

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA  
Dipartimento Agronomia Animali Alimenti  
Risorse Naturali e Ambiente

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Agrarie

*Suoli sottoposti a tecniche di agricoltura  
conservativa: studio dei parametri  
chimico-biologici*

Relatore  
Dott. *Paolo Carletti*  
Correlatore  
Prof. *Serenella Nardi*

Laureando  
*Giovanni Battista  
Conselvan*  
Matricola n. 1035789

ANNO ACCADEMICO 2012 – 2013



“Il bue è lento, ma la terra ha pazienza”  
Antico proverbio cinese



## INDICE

RIASSUNTO.....	7
<i>Abstract</i> .....	8
1. INTRODUZIONE.....	9
1.1. IL SUOLO.....	9
1.1.1. Caratteristiche generali.....	9
1.1.2. Importanza del suolo e della sostanza organica per l'agricoltura.....	10
1.2. L'AGRICOLTURA CONVENZIONALE.....	13
1.2.1. Conseguenze negative dell'agricoltura convenzionale.....	15
1.2.2. Conseguenze negative sul suolo.....	16
1.3. ALTERNATIVE ALL'AGRICOLTURA CONVENZIONALE.....	17
1.3.1 L'agricoltura conservativa.....	18
1.4 IL PROGETTO MONITAMB 214/I.....	21
1.4.1 AZIONE 1-“Adozione di tecniche di agricoltura conservativa”.....	22
1.4.2 AZIONE 2-“Copertura continuativa del suolo”.....	24
1.4.3 Analisi dei parametri chimico-biologici del suolo.....	25
2. SCOPO.....	29
3. MATERIALI E METODI.....	31
3.1 DISEGNO SPERIMENTALE.....	31
3.2. CAMPIONAMENTI.....	33
3.3. ANALISI DEL CARBONIO E AZOTO ORGANICO.....	34
3.4. ANALISI DEL CARBONIO DELLA BIOMASSA.....	36
3.5. ANALISI DELL'AZOTO DELLA BIOMASSA.....	37
3.6. ATTIVITA' ENZIMATICHE.....	38
3.7. ANALISI STATISTICA.....	39
4. RISULTATI E DISCUSSIONE.....	41
4.1. CARBONIO ED AZOTO ORGANICO.....	41
4.2. ATTIVITA' ENZIMATICHE.....	46
4.3. CARBONIO E AZOTO DELLA BIOMASSA MICROBICA.....	49
5. CONCLUSIONI.....	53
6. BIBLIOGRAFIA.....	55



## RIASSUNTO

Negli ultimi anni l'adozione di tecniche di agricoltura convenzionale sta portando a una perdita di fertilità dei terreni agricoli, a causa della riduzione di sostanza organica con conseguente aumento delle emissioni di gas serra. L'agricoltura conservativa, definita anche Agricoltura Blu, si presenta come una valida alternativa all'agricoltura convenzionale. Grazie alle sue tecniche di semina su sodo, copertura continuativa del suolo e adozione di opportune rotazione colturali e cover crops, essa promuove la struttura e la qualità del terreno e aumenta il contenuto di sostanza organica. Il Programma di Sviluppo Rurale (PSR) 2007-2013, attraverso l'Azione 1 (adozione di tecniche di agricoltura conservativa) e l'Azione 2 (copertura continuativa del suolo) della misura 214i, favorisce ed incentiva le pratiche di agricoltura blu. Veneto Agricoltura con il progetto MONITAMB 214I persegue l'obiettivo di confrontare terreni soggetti alle Azioni 1 e 2 della sottomisura 214/I con suoli gestiti invece con le pratiche convenzionali, nelle sue tre principali aziende pilota-dimostrative di pianura (Sasse Rami, Diana e Vallevicchia). In questo ambito di confronto, la presente tesi ha avuto come oggetto l'analisi di alcuni parametri chimico-biologici del suolo (il carbonio e l'azoto organico, il carbonio e l'azoto della biomassa e le attività FDA-idrolasica e  $\beta$ -glucosidasica). I dati ottenuti hanno evidenziato un miglioramento della fertilità edafica dei terreni gestiti in modo conservativo, che però non risulta significativa in tutte le condizioni studiate. In particolare le attività enzimatiche sono stati i parametri che meglio hanno risposto al cambiamento di gestione agricola. In controtendenza, invece, i dati relativi all'azoto organico hanno registrato un calo dal 2011 al 2013. I dati dell'azoto microbico non hanno presentato una sostanziale differenza fra le due gestioni agronomiche. In generale, sembra che gli effetti della gestione dipendano da un insieme complesso di variabili agronomiche ed ambientali, che saranno oggetto di uno studio protratto nel tempo, come previsto dal progetto.

## **Abstract**

*During last years, the adoption of conventional agriculture techniques is leading to soil fertility decrease, due to the reduction of organic matter with following increase in greenhouse gas emissions. Conservation agriculture, also called Blue Agriculture, is considered as an efficient alternative to conventional agriculture. Thanks to sod seeding, permanent soil cover, crop rotation and cover crops adoption, conservation agriculture enhances soil quality, soil structure and increases soil organic matter content. The Regional Development Plan (PSR) 2007-2013 encourages blue agricultural practices, through the adoption of the Action 1 (conservation agricultural techniques) and the Action 2 (permanent soil cover) of the sub-measure 214i. With the MONITAMB 214/I project, Veneto Agricoltura aims to compare soils cultivated with Action 1 and 2, with soils cultivated with conventional agriculture techniques. These soils are located in three land farms of Veneto Agricoltura. This thesis focuses on the analysis of some chemical-biological parameters (organic carbon, organic nitrogen, biomass carbon, biomass nitrogen and the FDA-hydrolase and  $\beta$ -glucosidase enzyme activities). The results showed an increase in edaphic fertility of soils cultivated with conservation techniques, which, however, was not statistically significant in all the studied soils. In particular, enzyme activities were the most sensitive parameters to the change in the agricultural management. In contrast, total organic nitrogen data showed a decrease from 2011 to 2013. Biomass nitrogen results didn't show a significant difference between the two agronomic managements. In general, data suggest that the effect of soil management depends on a complex array of agricultural and environmental variables, which will be the subject of a protracted study, as required by the project.*

# 1. INTRODUZIONE

## 1.1. IL SUOLO

### 1.1.1. Caratteristiche generali

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). Il lungo tempo richiesto è indicazione di quanto sia prezioso il suolo (Ciccarese, 2012).

Il suolo è formato da tre fasi:

- Fase solida: composta da una componente inorganica (frammenti di rocce, materiali amorfi, minerali primari e secondari) ed una organica (sostanze umiche, residui vegetali ed animali, biomassa);
- Fase liquida: costituita dall'acqua in cui sono disciolte sostanze organiche, inorganiche e colloidali;
- Fase gassosa: formata da una miscela di gas e vapori con un elevato contenuto di vapore acqueo e anidride carbonica (Violante, 2002).

Un suolo di buona qualità è composto per un 50% dalla fase solida (di cui 45% di minerali, 5% di sostanza organica), un 25% dalla fase liquida e un 25% dalla fase gassosa (Call and Extension, 1999). Ovviamente però, se il suolo è sottoposto a lavorazioni agricole, tali proporzioni non sono più rispettate. Per esempio nei suoli agricoli la concentrazione della sostanza organica risulta spesso essere inferiore al 2% (Mohammadi *et al.*, 2011b).

Grazie alle sue caratteristiche chimiche e fisiche il suolo garantisce la crescita delle piante. Le caratteristiche fisiche assicurano: le condizioni idonee a sostenere le differenti entità vegetali; l'ambiente adatto per lo svolgimento delle attività fisiologiche delle radici; i caratteri indispensabili a trattenere e a garantire la presenza di ossigeno. Le caratteristiche chimiche invece definiscono le concentrazioni di nutrienti e la disponibilità di questi per le piante (Violante, 2002).

In tutto questo gioca un ruolo molto importante la sostanza organica, in quanto essa va ad influire direttamente sulle caratteristiche del terreno.

### **1.1.2. Importanza del suolo e della sostanza organica per l'agricoltura**

Il suolo costituisce un sostegno fisico per le piante, essendo un punto di ancoraggio per le radici, e una fonte di elementi nutritivi. La quantità e disponibilità degli elementi nutritivi è regolata e influenzata dalla quantità di sostanza organica presente nel terreno.

La sostanza organica è costituita da tre importanti componenti in stretta correlazione fra loro:

- Residui vegetali e animali decomposti o in fase di decomposizione. I residui vegetali rappresentano il maggior input di sostanza organica al suolo, essendo formati da germogli, foglie, radici, residui vegetali, erbacce, ecc.. Essi costituiscono il 10% della sostanza organica (Violante, 2002).
- Biomassa di organismi viventi. Formata per il 60-90% dalla microflora (batteri, funghi, alghe e Attinomiceti) e per il rimanente 40-10% da lombrichi, macrofauna, mesofauna e microfauna. La biomassa rappresenta solamente il 5% della sostanza organica del suolo, ma ricopre l'importante ruolo di trasformazione dei residui vegetali e animali in sostanze umiche (Nannipieri, 1993; Violante, 2002).
- Sostanze umiche. Materiali di natura complessa e con una struttura chimica non ancora ben definita. Sono dei prodotti di neogenesi, formati attraverso dei processi di risintesi e umificazione dei composti molecolari e ionici, ottenuti dalla degradazione microbica dei residui vegetali ed animali. Presentano un'importante caratteristica colloidale e capacità di adsorbimento di molecole e ioni (Violante, 2002). Le sostanze umiche costituiscono 40-60% (Bot and Benites, 2005) della sostanza organica, e da esse dipendono la fertilità del suolo e la capacità di trattenere l'acqua (Ciccarese, 2012). Infatti, attraverso il processo di mineralizzazione delle sostanze umiche, vi è la liberazione di elementi nutritivi per le piante. Tali elementi sono molecole

inorganiche semplici ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) e ioni ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) (Violante, 2002). La velocità di mineralizzazione dipende dalle condizioni ambientali e dalle caratteristiche del suolo (Mohammadi *et al.*, 2011a).

Il deposito di 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 organo-minerali;
- 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.*, 2011b).

La sostanza organica è determinante per la fertilità del terreno, in quanto ha una diretta influenza sulle caratteristiche fisiche e chimiche del terreno (Dell'Agnola and Nardi, 1993).

Fra le caratteristiche fisiche troviamo la formazione di aggregati, la ritenzione idrica, la temperatura e la densità apparente.

L'aggregazione favorisce l'aumento della porosità del terreno, aumentando il ricambio di aria tellurica con l'atmosfera, favorendo il drenaggio e lo sviluppo dell'apparato radicale (DeNobili and Maggioni, 1993a).

La ritenzione idrica è favorita da un aumento della porosità, come già detto, ma anche da una caratteristica intrinseca della sostanza organica. I polisaccaridi e le sostanze umiche, grazie all'elevato numero di gruppi funzionali presenti sulle molecole, possono trattenere fino a quattro volte il loro peso d'acqua. Un aumento dell'acqua trattenuta determina un incremento della temperatura del terreno e una diminuzione degli sbalzi termici. Ciò garantisce un ambiente ideale per la crescita delle radici delle piante (DeNobili and Maggioni, 1993a).

La densità apparente (data dal rapporto fra il peso della frazione solida del suolo e il volume totale di questo) è fortemente condizionata dalla quantità di sostanza organica presente (DeNobili and Maggioni, 1993a). Basti

pensare che con una piccola variazione percentuale di sostanza organica, dall'1% al 3%, vi è una diminuzione della densità apparente del 50% (Alexander, 1989). Questo, quindi, comporta un aumento della porosità del suolo, con un conseguente incremento dell'aria tellurica e dell'acqua trattenuta (DeNobili and Maggioni, 1993a; Mohammadi *et al.*, 2011b).

La sostanza organica ricopre un ruolo molto importante anche nelle caratteristiche chimiche del terreno, essendo la frazione più reattiva dal punto di vista chimico. Questo è determinato dalle particolari caratteristiche dei suoi componenti. Fra le caratteristiche chimiche influenzate dalla s.o. troviamo lo scambio cationico, l'acidificazione del terreno, la complessazione dei metalli e il potenziale di ossidoriduzione (DeNobili and Maggioni, 1993b).

La capacità di scambio cationico (c.s.c.) indica la quantità di cationi trattenuti in forma scambiabile da 100 gr. di suolo secco. Questo indice ci informa quindi sugli elementi nutritivi di riserva prontamente disponibili, ed è il principale fattore di fertilità del terreno. La sostanza organica influisce per un 50% sulla capacità di scambio cationico, avendo valori compresi fra 100 e 200 mq/100gr di carbonio organico. Tali valori dipendono molto dalla latitudine, dal clima e dal tipo di suolo. Per i mollisuoli la c.s.c. della sostanza organica è di circa 250mq/100gr di carbonio organico, mentre per gli spodosuoli, caratteristici di zone climatiche più fredde, il contributo è di 150mq/100gr di carbonio organico (Stevenson, 1978).

L'acidificazione del terreno avviene attraverso la respirazione della biomassa microbica. L'anidride carbonica emessa entra in soluzione nel terreno, liberando idrogenioni e saturando i siti di scambio della sostanza organica e delle argille. Tale processo porta a una diminuzione del pH basico del terreno, instaurando una reazione acida. Questa reazione è inoltre accentuata dalle radici delle piante che emettono essudati nel terreno (composti principalmente da acidi organici). Gli acidi organici, sottoprodotti dei microrganismi e sintetizzati *ex novo* dagli stessi, solubilizzano i silicati, rendendo assimilabili i microelementi nutritivi che li costituiscono. Questo processo di acidificazione aumenta quindi la fertilità

del suolo, e velocizza i processi di alterazione della componente inorganica del terreno (DeNobili and Maggioni, 1993b).

La sostanza organica è molto importante nell'assorbimento di microelementi nutritivi quali Fe, Zn, Cu, Ni, Co e Mn. Tali elementi, se non sono legati alla sostanza organica, si trovano in una forma nel terreno che non è facilmente assorbibile dalle piante, e possono essere anche soggetti a lisciviazione. Quindi le sostanze umiche, e altri componenti di natura organica (polisaccaridi acidi, acidi uronici, amminizuccheri e i siderofori) formano un complesso molecolare con il metallo presente. Tale complesso è chiamato chelato, presenta un'elevata stabilità, e facilita l'assorbimento del metallo da parte della pianta (De Nobili, Maggioni, 1993b; Organic Soil Technology, 2013).

La sostanza organica infine influisce anche sui processi di ossidoriduzione del suolo. Favorisce i processi di ossidazione, poiché conferisce al suolo una buona struttura e porosità, permettendo l'aereazione e il drenaggio, e impedendo il crearsi di condizioni asfittiche (DeNobili and Maggioni, 1993b).

Tutti questi aspetti dimostrano quanto il suolo, e in particolar modo la sostanza organica, siano importanti per l'agricoltura, essendo elementi essenziali di fertilità. Per tale motivo la qualità e la struttura del suolo dovrebbero essere conservate il più possibile.

## **1.2. L'AGRICOLTURA CONVENZIONALE**

L'agricoltura è l'arte e la pratica di coltivare il suolo allo scopo di ottenerne prodotti utili all'alimentazione dell'uomo e degli animali e materie prime indispensabili per numerose industrie (Treccani, 2013a). 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).

Purtroppo l'agricoltura odierna, definita 'agricoltura convenzionale', non sempre persegue la sostenibilità ambientale come principale obiettivo.

Questa agricoltura riprende i principi introdotti nei primi anni '50 con la Rivoluzione Verde. La Rivoluzione Verde introdusse un nuovo approccio alla produzione agricola, con lo scopo di incrementare le produzioni agricole mondiali. Furono, perciò, introdotte nuove varietà ibride, le quali si differenziavano dalle vecchie per un aumento del rendimento del raccolto, una maggiore longevità alla conservazione, una buona attitudine alla raccolta meccanizzata e infine un'ottima risposta alle concimazioni chimiche. Ci fu un'estesa meccanizzazione delle operazioni di lavorazione del terreno, di raccolto e lavorazione del prodotto. Vi fu un massiccio utilizzo dei fertilizzanti chimici, per garantire alle piante la disponibilità immediata di tutti gli elementi nutritivi necessari alla crescita. In fine furono sviluppati e diffusi nuovi prodotti fitosanitari ad ampio spettro d'azione, che, grazie al controllo delle malerbe e dei parassiti (insetti, funghi, batteri, virus,...), permisero un ulteriore miglioramento della produttività dei raccolti (Daclom, 2000).

Per agricoltura convenzionale oggi si intende qualsiasi tipo di coltivazione che lascia meno del 15% dei residui colturali in campo (CTIC, 2004). Il letto di semina è preparato con una prima aratura seguita da lavorazioni di affinamento degli aggregati del suolo, in modo da renderlo libero dai residui colturali e facilitare così la semina (Aina, 2011).

L'agricoltura convenzionale è principalmente rappresentata dall'agricoltura intensiva, è caratterizzata da un elevato input di capitali e lavoro meccanizzato per l'applicazione di pesticidi e fertilizzanti chimici, lavorazioni del terreno e raccolto, al fine di garantire un'elevata produzione (BBC, 2013; Britannica, 2013).

Nel 2010 in Europa l'agricoltura convenzionale interessava il 74% delle terre arabili, mentre in Italia il 90% (Eurostat, 2013). Nonostante la sua ancora ampia diffusione, questo tipo di agricoltura presenta differenti aspetti negativi che stanno indirizzando sempre più agricoltori ad adottare sistemi di coltivazione ecosostenibili.

### **1.2.1. Conseguenze negative dell'agricoltura convenzionale**

L'agricoltura convenzionale è principalmente caratterizzata dalla monocoltura, che consiste nella coltivazione per più anni della stessa specie o varietà sulla medesima area (Treccani, 2013b). Questa tecnica colturale prevede l'utilizzo di varietà ibride selezionate per l'elevata produzione, l'uniformità di crescita e di raccolto, e la buona risposta alle concimazioni chimiche.

Negli anni l'uso degli ibridi ha portato a un costante impoverimento della biodiversità. Prima della Rivoluzione Verde le specie coltivate erano più di 6000; ora sono circa 200 e il 70% della produzione agricola mondiale è costituito da mais, frumento e riso (Tonelli *et al.*, 2010).

Gli ibridi coltivati hanno un'ottima risposta alle concimazioni chimiche, di cui se ne fa un largo uso dagli anni '50. L'uso di fertilizzanti è passato da 14 a 140 milioni di tonnellate dal 1950 a oggi (Ciccarese, 2012). Il problema è che solamente il 50% dei fertilizzanti distribuiti è assorbito dalle culture; il resto è perso per lisciviazione, scorrimento superficiale e volatilizzazione. L'azoto e il fosforo che sono lisciviati dai campi coltivati, finiscono nelle falde e da qui trasportati ai differenti ambienti acquatici. Questi elementi nutritivi causano un'iperproliferazione delle alghe e dei plancton, limitando gli scambi gassosi fra acqua e atmosfera. Quando poi le alghe muoiono, diminuisce la produzione di ossigeno e attraverso i processi di fermentazione sono liberate nell'acqua sostanze tossiche per i pesci (esalazioni di ammoniaca, metano e acido solforico) (Ciccarese, 2012). Inoltre i nitrati presenti nell'acqua costituiscono una fonte di pericolo anche per gli animali, perché sono ridotti in nitriti nel tratto gastrointestinale, e possono poi trasformarsi in composti cancerogeni quando si legano con le ammine (Spiegelhalder *et al.*, 1976).

L'agricoltura convenzionale prevede inoltre un largo uso di pesticidi per il controllo delle malerbe e dei parassiti. In Italia ne vengono utilizzate 7070 tonnellate all'anno, pari al 33% della totale quantità distribuita in Europa. L'ampio spettro di pesticidi distribuiti sulle culture, non solo combatte i patogeni dannosi, ma uccide anche gli antagonisti, utili per la lotta biologica. Inoltre è stata rilevata un'alta quantità di residui chimici sui

prodotti finiti: nel 45,7% delle mele analizzate, nel 49,8% delle pere, nel 47,16% delle fragole, nel 40,6% delle pesche, nel 38,6% del vino e nel 26% dell'olio di oliva analizzati (Ciccarese, 2012).

Effetti negativi sono stati infine riscontrati anche sul terreno, a causa delle pesanti lavorazioni.

### **1.2.2. Conseguenze negative sul suolo**

Le tradizionali lavorazioni meccaniche per la preparazione del letto di semina, e la mancata copertura del suolo con i residui colturali, sono la principale causa della diminuzione della qualità del suolo. L'erosione, la mineralizzazione e l'ossidazione del carbonio organico (SOC) ne sono le principali conseguenze (Lal and Kimble, 1997).

Dopo i lavori di preparazione del terreno o quando questo non è coperto da vegetazione, il nudo suolo è soggetto all'erosione da parte degli agenti atmosferici, quali acqua e vento. L'erosione, attraverso lo sfaldamento degli aggregati strutturali e il ruscellamento superficiale, determina la perdita di materiale dagli strati più superficiali (DeNobili and Maggioni, 1993a). Questo è un grave problema, poiché una parte di SOC viene trasportata via e depositata negli ecosistemi acquatici, e una parte viene mineralizzata attraverso processi di ossidazione (Lal, 2004a). Le perdite di SOC dai terreni agricoli si aggirano sui 30-60 Mg/ha, valori che variano in relazione al SOC presente nel terreno, il clima, e il sistema di coltivazione (Lal, 2004a). La parte di SOC che è mineralizzata, è dispersa nell'atmosfera sotto forma di CO<sub>2</sub>, andando a contribuire all'aumento dell'effetto serra. Attraverso l'ossidazione del carbonio organico dal 1850 al 1998 sono stati immessi nell'atmosfera 78 ± 12 Gt di CO<sub>2</sub> (Lal, 2004b). Quindi attraverso i lavori per la preparazione del letto di semina vi è una diminuzione della sostanza organica, tanto che i terreni lavorati secondo l'agricoltura convenzionale hanno una quantità di sostanza organica inferiore al 2%. Questo determina una diminuzione della fertilità, della ritenzione idrica, dell'aggregazione strutturale del terreno e un decremento della flora e fauna tellurica. Gajda *et al.* (2013) hanno dimostrato che l'attività biologica

in un suolo lavorato convenzionalmente era inferiore del 15-40% rispetto a uno lavorato in modo conservativo.

### **1.3. ALTERNATIVE ALL'AGRICOLTURA CONVENZIONALE**

In alternativa all'agricoltura convenzionale, sempre più agricoltori stanno adottando tipi di agricoltura ecosostenibili, atti ad un maggior rispetto dell'ambiente: l'agricoltura biologica, l'agricoltura naturale, l'agricoltura sinergica e l'agricoltura conservativa.

L'agricoltura biologica, regolata dal Reg. (CE) 834/2007 (2007), prevede l'utilizzo di pratiche culturali che favoriscono la salvaguardia e l'accrescimento della sostanza organica nel suolo, che diminuiscono l'erosione superficiale e che aumentano la componente edafica terricola. La fertilità del terreno è mantenuta grazie alle concimazioni naturali di origine animale o di materia organica, alle rotazioni con leguminose e al sovescio delle cover crops. La protezione delle colture da danni di parassiti è garantita dall'utilizzo di nemici naturali, di varietà e specie di piante resistenti, dalla rotazione delle colture e dalle tecniche colturali. Quindi tutte le pratiche colturali biologiche sono finalizzate alla salvaguardia e alla difesa del suolo e dell'ambiente. Nel 2010 in tutto il mondo erano coltivati 37 milioni di ha secondo l'agricoltura biologica, di cui 10 milioni di ha in Europa, e poco più di un milione di ha in Italia (Willer *et al.*, 2012).

L'agricoltura naturale, definita dal suo stesso fondatore Masanobu Fukuoka "l'agricoltura del non-fare", consiste nel condurre il sistema agricolo-ambiente seconda natura: non sono eseguite potature, concimazioni chimiche, trattamenti fitosanitari e lavorazione del terreno. Il lavoro dell'agricoltore si esplica nella semina e nel raccolto (Fukuoka and Pucci, 2003). Dopo 5-7 anni di assestamento dell'intero agroecosistema, le produzioni ottenute sono equivalenti se non superiori a quelle ottenute con l'agricoltura convenzionale. Nelle migliori annate, Fukuoka aveva una produzione di riso di 90q/ha, mentre gli altri contadini raggiungevano quantità massime di 50q/ha (Fukuoka and Pucci, 2003). Questo sistema

agricolo rimane comunque una piccola realtà, in quanto è richiesta una elevata manodopera e i lavori meccanizzati sono di difficile applicazione.

L'agricoltura sinergica, elaborata dall'agricoltrice spagnola Emilia Hazelip basandosi sulle teorie di Masanobu Fukuoka, è caratterizzata da pratiche agricole atte alla conservazione del terreno, in modo tale da incrementare la sostanza organica, la fertilità e la biodiversità degli animali tellurici. Questi obiettivi sono perseguiti grazie all'attuazione di quattro principi: la fertilizzazione del suolo tramite copertura organica permanente; coltivazioni di specie annuali con specie complementari; l'assenza di lavorazioni del suolo; il non compattamento del terreno ([www.agricolturasinergica.it](http://www.agricolturasinergica.it), 2013). Anche questo tipo di agricoltura è riconducibile solo alle piccole realtà contadine, in quanto per evitare il compattamento del terreno gli appezzamenti sono suddivisi in piccole aiuole di 30x50cm, e questa organizzazione impedisce l'entrata in campo di grandi macchinari utili per i processi di raccolta.

Tra le alternative all'agricoltura convenzionale l'agricoltura conservativa sembra rappresentare l'unica valida su macro scala a livello mondiale, tanto che i numerosi programmi di sviluppo rurale (europei e mondiali) hanno misure a suo sostegno.

### **1.3.1 L'agricoltura conservativa**

L'agricoltura conservativa, definita anche "agricoltura blu", è l'insieme delle pratiche agricole atte alla conservazione e al miglioramento dell'ambiente e delle risorse naturali (suolo, acqua, risorse biologiche) (FAO, 2012). Nel 2008 nel mondo 105.863.000 ha di terreno (corrispondenti solo allo 0,07% delle terre agricole mondiali) erano coltivati secondo l'agricoltura conservativa, di cui l'84,6% distribuiti fra Nord e Sud America e in Europa 1.50.000 ha (Derpsch and Theodor, 2008).

L'agricoltura conservativa si basa su tre principi fondamentali:

1. Semina su sodo o su terreno minimamente lavorato in cui non è avvenuta l'inversione degli strati del terreno. Il lavoro di aratura è

affidato alla flora e fauna terricola (i lombrichi per esempio) le quali conservano e migliorano la struttura biologica del terreno;

2. Costante copertura del suolo con i residui colturali o le cover crops, colture intercalari fra quelle principali. Le cover crops possono essere azoto-fissatrici, ristoratrici della porosità del terreno o piante repellenti per determinati parassiti;
3. Rotazione delle colture, quindi nello stesso appezzamento non è mai presente per due anni consecutivi la medesima coltura. Gli apparati radicali delle differenti piante possono esplorare diverse profondità del terreno, usufruendo dei vari elementi nutritivi presenti nei differenti strati. Inoltre le varie colture presenti nella rotazione portano a una diversificazione della flora e fauna terricola, poiché le sostanze organiche rilasciate dalle radici attirano diversi tipi di batteri e funghi, che giocano un importante ruolo nella trasformazione delle sostanze presenti nel terreno in nutrienti disponibili per le piante (FAO, 2012).

Per il controllo delle erbe infestanti è utilizzato un tipo di difesa integrata. Alla base del controllo vi è la rotazione delle colture, infatti interrompono le infezioni tipiche delle monocolture e combattono le malerbe attraverso determinate interazioni chimico-fisiche fra le piante (per esempio l'allelopatia) (Catizone and Zanin, 2002; FAO, 2012). L'uso di erbicidi è previsto durante i primi anni di agricoltura conservativa quando le infestazioni causano una perdita di raccolto non sostenibile; questo vale anche per il controllo dei parassiti e l'utilizzo di fitofarmaci (FAO, 2012).

### **1.3.1.1 Conseguenze positive dell'agricoltura conservativa**

L'agricoltura conservativa presenta numerosi vantaggi rispetto alla convenzionale.

Da un punto di vista agronomico vi è un miglioramento delle caratteristiche del terreno. Su un suolo non lavorato per anni (dove non è avvenuta l'inversione degli strati), si forma uno strato di compost dovuto all'accumularsi dei residui colturali. Tale strato stabilizza il contenuto di

umidità e la temperatura dei primi centimetri di terreno. Questa zona diventa un habitat ideale per la flora e la fauna terricola, che intervengono nel processo di decomposizione dei residui colturali trasformandoli in sostanza organica. Gajda *et al.* (2013) hanno dimostrato che il carbonio e l'azoto della biomassa microbica di terreni lavorati per 10 anni in modo conservativo, erano superiori del 28% e 22% rispetto a terreni lavorati in modo convenzionale.

La sostanza organica (SOC) grazie alle sue proprietà, contribuisce a mantenere la struttura fisica del suolo, aumenta la capacità di trattenere l'acqua e gli elementi nutritivi (FAO, 2012; Violante, 2002). La concentrazione di SOC in un terreno lavorato in modo conservativo risulta essere 1,8 volte più alta rispetto a un terreno lavorato in modo convenzionale (Dendooven *et al.*, 2012).

Il vantaggio agronomico si concretizza quindi nella formazione di un ambiente ottimale per la crescita delle piante coltivate (FAO, 2012).

Da un punto di vista ambientale vi è una riduzione dell'erosione del suolo, una maggior infiltrazione di acqua nel terreno, un miglioramento della qualità dell'aria dovuto a una minor emissione di CO<sub>2</sub> e di altri composti costituenti il "gas serra".

I residui colturali annullano l'energia cinetica delle gocce di pioggia che cadono a terra impedendo che queste causino l'effetto "splash" (sollevamento di particelle di terreno causato dall'impatto della goccia col suolo) e il conseguente degrado dello stato superficiale del suolo. Viene quindi annullato l'effetto di erosione laminare causato dallo scorrimento dell'acqua sulla superficie del suolo. Questo processo determina una maggior infiltrazione dell'acqua, quindi una maggior disponibilità idrica per le colture e un arricchimento delle falde acquifere. I residui colturali fanno sì che diminuisca anche l'erosione eolica, riducendo la velocità del vento e formando uno strato protettivo sul terreno (FAO, 2012; Giardini, 2002).

In un suolo meno esposto agli agenti atmosferici, vi è una minor mineralizzazione della sostanza organica e quindi una minor liberazione di CO<sub>2</sub> e gas serra nell'atmosfera. È stato dimostrato che grazie all'agricoltura

conservativa vi è una riduzione del 24% nelle emissioni di CO<sub>2</sub> (Al-Kaisi and Yin, 2005).

Da un punto di vista economico l'adozione dell'agricoltura conservativa consente una riduzione del lavoro a seguito di una mancata preparazione del letto di semina e a una diminuzione degli interventi di applicazione di prodotti fitosanitari per la difesa delle colture. I costi risultano ridotti del 30-40% ,per il minor consumo di carburante, per il contenuto utilizzo e conseguente manutenzione dei macchinari e una riduzione della manodopera. Tutto questo si riassume in una maggior efficienza del sistema operativo, essendo gli output maggiori degli input (FAO, 2012).

Tuttavia alcuni svantaggi si presentano nella fase iniziale dell'adozione dell'agricoltura conservativa. Ingenti investimenti sono previsti per l'acquisto di macchinari specializzati e per la formazione professionale degli operatori. Inoltre durante i primi anni di assestamento del sistema agroambientale le produzioni agricole possono essere inferiori rispetto alla media (FAO, 2012).

#### **1.4 IL PROGETTO MONITAMB 214/I**

Nell'ottica di applicazione dell'agricoltura conservativa si inserisce il progetto MONITAMB 214/I avviato da Veneto Agricoltura..

La Regione Veneto, attraverso il Programma di Sviluppo Rurale (PSR) 2007-2013, ha avviato la misura 214 "Pagamenti agro ambientali", sottomisura I "Gestione agrocompatibile delle superfici agricole", che prevede il riconoscimento di aiuti economici agli agricoltori che impiegano metodi di utilizzo del suolo volti alla tutela dell'ambiente naturale, del territorio, del paesaggio e delle principali risorse naturali PSR Veneto 2007-2013.

L'ente regionale Veneto Agricoltura nel 2010 ha deciso di aderire a tale sottomisura con le sue tre aziende pilota-dimostrative di pianura (Sasse Rami, Diana e Vallevicchia), avviando, fin dall'inizio un Programma di supporto alle aziende aderenti alla Sottomisura, che prevedeva l'applicazione dell'Azione 1 (adozione di tecniche di agricoltura

conservativa) e dell’Azione 2 (copertura continuativa del suolo) della sottomisura 214/I sul 50% della SAU (Superficie Agraria Utile) delle tre aziende (circa 300ha). Solo successivamente, con il progetto MONITAMB 214I, finanziato nel 2012 dalla Regione Veneto mediante la misura 511 di assistenza tecnica, si è avviato un programma di monitoraggio più approfondito su alcuni appezzamenti denominati ‘di lungo periodo’ per ciascuna delle tre aziende, con l’analisi dei principali parametri agronomici, della qualità del suolo e delle acque.

In linea generale, nelle tre aziende si persegue l’obiettivo di confrontare terreni condotti secondo l’Azione 1 e l’Azione 2 con suoli gestiti secondo pratiche di agricoltura convenzionale. Dal 2011 sono state predisposte numerose coppie di appezzamenti sufficientemente omogenei e vicini (appezzamenti di lungo periodo) con il fine di rendere significativo il confronto. Per ogni coppia, un campo è stato lavorato secondo l’Azione 1 o l’Azione 2, mentre l’altro secondo le tecniche convenzionali.

Il progetto MONITAMB 214/I ha una durata di tre anni, a partire dalla primavera del 2012, in quanto gli effetti dell’agricoltura conservativa non sono mai evidenti nel breve periodo. Per ogni anno è prevista la ripetizione dei campionamenti e delle analisi. Questa tesi è stata svolta in collaborazione con la dott.ssa Francesca Chiarini di Veneto Agricoltura, coordinatrice del progetto MONITAMB 214/I, ed il dott. Lorenzo Furlan, dirigente del Settore Ricerca Agraria di Veneto Agricoltura.

#### **1.4.1 AZIONE 1–“Adozione di tecniche di agricoltura conservativa”**

L’Azione 1 della sottomisura 214/I prevede l’adozione di tecniche colturali tipiche dell’agricoltura conservativa, in quanto permettono di preservare la struttura naturale e la qualità del terreno, aumentandone il contenuto di sostanza organica, diminuendone l’erosione e l’emissione di gas serra e anidride carbonica.

Gli impegni che devono essere rispettati dagli agricoltori che applicano tale sottomisura sono:

1. Adottare le tecniche di agricoltura conservativa su una superficie pari ad almeno il 25% della superficie seminativa aziendale;
2. Applicare un modello di rotazione delle colture che si in accordo con i criteri dell'agricoltura conservativa. È quindi prevista l'alternanza di cereali autunno/vernini o colza/altre crucifere, mais e soia. È vietata la monosuccessione di mais sul medesimo appezzamento per due anni consecutivi;
3. Rispettare il divieto di inversione degli strati del profilo attivo del terreno;
4. Adottare esclusivamente la semina su sodo (sod seeding), deponendo il seme nel terreno senza alterarne la struttura preesistente, salvo una fascia ristretta avente larghezza di 8-10cm e una profondità di 6-8cm in corrispondenza di ogni fila di semina;
5. Trinciare i residui colturali del mais;
6. Utilizzo dei residui colturali e delle stoppie delle colture principali (mais, soia, frumento, colza, ...) per la creazione di uno strato protettivo del suolo, secondo la tecnica del *muching*;
7. Garantire a copertura continuativa del suolo durante tutto l'arco dell'anno, tramite la semina di erbai primaverili-estivi oppure di cover crops autunno-vernine, successivamente alla raccolta della coltura seminativa principale;
8. Somministrare azoto e fosforo in dosi frazionate e localizzate, durante la stagione vegetativa della coltura principale;
9. Frazionare e/o localizzare gli interventi di controllo delle infestanti sulla coltura seminativa principale;
10. Effettuare l'analisi chimico-fisica annuale dei terreni, al fine di stabilire il loro grado di attitudine all'attivazione delle tecniche di non lavorazione e di monitorarne successivamente in corso di impegno i parametri, riportandoli nell'apposito registro degli interventi colturali. Il progetto MONITAMB, del quale una parte è presentata in questa tesi, si occupa proprio di questo punto;
11. Redigere il registro degli interventi colturali.

Il periodo di applicazione dell’Azione 1 è di 5 anni dalla presentazione della domanda.

#### **1.4.2 AZIONE 2–“Copertura continuativa del suolo”**

L’Azione 2 della sottomisura 214/I promuove le successioni colturali per la diminuzione della concentrazione di nitrati rilevati nelle acque superficiali e di falda nel territorio della Regione Veneto.

L’alternanza colturale dei seminativi sullo stesso appezzamento garantisce la costante copertura del terreno agricolo, creando una fitta rete radicale capace di trattenere l’azoto e il fosforo contenuti nella soluzione circolante del terreno. Inoltre, durante i periodi di minor attività vegetativa, la copertura del suolo è garantita dalle cover crops autunno-vernine e dagli erbai primaverili-estivi.

Gli impegni che devono essere rispettati dagli agricoltori che applicano questa sottomisura sono:

1. Adottare le pratiche colturali previste dall’Azione 2 su almeno il 25% della superficie seminativa aziendale;
2. Applicare successioni colturali che prevedano l’alternanza di cereali autunno-vernini o colza/altre crucifere o altre colture erbacee autunno vernine, mais, soia, barbabietola;
3. Adottare come colture principali il mais o il sorgo, la soia, i cereali autunno-vernini o la colza o altre colture erbacee autunno-vernine, la barbabietola da zucchero o da foraggio;
4. Seminare per almeno 2 dei 5 anni cereali autunno-vernini, colza/altre crucifere o altre colture erbacee autunno-vernine;
5. Seminare cover crops autunno-vernine per almeno 3 dei 5 anni di impegno, in successione a mais, soia, sorgo e barbabietola, qualora queste superfici non siano coltivate con cereali autunno-vernini, colza o altre crucifere;
6. Non distribuire sulle cover crops alcun tipo di fertilizzante, diserbante o prodotto fitosanitario;

7. Effettuare il sovescio delle cover crops prima della semina della coltura principale;
8. Seminare erbai primaverili-estivi almeno 2 anni su 5 , per assicurare la continua copertura della superficie arativa durante il periodo di intensa mineralizzazione della sostanza organica del terreno;
9. Eseguire le analisi chimico-fisiche dei terreni, per determinare le dotazioni nutrizionali nel periodo di impiego;
10. Redigere il registro degli interventi colturali.

Il periodo di applicazione dell’Azione 2 è di 5 anni dalla presentazione della domanda.

### **1.4.3 Analisi dei parametri chimico-biologici del suolo**

Per il confronto della qualità dei terreni sono stati analizzati i parametri chimico-biologici presso il laboratorio di Chimica del Suolo di DAFNAE dell’Università di Padova. Queste analisi comprendono la valutazione della quantità ed evoluzione del carbonio organico, il contenuto del carbonio e azoto microbico, e l’attività enzimatica del suolo.

#### **1.4.3.1 Analisi della quantità ed evoluzione del carbonio e azoto organico**

La valutazione delle risposte dei suoli coltivati in differenti modi, permette di determinare quali pratiche agricole migliorino o meno la qualità del suolo (Jimenez *et al.*, 2002).

Il contenuto di sostanza organica è considerato uno dei più importanti parametri di monitoraggio della qualità del suolo, essendo una fonte di nutrienti, migliorando le proprietà chimico-fisiche del suolo, e promuovendo le attività biologiche (Doran and Parkin, 1994; Gregorich *et al.*, 1994b).

Il contenuto di carbonio e azoto organico è determinante per la valutazione del contenuto di sostanza organica nel terreno (Franzluebbers *et al.*, 2000). Tali valori non sono soggetti ad ampie variazioni quando vi è un cambio delle pratiche agricole adottate sul medesimo appezzamento (de la Horra *et*

*al.*, 2003; Jimenez *et al.*, 2002). Marinari *et al.* (2006) hanno dimostrato che fra il 2000 e il 2001 non c'erano state differenze significative dei valori di carbonio e azoto organico né fra terreni condotti secondo agricoltura biologica e secondo agricoltura convenzionale, né all'interno del medesimo appezzamento. Quindi non si devono attendere cambiamenti significativi del contenuto di sostanza organica da un anno all'altro. Nonostante tutto, possono essere rilevate delle variazioni nel contenuto di carbonio e azoto organici quando vi è un cambiamento degl'input al terreno, come fertilizzanti e residui colturali, in quanto questi regolano l'attività microbica e il tasso di mineralizzazione (Gregorich *et al.*, 1994a).

#### **1.4.3.2 Analisi del contenuto di carbonio e azoto microbico**

La biomassa microbica, corrispondente al 5% della sostanza organica, svolge importanti ruoli all'interno dei processi biochimici del suolo. Partecipa alla formazione delle strutture del suolo, alla trasformazione e accumulo di nutrienti, alla degradazione di residui animali e vegetali, all'immobilizzazione di metalli pesanti e alla detossificazione dei suoli da agenti inquinanti (Gajda, 2008; Gajda *et al.*, 2013; Nannipieri *et al.*, 2002). Inoltre la biomassa microbica è molto influenzabile dai cambiamenti prodotti dalle pratiche colturali, dalle differenti colture in successione, dall'aggiunta di fertilizzanti e dalle condizioni ambientali (Kandeler *et al.*, 1999).

Per questi motivi, le analisi del carbonio e azoto microbico sono le più utilizzate per determinare lo stato biologico del suolo, l'evoluzione della sostanza organica e l'influenza delle attività colturali sulla qualità del terreno (Eivazi *et al.*, 2003).

#### **1.4.3.3 Analisi delle attività enzimatiche del suolo**

Gli enzimi sono proteine che catalizzano le reazioni biochimiche e rappresentano una parte importante nel ciclo dei nutrienti del suolo. Principalmente sono di origine microbica, ma possono anche essere prodotti da piante e animali (Tabatabai *et al.*, 1994). Regolano numerose

reazioni necessarie per la vita dei microrganismi, la decomposizione dei residui organici, il ciclo delle sostanze nutritive, la formazione e mineralizzazione della sostanza organica (Burns, 1978; Dick *et al.*, 1994). Gli enzimi sono costantemente sintetizzati, possono essere accumulati, inattivati e decomposti nel suolo, assumendo quindi una grande importanza in agricoltura per il loro ruolo di riciclo dei nutrienti (Dick, 1997; Tabatabai *et al.*, 1994).

Come la biomassa microbica, anche le attività enzimatiche del suolo rispondono molto velocemente ai cambiamenti delle pratiche agricole, dei fertilizzanti utilizzati e delle colture (Pankhurst *et al.*, 1997).

Le attività enzimatiche del suolo sono quindi dei perfetti indicatori della qualità del suolo poiché:

- (a) sono una misura dell'attività microbica del suolo;
- (b) sono direttamente interessate nel ciclo e nella trasformazione dei nutrienti;
- (c) rispondono molto velocemente ai cambiamenti ambientali;
- (d) sono di facile misurazione (Calderon *et al.*, 2000; Colombo *et al.*, 2002; Drijber *et al.*, 2000; Gianfreda and Bollag, 1996; Nannipieri *et al.*, 2002).

Le attività di fluoresceina diacetato (FDA) e di  $\beta$ -glucosidasi degli enzimi idrolitici sono frequentemente utilizzate come indicatori dei cambiamenti nella sostanza organica (Gil-Sotres *et al.*, 2005).

#### Fluoresceina DiAcetato idrolasi (FDA)

L'FDA è un composto incolore che viene idrolizzato sia dagli enzimi liberi, sia da enzimi legati alle membrane (Stubberfield and Shaw, 1990), rilasciando un composto colorato, la fluoresceina, che può essere misurata mediante spettrofotometria. All'aumentare dell'attività enzimatica il colore della fluoresceina risulta essere più intenso. L'FDA è idrolizzata da differenti enzimi presenti nel suolo, come l'esterasi, le proteasi e le lipasi, tutti coinvolti nella decomposizione microbica della sostanza organica (Schnürer and Rosswall, 1982). L'FDA è quindi correlata alla biomassa microbica e può essere utilizzata per stimare sia il contenuto di microflora

nel terreno, che l'attività idrolitica della sostanza organica (Sánchez-Monedero *et al.*, 2008).

### Beta-glucosidasi

La  $\beta$ -glucosidasi è un enzima che catalizza l'idrolisi dei legami glucosidici dei polisaccaridi. In particolare, nel processo di degradazione della cellulosa, interviene nella fase di idrolisi del cellobiosio, permettendo la liberazione di glucosio che è così reso disponibile per i microrganismi (Esen *et al.*, 1993; Singhania *et al.*, 2013). È prodotta da molti organismi, come piante, animali, batteri e funghi (Knight and Dick, 2004).

La beta-glucosidasi svolge quindi un ruolo fondamentale nel ciclo del carbonio, fungendo da fonte di energia per gli organismi presenti nel terreno ed è per questo apprezzata come potenziale indicatore della qualità dei suoli.

È inoltre importante poiché la sua attività, al contrario di molti altri indicatori, è in grado di rilevare i cambiamenti nella gestione del suolo in periodi di tempo relativamente brevi (1-3 anni) ed è piuttosto stabile al variare delle stagioni (Bandick and Dick, 1999; Knight and Dick, 2004).

## 2. SCOPO

L'adozione di tecniche di agricoltura convenzionale sta sempre più portando a un degrado degli agroecosistemi. Queste pratiche determinano una diminuzione della biodiversità, una riduzione del contenuto di sostanza organica nel suolo una sua conseguente degradazione, un inquinamento delle falde acquifere e un aumento del rilascio di gas serra. Per tali motivi stanno sempre più diffondendo tecniche di agricoltura alternative, atte a una maggiore salvaguardia dell'ambiente. L'agricoltura conservativa, definita anche Agricoltura Blu, si presenta come una valida alternativa a quella convenzionale, in quanto è possibile adottarla su larga scala, promuovendo così la conservazione della struttura e la qualità del suolo, aumentando l'accumulo di sostanza organica e di conseguenza preservando l'ambiente.

Il Programma di Sviluppo Rurale (PSR) 2007-2013, attraverso l'Azione 1 (adozione di tecniche di agricoltura conservativa) e l'Azione 2 (copertura continuativa del suolo) della misura 214i, favorisce ed incentiva pratiche di agricoltura blu.

Veneto Agricoltura con il progetto MONITAMB 214I persegue l'obiettivo di confrontare terreni soggetti alle Azioni 1 e 2 della sottomisura 214/I con suoli gestiti invece con le pratiche convenzionali nelle sue tre principali aziende pilota-dimostrative di pianura (Sasse Rami, Diana e Vallevecchia). Il progetto è volto ad evidenziare gli effetti di questa applicazione sui principali parametri agronomici e gli effetti ambientali dal punto di vista della tutela del suolo, della biodiversità e della qualità delle acque.

In questo ambito, nel presente lavoro di tesi sono stati analizzati alcuni parametri indicativi della qualità biologica del suolo, quali:

- Contenuto del carbonio e azoto organico;
- Contenuto del carbonio e azoto della biomassa;
- Attività enzimatiche: FDA-idrolasi,  $\beta$ -glucosidasi;

allo scopo di monitorare eventuali cambiamenti della fertilità biologica dovuti alla diversa gestione dei suoli.



### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1 DISEGNO SPERIMENTALE

I campionamenti sono stati eseguiti in tre aziende pilota-dimostrative di Veneto Agricoltura in collaborazione con la Dott.ssa Francesca Chiarini di Veneto Agricoltura, coordinatrice del progetto.

- Sasse Rami, Ceregnano (RO)
- Diana, Mogliano Veneto (TV)
- Vallevecchia, Caorle (VE)

Per le aziende Diana e Vallevecchia sono stati prelevati campioni in 16 appezzamenti: metà delle superfici campionate erano soggette alle azioni previste dalla sottomisura 214/I, mentre l'altra metà era coltivata secondo le tecniche convenzionali. Gli appezzamenti sottoposti a coltivazione tradizionale sono poi stati contraddistinti in "Convenzionale azione 1" e "Convenzionale azione 2", a seconda della diversa gestione degli appezzamenti di riferimento. Per Sasse Rami, invece, gli appezzamenti campionati si sono ridotti a 12, poiché le superfici gestite con le tecniche tradizionali servivano in questo caso a confrontare i terreni soggetti a entrambe le azioni (Tabella 1).

AZIENDA	N. App.	Misura	AZIENDA	N. App.	Misura	AZIENDA	N. App.	Misura
SasseRami	78	AZ. 1	Diana	36	Convenz.	Vallevecchia	12/2	Convenz.
SasseRami	79	AZ. 2	Diana	37	AZ. 1	Vallevecchia	12/3	AZ. 1
SasseRami	82	Convenz.	Diana	73	Convenz.	Vallevecchia	2/11	AZ. 2
SasseRami	81	AZ. 2	Diana	74	AZ. 2	Vallevecchia	2/12	Convenz.
SasseRami	99	AZ. 1	Diana	44	Convenz.	Vallevecchia	13/3	AZ.2
SasseRami	100	Convenz.	Diana	42	AZ. 1	Vallevecchia	13/4	Convenz.
SasseRami	83	Convenz.	Diana	12	Convenz.	Vallevecchia	13/5	Convenz.
SasseRami	84	AZ. 2	Diana	11	AZ. 2	Vallevecchia	13/6	AZ. 1
SasseRami	91	AZ. 1	Diana	63	Convenz.	Vallevecchia	15/7	AZ. 2
SasseRami	113	AZ. 2	Diana	62	AZ. 1	Vallevecchia	15/8	Convenz.
SasseRami	114	Convenz.	Diana	55	Convenz.	Vallevecchia	15/9	Convenz.

AZIENDA	N. App.	Misura	AZIENDA	N. App.	Misura	AZIENDA	N. App.	Misura
SasseRami	115	AZ. 1	Diana	54	AZ. 2	Vallevecchia	15/10	AZ. 1
			Diana	29	Convenz.	Vallevecchia	16/11	AZ. 1
			Diana	30	AZ. 1	Vallevecchia	16/12	Convenz.
			Diana	26	Convenz.	Vallevecchia	16/13	Convenz.
			Diana	27	AZ. 2	Vallevecchia	16/14	AZ. 2

**Tabella 1: Schema degli appezzamenti campionati nelle tre aziende pilota.**

Tutte le particelle prese in considerazione sono sottoposte a rotazioni colturali quadriennali, come previsto dalla sottomisura 214/I. Di seguito sono riportate le colture effettuate nell'ultimo triennio (Tabella 2).

<b>Azienda</b>	<b>Appezzamento</b>	<b>Coltura 2011</b>	<b>Coltura 2012</b>	<b>Coltura 2013</b>
SasseRami	78	soia	frumento	colza
SasseRami	79	soia	frumento	colza
SasseRami	82	soia	frumento	colza
SasseRami	81	mais	soia	frumento
SasseRami	99	mais	soia	frumento
SasseRami	100	mais	soia	frumento
SasseRami	83	frumento	colza	mais
SasseRami	84	frumento	colza	mais
SasseRami	91	frumento	colza	mais
SasseRami	113	colza	mais	soia
SasseRami	114	colza	mais	soia
SasseRami	115	colza	mais	soia
Diana	36	soia	frumento	colza
Diana	37	soia	frumento	colza
Diana	73	soia	frumento	colza
Diana	74	soia	frumento	colza
Diana	44	mais	soia	frumento
Diana	42	mais	soia	frumento
Diana	12	mais	soia	frumento
Diana	11	mais	soia	frumento
Diana	63	frumento	colza	mais
Diana	62	frumento	colza	mais
Diana	55	frumento	colza	mais
Diana	54	frumento	colza	mais

<b>Azienda</b>	<b>Appezzamento</b>	<b>Coltura 2011</b>	<b>Coltura 2012</b>	<b>Coltura 2013</b>
Diana	29	colza	mais	soia
Diana	30	colza	mais	soia
Diana	26	colza	mais	soia
Diana	27	colza	mais	soia
Vallevecchia	12/2	mais	soia	frumento
Vallevecchia	12/3	mais	soia	frumento
Vallevecchia	2/11	mais	soia	frumento
Vallevecchia	2/12	mais	soia	frumento
Vallevecchia	13/3	frumento	colza	mais
Vallevecchia	13/4	frumento	colza	mais
Vallevecchia	13/5	frumento	colza	mais
Vallevecchia	15/6	frumento	colza	mais
Vallevecchia	15/7	soia	frumento	colza
Vallevecchia	15/8	soia	frumento	colza
Vallevecchia	15/9	soia	frumento	colza
Vallevecchia	15/10	soia	frumento	colza
Vallevecchia	16/11	colza	mais	soia
Vallevecchia	16/12	colza	mais	soia
Vallevecchia	16/13	colza	mais	soia
Vallevecchia	16/14	colza	mais	soia

**Tabella 2: Cronologia delle colture effettuate negli appezzamenti.**

### **3.2. CAMPIONAMENTI**

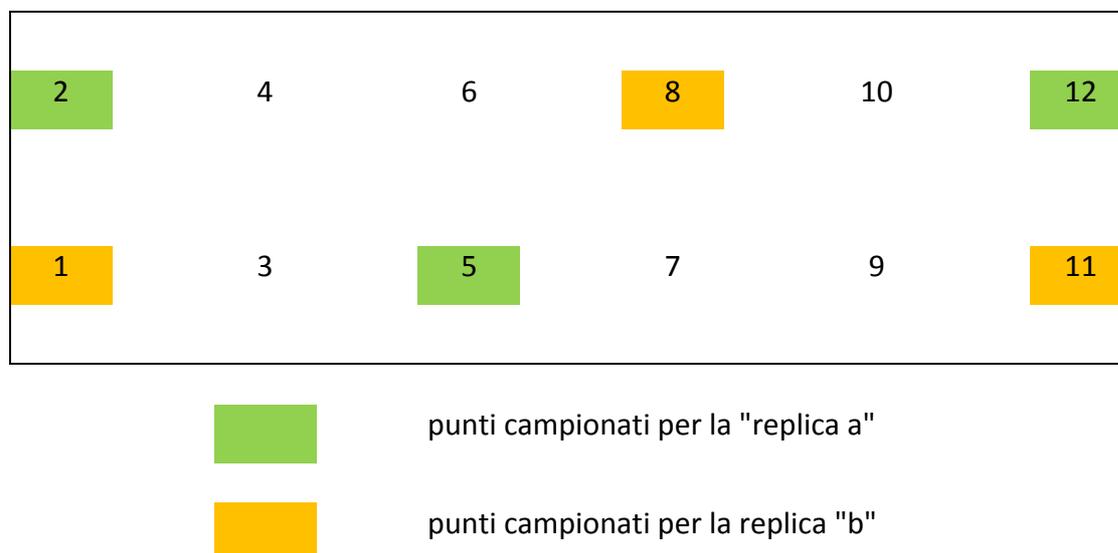
I campionamenti sono stati eseguiti in due periodi differenti: a Maggio nelle superfici coltivate a frumento e colza, ad Ottobre in quelle coltivate a mais e soia.

Per ogni appezzamento, il campionamento è stato effettuato prelevando terreno in precisi punti precedentemente georeferenziati e rintracciabili tramite sistema GPS. Per ogni punto, il campione è stato prelevato tramite due trivellazioni, fino ad una profondità di circa 30 cm.

Il campione rappresentativo di ogni particella è stato quindi costituito con l'unione dei terreni prelevati in 3 punti della stessa. Per gli appezzamenti gestiti ad "Azione 1" e "Convenzionale azione 1", sono stati ricavati 2 campioni, ognuno di 3 punti, chiamati rispettivamente "replica a" e "replica

b”, per gli altri appezzamenti invece è stato effettuato un solo campionamento. In totale sono stati analizzati 44 appezzamenti.

Uno schema semplificato dell’operazione di campionamento si può osservare in Figura 1.



**Figura 1: Schema dei campionamenti eseguiti in ogni appezzamento.**

La denominazione di ogni campione è stata ottenuta dalla prima lettera dell’azienda corrispondente, dal nome dell’appezzamento ed infine dalla replica (ad es. S78a).

I campioni sono stati trasportati poi in laboratorio e conservati in frigo ad una temperatura di circa 4° C, in vista delle successive analisi.

Per ogni campione una parte è stata suddivisa in tre aliquote, delle quali si è registrato il peso fresco. Queste poi sono state lasciate a seccare all’aria per qualche giorno ed infine si è valutato il peso secco. Il rapporto tra peso fresco e peso secco dell’intero campione è stato quindi determinato dalla media di 3 misure.

### **3.3. ANALISI DEL CARBONIO E AZOTO ORGANICO**

Le analisi per la determinazione del carbonio e azoto organico sono state eseguite su campioni prelevati negli anni 2011, 2012 e giugno 2013 (per un

totale di 146 campioni). I campioni dell'anno 2011 sono stati formati prelevando 10gr di suolo, setacciato a 2mm, dai campioni precedentemente prelevati in ogni parcella ai punti georeferenziati 1, 2, 5, 8, 11 e 12 alle profondità 0-5cm e 5-30cm durante il progetto "Carbotieni" del 2011 dell'Università di Padova. Quindi per l'anno 2011 sono stati costituiti 44 campioni del peso di 120gr ciascuno. Per i 68 campioni del 2012, e per i 34 del giugno 2013, sono stati pesati circa 50gr di terreno, che sono stati poi fatti essiccare all'aria per un paio di giorni. Il terreno essiccato è stato quindi setacciato a 2mm.

Per la determinazione del carbonio e azoto organico, eseguita tramite l'utilizzo dell'analizzatore elementare "vario MACRO", è stato utilizzato il "metodo della muffola" (Concheri and Stellin, 2013). Questa metodologia prevede il frazionamento del campione (suolo) da analizzare in due aliquote. La prima aliquota di 200µg viene pesata in capsule di stagno (tin foil), addizionata con 100µg di triossido di tungsteno (reagente ossidante) e sottoposta ad analisi elementare per la determinazione del C totale, N totale e S totale.

La seconda aliquota di 100µg, addizionata con 50µg di triossido di tungsteno (reagente ossidante), viene pesata in capsule d'argento (silver foil), che verranno poste in muffola per 2 ore ad una temperatura di 550 °C. L'impiego dei "silver foil" è richiesto dalla temperatura raggiunta all'interno della muffola (l'Ag resiste fino a 960 °C mentre lo Sn fonde intorno ai 230 °C). Con questo passaggio si ottiene l'allontanamento della frazione organica del carbonio e dell'azoto senza intaccare i carbonati.

Dopo il passaggio in muffola le capsule vengo caricate sull'analizzatore per una nuova determinazione: il dato del carbonio e dell'azoto ottenuto mediante analisi elementare si riferisce questa volta alla sola frazione inorganica. Il valore che deriva dalla differenza tra la prima analisi (carbonio e azoto totale, organico e inorganico) e la seconda (solo carbonio e azoto inorganico) rappresenta il carbonio organico totale (TOC) e dell'azoto organico totale (TON).

### **3.4. ANALISI DEL CARBONIO DELLA BIOMASSA**

Per quantificare la biomassa microbica del suolo è stato adottato il metodo della fumigazione - estrazione secondo Sparling e West (1988). La determinazione del C organico è stata effettuata secondo la tecnica di Kirchener, Wollum and King (1993).

Per ogni campione di suolo si pesano 6 aliquote, ciascuna del peso di circa 8 g, tre delle quali sono sottoposte a fumigazione. In totale sono state quindi eseguite 6 determinazioni per 102 campioni: 612 analisi.

Fumigazione: l'operazione si svolge interamente sotto cappa. I campioni vengono inseriti in crogiuoli e raccolti in una campana di vetro che funge da essiccatore. Sul fondo della campana vengono posti due becker, uno con della soda a scaglie e uno in cui vengono versati circa 50 mL di cloroformio e palline di vetro. L'essiccatore viene quindi chiuso e si crea il vuoto al suo interno tramite una pompa di aspirazione. Una volta chiuso il rubinetto, si pone la campana al buio, a temperatura ambiente per 16 ore. Trascorse le 16 ore si apre il rubinetto per rompere il vuoto e si apre l'essiccatore, lasciando i campioni all'aria fino a che il cloroformio non si sia dissipato.

Estrazione: tutti i campioni (fumigati e non fumigati) vengono trasferiti con cura in un tubo da centrifuga a cui vengono aggiunti 32 mL di solfato di potassio ( $K_2SO_4$ ) 0,5 M (rapporto suolo - estraente 1:4). Il contenitore viene quindi posto su un agitatore alternativo per 30 min. a 180 r.p.m. Quindi si centrifuga a 6000 giri al minuto per 5 minuti. Il surnatante viene poi filtrato in tubi Falcon attraverso filtri Whatman n° 42. I contenitori devono essere conservati in congelatore oltre i  $-15^\circ C$  se non è possibile effettuare le analisi immediatamente.

Determinazione del C microbico: in una beuta vengono inseriti 6 mL di estratto, al quale si aggiungono nell'ordine 1 mL di  $K_2Cr_2O_7$  0,066 M e 5 mL di  $K_2SO_4$  concentrato. Si preparano inoltre con lo stesso metodo 2 bianchi in cui al posto dell'estratto si inseriscono 6 mL di  $K_2SO_4$ . Le beute vengono poste in stufa a  $150^\circ C$  per 30 min. Trascorso tale tempo, si tolgono i

campioni dalla stufa e si lasciano raffreddare, aggiungendovi dell'acqua deionizzata. Si procede dunque alla titolazione con ferro solfato 0,0165 M in presenza dell'indicatore difenilamina.

Calcolo del C microbico: Il contenuto di carbonio microbico viene determinato per differenza fra il contenuto di carbonio dei campioni sottoposti a fumigazione e dei campioni non sottoposti a fumigazione con le letture corrette per il bianco e corretti per il valore di 2,63 come proposto da Vance et al. (1987). Il dato finale è espresso in mg di carbonio per kg di suolo secco.

### **3.5. ANALISI DELL'AZOTO DELLA BIOMASSA**

Per quantificare la biomassa microbica del suolo è stato adottato il metodo della fumigazione - estrazione secondo Sparling e West (1988). La determinazione del N organico è stata effettuata secondo la tecnica del persolfato Cabrera, M. L., and Beare M. H. (1993).

Determinazione: l'aliquota di campione utilizzato per la determinazione dell'azoto organico viene prelevato dagli estratti conservati in congelatore, i quali sono stati sottoposti a fumigazione ed estrazione come previsto dal metodo di Sparling e West (1988).

*Fumigati:* in una beuta vengono inseriti 3 mL di estratto, al quale si aggiungono nell'ordine 1 mL di  $K_2SO_4$  0,5 M e 4 mL di soluzione ossidante.

*Non fumigati:* in una beuta vengono inseriti 3 mL di estratto, al quale si aggiungono nell'ordine 1 mL di  $K_2SO_4$  0,5 M e 4 mL di soluzione ossidante.

*Bianco:* in una beuta si inseriscono 3 mL di  $K_2SO_4$  poi si aggiungono 4 mL di soluzione ossidante.

Tutte le beute vengono poste in stufa a 120° C per 30 min. Trascorso tale tempo, si tolgono i campioni dalla stufa e si lasciano raffreddare.

Con la mineralizzazione, tutto l'azoto viene ossidato a nitrato N-NO<sub>3</sub>. Per determinare l'azoto totale bisogna ridurre N-NO<sub>3</sub> ad azoto nitroso N-NO<sub>2</sub> ciò si realizza facendo passare 0,2 ml, attraverso una colonna di cadmio ramato.

Al campione ridotto vengono aggiunti nell'ordine 1 ml di Sulfanammide al 1% e dopo 5 minuti, 1 mL di Naftiletildiammina allo 0,1%, si agita tutto e si porta a volume in matracci da 25 ml con  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0,5 M.

I campioni assumono una colorazione rosa più o meno intensa a seconda del contenuto di azoto. Di ogni campione ridotto si calcola il valore di assorbanza allo spettrofotometro con una lunghezza d'onda pari a 543 nm e si confronta con una retta di taratura ottenuta con concentrazioni note di  $\text{KNO}_3$ .

Calcolo del azoto della biomassa: Il contenuto di azoto viene determinato per differenza fra il contenuto di azoto dei campioni sottoposti a fumigazione e dei campioni non sottoposti a fumigazione con le letture corrette per il bianco. Il dato finale è espresso in mg di azoto per kg di suolo secco

### **3.6. ATTIVITA' ENZIMATICHE**

Le analisi di attività enzimatica sono state eseguite solo sui campioni delle parcelle sottoposte a gestione dell'azione 1 e sui relativi controlli convenzionali per un totale di 48 campioni.

Per ogni campione la determinazione viene eseguita su tre repliche e viene effettuata una prova di controllo in cui il campione viene incubato in assenza di substrato, per quantificare il livello del prodotto di reazione presente nel campione in assenza della reazione enzimatica. In totale sono quindi state eseguite 576 determinazioni (per gli anni 2012 e 2013).

Il dato finale è espresso in quantità del prodotto di reazione per il tempo di incubazione per grammo di suolo secco normalizzato grazie al dato del rapporto tra suolo fresco e suolo secco.

#### **FDA-idrolasi**

Vengono inseriti 2g suolo umido in beute da 50mL con 15mL di Tampone Fosfato (8,7g di  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  e 1,3g di  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sono disciolti in 800mL di  $\text{H}_2\text{O}$  e portati a 1l) e 0,2mL di FDA Stock (0,1g di Fluoresceina diacetato (3'6'-diacetyl-Fuorescein) in 80mL di Acetone e portato 100mL sempre con

Acetone). Poi il composto viene agitato e messo nell'incubatore orbitale a 30°C per 20 minuti.

Si preparano controlli in cui non viene inserita la soluzione FDA Stock. Aggiunti poi 15mL di Cloroformio e Metanolo in rapporto 2:1 per fermare l'attività enzimatica e agitare forte a mano. Successivamente i composti vengono messi in tubi da centrifuga e centrifugati a 2000 r.p.m. per circa 3 minuti e successivamente filtrati con carta filtrante Whatman 2.

Le assorbanze delle varie soluzioni sono state misurate con lo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 490nm.

### **Beta-glucosidasi**

In una beuta da 50mL vengono inseriti 1g di terreno di suolo fresco e si aggiungono 0,25mL di Toluene e 4mL di TUM-6,0 (12,1g di Tris (idrossimetil) amminometano più 11,6g Acido Maleico più 14,0g Acido Citrico più 6,3g Acido Borico in 488mL NaOH 1M e diluire in 1 litro con H<sub>2</sub>O; poi prendere 200mL e portare a pH 6 con HCl 0,1N e diluire a 1L con H<sub>2</sub>O) ed 1mL di substrato: solubilizzare 0,377g p-Nitrophenyl β-D-glucopyranoside in 50mL di TUM-6,0. Agitati per alcuni secondi i vari composti sono stati poi incubati per 1 ora a 37°C grazie a un bagnetto termostato.

La reazione è stata poi bloccata con 1mL CaCl<sub>2</sub> e 4mL TRIS-NaOH. Si agita poi il tutto per alcuni secondi e si filtra con carta da filtro Whatman n.2.

Per i controlli invece si è aggiunto il substrato subito prima di filtrare e dopo sono stati inseriti CaCl<sub>2</sub> e TRIS-NaOH.

Infine si legge con lo spettrofotometro a una lunghezza d'onda di 400nm usando come bianco tutto tranne il substrato che verrà sostituito da 1mL di TUM-6.

### **3.7. ANALISI STATISTICA**

I dati raccolti sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) tramite software IBM® SPSS® Statistics (Version 19) dopo aver verificato l'omoschedasticità delle classi a confronto. Le medie sono state considerate

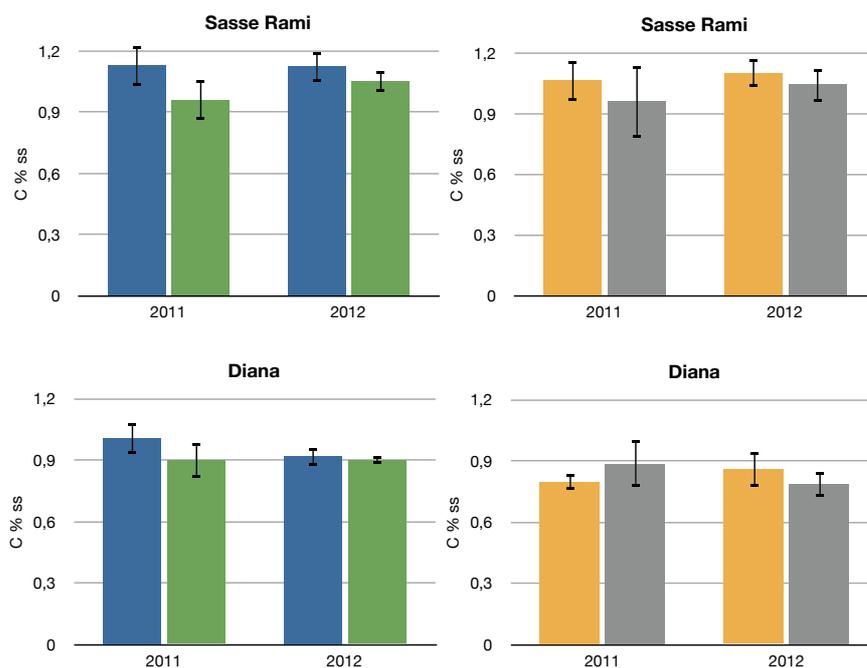
significativamente differenti per  $p < 0,05$ . Nei confronti di più di due medie è stato eseguito un test post-hoc Duncan. Test ANOVA multivariata sono stati eseguiti per verificare l'interazione dei fattori.

## 4. RISULTATI E DISCUSSIONE

I dati raccolti coinvolgono in varia misura 3 anni di analisi. Alcuni dati (Carbonio Organico ed Azoto Organico) coprono completamente gli anni 2011 e 2012 ma riguardano solo metà dei campioni per il 2013. I parametri relativi alle attività enzimatiche risultano completi per gli anni 2012 e 2013 ma assenti per l'anno 2011. Il carbonio e l'azoto della biomassa, infine, sono stati analizzati per l'anno 2012 e per metà dei campioni dell'anno 2013.

### 4.1. CARBONIO ED AZOTO ORGANICO

I dati di carbonio organico dei suoli sottoposti ad analisi (figura 2) risultano in linea con i valori dei suoli del bacino del mediterraneo, caratterizzati da un basso tenore di carbonio organico (Pisante, 2007), spesso al disotto del 1%.



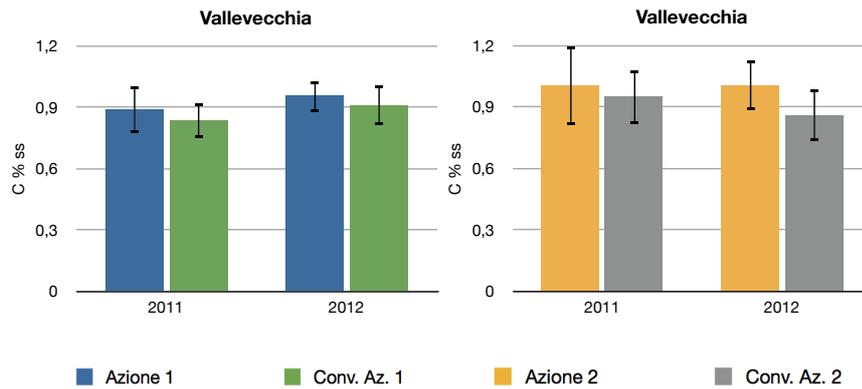
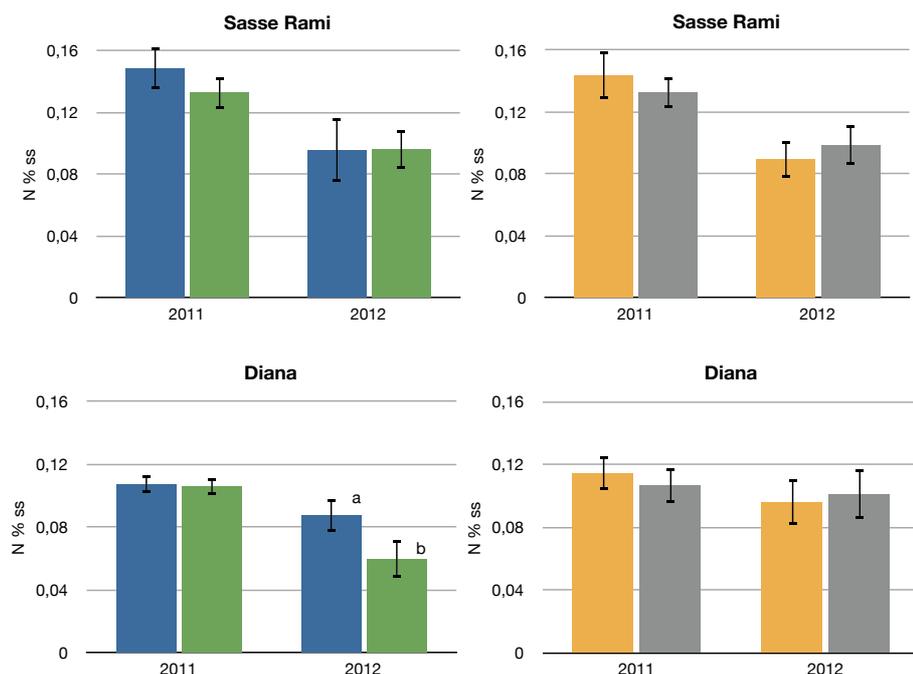


Figura 2. Media  $\pm$  errore standard del contenuto di carbonio organico dei suoli (% suolo secco) nelle tre aziende oggetto di studio.

Pur non essendoci differenze statisticamente significative, la gestione conservativa con le tecniche dell'azione 1 e dell'azione 2 appare in grado di garantire contenuti medi di carbonio organico maggiori rispetto ai relativi convenzionali. In controtendenza i dati del 2011 dell'azienda Diana. Nei due anni presi in analisi il contenuto di carbonio organico non varia significativamente. Questo conferma che il processo di accumulo della sostanza organica richiede tempi medio-lunghi, certamente superiori ai due anni di prova sperimentale come già dimostrato da studi precedenti (de la Horra *et al.*, 2003; Jimenez *et al.*, 2002). Il contenuto di azoto organico negli stessi campioni è mostrato in figura 3.



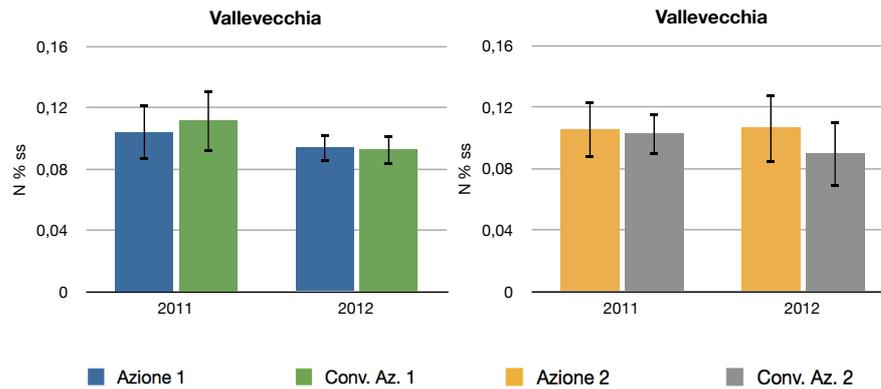


Figura 3. Media  $\pm$  errore standard del contenuto di azoto organico dei suoli (% suolo secco) nelle tre aziende oggetto di studio.

Anche il contenuto di azoto organico non mostra differenze significative a seguito della diversa gestione ad eccezione dei dati relativi all'azienda Diana raccolti nel 2012. Un calo del contenuto di azoto si registra confrontando i campioni nei due anni indipendentemente dalla gestione. In uno studio precedente (Stopes *et al.*, 2002) è stata evidenziata una perdita di azoto simile sia in suoli sottoposti ad agricoltura biologica che in terreni equivalenti gestiti in maniera convenzionale a parità di condizioni di coltivazione.

Per confrontare i valori dei primi due anni con quelli del 2013 sono stati presi in considerazione solo i campioni presenti nei dataset di tutti i tre anni, quindi metà dei dati di ogni anno. Dal confronto delle medie del carbonio organico (figura 4) si evince come non ci siano differenze sostanziali dei livelli di carbonio nei tre anni. Risulta invece significativa la differenza tra i suoli azione 1 ed il rispettivo convenzionale per l'anno 2013. Questo dato, se pur da confermare con le analisi relative ai suoli campionati a settembre 2013, sembra essere il risultato di un trend presente anche negli anni precedenti. I valori dei suoli gestiti secondo l'azione 2 e relativi controlli non mostrano un chiaro andamento nei tre anni.

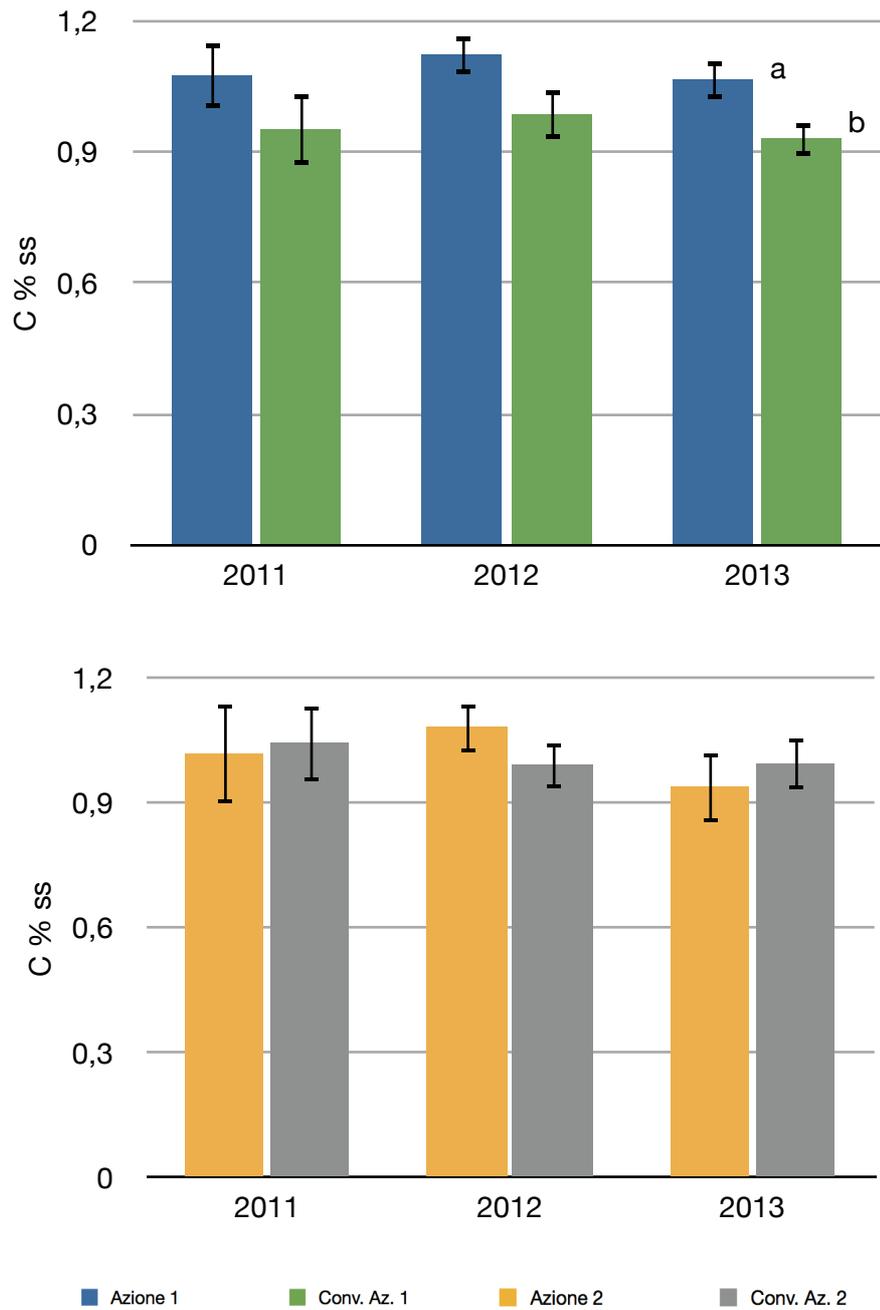
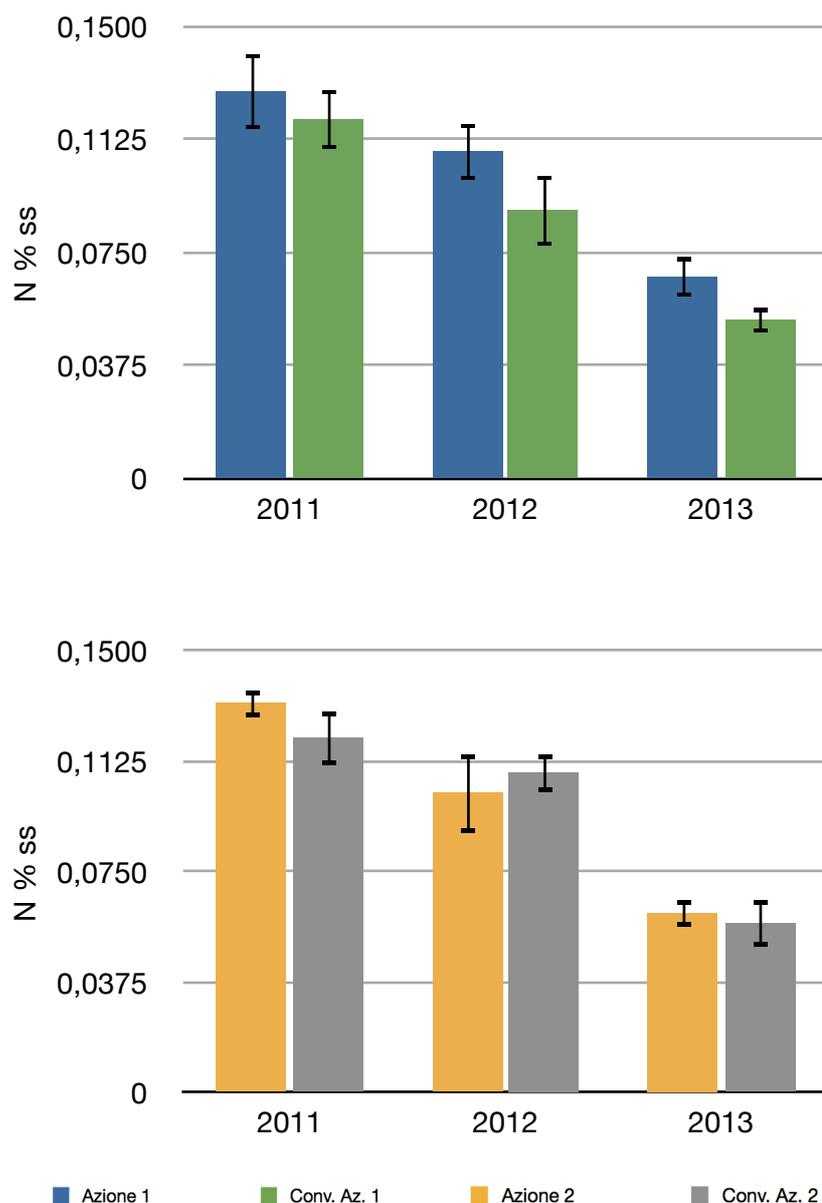


Figura 4. Media  $\pm$  errore standard del contenuto di carbonio organico dei suoli (% suolo secco). Lettere diverse indicano differenze significative.



*Figura 5. Media  $\pm$  errore standard del contenuto di azoto organico dei suoli (% suolo secco) nelle tre aziende oggetto di studio.*

I valori di azoto organico nei tre anni di studio (figura 5) non evidenziano differenze significative legate alla gestione conservativa, sia essa l'azione 1 che l'azione 2, anche se le medie dati dei suoli gestiti secondo l'azione 1 erano sempre maggiori dei relativi convenzionali. Per tutti i suoli presi in esame si evidenzia un netto calo del contenuto di azoto nei tre anni che segue l'andamento di quello mostrato per gli anni 2011 -2012 (figura 3).

## 4.2. ATTIVITA' ENZIMATICHE

L'attività degli enzimi edafici può essere considerata un sensibile e precoce indicatore nella determinazione del grado di degradazione del suolo sia in habitat naturali sia negli agro-ecosistemi, e risulta inoltre adatta a misurare l'impatto dell'inquinamento sulla qualità del suolo (Trasar-Cepeda *et al.*, 2000).

Nella presente tesi le attività  $\beta$ -glucosidasica ed FDA idrolasica sono state valutate solo nei suoli sottoposti ad Azione 1 e rispettivi convenzionali per gli anni 2012 e 2013 (figura 6).

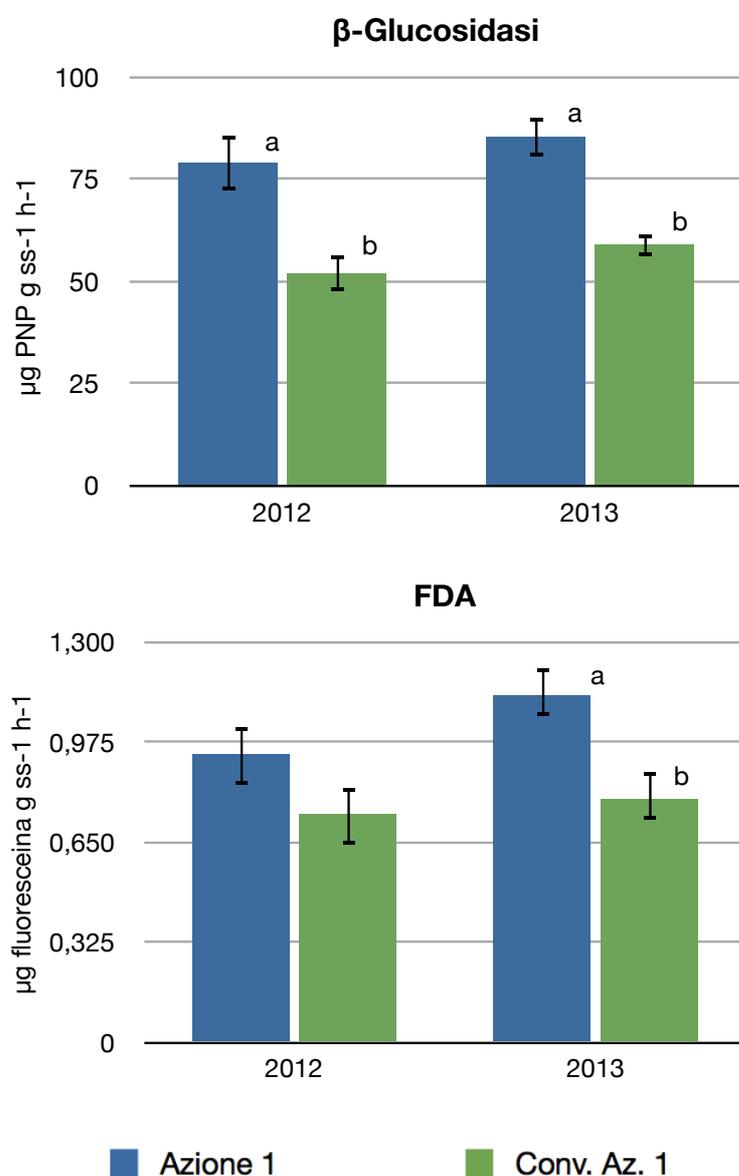


Figura 6. Media  $\pm$  errore standard del contenuto di PNP ( $\mu\text{g PNP g ss}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) e fluoresceina ( $\mu\text{g Fluor. g ss}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). Lettere diverse indicano differenze significative.

La gestione conservativa influenza positivamente le attività enzimatiche che mostrano un trend positivo con differenze significative solo per la  $\beta$ -glucosidasi per il primo anno e per entrambe le attività per il secondo. Poiché l'azienda risulta un parametro discriminante per le attività enzimatiche i dati sono stati analizzati separatamente nelle tre località.

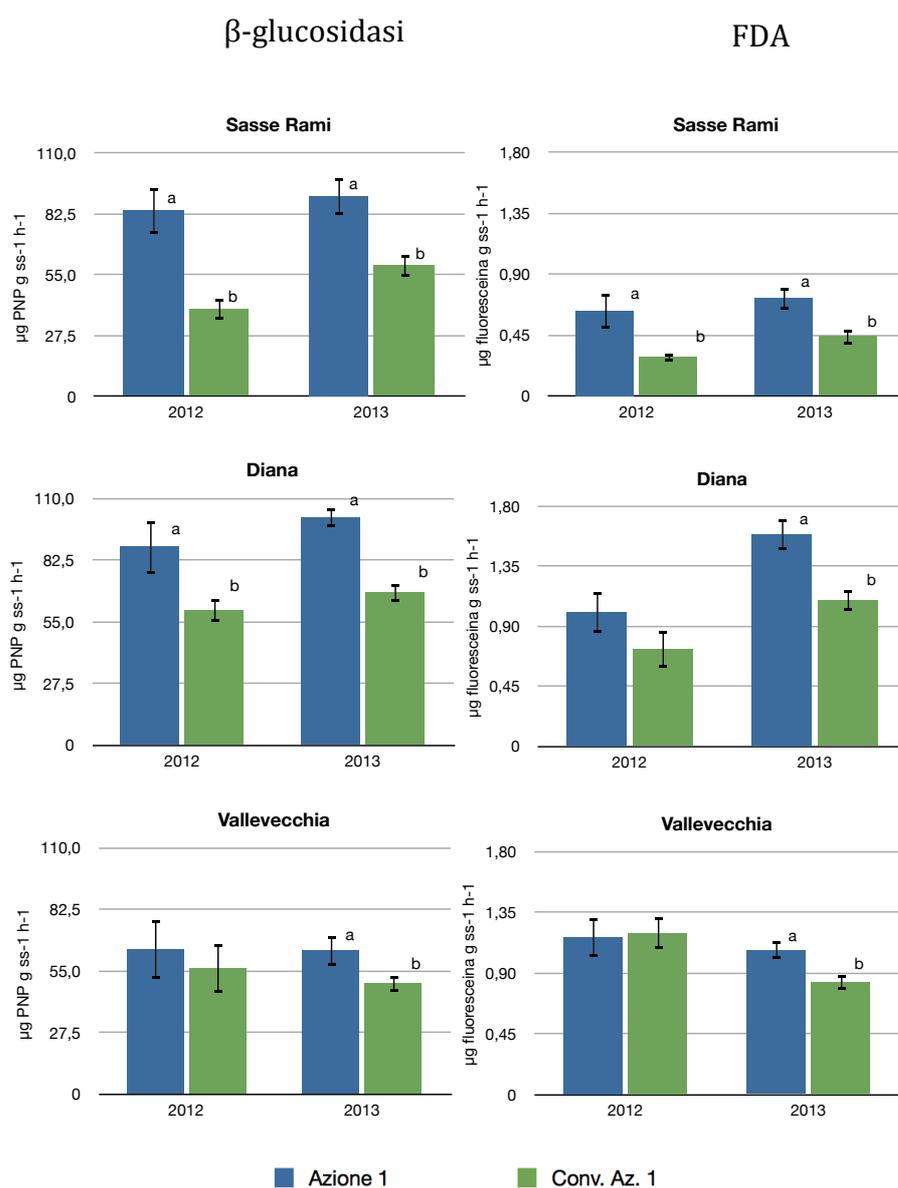


Figura 7. . Media  $\pm$  errore standard del contenuto di PNP ( $\mu\text{g PNP g ss}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) e fluoresceina ( $\mu\text{g fluo. g ss}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). Lettere diverse indicano differenze significative.

L'azienda Sasse Rami mostra differenze significative per entrambe le attività enzimatiche nei due anni (figura 7) mentre nell'azienda Diana il cambiamento di gestione non induce una differenza per l'attività FDA

idrolasica nell'anno 2012. Infine, la gestione conservativa non modifica le medie delle attività enzimatiche nell'azienda Vallevicchia nel primo anno di analisi, ma influenza i dati del secondo anno. Le aziende considerate sono caratterizzate da condizioni edafiche differenti, che influenzano la risposta dei parametri delle attività enzimatiche alle due gestioni poiché il suolo risponde in maniera diversa alle pratiche gestionali a seconda delle sue caratteristiche intrinseche e dell'ambiente circostante (Andrews *et al.*, 2006). Nel nostro caso di studio appare che i suoli dell'azienda Sasse Rami si trovino in una condizione pedoclimatica che permette una risposta in termini di fertilità biologica anche nel breve periodo, primo anno (2012) che viene confermata nel secondo (2013). I suoli dell'azienda Vallevicchia, invece, risultano rispondere in tempi più lunghi. Nei primi anni di cambio della gestione verso l'agricoltura conservativa è stato inoltre riportato un calo nella fertilità edafica (COMAGRI, 2007-2009). Nei suoli delle aziende Diana e Vallevicchia malgrado non si sia registrato un aumento dei parametri studiati nel 2012, nell'anno 2013 i suoli sottoposti ad azione 1 mostravano valori maggiori dei rispettivi controlli, indicando un miglioramento delle condizioni biologiche dei suoli. Infine, i dati di attività enzimatiche sono spesso correlabili con i valori di carbonio organico del suolo (Jimenez *et al.*, 2002). Nel nostro caso di studio l'andamento riscontrato nei contenuti di carbonio organico, con valori medi più elevati nelle tesi a gestione conservativa, appare in linea con i risultati delle attività enzimatiche.

### 4.3. CARBONIO E AZOTO DELLA BIOMASSA MICROBICA

Il carbonio della biomassa microbica è stato analizzato per il solo anno 2012 (figura 8).

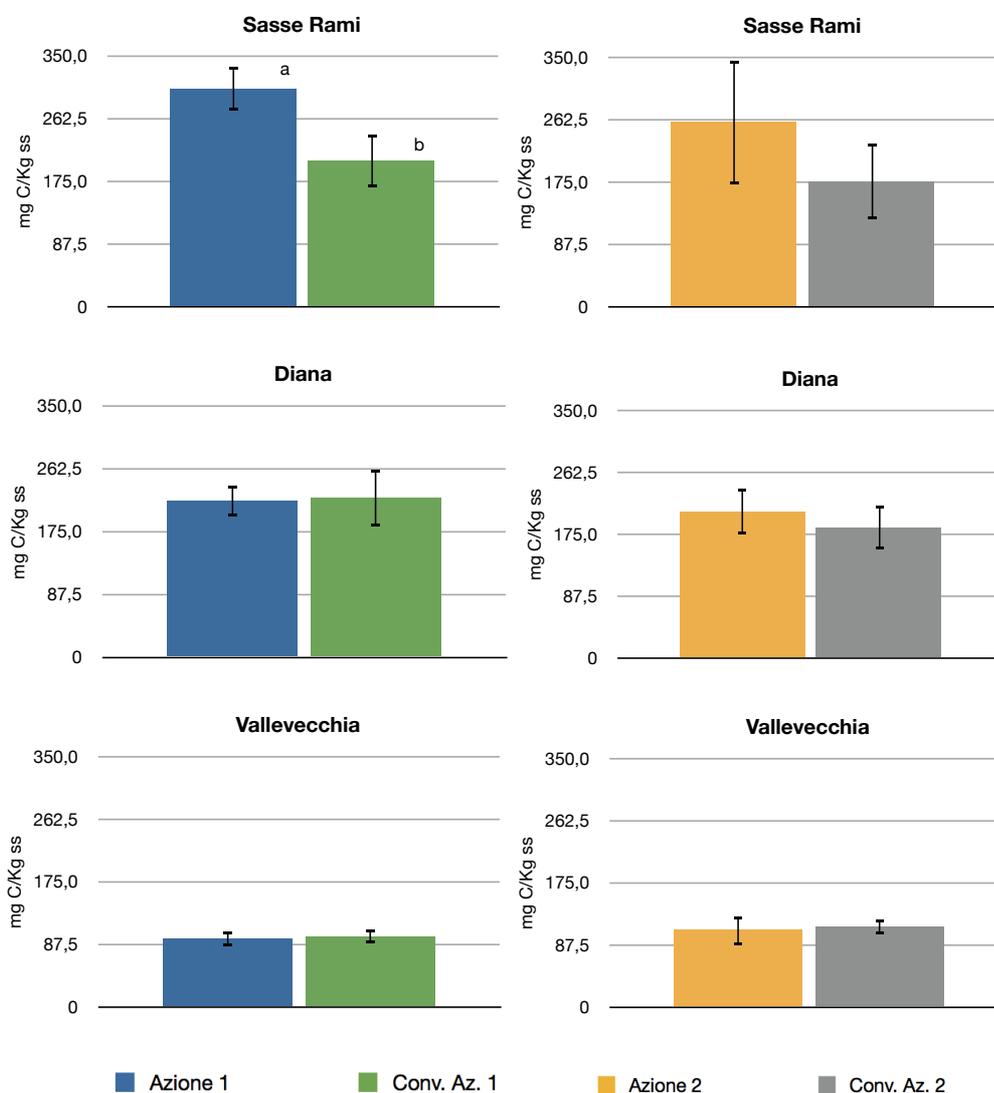


Figura 8. Media  $\pm$  errore standard del contenuto di carbonio microbico dei suoli (mg carbonio/Kg suolo secco). Lettere diverse indicano differenze significative.

Come per le attività enzimatiche anche il carbonio della biomassa mostra come le differenti condizioni edafiche presenti nelle tre aziende influenzino le risposte al cambiamento di gestione agronomica (figura 8). Anche in questo caso, infatti, i terreni dell'azienda Sasse Rami sono i soli a mostrare una differenza significativa tra azione 1 e convenzionale. Il dato risulta in linea con la letteratura tenendo presente che le attività enzimatiche sono

generalmente correlate al contenuto di biomassa microbica (Gajda *et al.*, 2013).

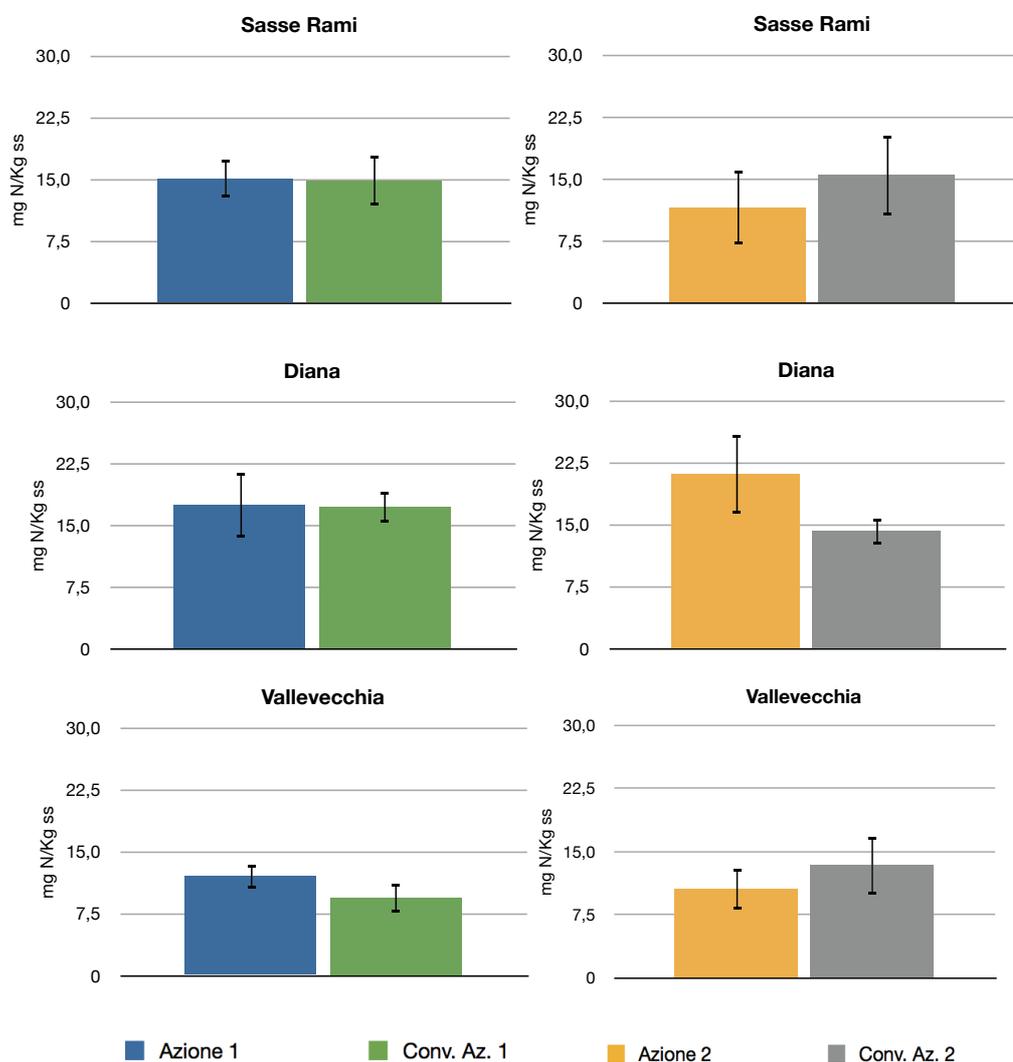


Figura 9. Media  $\pm$  errore standard del contenuto di azoto microbico dei suoli (mg azoto/Kg suolo secco). Lettere diverse indicano differenze significative.

Il tempo di turnover dell'azoto immobilizzato nella biomassa microbica è circa dieci volte più rapido di quello che deriva dai tessuti vegetali (Smith and Paul, 1990). La determinazione dell'azoto microbico è quindi importante per la quantificazione delle dinamiche dell'azoto negli agroecosistemi poiché controlla la disponibilità e la perdita di azoto inorganico nel suolo (Moore *et al.*, 2000). I suoli analizzati nella presente tesi non mostrano differenze significative in termini di contenuto di azoto microbico tra i suoli sottoposti alla diversa gestione agronomica (figura 9). Questo

potrebbe indicare che come nel caso del carbonio della biomassa un solo anno dal cambio di gestione non è sufficiente a modificare in maniera sensibile il ciclo dell'azoto.



## **5. CONCLUSIONI**

Le tecniche di agricoltura blu, con la gestione conservativa dei terreni, hanno lo scopo di migliorare la fertilità edafica e la qualità dei suoli. Questo processo è noto richiedere numerosi anni prima di raggiungere un nuovo più favorevole equilibrio.

I dati raccolti nella presente tesi confermano i dati di letteratura e mostrano che i differenti parametri hanno tempi di risposta più o meno lunghi.

In particolare le attività enzimatiche risultano i parametri migliori per rilevare le modifiche del sistema. Il carbonio organico e quello della biomassa microbica appaiono tra loro correlati e meno sensibili al cambiamento di gestione. In generale si evidenzia un trend verso l'accumulo di sostanza organica nel suolo nei terreni a gestione conservativa.

Il protrarsi dello studio nei prossimi anni potrà da un lato confermare le differenze trovate in questo lavoro, dall'altro permetterà di formulare delle ipotesi riguardo ai meccanismi che regolano questa evoluzione.



## 6. BIBLIOGRAFIA

- 834/2007 R.C., 2007. Regolamento (CE) N. 834/2007 DEL CONSIGLIO del 28 giugno 2007 relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici e che abroga il regolamento (CEE) n. 2092/91. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea.
- Aina P.O., 2011. Conservation tillage for sustainable agricultural productivity.
- Al-Kaisi M.M., and Yin X.H., 2005. Tillage and crop residue effects on soil carbon and carbon dioxide emission in corn-soybean rotations. *Journal of Environmental Quality* 34(2):437-445.
- Andrews S., Archuleta R., Briscoe T., Kome C.E., and Kuykendall H., 2006. <http://soils.usda.gov/sqi/sqteam.html>. Last visualisation:
- Bandick A.K., and Dick R.P., 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* 31(11):1471-1479.
- BBC, 2013. School fact sheet on intensive farming.
- Bot A., and Benites J., 2005. The importance of soil organic matter. Rome: FAO. 95 p.
- Britannica E., 2013. Intensive Agriculture. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/289876/intensive-agriculture>. Last visualisation: 07/10/2013
- Burns R.G., 1978. Soil enzymes: Academic Press.
- Cabrera M.L., and Beare M.H., 1993. Alkaline Persulfate Oxidation for Determining Total Nitrogen in Microbial Biomass Extracts. *Soil Sci Soc Am J* 57(4):1007-1012.
- Calderon F.J., Jackson L.E., Scow K.M., and Rolston D.E., 2000. Microbial responses to simulated tillage in cultivated and uncultivated soils. *Soil Biology and Biochemistry* 32(11,À12):1547-1559.
- Call R.E., and Extension U.o.A.C., 1999. Arizona Master Gardener Manual: Cooperative Extension, College of Agriculture, University of Arizona.
- Catizone P., and Zanin G., 2002. Malerbologia: P√ † tron.
- Ciccarese D., 2012. Il libro nero dell'agricoltura: Ponte alle Grazie.
- Colombo C., Palumbo G., Sannino F., and Gianfreda L., 2002. Chemical and biochemical indicators of managed agricultural soils. 17th World Congress of Soil Science, Bangkok, Thailand 1740:1-9.
- COMAGRI, 2007-2009. Sustainable agriculture and soil conservation.
- Concheri G., and Stellin F., 2013. Analisi elementare strumentale: aspetti generali di funzionamento di un analizzatore elementare 'vario MACRO'. Università degli Studi di Padova. p 2.
- CTIC, 2004. Conventional Tillage.
- Daclom C.M., 2000. Agricoltura e riforma mondiali, in Agricoltura. Rivista del Ministero Politiche Agricole e Forestali.
- de la Horra A.M., Conti M.E., and Palma R.M., 2003. beta-Glucosidase and proteases activities as affected by long-term management practices in a typic argiudoll soil. *Commun Soil Sci Plant Anal* 34(17-18):2395-2404.
- Dell'Agnola G., and Nardi S., 1993. Ruolo della sostanza organica nella regolazione della fertilità dei terreni. In: Nannipieri P., editor. Ciclo della sostanza organica nel suolo: Patron. p 41.

- Dendooven L., Gutierrez-Oliva V.F., Patino-Zuniga L., Ramirez-Villanueva D.A., Verhulst N., Luna-Guido M., Marsch R., Montes-Molina J., Gutierrez-Miceli F.A., Vasquez-Murrieta S. et al. , 2012. Greenhouse gas emissions under conservation agriculture compared to traditional cultivation of maize in the central highlands of Mexico. *Sci Total Environ* 431:237-244.
- DeNobili M., and Maggioni A., 1993a. Influenza della sostanza organica sulle proprietà fisiche del suolo. In: Nannipieri P., editor. *Ciclo della sostanza organica nel suolo: Patron*. p 43-54.
- DeNobili M., and Maggioni A., 1993b. Regolazioni delle proprietà chimiche del suolo da parte della sostanza organica. In: Nannipieri P., editor. *Ciclo della sostanza organica nel suolo: Patron*. p 55-65.
- Derpsch R., and Theodor F., 2008. Global overview of conservation agriculture adoption In: FAO, editor.
- Dick R.P., 1997. Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. In: Pankhurst C.E., Doube B.M., and Gupta V.V.S.R., editors. *Biological indicators of soil health: CAB international*. p 121-156.
- Dick R.P., Sandor J.A., and Eash N.S., 1994. Soil enzyme activities after 1500 years of terrace agriculture in the Colca Valley, Peru. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 50(2):123-131.
- Doran J.W., and Parkin T.B., 1994. Defining and Assessing Soil Quality. *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment sssaspecialpubl(definingsoilqua):1-21*.
- Drijber R.A., Doran J.W., Parkhurst A.M., and Lyon D.J., 2000. Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management. *Soil Biology and Biochemistry* 32(10):1419-1430.
- Eivazi F., Bayan M.R., and Schmidt K., 2003. Select Soil Enzyme Activities In The Historic Sanborn Field As Affected By Long-term Cropping Systems. *Commun Soil Sci Plant Anal* 34(15-16):2259-2275.
- Esen A., Agricultural A.C.S.D.o., Chemistry F., and Meeting A.C.S., 1993. *Beta-glucosidases: biochemistry and molecular biology: American Chemical Society*.
- Eurostat, 2013. Agro-environmental indicator-tillage practices. [http://epp.eurostat.ec.europa.eu/statistics\\_explained/index.php/Agri-environmental\\_indicator\\_-\\_tillage\\_practices](http://epp.eurostat.ec.europa.eu/statistics_explained/index.php/Agri-environmental_indicator_-_tillage_practices). Last visualisation: 07/10/2013
- FAO, 2012. Conservation Agriculture. <http://www.fao.org/ag/ca/1a.html>. Last visualisation: 7/10/2013
- Franzluebbers A.J., Stuedemann J.A., Schomberg H.H., and Wilkinson S.R., 2000. Soil organic C and N pools under long-term pasture management in the Southern Piedmont USA. *Soil Biology and Biochemistry* 32(4):469-478.
- Fukuoka M., and Pucci G., 2003. *La rivoluzione del filo di paglia. Un'introduzione all'agricoltura naturale: Libreria Editrice Fiorentina*.
- Gajda A.M., 2008. Effect of different tillage systems on some microbiological properties of soils under winter wheat. *Int Agrophys* 22(3):201-208.

- Gajda A.M., Przewłoka B., and Gawryjolek K., 2013. Changes in soil quality associated with tillage system applied. *Int Agrophys* 27(2).
- Gianfreda L., and Bollag J.M., 1996. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. In: Stotzky G., and Bollag J.M., editors. *Soil Biochemistry*. New York: Marcel Dekker.
- Giardini L., 2002. *Agronomia generale ambientale e aziendale: P√ † tron*.
- Gil-Sotres F., Trasar-Cepeda C., Leir√ ≥s M.C., and Seoane S., 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry* 37(5):877-887.
- Gregorich E.G., Carter M.R., Angers D.A., Monreal C.M., and Ellert B.H., 1994a. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Canadian Journal of Soil Science* 74(4):367-385.
- Gregorich E.G., Carter M.R., Angers D.A., Monreal C.M., and Ellert B.H., 1994b. TOWARDS A MINIMUM DATA SET TO ASSESS SOIL ORGANIC-MATTER QUALITY IN AGRICULTURAL SOILS. *Canadian Journal of Soil Science* 74(4):367-385.
- Jimenez M.D., de la Horra A.M., Pruzzo L., and Palma R.M., 2002. Soil quality: a new index based on microbiological and biochemical parameters. *Biology and Fertility of Soils* 35(4):302-306.
- Kandeler E., Tschirko D., and Spiegel H., 1999. Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralisation and enzyme activities of a Chernozem under different tillage management. *Biology and Fertility of Soils* 28(4):343-351.
- Kirchner M.J., Wollum A.G., and King L.D., 1993. Soil Microbial Populations and Activities in Reduced Chemical Input Agroecosystems. *Soil Sci Soc Am J* 57(5):1289-1295.
- Knight T.R., and Dick R.P., 2004. Differentiating microbial and stabilized C<sub>E</sub>-glucosidase activity relative to soil quality. *Soil Biology and Biochemistry* 36(12):2089-2096.
- Lal R., 2004a. Agricultural activities and the global carbon cycle. *Nutr Cycl Agroecosyst* 70(2):103-116.
- Lal R., 2004b. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *Science* 304(5677):1623-1627.
- Lal R., and Kimble J.M., 1997. Conservation tillage for carbon sequestration. *Nutr Cycl Agroecosyst* 49(1-3):243-253.
- Logan W.B., 2011. *La pelle del pianeta. Storia di una terra che calpestiamo*. Torino: Bolati Boringheri.
- Marinari S., Mancinelli R., Carnpiglia E., and Grego S., 2006. Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in Central Italy. *Ecol Indic* 6(4):701-711.
- Mohammadi K., Ghalavand A., Aghaalikhani M., Heidari G., Shahmoradi B., and Sohrabi Y., 2011a. Effect of different methods of crop rotation and fertilization on canola traits and soil microbial activity. *Aust J Crop Sci* 5(10):1261-1268.
- Mohammadi K., Heidari G., Khalesro S., and Sohrabi Y., 2011b. Soil management, microorganisms and organic matter interactions: A review. *Afr J Biotechnol* 10(86):19840-19849.

- Moore J.M., Klose S., and Tabatabai M.A., 2000. Soil microbial biomass carbon and nitrogen as affected by cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 31(3-4):200-210.
- Nannipieri P., 1993. *Ciclo della sostanza organica nel suolo: aspetti agronomici, chimici, ecologici e selvicolturali*: Patron.
- Nannipieri P., Kandeler E., and Ruggiero P., 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: Burns R.G., and Dick R.P., editors. *Enzymes in the Environment* Marcel Dekker. New York. p 1-34.
- Pankhurst C.E., Doube B.M., and Gupta V.V.S.R., 1997. Biological indicators of soil health: Synthesis. In: Pankhurst C.E., Doube B.M., and Gupta V.V.S.R., editors. *Biological indicators of soil health*: CAB International. p 419-435.
- Pisante M., 2007. *Agricoltura blu. La via italiana dell'agricoltura conservativa. Principi, tecnologie e metodi per una produzione sostenibile*: Edagricole.
- Sánchez-Monedero M.A., Mondini C., Cayuela M.L., Roig A., Contin M., and Nobili M., 2008. Fluorescein diacetate hydrolysis, respiration and microbial biomass in freshly amended soils. *Biology and Fertility of Soils* 44(6):885-890.
- Schnürer J., and Rosswall T., 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl Environ Microbiol* 43:1256-1261.
- Singhania R.R., Patel A.K., Sukumaran R.K., Larroche C., and Pandey A., 2013. Role and significance of beta-glucosidases in the hydrolysis of cellulose for bioethanol production. *Bioresource Technology* 127:500-507.
- Smith J.L., and Paul E.A., 1990. The significance of soil microbial biomass estimations. In: Bollag J.M., and Stotzky G., editors. *Soil Biochemistry*. p 357-396.
- Sparling G.P., and West A.W., 1988. A direct extraction method to estimate soil microbial C: calibration in situ using microbial respiration and <sup>14</sup>C labelled cells. *Soil Biology and Biochemistry* 20(3):337-343.
- Spiegelhalder B., Eisenbrand G., and Preussmann R., 1976. Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva: Possible relevance to in vivo formation of N-nitroso compounds. *Food and Cosmetics Toxicology* 14(6):545-548.
- Stopes C., Lord E.I., Philipps L., and Woodward L., 2002. Nitrate leaching from organic farms and conventional farms following best practice. *Soil Use Manage* 18:256-263.
- Stubberfield L.C.F., and Shaw P.J.A., 1990. A comparison of tetrazolium reduction and FDA hydrolysis with other measurements of microbial activity. *Journal of Microbiological Methods* 12:151-162.
- Tabatabai M.A., Weaver R., Augle S., Bottomly P.J., Bezdicek D., Smith S., and Wollum A., 1994. *Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties N5*: Soil Science Society of America.
- Tonelli C., Veronesi U., and Casadei E., 2010. *Acqua e cibo: la rivoluzione necessaria. I piani della scienza per nutrire il pianeta*: Sperling & Kupfer.

- Trasar-Cepeda C., LLeiro's M., Seoane S., and Gil-Sotres F., 2000. Limitation of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology and Biochemistry* 32:1867-1875.
- Treccani, 2013a. *Agricoltura*. Last visualisation: 7/10/2013  
<http://www.treccani.it/enciclopedia/agricoltura/>.
- Treccani, 2013b. *Monocoltura*. Last visualisation: 7/10/2013  
<http://www.treccani.it/enciclopedia/monocoltura/>.
- Vance E.D., Brookes P.C., and Jenkinson D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19(6):703-707.
- Violante P., 2002. *Chimica del suolo e della nutrizione delle piante: Il Sole* 24 Ore Edagricole.
- Willer, Helga, Kilcher, and Lukas, 2012. *The World of Organic Agriculture – Statistics and Emerging Trends 2012*. Bonn: Research institute of Organic Agriculture (FiBL), Frick, and International Federation of Organic Agriculture Movements (IFOAM).