	K cmol(+)kg ⁻¹	Na cmol(+)kg ⁻¹
Monococco									
Bulk	12,29 ^a (1,910)	6,003 ^a (0,140)	4,018 ^a (0,032)	0,113 ^a (0,020)	<LD	22,523 ^a (1,623)	6,420 ^a (0,607)	0,244 ^a (0,035)	0,115 ^a (0,002)
LAR	8,96 ^a (2,684)	6,001 ^a (0,083)	4,013 ^a (0,066)	0,089 ^a (0,125)	<LD	18,393 ^a (9,334)	5,183 ^a (2,785)	0,171 ^a (0,184)	0,042 ^a (0,104)
TAR	10,67 ^a (2,528)	5,995 ^a (0,058)	4,036 ^a (0,034)	0,046 ^a (0,146)	<LD	16,134 ^a (12,023)	4,608 ^a (3,635)	0,244 ^a (3,635)	0,031 ^a (0,182)
Dicocco									
Bulk	10,85 ^a (1,849)	6,145 ^a (0,052)	4,170 ^a (0,007)	<LD	<LD	16,649 ^a (7,721)	3,774 ^a (1,804)	0,096 ^a (0,118)	0,057 ^a (0,115)
LAR	13,75 ^a (3,116)	6,073 ^a (0,083)	4,152 ^a (0,003)	<LD	<LD	14,289 ^a (3,370)	3,197 ^a (3,369)	0,074 ^a (0,079)	0,055 ^a (0,073)
TAR	12,58 ^a (3,756)	6,044 ^a (0,098)	4,251 ^a (0,091)	<LD	<LD	22,650 ^a (1,519)	5,260 ^a (0,327)	0,334 ^a (0,146)	0,414 ^a (0,027)
Fruento tenero									
Bulk	12,10 ^a (0,705)	6,829 ^a (0,256)	5,688 ^a (0,610)	<LD	<LD	19,500 ^a (9,178)	3,197 ^a (1,593)	0,137 ^a (0,142)	0,044 ^a (0,119)
LAR	12,56 ^a (2,048)	6,921 ^a (0,338)	5,652 ^a (0,637)	<LD	<LD	20,255 ^a (8,284)	3,224 ^a (1,226)	0,106 ^a (0,073)	0,05 ^a (0,111)
TAR	13,93 ^a (3,129)	7,218 ^a (0,028)	6,188 ^a (0,968)	<LD	<LD	20,978 ^a (12,905)	3,144 ^a (1,794)	0,319 ^a (0,234)	0,023 ^a (0,127)
Fruento duro									
Bulk	14,35 ^a (4,585)	6,574 ^a (0,158)	4,996 ^a (0,107)	<LD	<LD	25,675 ^a (4,473)	3,904 ^a (0,577)	0,240 ^a (0,085)	0,119 ^a (0,065)
LAR	13,98 ^a (3,013)	6,635 ^a (0,166)	4,948 ^a (0,142)	<LD	<LD	24,001 ^a (6,862)	3,654 ^a (1,143)	0,249 ^a (0,138)	0,299 ^a (0,358)
TAR	15,69 ^a (2,585)	6,781 ^a (0,233)	5,159 ^a (0,311)	<LD	<LD	21,476 ^a (7,438)	3,196 ^a (1,322)	0,335 ^a (0,133)	0,108 ^a (0,100)

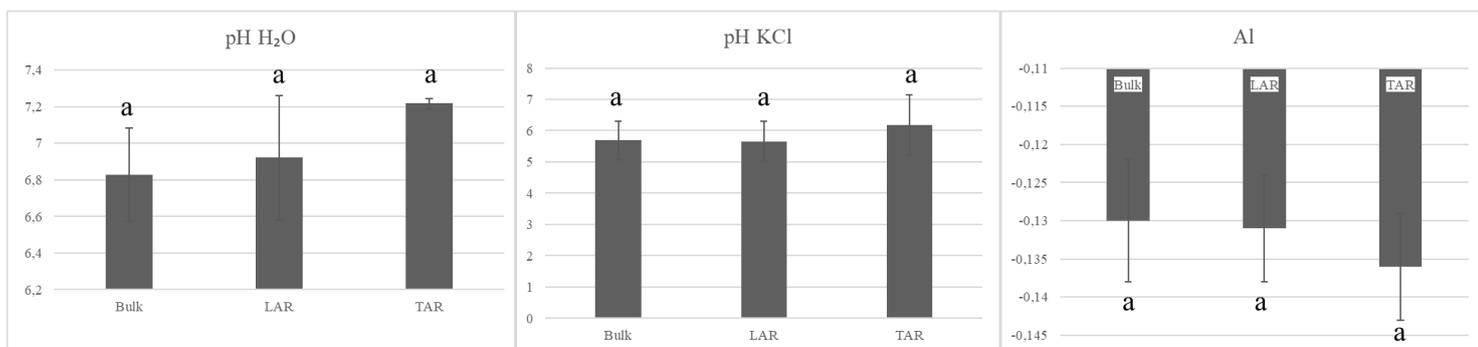
Farro monococco



Farro dicocco



Frumento tenero



Frumento duro

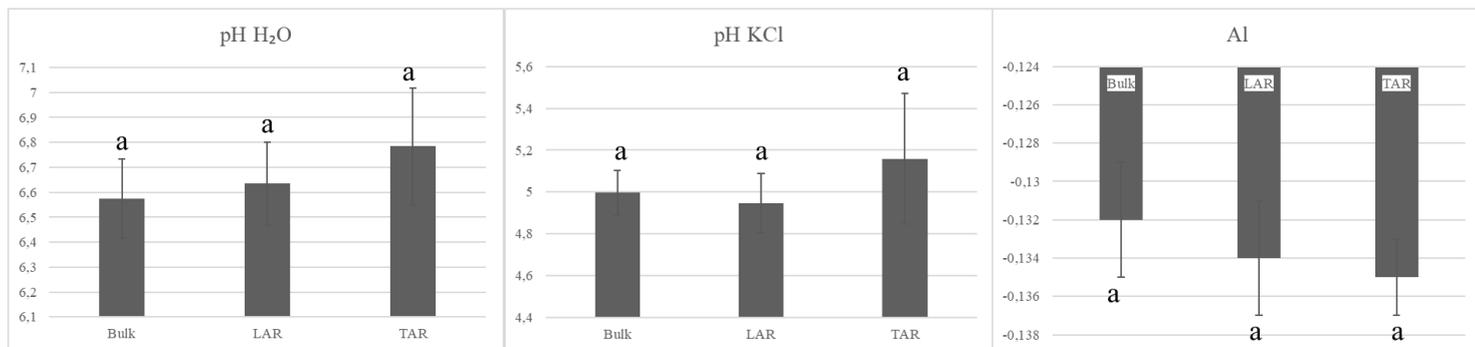


Figura 23: pH H₂O, pH KCl, Al nei Bulk, LAR e TAR delle sottospecie di Triticum, con Al < LD (LD= limite deteazione) in farro dicocco, frumento tenero e duro

Tabella 2: Analisi statistica di TOC, pH in H₂O, pH in KCl, CSC dei campioni considerati

	TOC	pH H ₂ O	pH KCl	Al	Fe	Ca	Mg	K	Na
Monococco	b	c	c	a	-	a	a	a	a
Dicocco	ab	c	c	b	-	a	ab	a	a
Frumento tenero	a	b	b	b	-	a	ab	a	a
Frumento duro	ab	a	a	b	-	a	b	a	a

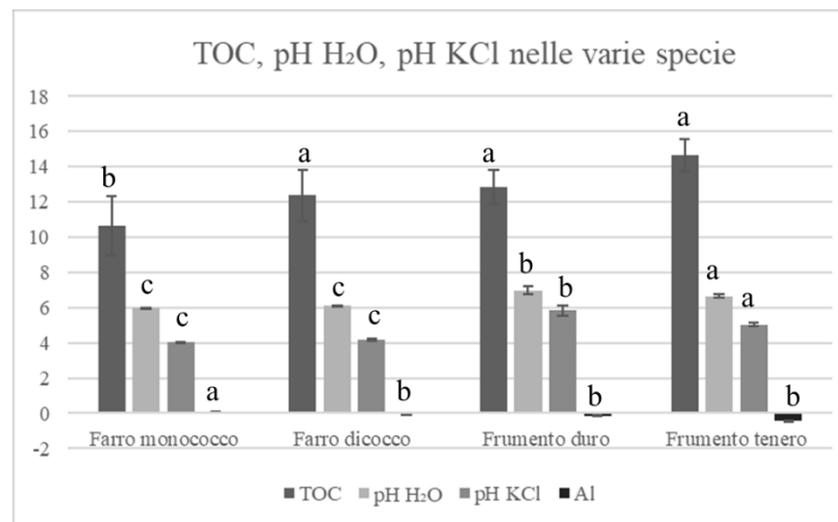


Figura 24: TOC, pH H₂O, pH KCl e Al nelle sottospecie *Triticum*, con Al <LD (<LD= minore limite detezione)

4.1 Controllo fuori coltura: transetto

A seguito dei risultati ottenuti è stato ritenuto opportuno effettuare un ulteriore controllo fuori coltura nello stesso sito in cui si sono prelevati i campioni precedentemente analizzati. Dal momento che le varietà di farro si trovavano più vicino al fiume e quelle del frumento erano invece più lontane, si è ritenuto necessario svolgere un transetto. Lo scopo era di verificare se i risultati delle precedenti analisi sono da attribuire all'effetto rizosfera oppure dalle condizioni pedoclimatiche e pedologiche del sito considerando anche eventuali variazioni di pH, struttura, tessitura.

Pertanto, sono stati aperti quattro profili, rispettivamente due vicini e due lontani dal fiume Fiastra. A seguito della loro descrizione condotta secondo il metodo Schoeneberger (2012), riportata in **Tabella 3**, sono stati prelevati campioni di suolo da sottoporre alle analisi di laboratorio.

Tabella 3: Descrizione morfologica dei profili di suolo del transetto esterno alle parcelle

	Orizzonti	Profondità cm	Colore ^a	Struttura ^b	Consistenza ^c	Limite ^d	Altro
Vicino fiume							
P1	Ap1	0-5	10YR 3/4	3vf,f,m,co abk,sbk	fi, fr	AS	-
	Ap2	5-29+	10YR 3/4	3vf,f,m sbk	fi	-	-
P2	Ap1	0-4	10YR 3/4	3vf,f,m sbk	fi, fr	AS	-
	Ap2	4-25+	10YR 3/4	3f,co sbk	fi	-	-
Lontano fiume							
P1	Ap1	0-5	10YR 3/4	3vf,f m sbk	fi, fr	AS	Crosta superficiale friabile
	Ap2	5-21+	10YR 3/4	3vf,m sbk	fi	-	-
P2	Ap1	0-5	10YR 3/4	3vf,f sbk	fi	AS	Crosta superficiale resistente
	Ap2	5-16	10YR 3/4	3f,m sbk	fr	AS	-
	Ap3	16-26+	10YR 3/4	2f,co	fi	-	-

^a Umidità di campo, in accordo con Tavole Munsell (ed. 1992)

^b 1= debole 2= moderato 3= forte; f=fine, vf= molto fine, m= media, co= grossa, abk= a blocchi angolari, sbk= a blocchi subangolari,;

^c Umidità di campo, fr = friabile, fi=resistente

^d A = abrupto , S=lineare

Nella **Tabella 4** vengono riportati i valori di TOC, pH in H₂O, pH in KCl e CSC relativi ai **profili di suolo del transetto esterno alle parcelle**, vicino e lontano dal fiume.

Vicino al fiume si riscontrano valori di pH in H₂O di 5,630 e di pH in KCl di 4,206, più bassi rispetto ai valori di 6,038 e 4,414 rilevati invece nei profili lontano dal fiume, sebbene le differenze non siano statisticamente significative. Questo potrebbe essere attribuito al fatto che vicino al fiume il suolo potrebbe risultare maggiormente lisciviato, la lisciviazione in prossimità del corso d'acqua comporta infatti pH più bassi.

In generale non vengono riscontrate invece particolari differenze tra i vari parametri indagati per la CSC dove troviamo valori rispettivamente vicino e lontano dal fiume: di alluminio (Al) di 0,049 cmol(+)kg⁻¹ e di 0,013 cmol(+)kg⁻¹, ferro (Fe) con valori <LD cmol(+)kg⁻¹, calcio (Ca) 9,854 cmol(+)kg⁻¹ e 18,380 cmol(+)kg⁻¹, magnesio (mg) 2,026 cmol(+)kg⁻¹ e 3,194 cmol(+)kg⁻¹, potassio (K) 0,263 cmol(+)kg⁻¹ e 0,188 cmol(+)kg⁻¹, sodio (Na) 0,200 cmol(+)kg⁻¹ e 0,215 cmol(+)kg⁻¹.

Il TOC risulta maggiore nei plot che si trovano lontano dal fiume con un valore di 10,37 g kg⁻¹ rispetto al 6,43 g kg⁻¹ dei farri come si nota anche dall'andamento del primo grafico in **Fig. 25**.

Questi risultati, ci aiutano a comprendere che quelli delle analisi condotte sulle frazioni di suolo sotto le differenti colture sono condizionati dall'effetto rizosfera e non da altro.

Le differenze fra le piante possono essere spiegate dal fatto che le sottospecie di frumento sono state selezionate proprio per assorbire nitrati garantendo migliori produzioni; così facendo emettono più OH⁻ rispetto ai farri, che possono andare a consumare i protoni presenti sul complesso di scambio. Il frumento emette perciò meno protoni rispetto al farro che invece è una sottospecie ancestrale, portando ad un innalzamento del pH.

Tabella 4: Tabella TOC, pH in H₂O, pH in KCl, CSC dei campioni di transetto (<LD = minore limite deteazione)

	TOC g kg ⁻¹	pH H ₂ O	pH KCl	Al cmol(+)kg ⁻¹	Fe cmol(+)kg ⁻¹	Ca cmol(+)kg ⁻¹	Mg cmol(+)kg ⁻¹	K cmol(+)kg ⁻¹	Na cmol(+)kg ⁻¹
Vicino Fiume	6,43 ^b (0,933)	5,630 ^a (0,042)	4,206 ^a (0,127)	0,049 ^a (0,037)	<LD	9,854 ^a (2,839)	2,026 ^a (2,839)	0,263 ^a (0,048)	0,200 ^a (0,014)
Lontano Fiume	10,37 ^a (0,183)	6,038 ^a (0,274)	4,414 ^a (0,241)	0,013 ^a (0,031)	<LD	18,380 ^a (5,581)	3,194 ^a (0,668)	0,188 ^a (0,059)	0,215 ^a (0,101)

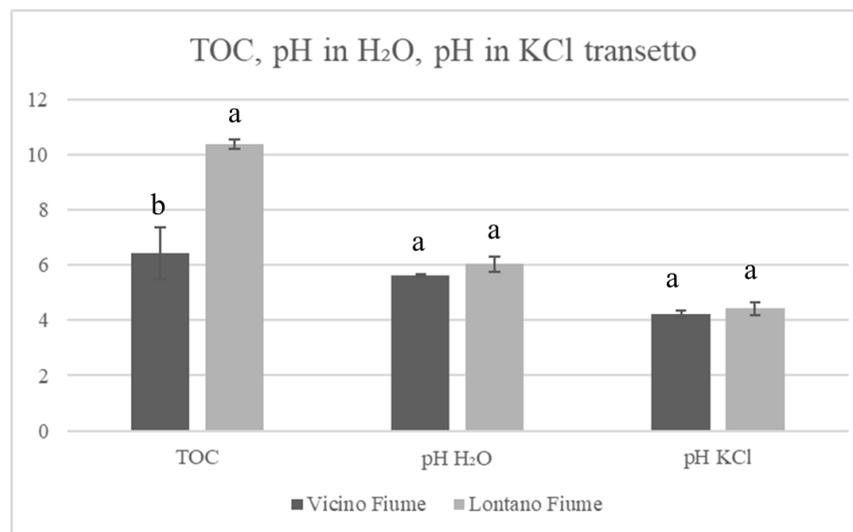


Figura 25: TOC, pH H₂O, pH KCl nel transetto

Capitolo 5 CONCLUSIONI

Questo studio ha indagato l'effetto rizosfera di graminaceae nell'assorbimento di micro e macronutrienti fondamentali alla vita della pianta. A tal fine, è stata condotta un'indagine approfondita tramite analisi chimiche quali TOC, pH in H₂O, pH in KCl e CSC sulle frazioni di suolo: Bulk, LAR e TAR sia sotto coltura ovvero sotto frumento tenero, frumento duro, farro dicocco e farro monococco, sia sul suolo fuori coltura.

Le risposte alle indagini sotto coltura hanno mostrato che l'effetto rizosfera è differente nelle varie sottospecie di *Triticum* dove in particolare nei farri si evidenziano valori di pH in KCl così bassi da permettere la mobilitazione dell'alluminio, elemento tossico per la pianta e per i suoi meccanismi biologici. Questo viene anche confermato dagli esiti della CSC mentre invece i valori di pH in H₂O non sono così elevati da permetterne la mobilitazione.

Il confronto dei risultati ottenuti su queste frazioni con quelli ottenuti dalle analisi su suolo non interessato da coltura, non presentando differenze rilevanti ci aiutano a comprendere che i valori di pH bassi sopra menzionati sono condizionati dall'effetto rizosfera e non da altro. Questo potrebbe essere legato al fatto che, i farri sono varietà più ancestrali che tendenzialmente acidificano di più rispetto alle varietà più recenti, e assorbono principalmente cationi, portando ad un abbassamento del pH. Tutto questo potrebbe essere legato alla selezione, visto che il farro è una specie ancestrale diffusa 10-12 mila anni fa mentre il frumento è invece nato successivamente a seguito di incroci e selezioni.

Capitolo 6 BIBLIOGRAFIA

Allison L.E., (1965). Organic Carbon. In: C.A. Black, D. D. Evans, L.E. Ensminger, J.L. White, and F.E. Clark (Eds.), *Methods of Soil Analysis, Part 2. Agronomy Monograph*, 9 American Society of Agronomy, Madison, WI

Benedetti A., Mocali S. (2008), *Analisi a livello di suolo*, in *Indicatori di biodiversità per la sostenibilità in agricoltura*, Roma, ISPRA, 159-208.

Benedetti A., Mocali S. (2009) *La qualità del suolo: chiave delle produzioni sostenibili*, in «*Italian Journal of Agronomy*», Suppl. 1, 13-21.

Berendsen Roeland L., Corne' M. J. Pieterse and Peter A.H.M. Bakker (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science* August 2012, Vol. 17, No. 8, 478-484

Campillo-Cora C., Fernández-Calviño D., Pérez-Rodríguez P., Fernández-Sanjurjo M.J., Núñez-Delgado A., Álvarez-Rodríguez E., Arias-Estévez M., Nóvoa-Muñoz J.C. (2019). Copper and zinc in rhizospheric soil of wild plants growing in long-term acid vineyard soils. Insights on availability and metal remediation, *Science of The Total Environment*, Volume 672.

Coltorti M., Università degli Studi di Siena (1996). *Terrazzi alluvionali climatici*, *Atlante dei tipi geografici*, Istituto Geografico Militare, 154-157

Corti G., Agnelli A. & F.C. Ugolini (1997). Release of Al by hydroxy-interlayered vermiculite and hydroxy-interlayered smectite during determination of cation exchange capacity in fine earth and rock fragments fractions, *European Journal of Soil Science*, 48, 249-262

Domingo J.L., Rovira, Virgili University School of Medicine (2003). Aluminium toxicology, *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*, 160-166

Dotaniya M.L. & Meena V., National Academy of Sciences, India (2015). *Rhizosphere Effect on Nutrient Availability in Soil and Its Uptake by Plants: A Review*, 1-12

Hinsinger, P., (2001). Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root induced chemical changes: a review. *Plant Soil* 237, 173–195.

Hinsinger P., Gobran G.R., Gregory P.J., Wenzel W.W., (2005). Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *New Phytologist* 168: 293–303.

Lynch J.M., (1990). Introduction: some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. In: Lynch, J.M. (Ed), *The Rhizosphere*. Wiley, Chichester, West

Nihorimbere V., Ongena M., Smargiassi M. & Thonart P., «Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health», *BASE [En ligne]*, numéro 2, Volume 15 (2011), 327-337

Porfiri O. (2013). *I frumenti: Dalle varietà al campo*. Pentàgora. ISBN: 9788898187140 13-39.

R core team (2013). *R: a language and environment for statistical computing*. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. ISBN3-900051-07-0.<http://www.R-project.org/>

Ranciaro R. (2017). Ipotesi sull'evoluzione geomorfologica pleistocenico-olocenica dell'area ad ovest della dorsale di Cingoli tra i fiumi Chienti ed Esino, *Geologia dell'Ambiente* n. 1/2017, 17-26

Richter D D., Fimmen. R., Jackson J., (2007). *The Rhizosphere and Soil Formation*, Academic Press, ISBN 9780120887750, 160-179.

Saia S., Università degli Studi di Palermo (2011). *Focus micorrize: una preziosa simbiosi. Agriscilia. Project: Dissemination in Agriculture and Food - Divulgazione in agricoltura e alimenti*. 30-33

Sathyaseelan N., Central Plantation Crops Research Institute, Karthika K S National Bureau of Soil Survey and Land Use Planning, Regional Centre, Bangalore (2019). Aluminium toxicity in soil and plants, *Soil Health/Fertility Management: Knowledge*, 15-19

Schoeneberger P.J., Wysoki D.A., Benham E.C., Broderson W.D., (1998). Field book for describing and sampling soils. Natural Resources Conservation Service, USDA, National Soil Survey Center, Lincoln, 185

Shen J., Tang C., Rengel Z. & Zhang F. (2003). Root-induced acidification and excess cation uptake by N₂-fixing *Lupinus albus* grown in phosphorus-deficient soil, *Plant and Soil* 260: 69–77

T.A Sokolova (2014). Specificity of Soil Properties in the Rhizosphere: Analysis of Literature Data, *Specificity of soil properties in the rhizosphere*, 968-976

Vandenbergh J. VU University Amsterdam, Dept. of Earth Sciences (2015). River terraces as a response to climatic forcing: Formation processes, sedimentary characteristics and sites for human occupation, *Quaternary International* 370, 3-11