



Università degli Studi della Tuscia di Viterbo

Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali DAFNE

Corso di Dottorato di Ricerca in

SCIENZE DELLE PRODUZIONI ANIMALI E VEGETALI - XXXI Ciclo

**Effetti della coltivazione di piante aromatiche sulla conservazione del carbonio organico e della fertilità biologica del suolo:
il caso studio di due ambienti della Regione Lazio**

s.s.d. AGR/04

Tesi di dottorato di:

Dott. Andrea Lucibelli

Coordinatore del corso

Prof.ssa Roberta BERNINI

Prof.ssa Stefania MASCI

Tutor

Dott. Gianluca BURCHI

Dott.ssa Maria Teresa DELL'ABATEI

A.A. 2019/20

Indice

<i>Riassunto esteso</i>	I
<i>Prefazione e struttura della tesi</i>	III
CAPITOLO I. Introduzione generale	1
1 Introduzione	1
2 L'agricoltura sostenibile	3
3 Le piante aromatiche e officinali	4
3.1 Tassonomia delle specie studiate	5
3.1.1 <i>Finocchietto selvatico (Foeniculum vulgare)</i>	6
3.1.3 <i>Origano (Origanum hirtum)</i>	7
3.1.4 <i>Timo (Thymus vulgaris)</i>	8
3.2 La filiera delle piante officinali ed aromatiche	9
3.3 Aspetti generali e tutela della biodiversità delle specie aromatiche	12
3.4. Fattori ambientali e coltivazione delle specie aromatiche	15
4 La Sostanza organica del suolo (SOM) ed i suoi elementi	16
4.1 Il ruolo della SOM nella gestione agricola sostenibile	17
4.2 Carbonio	19
4.2.1 <i>Il ciclo del carbonio</i>	21
4.3 Azoto	21
4.4 Fertilità biologica ed indicatori biologici (IBF)	22
4.4.1 <i>Attività microbica del suolo-Respirazione Microbica del Suolo (SMR)</i>	23
4.4.2 <i>Quoziente metabolico per la CO₂ (qCO₂)</i>	24
4.4.3 <i>Quoziente di mineralizzazione dell'azoto</i>	24
5 La fertilizzazione	24
5.1. La fertilizzazione minerale	25
5.2 La fertilizzazione organica	27
5.3 La fertilizzazione organo-minerale	28
CAPITOLO II. Analisi bibliometrica sul settore delle piante aromatiche	30
1 Riassunto	30
2 Materiali e metodi	30
2.1 Sorgenti dati	30
2.2 Data processing.....	31
3 Risultati e discussioni	31
CAPITOLO III. Scopo della ricerca	35
CAPITOLO IV. Materiali e Metodi	37
1 Lavoro di sperimentazione	37
1.1 Prova dell'effetto della fertilizzazione sull'attività microbica del suolo in due ambienti differenti (Capitolo V)	37
1.2 Prova dell'effetto della coltivazione biennale di piante aromatiche sui contenuti di carbonio organico totale e azoto totale (Capitolo VI)	38
1.3 Stima della copertura vegetale di colture aromatiche da immagini digitali (Capitolo VII)	38

2 Area di studio	39
2.1 Clima.....	42
2.1.1 Area sperimentale 1 - Tarquinia.....	42
2.1.2 Area sperimentale 2 - Rieti.....	43
3 Disegno sperimentale	44
4 Raccolta campioni.....	47
5 Analisi statistica.....	49
<i>CAPITOLO V. Fertilità biologica del suolo nella coltivazione di piante aromatiche in due diversi ambienti: risorse e metabolismo.....</i>	50
Riassunto	50
1 Introduzione	50
2 Materiali & Metodi.....	51
2.1 Area di studio	51
2.2 Disegno sperimentale e campionamento del suolo.....	52
2.3 Analisi di laboratorio	52
2.4 Prove di incubazione e respirazione (SMR) in mesocosmo con aggiunte di fertilizzante	53
2.5 Indice di fertilità biologica	54
2.6 Analisi Statistica	55
3. Risultati e Discussione.....	55
3.1 Parametri biochimici del suolo al tempo T0.....	55
3.2 Prove di incubazione e respirazione in mesocosmo con aggiunte di fertilizzante.....	58
3.3 Parametri biochimici del suolo al tempo T1 vs T0.....	63
3.4 Effetto delle colture aromatiche sul suolo in assenza di fertilizzazione – Il trattamento Controllo (CTRL).....	66
4. Conclusioni.....	69
<i>CAPITOLO VI. Sostanza organica del suolo e piante officinali: effetti della coltivazione biennale sui contenuti di carbonio organico totale e azoto totale.....</i>	70
Riassunto	70
1 Introduzione	70
2 Piante aromatiche e loro relazione con Carbonio e Azoto suolo	72
3 Coltivazioni meno impattanti e/o più sostenibili rispetto all’apporto di N	73
4 Materiali and Metodi	73
4.1 Area di studio	73
4.2 Disegno sperimentale e sorgenti dati	73
4.3 Elaborazioni spaziali.....	74
4.4 Analisi Statistica	74
5 Risultati.....	74
5.1 TOC e N _{Tot} Prima della prova sperimentale	75
5.2 TOC nel sito Tarquinia	78
5.3 TOC nel sito Rieti	79
5.4 N _{Tot} nel sito Tarquinia	80
5.5 N _{Tot} nel sito Rieti	81
5.6 Spazializzazioni	82

6 Discussioni e Conclusioni	92
<i>CAPITOLO VII. Stima della copertura vegetale di colture aromatiche da immagini digitali</i>	98
Riassunto	98
1 Introduzione	98
2 Materiali and Metodi	100
2.1 Immagini artificiali di copertura vegetale	100
2.2 Immagini di copertura vegetale delle colture di campo	100
2.3 Analisi di immagine	101
2.4 Analisi statistica	103
3 Risultati	103
3.1 Immagini artificiali di coperturta vegetale	103
3.2 Immagini di copertura vegetale reale	105
4 Discussioni	107
5 Conclusioni	109
<i>CAPITOLO VIII. Conclusioni e Prospettive Future</i>	110
Conclusioni generali	110
Prospettive future	113
<i>Bibliografia</i>	115
<i>Ringraziamenti</i>	128
<i>Lista delle pubblicazioni</i>	129

**Effetti della coltivazione di piante aromatiche sulla conservazione
del carbonio organico e della fertilità biologica del suolo:
il caso studio di due ambienti della Regione Lazio**

Riassunto esteso

Il presente lavoro ha come scopo quello di valutare l'effetto dell'inserimento delle specie officinali negli avvicendamenti colturali sulla fertilità dei suoli. Fissato come obiettivo il confronto della sostanza organica del suolo (SOM) prima e dopo due cicli colturali, sono stati selezionati indicatori atti a valutare l'impatto dell'attività microbica sul Carbonio Organico Totale contenuto nei suoli. Il confronto fra i due periodi ha, inoltre, considerato due tipi di ambienti: costiero e collinare. Per ogni ambiente è stata individuata un'azienda sperimentale che avesse una porzione non interessata recentemente da coltivazioni.

La metodica usata ha previsto campionamenti del suolo su cui sono state poi eseguite analisi di laboratorio per la stima di parametri biologici e chimici. Sono state condotte analisi di laboratorio per valutare indicatori quali: contenuto di sostanza organica, biomassa microbica, respirazione microbica e contenuto di azoto. Elaborazioni cartografiche sono state eseguite per la valutazione spaziotemporale del contenuto di carbonio organico del suolo nelle due annate agrarie. Gli indicatori utilizzati hanno mostrato che due annate agrarie con coltivazione di piante aromatiche non hanno influito decisamente sul rapporto C/N, ma hanno comunque avuto un impatto negativo su entrambi gli indicatori (Carbonio microbico e Carbonio organico totale) evidenziando un decremento della sostanza organica. I risultati relativi ai prodotti cartografici hanno rappresentato molto bene l'omogeneità dei suoli ad inizio prova e la presenza di variazioni dei contenuti di carbonio e di azoto ottenuti per effetto della coltivazione biennale delle quattro specie officinali coltivate con tre trattamenti fertilizzanti ed un controllo non fertilizzato. Interessante, e motivo di ulteriore studio, è stata la reazione microbica dei suoli (in termini di attività microbica, quindi contenuto di Carbonio microbico, Respirazione cumulativa, quoziente metabolico e quoziente di mineralizzazione) dei due ambienti all'inserimento della coltivazione delle specie officinali e relative fertilizzazioni. Inoltre è stato messo a punto un metodo per determinare la copertura vegetale tramite l'analisi di immagini artificiali al fine di monitorare gli accrescimenti durante la sperimentazione senza ricorrere a prelievi distruttivi. Questo metodo trova largo uso nello studio delle foreste e delle chiome, quindi sono stati provati i metodi e settati i parametri per lo studio delle chiome delle piante aromatiche ed infine se ne è verificata l'accuratezza. L'accuratezza della classificazione è stata validata utilizzando immagini artificiali della vegetazione. I risultati hanno mostrato come la fotografia digitale sia un metodo economico e robusto per la determinazione della copertura vegetale di alcune specie aromatiche. Il

metodo ha riscosso buoni risultati solo con le specie caratterizzate da foglie a lamina semplice e lanceolata (menta, origano e timo), mentre per le specie caratterizzate da foglie modificate sottili e filamentose (finocchietto) non sono stati rilevati risultati soddisfacenti: ciò perché le foglie più larghe facilitano la captazione e discriminazione dei pixel verdi della vegetazione nelle immagini artificiali. Nell'immaginario collettivo, il mondo legato alle piante aromatiche è spesso associato ad una realtà ecosostenibile, essendo queste piante rustiche che richiedono bassi input nutrizionali. Nel presente lavoro si è dimostrato l'impatto della coltivazione e della fertilizzazione delle piante aromatiche sulla sostanza organica del suolo e che l'entità dell'effetto dipende dalle condizioni pedoclimatiche. Quindi, in caso di inserimento negli avvicendamenti colturali non si può non valutare una fertilizzazione di base dedicata, a seconda dell'ambiente, con un fertilizzante organico o organo-minerale per poter garantire la conservazione o il minor impatto sul contenuto di sostanza organica nel suolo. La sostenibilità della coltivazione si basa sulla conservazione del contenuto di sostanza organica del suolo che, in caso di inserimento delle specie aromatiche nelle rotazioni colturali aziendali, deve essere opportunamente bilanciato tramite apporti organici specifici per il tipo di ambiente.

Parole chiave: Piante officinali, Aromatiche, Suolo, Carbonio, Azoto, Fertilizzanti, Fertilità biologica.

Prefazione e struttura della tesi

La ricerca di Dottorato è stata svolta nell'ambito di una Convenzione tra l'Università La Tuscia di Viterbo ed il Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA), che ha finanziato la borsa di dottorato. L'Agenzia Regionale per lo sviluppo e l'innovazione in agricoltura della Regione Lazio (ARSIAL) ha cofinanziato la ricerca attraverso il progetto Pro.Arom, al quale hanno partecipato la stessa ARSIAL, il Centro Appenninico del Terminillo C. Jucci dell'Università di Perugia e CREA-AA di Roma.

Le prove sperimentali di campo sono state condotte presso l'Azienda dimostrativa ARSIAL di Tarquinia, sotto la supervisione del dott. Roberto Mariotti e della dott.ssa Claudia Papalini, e presso il campo catalogo del Centro Appenninico del Terminillo C. Jucci a Rieti, a cura della dott.ssa Simona Fiorentino e del dott. Valerio Vecchiarelli.

Le attività di laboratorio e di studio sono state condotte presso il CREA-AA, Centro di ricerca Agricoltura e Ambiente, sede di Roma, con la supervisione della dott.ssa Maria Teresa Dell'Abate.

La tesi è organizzata in sezioni secondo la struttura descritta qui di seguito.

Capitolo I. Introduzione generale alla tesi: illustra lo studio e la documentazione sull'approccio dell'agricoltura sostenibile trattando la regolamentazione che disciplina le filiere delle piante aromatiche e officinali relativamente alla coltivazione, raccolta e commercio in territorio italiano, la tutela della biodiversità delle specie aromatiche, nonché degli indicatori biochimici del suolo utili a comprendere lo stato di salute del suolo stesso ai fini della tutela della fertilità biologica e della tecnica e composizione dei fertilizzanti.

Capitolo II. Stato dell'arte sullo studio del settore: riporta il lavoro bibliometrico effettuato come *Network Analysis* sullo stato dell'arte in base ai lavori scientifici prodotti negli ultimi 40 anni e della comunicazione tra i settori chimico e biologico con quello agrario. Questa ricerca ha messo in risalto come il settore agronomico, per quanto affine, non dialoghi molto sull'argomento "officinali e fertilità" col settore chimico e biologico.

Capitolo III. Scopo della ricerca: riporta l'obiettivo del dottorato di ricerca sullo studio delle piante officinali e della fertilità dei suoli nell'ottica di sostenibilità di una filiera che è in espansione. In particolare, lo scopo principale è stato quello di studiare gli effetti della coltivazione in campo delle piante officinali sulla sostanza organica dei suoli in due ambienti differenti della Regione Lazio. Un secondo scopo, non meno importante, è stato quello di fornire indicazioni agli operatori del settore produttivo delle piante officinali, utili per capire come salvaguardare la fertilità dei suoli.

Capitolo IV. Materiali e metodi: descrive nel dettaglio le due aree di studio, il clima, le modalità e la tempistica della raccolta dei dati e la descrizione del disegno sperimentale, le fasi di campagna e laboratorio ed i dispositivi agronomici di coltivazione delle piante aromatiche in esame.

Capitolo V. Fertilità biologica di piante aromatiche in due diversi ambienti: risorse e metabolismo: riporta lo studio degli effetti dell'inserimento delle specie aromatiche e della fertilizzazione sull'attività microbica del suolo nei due ambienti della Regione Lazio. È stata studiata l'attività microbica del suolo attraverso l'uso di mesocosmi. Lo studio dell'attività microbica ha previsto l'analisi del suolo in tre condizioni: uno stato iniziale (assenza di coltura), con aggiunta di fertilizzante in laboratorio (in assenza di coltura) e dopo la prima annata agraria (dopo dei mesi dalla fertilizzazione in presenza delle colture in campo). In questo ambito è stato effettuato lo studio statistico dei risultati e la determinazione degli Indici di Fertilità Biologica. Il presente studio è servito per la produzione di una nota scientifica in fase di stesura per un articolo relativo alla sostenibilità della gestione del suolo agrario sottoposto ad un sistema di colture aromatiche confrontando due ambienti mediterranei.

Capitolo VI. Sostanza Organica del suolo (SOM) e Piante Officinali: effetti della coltivazione biennale sui contenuti di Carbonio Organico Totale (TOC) e Azoto Totale (N_{Tot}): riporta lo studio relativo all'indagine spazio-temporale svolta sul contenuto dei parametri chimici del suolo TOC e N_{Tot} prima e dopo due cicli colturali di piante aromatiche. In questo ambito è stato effettuato lo studio statistico dei risultati e la spazializzazione nelle due aree sperimentali dei parametri citati. Il presente studio è servito per la produzione di una nota scientifica in fase di stesura per un articolo relativo all'effetto della coltivazione delle piante aromatiche nel breve periodo sul contenuto di sostanza organica del suolo in due ambienti mediterranei.

Capitolo VII. Stima della copertura vegetale di colture aromatiche da immagini digitali: riporta lo studio effettuato per monitorare l'accrescimento di diverse specie aromatiche, attraverso la stima della loro copertura vegetale, tramite la messa a punto di tre metodi, basati sull'analisi di immagini artificiali, usati comunemente nello studio delle chiome nelle foreste. Di tali metodi, applicati per la prima volta sulle piante aromatiche, se ne è valutata l'efficienza e ne è scaturita una pubblicazione sulla rivista internazionale Biosystem Engineering (169(2018): 209-216).

Capitolo VIII, Le Conclusioni e le Prospettive future di tutto il lavoro fatto durante il percorso dei tre anni del progetto di dottorato sono qui esposte.

Capitolo IX. Elenca la Bibliografia di tutti i capitoli.

CAPITOLO I. Introduzione generale

1 Introduzione

Le piante officinali hanno sempre affascinato per le loro preziose proprietà biologiche. Una cultura millenaria le ha rese erbe dalle proprietà poliedriche. La loro presenza in un determinato ambiente caratterizza la biodiversità di un territorio. Molte di queste sono specie spontanee ma presentano caratteristiche uniche a seconda dell'ambiente in cui si sono adattate, in alcuni casi rappresentano la risorsa tipica di un territorio in cui antiche culture e produzioni locali sono legate da un forte legame di tradizioni e usi di queste erbe. Per tale motivo sono molto ricercate, ma non sempre l'offerta riesce a soddisfare la domanda. Da qui nasce il bisogno di inserirle nelle rotazioni aziendali. Bisogna chiarire che molte specie aromatiche sono spontanee proprio perché prediligono un ambiente rispetto a un altro e, come in molte specie, il suolo rappresenta uno dei fattori che favoriscono l'adattabilità di una specie ad un determinato ambiente, insieme al clima, esposizione, etc. Considerando il principio di sostenibilità delle produzioni agricole e filiere annesse, l'inserimento di piante aromatiche all'interno delle gestioni aziendali può esercitare un impatto sul suolo a livello localizzato attraverso le mutate relazioni pianta-suolo. Intanto, i consumatori attenti alla salubrità del prodotto e alla sostenibilità della filiera sono aumentati esponenzialmente negli ultimi 10 anni e, di conseguenza, i produttori sono interessati a soddisfare la domanda, inserendo nei loro avvicendamenti colturali specie adatte, cercando il modo di adottare produzioni sostenibili (Piano di settore della filiera delle piante officinali, Decreto legislativo 21 maggio 2018, n. 75). Il testo unico in materia di coltivazione, raccolta e prima trasformazione delle piante officinali entrato in vigore l'8 luglio 2018, all'art.1 comma 2 chiarisce cosa si intende per pianta officinale, ovvero quelle *“specie vegetali che in considerazione delle loro proprietà e delle loro caratteristiche funzionali possono essere impiegate, anche in seguito a trasformazione, nelle categorie di prodotti per le quali ciò è consentito dalla normativa di settore, previa verifica del rispetto dei requisiti di conformità richiesti”*. Relativamente alla coltivazione, ai comma 4 e 5 sono definite le attività riferite alla produzione, raccolta, trasformazione (art.2) dei prodotti e derivati. Il piano di settore della filiera delle piante officinali, come riportato nell'art.4 del testo unico, individua gli interventi volti a migliorare le condizioni di coltivazione, di raccolta e di prima trasformazione per incentivare lo sviluppo di filiera integrata dal punto di vista ambientale. Quindi, in previsione di disciplinari di produzione sostenibile, sono necessari studi specifici dell'effetto della coltivazione e fertilizzazione, visto l'inserimento nella gestione aziendale, delle specie aromatiche in suoli agricoli. Date le diverse tipologie di gestione aziendale che caratterizzano lo scenario agricolo italiano, ovvero la gestione integrata (Direttiva 2009/128/CE, D.L. 14/08/2012 n.150) e la gestione biologica (Regolamento 2018/848/CE, D.L.

30/06/2018), è importante tener conto dell'uso di tecniche e fertilizzazioni (Normativa Europea Reg. CE 2003/2003; Normativa Nazionale D.Lgs. 75/2010). Quindi, è necessario valutare anche l'effetto della gestione nell'utilizzo dei fertilizzanti e delle specie aromatiche in relazione alla sostanza organica dei suoli. L'agricoltura biologica rappresenta una valida alternativa di gestione sostenibile della fertilità del suolo grazie ad un approccio integrato a lungo termine, a differenza della gestione convenzionale (Watson *et al.*, 2002). La conservazione della qualità della sostanza organica dei suoli (Soil Organic Matter, SOM) è uno degli obiettivi dell'agricoltura sostenibile (Herrick, 2000) e il lavoro di dottorato in oggetto si è prefisso di indagare i parametri chimici di Carbonio Organico Totale (TOC), Azoto Totale (N_{Tot}) e gli indicatori biochimici relativi all'attività microbica del suolo (Bending *et al.*, 2004, Liebig e Doran, 1999, Dick e Gupta, 1994) quali la respirazione microbica (Soil Microbial Respiration, SMR), il quoziente metabolico ($q-CO_2$) e il quoziente di mineralizzazione (qM), cercando di comprendere le dinamiche nel suolo durante la coltivazione di piante aromatiche all'interno di ambienti diversi. I singoli indicatori microbiologici e biochimici del suolo non possono essere considerati singolarmente per la determinazione della qualità del suolo (Visser e Parkinson, 1992) in quanto presentano variabilità dei valori se analizzati durante il decorso dell'annata agraria e nella distribuzione spaziale (Nannipieri, 1994; Arshad e Martin, 2002).

Nel presente lavoro si è tenuto conto delle problematiche legate alla rilevazione e determinazione dei predetti indicatori biologici. Per tale motivo è stata di fondamentale importanza la ricerca della porzione di campo più idoneo, supportata dall'indagine preliminare del contenuto di TOC e relativa spazializzazione che ha consentito l'individuazione del sito omogeneo che ha permesso di procedere nell'esecuzione del disegno sperimentale. Poiché il contenuto di carbonio e l'attività della biomassa microbica del suolo sono strettamente correlati agli input di carbonio (Witter e Kanal, 1998), la gestione biologica, attraverso l'uso di tecniche come il sovescio e di fertilizzanti organici, prevede un considerevole input di materia organica che influenza le proprietà microbiche del suolo (Chander *et al.*, 1997). Altri autori hanno dimostrato vantaggi ottenibili dalla gestione biologica per migliorare o conservare la qualità del suolo (Wander *et al.*, 1994; Gunapala e Scow, 1998; Liebig e Doran, 1999; Bulluck *et al.*, 2002). Le piante aromatiche utilizzate nella sperimentazione sono poliennali e appartengono alle famiglie *Lamiaceae* e *Apiaceae*. Due delle quattro specie utilizzate nel presente studio sono autoctone del territorio della Maremma etrusca (finocchietto selvatico e menta, appartenenti all'ambiente costiero della provincia di Viterbo) mentre le altre due sono di interesse commerciale (timo e origano). Grazie al presente esperimento, in osservanza delle norme sulla conservazione e tutela della biodiversità (ISMEA, 2013) e dell'influenza dei fattori ambientali e pedoclimatici sulla produzione (Mulas *et al.*, 2005; Lopedota e Bianco, 2009), si è voluto verificare in due ambienti pedoclimatici differenti (costiero *vs.* montano) l'adattabilità sia delle due specie

autoctone (finocchietto selvatico e menta) sia delle due specie di interesse commerciale (timo e origano).

Nell'ambito del progetto del dottorato, trattandosi di un periodo di osservazione di circa due anni, si è scelto di indagare e studiare i parametri dell'indice di Fertilità Biologica (IBF) in tre momenti principali per comprendere l'impatto nel breve periodo della coltivazione delle specie aromatiche e delle relative fertilizzazioni in due ambienti differenti. In particolare, è stato analizzato il contenuto di TOC nel suolo nel corso dei due anni di sperimentazione per ciascun sito e sono state prodotte mappe di distribuzione spaziale nei diversi campionamenti, al fine di seguire la dinamica del carbonio nel suolo. Il presente studio può rappresentare un approccio preliminare per lo sviluppo di protocolli di produzione sostenibile in campo di piante aromatiche, in prospettiva futura in ottica di filiera, atti al minor depauperamento e/o migliore conservazione della SOM nei suoli. Ciò consentirebbe anche di catalogare le specie aromatiche in base alla loro interazione con il suolo e alle fertilizzazioni nell'ambito degli avvicendamenti colturali. Parte della sperimentazione condotta durante il triennio di dottorato è stata svolta all'interno di un progetto finanziato dalla Regione Lazio: Pro.Arom, condotto dall'Agenzia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio (ARSIAL) insieme con l'Università di Perugia (UNIPG) e l'Università La Sapienza di Roma.

2 L'agricoltura sostenibile

Secondo la FAO (2008), l'agricoltura sostenibile comporta una gestione efficace delle risorse agricole, soddisfacendo al contempo i bisogni umani, mantenendo o migliorando la qualità ambientale e conservando le risorse naturali per le generazioni future. Inoltre, avere un approccio sostenibile consente impatti minori sugli equilibri degli ecosistemi, garantendo la conservazione del suolo, la tutela delle risorse idriche della Terra e del patrimonio microbico indispensabili per i processi ecosistemici atti a garantire la biodiversità delle piante, esseri animali e dell'uomo (FAO, 2008).

Per soddisfare le crescenti e pressanti richieste del mercato, i produttori agricoli sono spesso costretti ad aumentare significativamente la resa delle proprie coltivazioni con l'uso di tecniche di agricoltura intensiva. La gestione agricola intensiva ha contribuito, e contribuisce tuttora, al degrado ambientale attraverso l'aumento delle emissioni di gas serra, la perdita di biodiversità e la ridotta offerta di molti servizi ecosistemici inclusa la conservazione del suolo e dell'acqua (Millennium Ecosystem Assessment, 2005; Kirschenmann, 2010).

Oggi, in termini di sostenibilità ambientale, la priorità è proprio la conservazione della qualità del suolo che, a causa delle nuove tecniche di gestione aziendale intensive, è sollecitata/depauperata in modo considerevole. Tecniche come l'aratura meccanica, l'uso di fertilizzanti chimici/minerali,

regolatori di crescita delle piante e pesticidi, influenzano le proprietà fisiche e chimiche del suolo. Ciò causa aumenti della concentrazione salina, dei metalli pesanti e del contenuto di sostanze di origine xenobiotica con conseguenziale depauperamento della materia organica e alterazioni delle proprietà biochimiche del suolo e della biodiversità (Tilman *et al.*, 2002). Precisamente, la riduzione della materia organica del suolo in agricoltura intensiva è dovuta principalmente alle asportazioni delle colture e all'aumento dei cicli colturali; questo comporta una accelerazione dei processi di erosione e mineralizzazione (FAO, 2008; Avagyan *et al.*, 2015).

Di contro, la gestione aziendale biologica, che prevede l'uso di fertilizzanti organici, dimostra di essere uno strumento chiave per il mantenimento della qualità e della sostenibilità del suolo nei sistemi di agricoltura intensiva e non (Doran, 1994; Bulluck *et al.*, 2002; Tilman *et al.*, 2002).

3 Le piante aromatiche e officinali

Le piante aromatiche, tipiche dell'area mediterranea, sono piante dotate di una o più sostanze che conferiscono particolari odori o sapori e, per tale motivo, vengono impiegate nella preparazione di bevande, profumi, cosmetici e per condire alimenti. Esse emanano aromi gradevoli grazie a degli oli essenziali contenuti all'interno dei tessuti che compongono i loro apparati (radici, foglie, fiori e fusto). Le famiglie botaniche più ricche di oli essenziali sono le *Asteraceae*, le *Lamiaceae*, le *Rutaceae*, le *Liliaceae*, le *Pinaceae*. I componenti di un olio essenziale possono poi subire trasformazioni chimiche nel corso dello sviluppo della pianta. Studi dimostrano come varia la composizione dell'olio essenziale durante le fasi di sviluppo vegetativo della pianta (Figueiredo *et al.*, 2008). Nei primi stadi vegetativi (accestimento e levata) la pianta presenta un contenuto maggiore di composti a funzione alcolica mentre, durante il periodo di formazione e di sviluppo delle infiorescenze, gli acidi liberi che si trovano nella pianta reagiscono con gli alcoli formando esteri (Figueiredo *et al.*, 2008). Le parti della pianta maggiormente interessate dall'accumulo di sostanza odorosa sono quelle verdi sin dai primi mesi di vita, poi continuano a formarsi ed accumularsi fino alla fioritura, rallentando con il progredire della stessa (Figueiredo *et al.*, 2008). La sintesi dei composti odorosi deriva dalla produzione di metaboliti secondari e dall'attivazione del processo di fotosintesi clorofilliana, quindi, condizioni ottimali di esposizione e presenza di luce favoriscono l'accumulo di oli più ricchi di esteri. Si deduce da ciò che coltivazioni di piante aromatiche di alta montagna danno oli di maggiore qualità rispetto a piante coltivate a bassa quota grazie all'effetto della maggior luce (Figueiredo *et al.*, 2008). Le sostanze che conferiscono le proprietà aromatiche sono, in particolar modo, accumulate in strutture specializzate dette peli ghiandolari, dotti resiniferi, ghiandole lisigene (Novak *et al.*, 2005). Con il termine “*officinali*” si intendono quelle specie vegetali che, per il loro uso medicinale, aromatico o cosmetico, subiscono processi officinali necessari per ottenere gli estratti contenenti i

principi attivi interessati. Inoltre, per convenzione, le definizioni “*pianta aromatica*” e “*pianta medicinale*” vengono incluse nell’unica accezione di “*pianta officinale*” (ISMEA, 1994). L’Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha specificato che col termine “*pianta medicinale*” si intende “...ogni vegetale che contiene sostanze che possono essere utilizzate per scopi terapeutici o preventivi, sotto forma di preparati semplici. Oppure, dopo averle isolate e modificate chimicamente, possono far parte di prodotti farmaceutici e quindi sono i precursori di sintesi chimico-farmaceutiche...” (De Maria, 1992).

3.1 Tassonomia delle specie studiate

Le piante officinali del presente lavoro sono: il finocchietto selvatico (*Foeniculum vulgare*), la menta (*Mentha suaveolens*), l’origano (*Origanum hirtum*) ed il timo (*Thymus vulgaris*), caratterizzate da cicli colturali poliennali. Di queste, il finocchietto selvatico e la menta sono ecotipi locali della Maremma Etrusca. Le due specie origano e timo sono di particolare interesse commerciale.

Il finocchietto selvatico appartiene alla famiglia delle *Ombrellifereae* (nome derivato dall’infiorescenza a ombrella) o *Apiaceae* (nome derivato dall’apiolo, composto organico contenuto nei tessuti ed utilizzato a scopi medici), caratterizzata da una vasta ed omogenea famiglia di dicotiledoni che comprende 420 generi e circa 3000 specie, che è stata la prima famiglia di piante riconosciuta dai botanici e soggetto di studio sistematico di classificazione nel *Plantarum Umbelliferarum* ad opera del botanico tassonomista scozzese Morison nel 1672 (Morison, 1672). L’infiorescenza tipica delle ombrellifere è il racemo con fiori peduncolati riuniti alla sommità dell’asse circa allo stesso livello, detta ombrella; il complesso è di norma accompagnato al di sotto dei peduncoli da un involucreo che è formato da bratte. Sono piante dicotiledoni perenni, presentano infiorescenze semplici o composte bianche o più raramente rosa o gialle, il gambo spesso è cavo o contenente una sostanza midollare spugnosa e all’esterno presentano dei solchi longitudinalmente. I frutti sono piccoli e molto diversi a seconda della specie e quindi utili per il riconoscimento e la classificazione.

Menta, origano e timo appartengono alla famiglia delle *Labiataeae* (nome derivato dalla forma del lembo della corolla a forma di labbro), detta anche *Lamiaceae*, caratterizzata da una vasta ed omogenea famiglia di dicotiledoni che comprende 200 generi e circa 3200 specie. Esse preferiscono ambienti aperti e soleggiate, allo stato spontaneo prediligono habitat memorali entrando nella costituzione di macchie e garighe, pascoli aridi montani o pascoli umidi (Pignatti S., 1982). Alla base del loro ampio utilizzo vi è una caratteristica istologica che le accomuna: la presenza, lungo l’intera pianta, in particolare sul fusto e sulle foglie, di ghiandole e peli secretori contenenti oli essenziali (Cantino P.D., 1990). Il carattere morfologico più evidente è dato dal lembo della corolla, incurvato

sia all'interno che all'esterno a ricordare la forma di un labbro. Sono piante prevalentemente erbacee, annuali o perenni. Il fusto e i rami sono a caratteristica sezione quadrangolare. Le foglie, prive di stipole, sono opposte o verticillate, semplici o pennato-sette o pennato-composte. I fiori sono ermafroditi, zigomorfi, riuniti in infiorescenze che possono essere a spicastro (insieme di fiori inseriti all'ascella delle foglie disposte a corona sui nodi, molto ravvicinati, che rassomigliano ad una spiga) oppure a verticillastro. La corolla, caratteristica, è bilabiata e si compone di 5 petali: 2 formano il labbro superiore e 3 quello inferiore. L'ovario è supero e quadriloculare. Lo stilo è ginobasico, lo stimma è generalmente bifido. I semi hanno scarso endosperma cellulare, spesso riassorbito durante lo sviluppo embrionale. L'impollinazione è quasi sempre entomogama e, nello specifico, è operata da ditteri ed imenotteri.

3.1.1 *Finocchietto selvatico (Foeniculum vulgare)*

Pianta erbacea perenne con foglie filiformi disposte in modo alternato e presentano dei piccioli allargati alla base che inguainano il gambo (Figura 1). L'infiorescenza, molto ricercata nella cucina maremmana, è la tipica ombrella munita alla base di un involucri formato di brattee. I fiori sono costituiti da 5 petali e 5 sepali ridotti, l'androceo è formato da 5 stami, l'ovario è infero formato da due carpelli. L'ovario porta due stili che si allargano alla base in un disco nettario. I frutti, secchi, sono molto richiesti in erboristeria, sono dei diachenii che si scindono in due a maturità, ogni parte contenente un seme (Bartolucci *et al.*, 2018).

L'olio essenziale che si estrae da questa pianta è caratterizzato dalla presenza di quattordici composti di cui il trans-anetolo è quello maggiormente presente (Ilic *et al.*, 2019).



Figura 1. *Foeniculum vulgare*.

3.1.2 *Menta (Mentha suaveolens)*

Pianta erbacea perenne alta fino a 90 cm, spesso stolonifera, legnosa alla base, con un forte odore acre, ha il fusto eretto o ascendente, quadrangolare, ramificato e con pelosità variabile (Figura 2). Foglie larghe 2-4 cm e lunghe meno del doppio, di colore grigio-verde più intenso nella pagina superiore, vellutate e rugose, sessili, opposte, a forma oblunga, ovata a volte anche orbicolare, arrotondate all'apice, con margine dentato o crenato - dentato, con nervi evidenti, corrugate e tomentose sulla pagina inferiore per peli cotonosi, bianchi semplici e ramosi, fiori ermafroditi e

profumati, portati da brevissimi peduncoli, sono raccolti in infiorescenze composte a dicasio di verticillastri di 07x 3-9 cm, ravvicinati e densi, fusiformi, appuntiti all'apice. Bratteole di 3-5 mm, da ovate a lanceolate. Calice persistente di 1-2 mm, gamosepalo, conico, grigio tomentoso, con 5 denti triangolari cigliati. Corolla di 3-4 mm con 4 lobi, biancastra o rosea. Stami sporgenti e stimma bifido. Frutto schizocarpico è un microbasario formato da 4 acheni monospermi. L'olio essenziale che si estrae da questa pianta presenta terpeni/molecole di interesse industriale e farmaceutico come: limonene, myrcene e mentolo (L. Valgimigli, 2012).



Figura 2. *Mentha suaveolens*.

3.1.3 Origano (*Origanum hirtum*)

L'origano deve il suo nome all'unione di due parole greche: "oros", che significa montagna e "ganos", che significa splendore. In medicina veniva usato grazie al suo profumo penetrante come disinfettante di ambienti durante le epidemie, bruciandolo in ampi bracieri insieme a timo e menta. È una pianta perenne erbacea (Figura 3) con un rizoma lignificato strisciante dal quale si sviluppano i fusti, alti fino a 60-70 cm, alcuni dei quali portano solo foglie mentre altri sostengono l'infiorescenza; essi sono arrossati in alto, con peli patenti, a sezione quadrangolare. Le foglie presentano piccioli di 3-6 mm e lamina lanceolata, spesso asimmetrica alla base e dentellata.



Figura 3. *Origanum hirtum*.

I fiori, raggruppati in un'infiorescenza corimbosa densa, possono essere di colore variabile: dal rosa al violetto, fino ad arrivare al bianco. Quasi privi di peduncolo con calice attinomorfo a 5 denti più o meno uguali, corolla a tubo dritto più breve dei denti calicini e brattee di 4-5 mm generalmente purpuree (Figura. 3). Il frutto è un tetrachenio ovoidale e bruno.

È un arbusto che fa parte della famiglia delle Lamiaceae e presenta sei sottospecie riconosciute in *Origanum vulgare* L. in base a differenze quali la presenza di peli, il numero di ghiandole sessili sulle foglie, dimensione e colore di brattee e fiori etc. (Strasburger, 2007):

1. *O. vulgare* L. spp. *vulgare* (Europa, Iran, India, Cina);
2. *O. vulgare* L. spp. *glandulosum* (Desfontaines) Ietswaart (Algeria, Tunisia);

3. *O. vulgare* L. spp. *gracile* (Koch) Ietswaart (Afganistan, Iran, Turchia, vecchia USSR);
4. *O. vulgare* L. spp. *hirtum* (Link) Ietswaart (Albania, Croazia, Grecia, Turchia);
5. *O. vulgare* L. spp. *viridulum* (Martrin-Donos) Nyman (Afganistan, Cina, Croazia, Francia, Grecia, India, Iran, Italia, Pakistan);
6. *O. vulgare* L. spp. *virens* (Hoffmannsegg & Link) Ietswaart (Azzorre, Isole Baleari, Isole Canarie, Madeira, Marocco, Portogallo, Spagna) (Russo *et al.*, 1988).

L'olio essenziale di origano è costituito principalmente da α -terpinene, carvacrolo e timolo, organene, acidi organici, acidi fenolici, resine, sali minerali, flavonoidi, proteine, tannini, vitamine, idrocarburi monoterpeneici, precursori del carvacrolo, sequiterpeni, terpeni ossigenati (Lanza, 2011; Kosakowaska *et al.*, 2019).

3.1.4 Timo (*Thymus vulgaris*)

Il timo è un arbusto sempreverde che fa parte della famiglia delle Lamiaceae, sottofamiglia Stachyoideae (Figura 4). La sua altezza varia, in relazione alla specie coltivata, da pochi centimetri a più di una trentina; il portamento può essere eretto o strisciante, con un fusto di colore bruno-verdastro che diventa legnoso dal secondo anno di vita.

Le foglie in quasi tutte le specie sono piccole e allungate, con una colorazione variabile dal verde più o meno intenso al verde chiaro, al grigio, all'argento, ricoperte da una fitta peluria in quasi tutte le specie. I fiori (Figura 5) sono di colore bianco-rosato, ermafroditi, crescono all'ascella delle foglie e infiorescenze a spiga e sono ad impollinazione entomofila, soprattutto ad opera delle api.

I frutti sono degli acheni contenenti, ciascuno, quattro semi ricoperti da un guscio di colore marrone (Strasburger, 2007).

Il genere *Thymus* comprende numerose specie tra cui ricordiamo: *Thymus serpyllum*, *Thymus citriodorus*, *Thymus zygis*, *Thymus herba barona* e *Thymus vulgaris*. Le specie *Thymus vulgaris* e *Thymus serpyllum* sono le due utilizzate per le loro proprietà terapeutiche ed aromatiche. I principali costituenti responsabili delle innumerevoli virtù del timo sono i fenoli e, in particolare, il timolo (30-70%) e il carvacrolo (3-15%) (Kokkini, 1997; Boruga *et al.*, 2014).

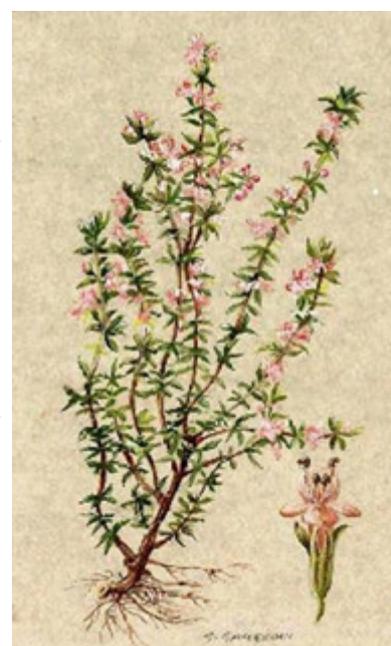


Figura 4. *Thymus vulgaris* L.



Figura 5. Fiore di *Thymus vulgaris* L.

3.2 La filiera delle piante officinali ed aromatiche

Il termine “*piante officinali*” deriva da una tradizione culturale e storica del nostro Paese, sancita in una norma del 1931, tuttora vigente (D.L. 21 maggio 2018, n. 75 - Testo unico in materia di coltivazione, raccolta e prima trasformazione delle piante officinali, ai sensi dell’articolo 5, della legge 28 luglio 2016, n. 154.), che rappresenta ad oggi la base normativa della “Disciplina della coltivazione, raccolta e commercio delle piante officinali”, e fa riferimento all’“*officina o opificina*”, nel significato di “*laboratorio*”, dove le piante venivano sottoposte alle varie lavorazioni (essiccazione, triturazione, macerazione, distillazione, estrazione dei principi attivi, ecc.) in modo da renderle utilizzabili ai diversi scopi. Pertanto, da qui deriva l’abbinamento “piante officinali” per indicare quelle piante che possono essere lavorate all’interno di un laboratorio. Tale termine, con il quale da un punto di vista agronomico si identifica un insieme di specie vegetali molto eterogeneo, comprende, in base alle principali destinazioni d’uso ed ai sensi dell’art.1 della Legge soprarichiamata, le piante medicinali, aromatiche e da profumo: ad es. la salvia, il rosmarino, la digitale, la cicuta e la camomilla sono piante officinali. Nell’accezione generale di piante officinali sono compresi anche alghe, funghi e licheni. Dalle piante officinali è possibile estrarre principi attivi utili a vari scopi. I principi attivi sono prodotti del metabolismo secondario della pianta, per cui esiste una grande variabilità intraspecifica nella qualità e quantità della sostanza. Infatti, piante della stessa specie mostrano differenze, anche marcate, se coltivate in ambienti diversi. Quindi, il principio attivo è la sostanza che caratterizza una specie o una varietà, quella che l’uomo ricerca in una determinata pianta per cui programma la coltivazione con appropriate scelte tecniche colturali per valorizzare e finalizzare la produzione. Viene definita “droga vegetale” la parte della pianta posta in commercio essiccata e sovente frammentata (i fiori della camomilla, la radice dell’ortica, i frutticini secchi del finocchio, ecc.). La droga è, quindi, la parte della pianta più ricca in principi attivi che hanno una attività biologica sull’organismo umano e/o animale, secondo la definizione più volte riportata nei documenti dell’OMS (Federici *et al.*, 2005). Pertanto, ai fini statistici, Istat ed Eurostat definiscono le “Piante aromatiche, medicinali, spezie e da condimento” come facenti parte del gruppo più ampio delle “Piante industriali” (ISMEA, 2013).

Considerando il fatto che finora non era mai stato redatto un Piano di Settore per le piante officinali, a fronte di un significativo mercato nazionale di prodotti a base di sostanze vegetali e loro derivati, il Mipaaf ha ritenuto opportuno costituire un Tavolo di filiera (Tavolo Tecnico del Settore piante officinali D.M. 15391 del 10 dicembre 2013), con il coinvolgimento di soggetti diversi e necessariamente multidisciplinari (Gruppi di Lavoro del Tavolo Tecnico del Settore piante officinali D.D. prot. N. 73436 del 19 ottobre 2018). Il Tavolo di filiera delle Piante Officinali è l’Organismo ove realizzare i processi di concertazione e coordinamento tra il Ministero della salute, il Ministero

dell'ambiente e della tutela del territorio e del mare, il Ministero dell'Economia e delle Finanze, l'Agenzia delle Dogane e dei Monopoli, le Regioni, le Organizzazioni Professionali, le Organizzazioni dei Produttori, le Unioni Nazionali degli operatori del commercio e della trasformazione industriale, l'AGEA, l'ISMEA, gli Enti di ricerca del CREA, del CNR, delle Università. Il Tavolo di filiera delle Piante Officinali nacque dall'esigenza di affrontare all'unisono le molteplici sfaccettature del settore delle piante officinali: dalla pianta (anche spontanea) al prodotto finito (Colombo *et al.*, 2014).

Il consumo di piante officinali da parte dell'industria farmaceutica, alimentare, liquoristica, cosmetica è in continuo aumento in tutto il mondo. Nel nostro Paese, mentre il settore della trasformazione e quello della commercializzazione dei prodotti finiti hanno fatto registrare negli ultimi 10 anni un notevole incremento, quello della coltivazione non cresce in maniera parametrata alla domanda (nonostante gli incrementi registrati) e riesce a far fronte al fabbisogno nazionale soltanto per il 30%. Ciò dipende dal fatto che la produzione italiana di piante officinali deve confrontarsi soprattutto per il prezzo con quella di altri Paesi, specialmente dell'Europa dell'Est e dei Paesi terzi, dai quali proviene circa il 70% delle erbe impiegate nel nostro Paese (ISMEA, 2013).

I maggiori produttori al livello mondiale, di piante medicinali ed aromatiche coltivabili anche in Italia sono: Albania, Bulgaria, Croazia, Grecia, Jugoslavia, Macedonia, Polonia, Romania, Slovacchia, Slovenia, Spagna, Turchia, Ungheria, Egitto, Marocco, Tunisia, Cina, India, Pakistan, Argentina, Brasile, Cile, Messico, Centro America, ed altri ancora (ISMEA, 2013).

Il fatto che il 70% del fabbisogno nazionale venga importato, porta a concludere che in Italia ci potrebbero essere buone possibilità di incrementare le coltivazioni di piante officinali e numerosi produttori agricoli potrebbero vedere nelle coltivazioni di queste piante delle interessanti opportunità. Le condizioni di fattibilità per poter avviare tali coltivazioni sono: la conoscenza di quali piante coltivare, quali terreni ed attrezzature siano indispensabili, quanta manodopera si deve avere a disposizione, quali macchinari siano necessari, quali siano i costi di produzione e/o trasformazione, quali siano le rese ed i redditi e soprattutto le reali potenzialità in termini di utilizzazione e commercializzazione.

A causa dell'elevato numero di specie officinali richieste dal mercato, ed in considerazione delle diverse situazioni pedoclimatiche ed aziendali, l'imprenditore agricolo deve valutare prioritariamente quali sono le specie più adatte alla sua realtà. Fondamentale, e non sempre facilmente valutabile, è la conoscenza della richiesta del mercato e la remuneratività. Una strategia vincente potrebbe essere quella di prendere contatti con le ditte di commercializzazione oppure con le industrie di trasformazione che possono acquistare le piante essiccate oppure i prodotti semilavorati. Indispensabile è poter conoscere le possibili vie di commercializzazione e i prezzi minimi che si

potrebbero realizzare oppure che si dovranno ipotizzare. Oltre alla coltivazione, potrebbe essere utile valutare la fattibilità di una prima trasformazione in azienda delle piante e la vendita in mercati di nicchia che, in realtà particolari, possono rivelarsi abbastanza remunerativi nel rispetto delle normative vigenti. Di seguito sono riportate le Leggi Regionali relative alla filiera delle piante aromatiche:

- Regione Valle d'Aosta – Legge Regionale 7 dicembre 2009, n.45 (Disposizioni per la tutela e la conservazione della flora alpina. Abrogazione della Legge Regionale 31 marzo 1977, n.17), Bollettino Ufficiale n.1 del 5 gennaio 2010; Legge regionale 16 febbraio 2011, n. 2 Disciplina delle attività di coltivazione, raccolta, prima trasformazione, trasformazione e commercializzazione delle piante officinali.

- Regione Piemonte – Legge Regionale del 3 agosto 1993, n.38 (Norme relative alla coltivazione ed alla commercializzazione delle piante officinali peculiari della Regione Piemonte), Bollettino Ufficiale 11 Agosto 1993, n.32.

- Regione Liguria – Legge Regionale del 30 gennaio 1984, n.9 (Norme per la protezione della flora spontanea), Bollettino Ufficiale del 15 febbraio 1984, n.7.

- Regione Friuli-Venezia Giulia – Deliberazione del Presidente della Giunta n.0244 del 3 luglio 2001.

- Provincia Autonoma di Trento – Legge Provinciale 28 marzo 2003, n.4 (Sostegno dell'economia agricola, disciplina dell'agricoltura biologica e della contrassegnazione dei prodotti geneticamente modificati, art. 43 ter, che disciplina la coltivazione, la raccolta, la preparazione, la trasformazione, il confezionamento e il commercio di piante officinali coltivate in Trentino). Attuato con D.P.P. 24 settembre 2008 n.41-148.

- Regione Toscana – Legge Regionale 6 aprile 2000, n.56 (Norme per la conservazione e la tutela degli habitat naturali e seminaturali, della flora e della fauna selvatiche – Modifiche alla legge regionale 23 gennaio 1998, n.7, Modifiche alla legge regionale 11 aprile 1995, n.49), Bollettino Ufficiale 17 aprile 2000, n.17.

- Regione Campania – Legge Regionale n.40 del 25 novembre 1994, (Tutela della flora endemica e rara), Bollettino Ufficiale del 29 novembre 1994, n.58.

- Regione Molise – Legge Regionale 23 febbraio 1999, n.9 (Norme per la tutela della flora in via di estinzione e di quella autoctona ed incentivi alla coltivazione delle piante del sottobosco e officinali. Ecologia.), G.U. n.031 Serie Speciale n.3 del 7 agosto 1999, Bollettino Ufficiale n.004 del 1 marzo 1999.

- Regione Sardegna – Legge Regionale 7 giugno 1989, n.31 (Norme per l'istituzione e la gestione dei parchi, delle riserve e dei monumenti naturali, nonché delle aree di particolare rilevanza naturalistica ed ambientale).

- Regione Sicilia – Legge Regionale 23 maggio 1994, n.9 (Norme per l’esercizio delle attività professionali erboristiche), Bollettino Ufficiale del 25 maggio 1994, n.25.
- Regione Lombardia - Legge regionale 31 marzo 2008 - n. 10 Disposizioni per la tutela e la conservazione della piccola fauna, della flora e della vegetazione spontanea.
- Provincia Autonoma di Bolzano - Decreto del Presidente della Provincia 13 febbraio 2013, n. 6 Coltivazione, raccolta, lavorazione e vendita di piante officinali, piante aromatiche e piante selvatiche
- Pubblicato nel B.U. 26 febbraio 2013, n. 9.

I prezzi ottenibili per le piante officinali coltivate sono sempre correlati alla qualità del prodotto (Assoerbe, FIPPO, SISTE).

L’offerta dell’industria relativa alla filiera delle piante officinali è in continuo aggiornamento per soddisfare le richieste della domanda di consumatori sempre più esigenti di prodotti a base vegetale. A seguito di ciò, l’industria ha aumentato e diversificato i prodotti derivati da piante officinali costituendo 10 tipologie:

- alimenti “convenzionali”;
- integratori alimentari [Direttiva 2002/46/ CE, Dlgs 169/2004];
- alimenti addizionati [Regolamento (CE) 1925/2006];
- medicinali vegetali tradizionali [Direttiva 2004/24/CE- Codice unico del farmaco DLgs 24.04.2006];
- dispositivi medici a base di piante e derivati con un recente incremento sul mercato (Direttiva 2007/47/CE, Dlgs 46/97 sui dispositivi medici);
- prodotti cosmetici [Regolamento (CE) 1223/2009 che ha sostituito la Legge 713/86];
- mangimi addizionati di piante officinali e loro estratti [D.L. 6 aprile 2006 n. 193, Regolamento (CE) 767/2009];
- coloranti;
- additivi [Regolamento (CE) n. 1333/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 dicembre 2008];
- aromi [Regolamento (CE) n. 1334/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 dicembre 2008].

3.3 Aspetti generali e tutela della biodiversità delle specie aromatiche

Le piante utilizzate nella filiera delle piante aromatiche provengono da molti paesi del mondo, esse sono utilizzate sia per il consumo tal quale (fresco o secco) sia come materia prima in filiere industriali. L’importanza delle piante aromatiche sta nel fatto che sono dotate di composti utili in vari settori, nell’alimentare per arricchire le pietanze, nella cosmesi e medicina grazie alla valorizzazione

dei principi attivi ad alto valore terapeutico e chemiofarmaceutico dei preziosi oli estratti ricavati dalle varie parti della pianta (WHO, 2003), nonché nell'industria come: coloranti, integratori alimentari, insetticidi. Quindi, grazie alla loro importanza rappresentata dalle "molecole attive", rivestono un interessante valore nello scenario commerciale del mercato mondiale.

Il bacino del Mediterraneo è un ambiente considerato molto vocato per le specie aromatiche: è infatti caratterizzato da un patrimonio di biodiversità che consta di circa 25.000 specie presenti (Raimondo *et al.*, 1992). L'elevata biodiversità è data soprattutto dal fatto che è presente una forte variabilità dei chemiotipi, tipo il polimorfismo delle popolazioni morfologicamente identiche (Boira e Blanquer, 1998). Anche l'effetto del clima sulla sintesi dei composti chimici è un argomento ampiamente trattato ed analizzato (Landi, 1994), dimostrando una relazione tra gli indici climatici e la variabilità di alcuni chemiotipi di *Thymus piperella* L. Condizioni estreme, e climi aridi e soleggiati, stimolano la produzione dell'enzima fenilalanina ammonioliiasi favorendo la sintesi proteica verso la produzione di fenoli aromatici, tale da caratterizzarne la composizione aromatica (Landi, 1994). Il fattore suolo è considerato una variabile molto interessante dal punto di vista scientifico: sarebbe opportuno valutare la sua incidenza sulla valutazione delle caratteristiche chimiche e produttive.

Il bacino del Mediterraneo oggi ospita molte specie spontanee/selvatiche. Tutelare e salvaguardare le specie spontanee significa scongiurare l'estinzione e salvaguardare il patrimonio culturale delle tradizioni territoriali locali e della farmacopea antica. Il mercato da sempre è stato caratterizzato da una domanda considerevole di queste specie, oggi più di ieri e soprattutto in un'ottica di coltivazione sostenibile (Colombo *et al.*, 2014). Per soddisfare una fetta di mercato considerevole, l'unica soluzione è ricorrere alla coltivazione su larga scala finalizzata alla lavorazione industriale e, come risaputo, uno dei requisiti base della produzione industriale è la standardizzazione della qualità del prodotto per garantire "qualità-sicurezza-efficacia" (Franz, 1996). La coltivazione su larga scala per la lavorazione industriale può rappresentare un rischio per la tutela della biodiversità di queste specie se non ben regolamentata.

Purtroppo, la raccolta spontanea delle specie aromatiche non garantisce il vincolo triplo "qualità-sicurezza-efficacia" in quanto la composizione chimica delle piante spontanee presenta una notevole o non assicurata omogeneità del prodotto, mentre una coltivazione aziendale regolamentata riuscirebbe a perseguire l'obiettivo, magari specificamente orientata alla produzione di uno o più metaboliti selezionati (Weiss, 1997).

La conseguenza logica di una maggiore domanda da parte del settore industriale potrebbe incorrere nel rischio di una raccolta indiscriminata, quindi per tale motivo è importante tutelare la biodiversità locale (Schippmann *et al.*, 2002; Schippmann *et al.*, 2006). Esempi sono il rosmarino in Sardegna, (Mulas M. e Mulas G., 2005), l'arnica spagnola (*Arnica montana* L. subsp. *Atlantica*) in Galizia,

(Schneider, 2004), la genziana (*Gentiana acaulis* L.) e arnica (*Arnica montana* L.) in Croazia (Satović, 2004). Nel Programma Europeo di Cooperazione per le Risorse Genetiche Vegetali (EPCGR) gli argomenti di prioritaria importanza sono la conservazione, rigenerazione e la costituzione di collezioni *ex situ* per una lunga lista di piante aromatiche (Medical Aromatic Plant, MAP) in via di estinzione. (Baričević *et al.*, 2004; Del Greco *et al.*, 2009). Quindi, coltivare piante aromatiche adottando le giuste strategie per ottenere una qualità standardizzata e ponendo l'attenzione sulle popolazioni delle specie a rischio d'estinzione, garantisce un'opportunità importante per implementare una filiera sostenibile e la conservazione della popolazione rappresentante la biodiversità (Schippmann *et al.*, 2002; Schippmann *et al.*, 2006).

Studi preliminari sono stati svolti per valutare il rapporto tra la coltivazione di specie aromatiche ed il suolo (Zengin *et al.*, 2008). In vari lavori sono stati indagati gli effetti della fertilizzazione sulla produzione di biomassa esaminando determinate specie (Robles e Garzino, 2000), altri hanno studiato gli estratti ricavati da una specie aromatica coltivata su terreni di natura diversa (Lopedota e Bianco, 2009), altri ancora hanno studiato gli effetti di suoli caratterizzati da varie concentrazioni saline sulla produzione di specie aromatiche (Popović and Obratov-Petković, 2004). In tutti i casi, gli autori hanno concluso che molte specie possono tollerare condizioni di terreno molto difficili manifestando una spiccata attitudine di adattamento, permettendo l'inserimento negli avvicendamenti aziendali.

Altri autori hanno studiato l'aspetto quantitativo delle rese in base a quale porzione della specie interessa alla domanda (es.: foglie, fiori, radici o altri componenti vegetali). Quindi, è giusto considerare anche l'influenza dei fattori ambientali e della coltivazione che esercitano un certo effetto sulla quantità e qualità di prodotto. Spesso le specie aromatiche si considerano come colture "erbacee" a basso input che funzionano meglio in condizioni di bassa fertilità, e che non dimostrano un aumento significativo della resa con condizioni di maggiore fertilità (McConnell and Anderson, 2002). Un minor numero di autori hanno studiato gli effetti della coltivazione delle specie officinali sul suolo. Alla luce di quanto alcuni autori hanno sostenuto (McConnell and Anderson, 2002), sarebbe interessante indagare sul rapporto tra fertilità dei suoli e coltivazione delle specie aromatiche. Inoltre, un suolo caratterizzato da un livello di nutrienti non omogeneo, oltre a indurre uno sviluppo differenziato delle piante, può avere ripercussioni sostanziali sulla resa e composizione di olio essenziale (Scheffer, 1993; de la Fuente *et al.*, 2003).

Nel presente lavoro si è provato a dare un contributo a un settore di ricerca attento alla fertilità dei suoli, alle produzioni e alla sostenibilità delle filiere, soprattutto in un'ottica di inserimento negli avvicendamenti colturali per valutarne l'impatto sullo stato di salute del suolo, in particolare sul contenuto della SOM. Un obiettivo interessante è valutare quale tipo di tecnica di fertilizzazione può

essere più idonea alla conservazione della SOM nel rispetto della qualità delle produzioni delle specie officinali.

3.4. Fattori ambientali e coltivazione delle specie aromatiche

È risaputo che il clima e la latitudine svolgono un ruolo decisivo per lo sviluppo delle piante: ciò favorisce l'adattamento ad una fascia climatica solo ad un certo numero di specie che in queste condizioni riescono a fornire risultati ottimali (Morelli, 1981). La variazione della capacità di ritenzione idrica del suolo è considerata un fattore importante nel determinare il contenuto di mucillagine nelle radici di *Althea officinalis* L. (Morelli, 1981).

Molte specie variano la composizione dell'olio essenziale a seconda dell'origine geografica (Baser *et al.*, 2002; Fleisher *et al.*, 2002; Juteau *et al.*, 2003): ad esempio, in Italia, la menta (*Mentha piperita* L.) è più ricca di olio essenziale se coltivata al meridione (Catizone *et al.*, 1986). Due individui della stessa specie possono sembrare del tutto uguali, ma dal punto di vista della loro composizione chimica, e di conseguenza i loro effetti terapeutici, potrebbero essere invece molto diversi. Il chemiotipo, prodotto dell'adattamento a varie condizioni ambientali, definisce questa diversità intraspecifica, soggetta a variazioni legate a differenti località di coltivazione (Quinlan *et al.*, 2002). Le proprietà fisiche del suolo (ad esempio tessitura, porosità, capacità idrica) possono influire sull'adeguatezza di alcune colture che vengono coltivate per le loro radici. Le proprietà chimiche del suolo, come la reazione, sono fattori importanti nella regolazione del contenuto e nella disponibilità di elementi minerali nel terreno. Un livello elevato del pH del suolo influenza negativamente la crescita e lo sviluppo di alcune specie aromatiche (Morelli, 1981). Al contrario, i terreni acidi possono trattenere un'eccessiva disponibilità di metalli pesanti (ad esempio cadmio o nichel), che in alcune piante possono accumularsi con un grave danno qualitativo. In *Mentha x piperita* L., le variazioni del pH hanno causato effetti significativi sulla crescita delle piante, mentre nessuna differenza è stata osservata riguardo al contenuto di olio essenziale (Morelli, 1981).

Studi condotti su *Thymus piperella* L. hanno dimostrato che la proporzione di carbonati del terreno (strettamente correlata al pH) incide positivamente sul contenuto di c-cimene (Boira e Blanquer, 1998). Alla luce di quanto scritto dai vari autori, rispettare determinate condizioni ambientali per la coltivazione di queste specie è imprescindibile, soprattutto per rispettare determinati standard di qualità, ma necessita un'indagine sui parametri ambientali riconducibili alla fertilità dei suoli prima che queste specie siano state inserite o coltivate su larga scala.

4 La Sostanza organica del suolo (SOM) ed i suoi elementi

La sostanza organica del suolo (SOM) è costituita da molecole a base di: carbonio, azoto, ossigeno, idrogeno e, in misura minore, fosforo, zolfo, ferro, alluminio, potassio, etc. (Stevenson, 1986; Sequi, 1989). Essa è componente principale nel suolo, infatti un terreno si può definire più o meno fertile in base alla quantità e la qualità della SOM presente in esso. Nel suolo la SOM è determinabile indirettamente dal contenuto di TOC moltiplicando la concentrazione di TOC per il coefficiente di conversione 1,724 (Van Bemmelen, 1890). È noto che il TOC nel suolo varia in un ampio *range* e ogni valore scelto sarebbe comunque un'approssimazione. Inoltre, il fattore di conversione può variare non solo da suolo a suolo ma anche tra orizzonti dello stesso suolo e, pertanto, il fattore più appropriato dovrebbe essere determinato sperimentalmente per ogni terreno. La maggior parte degli autori propone fattori di conversione compresi tra 1,724 e 2,5 per ottenere delle stime approssimative (Douglas Pribyl, 2010). In sintesi come sostenuto da Smith *et al.* (2000), “dato che la SOM segue una distribuzione stratificata lungo il profilo del suolo, il metodo di campionamento più aderente alla realtà pedologica è quello secondo gli orizzonti; in questo caso analizzeremo l'orizzonte definito Ap e la modalità di espressione del contenuto di SOM avrà un valore convenzionale, in quanto tutti i dati sensibili per descrivere il pedon (spessore degli orizzonti, volume apparente, ecc.) permetteranno di elaborare i risultati nel modo più opportuno per le finalità dello studio” (Smith *et al.*, 2000).

Inoltre, la SOM è suddivisa in due frazioni: labile e stabile.

La frazione labile è costituita da composti organici piccoli e semplici come gli zuccheri, i peptidi, le proteine enzimatiche, gli acidi nucleici, che possono essere presenti liberi nel suolo, ed è caratterizzata da microorganismi che la trasformano in breve tempo in anidride carbonica (CO₂).

La frazione stabile è costituita da composti organici grandi e complessi, l'humus, il quale è in grado di migliorare le caratteristiche fisiche, chimiche e biochimiche del suolo, ha funzioni in parte nutrizionali, attiva alcune funzioni metaboliche microbiche, ed è trasformato dai microorganismi in modo più lento (MacCarthy *et al.*, 1990; Sparks, 1995; Zepp e Sonntag, 1995; Piccolo, 1996;).

Autori come Landi *et al.* (2000) suddividono la SOM del suolo in quattro classi:

- gli organismi viventi (animali e vegetali) che vivono sullo strato superficiale o nel sottosuolo;
- materia organica non ancora decomposta, costituita dalla lettiera di foglie e rami caduti dalle piante negli ecosistemi forestali, dalle radici morte negli ecosistemi a pascolo, da specifiche operazioni colturali, come sovesci o interrimento di residui vegetali, negli ecosistemi coltivati. Assieme a questi gruppi vanno sempre considerati gli apporti costituiti dalle spoglie della microflora e della pedofauna;
- costituenti organici in via di trasformazione, nei quali l'organizzazione dei tessuti e delle cellule è ancora riconoscibile, ma sono chiaramente in via di decomposizione;

- materia organica profondamente trasformata dagli organismi del suolo, ormai in stato avanzato di umificazione.

4.1 Il ruolo della SOM nella gestione agricola sostenibile

Secondo Nannipieri (Nannipieri, 1993) la SOM è un parametro fondamentale per definire la fertilità globale di un terreno. Essa esercita un'azione sulle proprietà fisico-chimiche del terreno: in particolare modo, interagendo con le particelle di suolo si attivano una serie di processi biochimici che interessano la popolazione microbica del suolo. I processi biochimici sono scaturiti dall'apporto energetico fornito dalla SOM, e innescano meccanismi di scambio, adsorbimento, complessazione e chelazione che rendono disponibili gli elementi nutritivi alla pianta. Le molecole organiche che caratterizzano la SOM, inoltre, determinano un'attività fisiologica nel metabolismo sia dei microrganismi sia delle piante, ciò ascrivibile alla metabolisi delle sostanze umiche (Benedetti *et al.*, 2006). Purtroppo negli ultimi anni si è osservato un decremento della SOM nei suoli, probabilmente per via delle specializzazioni aziendali come la separazione tra le attività produttive zootecniche da quelle vegetali, il mancato reimpiego dei residui colturali, specializzazione colturale, semplificazione degli avvicendamenti, utilizzi quasi esclusivo dei fertilizzanti inorganici; l'aumento della velocità di mineralizzazione a seguito dell'esecuzione sempre più frequente delle lavorazioni profonde e di affinamento dei terreni e degli interventi irrigui (Houghton *et al.*, 1998). Con il decremento della SOM nei suoli, considerando tutte le conseguenze negative riscontrate sulle caratteristiche chimico-fisiche del terreno, anche la fertilità biologica del suolo ne risente negativamente e gli effetti sono tangibili in *primis* sulle produzioni ed in *secundis*, purtroppo non visibili ed assolutamente non trascurabili, sul *pool* microbiologico del suolo (Zdruli *et al.* 2004). Quindi, la SOM è un indicatore fondamentale della fertilità biologica ed è fattore chiave nell'ambito della funzionalità degli agroecosistemi (Stockmann *et al.* 2013): da essa, in quanto punto di partenza e di arrivo della evoluzione ciclica della materia, dipende l'attività biologica del suolo, cioè la sua attitudine a sostenere nel tempo le colture. Dalla metà del 20° secolo, la produzione agricola globale è stata ampliata per soddisfare la crescente domanda di cibo a buon mercato per una popolazione in costante crescita (Burney *et al.*, 2010). Attualmente, a causa dell'intensificazione delle produzioni, il ciclo della SOM risulta nettamente sbilanciato verso la fase di mineralizzazione, a netto svantaggio della fase di accumulo dei residui organici e quindi dei successivi processi di umificazione (Tilman *et al.*, 2002; OECD, 2007; Burney *et al.*, 2010). Risulta necessario contenere il consumo della SOM del suolo nei sistemi agrari, indispensabile per non compromettere le condizioni di fertilità dei terreni. Per questo motivo è necessario approfondire tutti gli aspetti legati alla SOM del suolo, con riferimento sia alle

sue proprietà e funzioni che alle tecniche agronomiche che ne influenzano il contenuto nel terreno (Reeves, 1997).

La determinazione del contenuto di SOM nel suolo è uno dei parametri base dell'analisi chimica del suolo, ma analizzato singolarmente non descrive il ruolo della SOM nell'interazione con le varie fasi del suolo (metalli, minerali, colloidali, etc.) (Schoenholtz *et al.*, 2000). Importante è infatti il livello di stabilizzazione, ovvero umificazione della SOM del suolo (Trumbore and Torn, 2003). Dalla caratterizzazione della SOM del suolo possono emergere aspetti di tutto rilievo. Il ruolo svolto dalla SOM ci spinge verso lo studio della distribuzione spaziale del carbonio organico del suolo (TOC). Alla costituzione della SOM del suolo, come già esposto sopra, partecipano gli organismi viventi della pedoflora e della pedofauna, radici di piante vive e morte, residui decomposti e modificati, composti organici di neogenesi: per convenzione, i residui vegetali grossolani e quelli rivenienti dai vertebrati edafici non vengono compresi nella SOM (Jenkinson, 1965; Eldor, 2016).

La percentuale di SOM del suolo viene in genere calcolata in base al contenuto di TOC (Blair *et al.*, 1995). Quest'ultimo varia fra il 45 e il 60% della SOM, per convenzione si assume che 58% sia la quantità di TOC contenuto nella SOM. Il contenuto di SOM è condizionato dal tasso di accumulazione del materiale organico apportato al suolo e dipende da condizioni ambientali come la vegetazione, il clima, substrato roccioso, rilievo, interventi colturali antropici (Blair *et al.*, 1995).

I suoli naturali sono generalmente in equilibrio ed hanno un contenuto caratteristico di SOM. In suoli coltivati tale equilibrio è disturbato dal ridotto accumulo di materiale fresco, a causa della rimozione del raccolto, e dalla decomposizione accelerata determinata dalle arature (Curry e Good, 1992). In questi suoli per conservare la SOM sono necessarie laute letamazioni e rotazioni colturali (Borrelli *et al.*, 2011).

L'attività microbica del suolo è rilevata dalla biomassa microbica che risulta più elevata nei suoli condotti secondo criteri di agricoltura biologica rispetto a quelli gestiti in modo convenzionale (Munkholm *et al.*, 2002; Melero, 2006; Valdinar *et al.*, 2012; Sofo *et al.*, 2014), grazie all'input permanente di residui organici con elevato rapporto C/N.

Per comprendere meglio il ciclo evolutivo della sostanza organica si riporta in figura 6 uno schema semplificato dei composti organici del terreno ed i processi biochimici interessati.

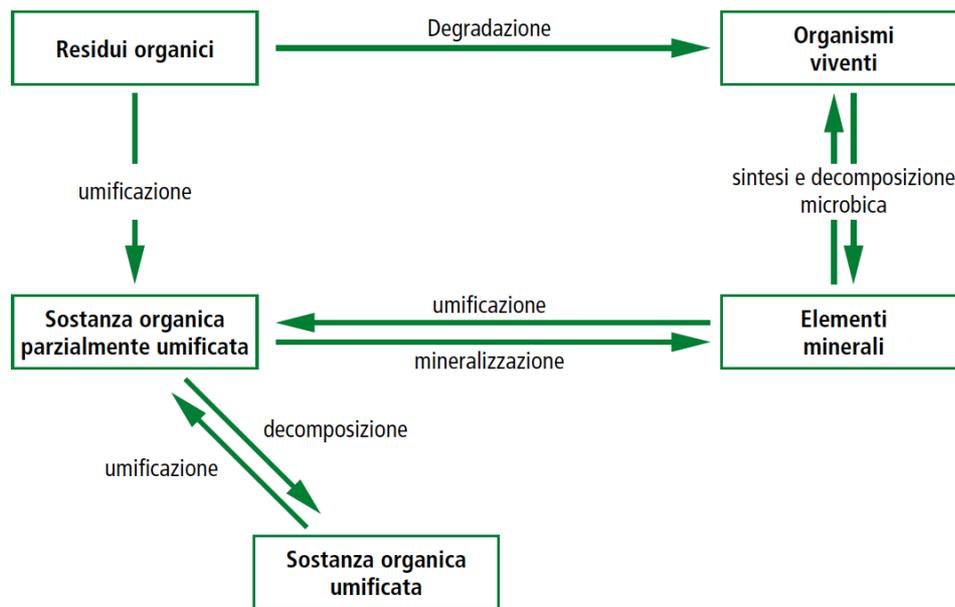


Figura 6. Ciclo evolutivo della sostanza organica (ARPAV, 1990)

4.2 Carbonio

Il contenuto di carbonio organico nel suolo (TOC) è in stretta relazione con quello della SOM, anche se la composizione di quest'ultima presenta un elevato grado di variabilità. La frazione organica rappresenta in genere tra l'1 e il 3% in peso della fase solida, mentre è fra il 12 e il 15% in volume; ciò significa che essa costituisce una grossa parte delle superfici attive del suolo, e quindi ha un ruolo fondamentale sia nella nutrizione delle piante sia nel mantenimento della struttura del terreno (Nannipieri, 1993). Questa frazione però non è omogenea, ma comprende gruppi di composti diversi tra loro per natura e proprietà chimiche: è costituita principalmente da cellule di microrganismi, residui animali e vegetali a diverso stadio di trasformazione, e sostanze uniche di diversa età e composizione (Jenkinson, 1965). L'importanza della SOM è legata all'elevato numero di funzioni che essa svolge nel sistema suolo-pianta, alcune strutturali ed altre nutrizionali. Non esiste alcun dubbio sul ruolo che essa svolge nella formazione e conservazione della struttura del suolo: rendendo ottimali i rapporti tra fasi solida, liquida e gassosa; forma aggregati stabili con le argille; aumenta la capacità di ritenzione idrica nei suoli sabbiosi; evita la formazione di strati impermeabili nei suoli limosi; contrasta il compattamento e l'erosione nei suoli argillosi (Reddy e Patrick, 1974). La determinazione del TOC nel terreno è tra le analisi di routine più importanti. Viene effettuata con i metodi Wlakley-Black o Springer-Klee o attraverso analizzatore elementare C-ANALYZER LECO RC 612 (Supplemento Ordinario G.U. n° 61 del 13.03.2004). La dotazione in SOM di un suolo può essere valutata sia in funzione del contenuto di argilla (per suoli privi di calcare), sia in funzione del contenuto di argilla e calcare. In ogni caso, non bisogna dimenticare che il contenuto in carbonio organico dipende largamente dal clima (il contenuto di SOM aumenta al diminuire della temperatura

media annua e all'aumentare delle precipitazioni, come osservato nel lavoro di Zdruli *et al.*, 2004 di cui si riporta in figura 7 la relativa mappa dell'andamento dei contenuti), fattore che deve essere tenuto in particolare considerazione per una corretta interpretazione dei risultati analitici.

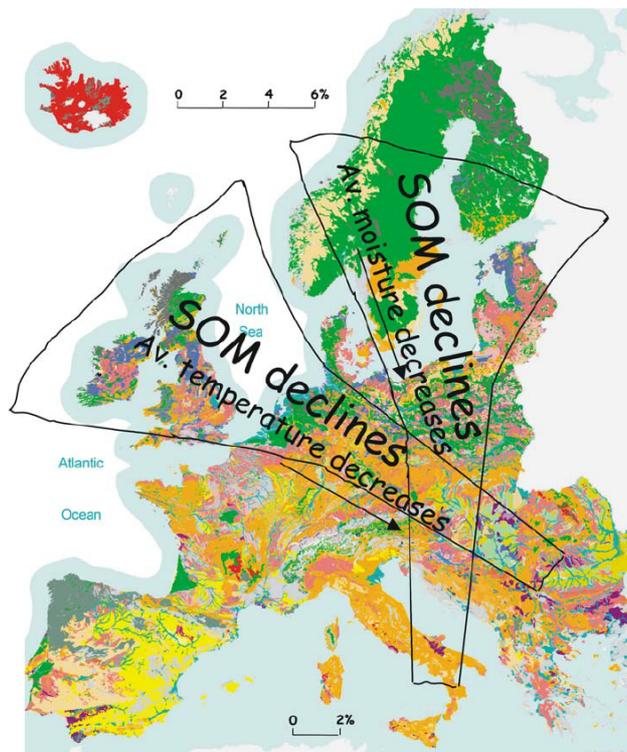


Figura 7. Influenza della temperatura e umidità sulla sostanza organica del suolo in Europa (Zdruli *et al.*, 2004)

La classificazione del livello di SOM è funzione della tessitura, poiché le situazioni di equilibrio della SOM nel terreno dipendono da fattori quali aerazione e presenza di superfici attive nel legame con molecole cariche, soprattutto negativamente come sono i colloidali argillosi.

Tabella 1. Valutazione della SOM nel suolo rispetto alla tessitura del suolo (Metodi di analisi chimica del suolo, 2000).

Terreni sabbiosi (S-SF-FS)	Terreni a medio impasto (F-FL-FA-FSA)	Terreni argillosi e limosi (A-AL-FLA-AS-L)	Valutazione
<0,8 %	<1,0 %	<1,2 %	Molto basso
0,8–1,4 %	1,0–1,8 %	1,2–2,2 %	Basso
1,5–2,0 %	1,9–2,5 %	2,3–3,0 %	Medio
>2,0 %	>2,5 %	>3,0 %	Elevato

4.2.1 Il ciclo del carbonio

In questo paragrafo si fa un breve cenno, vista la vastità dell'argomento, su alcuni aspetti che caratterizzano il ciclo del carbonio. Nel suolo avvengono processi che fanno parte del ciclo del carbonio. Secondo Stevenson (1986) il ciclo del carbonio prende origine dall'anidride carbonica (CO_2), con l'organizzazione del carbonio da parte degli organismi autotrofi, attraverso il processo di fotosintesi clorofilliana delle piante promossa dalla luce solare. La CO_2 è immessa continuamente nell'atmosfera a seguito della combustione del carbonio, o dei suoi composti, in eccesso di ossigeno, e della respirazione, aerobica o anaerobica (fermentazione) degli organismi viventi. Le piante trasformano il carbonio della CO_2 in composti organici mediante la fotosintesi, i suoi prodotti sono gli zuccheri, le emicellulose, le pectine, la chitina e la lignina (Stevenson, 1986). Gli apporti al suolo attraverso le piante vanno a costituire la frazione organica del suolo sotto forma di humus che subisce un processo di mineralizzazione ad una velocità relativamente bassa (Melillo *et al.*, 1982). I microrganismi del terreno convertono il carbonio organico di tali composti in carbonio minerale sotto forma di CO_2 rilasciata in atmosfera. L'insieme dei processi di fotosintesi e di respirazione costituisce il ciclo del carbonio.

4.3 Azoto

L'azoto nel suolo è presente in varie forme, due sole delle quali assimilabili dalle piante: quella nitrica, libera nella fase liquida e prontamente disponibile, e quella ammoniacale, più lentamente disponibile e adsorbita sul complesso di scambio, e in equilibrio con una piccola parte presente in soluzione (Sequi, 1989). Le riserve sono costituite dall'azoto organico e dall'azoto ammoniacale fissato. L'azoto organico totale (N_{Tot}), che rappresenta la quasi totalità dell'azoto nel terreno (dal 95 al 99%), è potenzialmente mineralizzabile (essenzialmente per attività biochimiche) e quindi in grado di cedere naturalmente azoto alla vegetazione: di solito però la messa a disposizione per le colture è assai limitata (OECD, 2007). L'azoto organico può essere determinato utilizzando un analizzatore elementare o il classico metodo Kjeldhal (Supplemento Ordinario G.U. n° 61 del 13.03.2004).

Ogni suolo possiede una sua capacità di fissazione dell'ammonio, che può variare da alcuni chilogrammi ad alcune migliaia di chilogrammi per ettaro, in funzione di diversi fattori tra cui il più importante è il tipo di argille fillosilicate (Juang *et al.*, 2001). Come detto precedentemente, una parte dell'azoto fissato è in equilibrio con quello scambiabile ed è quindi disponibile per la vegetazione.

Poiché il contenuto di azoto è, almeno in linea generale, in relazione con il contenuto di SOM, la valutazione agronomica prende in considerazione i livelli di azoto e SOM:

Tabella 2. Valutazione della SOM nel suolo rispetto al contenuto di N_{Tot} (Sbaraglia e Lucci, 1994)

Sostanza organica (g kg ⁻¹)	Azoto totale (g kg ⁻¹)	Valutazione
<10	<0,5	Molto basso
10-20	0,5 –1	Basso
20-30	1–1,5	Mediamente fornito
>30	>1,5	Ben fornito

4.4 Fertilità biologica ed indicatori biologici (IBF)

La fertilità biologica, insieme alla fertilità chimica e fisica, costituisce la fertilità agronomica grazie alla quale è garantita la produttività. La produttività di un suolo è strettamente correlata, invece, al concetto di “qualità”, ovvero “*la capacità del suolo di interagire con l’ecosistema per mantenere la produttività biologica, la qualità ambientale e promuovere la salute animale e vegetale*” (Doran *et al.* 1994). Per la valutazione della qualità del suolo sono utilizzati parametri fisici, chimici e biologici come indicatori base per la qualità del suolo.

I microrganismi svolgono delle funzioni chiave nella degradazione e nel ricircolo della sostanza organica e dei nutrienti, essi rispondono prontamente ai cambiamenti dell’ambiente suolo, pertanto vengono utilizzati come indicatori della qualità del suolo (Bloem *et al.*, 2005). Inoltre l’attività microbica nel suolo rispecchia la somma di tutti i fattori che regolano la degradazione e la trasformazione dei nutrienti.

La biomassa microbica è una parte attiva del suolo poiché è responsabile della circolazione dei nutrienti e della degradazione degli inquinanti organici. Ciò non è ascrivibile a una determinata popolazione, bensì agli innumerevoli rapporti e condizioni che si possono instaurare tra di loro, per cui la biomassa microbica è molto dinamica e suscettibile ad ogni cambiamento climatico e condizione pedologica. Il risultato della loro attività permette l’assorbimento e il rilascio di nutrienti utili a forme di vita meno effimere nel suolo e, in qualche modo, di sopperire alle proprie necessità nutrizionali (Doran *et al.* 1996). Poiché i microrganismi del suolo reagiscono molto rapidamente anche a variazioni stagionali e si adattano alle diverse necessità ambientali, diventa a volte problematico distinguere fluttuazioni naturali da alterazioni causate da attività antropiche, specialmente quando il dato viene determinato in modo non standardizzato e sprovvisto di controllo (Doran *et al.* 1996).

Alterazioni che durano 60 giorni sono tollerabili, mentre quelle che persistono per più di 90 giorni sono veri e propri agenti di stress (Benedetti *et al.* 2006). Nessun parametro può essere utilizzato singolarmente come “controllo interno”, quindi si dovrebbero identificare altri parametri correlati

come il carbonio della biomassa (Cmic) rispetto al TOC (Brookes, 1995). Quando i suoli presentano marcate variazioni rispetto a ciò che è considerato il valore normale del rapporto Cmic/TOC (Nannipieri *et al.*, 1990) in un particolare sistema di gestione del suolo, clima e tipo di suolo, tale valore diventa un indicatore del deterioramento e del cambiamento nelle funzioni dell'ecosistema suolo. Infatti c'è una relazione quasi lineare tra queste due variabili, anche se ci possono essere rilevanti discrepanze tra suoli con diverse caratteristiche fisiche o suoli gestiti in modo diverso (Brookes, 1995).

D'altra parte, Brookes (1995) ha proposto i seguenti criteri per selezionare i parametri microbiologici e biochimici da adottare come indicatori dell'inquinamento del suolo:

1. La proprietà può essere determinata accuratamente e con precisione su una vasta gamma di tipi di suoli e di relative condizioni.
2. Sono richieste determinazioni tanto più facili e a basso costo quanti più campioni devono essere analizzati.
3. La natura del parametro deve permettere anche determinazioni del controllo in modo che l'effetto dell'inquinante possa essere stimato con precisione.
4. Il parametro dev'essere sufficientemente sensibile da rilevare l'inquinante, ma anche sufficientemente stabile da non provocare falsi allarmi.
5. Il parametro deve avere una validità scientifica basata su conoscenze scientifiche affidabili.
6. Se l'affidabilità di un singolo parametro è limitata, dovrebbero essere scelti altri due o più parametri indipendenti. In questo caso si dovrebbero conoscere anche le loro interrelazioni in aree non inquinate. (Brookes, 1995).

4.4.1 Attività microbica del suolo-Respirazione Microbica del Suolo (SMR)

Secondo Isermeyer (1952), l'attività microbica del suolo è il risultato di tutti i processi metabolici della comunità microbica, e la respirazione del suolo è uno dei parametri per quantificarla. Durante la respirazione del suolo avviene l'ossidazione della sostanza organica ad opera di microrganismi aerobici e i prodotti finali del processo sono acqua e anidride carbonica (CO₂). Le attività metaboliche possono essere dunque quantificate misurando la produzione di CO₂. È possibile definire l'attività attuale e l'attività potenziale di singoli organismi o gruppi metabolici, ricavando valori riconducibili al carbonio della CO₂ (C-CO₂) prodotta dalla respirazione del suolo. La respirazione microbica del suolo (SMR) (Isermeyer, 1952) consente di studiare l'evoluzione della CO₂ in condizioni standard di temperatura e umidità, è spesso utilizzata per attività di monitoraggio e per valutare lo stato di fertilità e sostenibilità ambientale. Associando questo parametro ad altri parametri come la biomassa

microbica (C_{mic}), TOC, N_{Tot} e azoto potenzialmente mineralizzabile (Kang *et al.*, 2005), si può valutare la qualità del suolo (Muscolo *et al.*, 2014; Muñoz-Rojas *et al.*, 2016; Renzi *et al.*, 2017).

La biomassa microbica è la componente attiva della SOM ed è coinvolta nelle trasformazioni e nell'accumulo di nutrienti del suolo. È uno dei parametri basilari per stimare il turnover della SOM (Green *et al.*, 2007; Madejón *et al.*, 2009), insieme al tasso di respirazione basale (C_{bas}) è una misura della respirazione microbica essenziale ed è comunemente considerata come decomposizione complessiva della sostanza organica in assenza di input o stress. Osservando il tasso di respirazione è possibile costruire le curve di respirazione basate sia su dati cumulativi che giornalieri dando un'indicazione sulla dinamica della degradazione della SOM in funzione della presenza di varie frazioni che vengono demolite in modo diverso (Anderson, 1982).

4.4.2 Quoziente metabolico per la CO_2 (qCO_2)

Il quoziente metabolico (qCO_2) è il tasso di respirazione specifica, il rapporto tra la respirazione basale e il C_{mic} (Anderson e Domsch, 1993). Un basso quoziente indica un'utilizzazione modesta di energia e si suppone che rispecchi un ecosistema più stabile (Insam e Haseiwandter, 1989; Anderson e Domsh, 2010). Lo stress provocato, ad esempio, da un basso pH o da carenza di nutrienti potrebbe portare un alto qCO_2 accoppiato con una bassa biomassa in confronto ad una situazione simile senza i fattori di stress. Allo stesso modo, il qCO_2 può aumentare anche nel caso di disturbi nell'ecosistema come la coltivazione e la concimazione, ma questo aumento potrebbe essere accompagnato da un incremento della biomassa (Wardle e Ghani, 1995). È perciò necessaria una valutazione globale e comparativa della dinamica dei diversi parametri.

4.4.3 Quoziente di mineralizzazione dell'azoto

La mineralizzazione dell'azoto è il rilascio di ammonio quando la sostanza organica viene degradata. Il processo viene svolto da una grande varietà di organismi sia aerobi che anaerobi. Enzimi extracellulari e aspecifici sono tipicamente attivi in questo processo (Ladd *et al.*, 1982).

Il quoziente di mineralizzazione viene calcolato come il rapporto tra il contenuto di N_{Tot} e il C_{mic} , ovvero l'espressione della mineralizzazione della sostanza organica da parte della biomassa microbica (Dommergues, 1960).

5 La fertilizzazione

La fertilizzazione è la tecnica agricola che consiste nella somministrazione al terreno di sostanze in grado di migliorarne la fertilità. La fertilizzazione include tutte le pratiche agricole atte a mantenere nel suolo un equilibrio tra gli elementi fondamentali per garantire l'efficienza produttiva. I

fertilizzanti sono materiali organici e inorganici che, per le loro caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche, contribuiscono al miglioramento delle proprietà del suolo (Catizone *et al.* 1986). Le piante aromatiche, così come la maggior parte delle altre piante, richiedono almeno 14 elementi minerali per la loro nutrizione (De Maria, 1992). Questi sono i macronutrienti: azoto (N), fosforo (P), potassio (K); gli elementi secondari (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), zolfo (S) nonché i micronutrienti boro (B), cobalto (Co), rame (Cu), ferro (Fe), manganese (Mn), molibdeno (Mo), zinco (Zn). Questi elementi sono in genere forniti dal suolo. Spesso la produttività delle piante è limitata dalla biodisponibilità di questi elementi essenziali o dalla presenza nello stesso suolo di ioni che sono tossici in eccessive concentrazioni (Na, Cl, B, Fe, Al) (Darrah, 1993; Barker e Pilbeam, 2015; Sharafzadeh *et al.* 2014; Catizone *et al.* 1986, De Maria, 1992; Del Greco *et al.*, 2009).

La fertilizzazione, quindi, è una componente importante dell'attività produttiva agricola. Oggi le produzioni agricole di qualità sono regolamentate da disciplinari di produzione. La difesa integrata (Direttiva 2009/128/CE, D.L. 14/08/2012 n.150) e l'agricoltura biologica (Regolamento CE n. 1584 del 22/10/2018 e Regolamento CE n. 889/2008) sono i due strumenti principali a cui gli agricoltori devono fare riferimento per le produzioni agricole sostenibili. Essi normano le tecniche agricole e gli utilizzi dei prodotti ammessi in agricoltura. I fertilizzanti ammessi, in base al tipo di produzione aziendale, possono essere classificati in Biologici, Minerali e Organo-Minerali, secondo la Normativa Europea Reg. CE 2003/2003 e la Normativa Nazionale D.Lgs. 75/2010.

Nello studio effettuato, in ottica di agricoltura sostenibile, si è ritenuto utile testare l'uso di tre tipi di fertilizzanti per la coltivazione di piante aromatiche valutando gli effetti sulla fertilità biologica del suolo attraverso indicatori biochimici. Per la sperimentazione effettuata sono stati utilizzati due fertilizzanti ammessi in agricoltura biologica (Organico e Organo-Minerale) ed uno ammesso in agricoltura integrata (Minerale). Volendo valutare gli effetti di una fertilizzazione gestita in economia, si è ritenuto opportuno impiegare tre formulati commerciali in applicazione di fondo *una tantum* e osservare gli effetti durante due annate agrarie.

5.1. La fertilizzazione minerale

Il principio cardine della concimazione è quello di restituire al terreno gli elementi che vengono asportati dalla pianta durante il ciclo culturale, in modo da non creare condizioni limitanti per la sua crescita e per la produzione del prodotto vendibile. Tra gli elementi impiegati nella formulazione dei fertilizzanti, l'elemento che riveste maggiore importanza è l'N, che influenza la produzione di biomassa per il suo effetto diretto sullo sviluppo fogliare e quindi sulla efficienza fotosintetica. In generale la carenza di N determina un'inibizione della crescita, altera il normale rapporto radici/fusto, riduce l'intercettazione della radiazione luminosa, altera la ripartizione dei fotosintetati tra i vari

organi della pianta, l'indice di area fogliare (LAI), il contenuto proteico delle foglie e dei semi. Pertanto, molti studi (Scheffer, 1993; Franz, 1996; Figueiredo *et al.*, 1997; Baricevic *et al.*, 2004; Wilson e Al-Kaisi, 2008; Zengin *et al.*, 2008) si sono concentrati su questo elemento per quantificare l'effetto della concimazione sulla quantità e qualità dei prodotti, come nel caso dell'origano (Russo *et al.*, 1988; Lanza, 2011, Kosakowska *et al.*, 2019), del timo (Boira and Blanquer, 1998; Boruga *et al.*, 2014), del coriandolo (Singh e Rao, 1994; McConnel and Anderson, 2002; De la Fuente *et al.*, 2003), dell'achillea (Baser *et al.*, 2002), dell'artemisia (Fleisher *et al.*, 2002), della menta (Valtcho *et al.*, 2009), del bupleuro (Zhu *et al.*, 2009), della camomilla (Amaral *et al.*, 2014), della lavanda (Macedo *et al.*, 2017). I risultati riportati in diversi studi sono spesso da intendersi come legati a quella particolare coltura in un determinato contesto pedoclimatico (Lopedota e Bianco, 2009; Mulas M. e Mulas G., 2005). In molti casi l'N non determina un aumento specifico in termini di principi attivi, ma ha effetti consistenti sulla produzione di sostanza secca, elevando la resa unitaria dei principi stessi, come nel caso riportato per la lavanda (Macedo *et al.*, 2017). Inoltre, si attribuisce all'azoto un effetto positivo sulla produzione di alcaloidi, della cui molecola fa parte, e soprattutto la forma ammoniacale risulta più efficace della forma nitrica (Sreevalli *et al.*, 2004).

Ogni specie necessita dell'apporto di azoto con una tempistica differente. Anche i quantitativi di fertilizzante da distribuire sono molto vari, in funzione delle singole specie, ma in linea generale le specie di cui si raccolgono le foglie, come salvia, melissa o menta, richiedono maggiori quantità di azoto rispetto alle specie delle quali si raccolgono i fiori: questo perché l'azoto spinge la produzione fogliare a discapito di quella fiorale (Valtcho *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2009).

Per quanto riguarda il potassio e il fosforo, la concimazione deve essere effettuata prima dell'impianto, vista la loro scarsa mobilità nel suolo, preferibilmente in concimazione di fondo. Nella concimazione potassica va posta particolare attenzione anche al contenuto di azoto nel terreno, in particolare il rapporto N/K, che sembra rivestire particolare interesse per le specie che contengono Bisabolo, come ad esempio la camomilla (Catizone *et al.*, 1986; Amaral *et al.*, 2014), dove si osserva un aumento delle dimensioni dei capolini con un prodotto di qualità peggiore, nel caso in cui il rapporto N/K sia a favore del potassio. Spesso nei suoli italiani la buona dotazione di K spinge gli agricoltori a non apportare questo elemento, rischiando negli anni di provocare fenomeni di carenza dello stesso. L'azoto è facilmente dilavabile e ciò costituisce un problema che può diventare anche molto rilevante ai fini produttivi e ambientali. In *Salvia officinalis* attraverso concimazioni minerali di azoto, fosforo e potassio sono stati ottenuti aumenti delle rese in olio rispetto alla non concimazione (Piccaglia *et al.*, 1989). Per produzioni di 3-6 t/ha di sostanza secca di biomassa, la coltura asporta circa 60-120 kg/ha di N, circa 15-30 kg/ha di P₂O₅ e circa 80-160 kg/ha di K₂O (valori calcolati simulando la densità colturale utilizzati nell'esperimento), che devono essere restituiti attraverso

l'apporto di elementi fertilizzanti, pena la riduzione delle rese (Disciplinari di Produzione Integrata Regione Campania aggiornamento 2017).

Altri studi circa la potenzialità degli effetti derivanti dall'apporto di fertilizzanti sugli aumenti delle rese nelle colture officinali sono stati condotti sugli ibridi di lavanda, con un aumento significativo della resa, come percentuale in olio essenziale, e soprattutto con un'elevata quantità di Linalolo e Linalilacetato che rappresentano i composti aromatici più importanti (Macedo *et al.*, 2017).

Uno studio condotto negli USA su *Mentha piperita* (Valtcho *et al.*, 2009), ha mostrato che la concimazione azotata fino ad 80 kg/ha non ha influenzato le rese e la concentrazione degli oli essenziali, che sono stati invece molto influenzati dalle diverse località geografiche in cui sono state effettuate le prove. Risultati contrastanti sono stati ottenuti sulla stessa specie valutando l'effetto della concimazione azotata nei due ambienti differenti, rispettivamente in Bulgaria e in Tasmania (Valtcho D. Z. *et al.*, 2009).

Oltre alla concimazione diretta al suolo, se tecnicamente ed economicamente conveniente, si può ricorrere alla fertilizzazione fogliare, consistente nell'irrorazione della chioma con soluzioni opportunamente arricchite di elementi minerali, assorbiti direttamente dall'apparato fogliare, con una risposta della pianta molto rapida.

5.2 La fertilizzazione organica

Sono quei prodotti formati da composti organici del carbonio, di origine sia animale che vegetale, legati chimicamente in forma organica agli elementi principali della fertilità. I concimi organici semplici comprendono soltanto gli azotati, mentre quelli composti raggruppano i binari azoto-fosfatici (Sequi, 1989). I concimi organici rilasciano con gradualità, a seguito del processo di mineralizzazione, gli elementi nutritivi. Pertanto la disponibilità degli elementi nutritivi nel suolo può essere più compatibile con le esigenze delle colture, specialmente nel caso in cui si tratti di colture il cui prodotto commerciale è rappresentato da organi vegetativi (Arabaci and Bayram, 2004). Inoltre, al contrario di quanto avviene con l'uso dei concimi minerali e di sintesi, con i concimi organici non si osservano, nel terreno, concentrazioni elevate degli ioni di azoto minerale potenzialmente dilavabile (ARPAV, 1990). Conseguentemente, anche i rischi ambientali sono fortemente ridotti. Un altro importante vantaggio risiede nel fatto che tutti i concimi organici, essendo costituiti da matrici complesse di origine biologica, contengono sempre, in misura più o meno ampia, elementi secondari e i microelementi della fertilità (Benedetti e Sequi, 1998). Il loro impiego pertanto consente una più equilibrata nutrizione delle piante e contribuisce al contenimento o all'eliminazione dei fenomeni di carenza di uno specifico microelemento (Benedetti, 1983).

5.3 La fertilizzazione organo-minerale

Una concimazione organo-minerale riesce ad esaltare le caratteristiche migliori sia della concimazione organica che di quella minerale, riducendo nel contempo i loro aspetti negativi. Questo è reso possibile grazie alle proprietà fisiologiche dell'humus e dalla componente proteica. L'utilizzo di concimi organo-minerali caratterizzati da una buona qualità nella sostanza organica (SO) aumenta l'efficacia di assorbimento degli elementi nutritivi da parte delle colture (Macedo *et al.*, 2017). Infatti, solo una parte della SO presente nel concime è umificata, mentre la sua efficacia nutrizionale sembra essere direttamente proporzionale al contenuto di sostanze umiche. Il processo di mineralizzazione della componente organica garantisce una cessione graduale degli elementi, con la riduzione del rischio del loro dilavamento ed accumulo del suolo. La componente azotata, quindi, contribuisce ad un'attivazione dei microrganismi del suolo attraverso l'utilizzo di amminoacidi e di proteine come fonte energetica (Wander *et al.*, 1994). Di fatto la SO fornita dal concime organo-minerale, interagendo con gli elementi minerali, aumenta l'efficienza nutrizionale del concime stesso. All'atto pratico, ciò si traduce in un apporto di unità fertilizzante di un concime organo-minerale inferiore rispetto ad un concime minerale, ma al contempo si garantisce un minore impatto ambientale (Benedetti A., 1983).

I concimi organo-minerali più diffusi sono in forma granulare (granulo oppure scaglie poliedriche) o pellettata. In funzione di tecnologie particolari derivanti dalla produzione dei fitofarmaci si stanno proponendo anche nuove formulazioni di organo minerali in microgranuli. Tali microgranuli derivano da impianti per la formulazione dei fitofarmaci cosiddetti *dryflow* che sono caratterizzati dalla tipica forma di microgranulo tale da impedire una sua distribuzione a tutto campo con le normali attrezzature; il loro utilizzo risulta quindi essere di tipo specialistico a livello radicale (concimazione localizzata) (Antille and Godwin, 2013). Per quanto attiene al processo di combinazione delle componenti minerali ed organiche Benedetti (1983) descrive le modalità e criticità dei concimi organo-minerali. Infatti il processo di combinazione delle componenti minerali ed organiche può essere fatto per miscela o per reazione. I prodotti combinati per miscela sono ottenuti con la semplice miscela delle diverse componenti, minerale ed organica. Tale miscelazione, essendo meccanica, permette la distinzione delle singole componenti minerali come, ad esempio, un granulo di cloruro di potassio da uno di perfosfato minerale. Inoltre, i componenti minerali ed organici, essendo di diverso peso specifico, non consentono una miscelazione omogenea nella tramoggia dello spandiconcime e, di conseguenza ne provoca una distribuzione eterogenea in campo. Ciò ne deriva che l'efficienza della concimazione organo-minerale in tale caso non sarà delle migliori (Benedetti A., 1983).

I prodotti combinati per reazione, invece, sono ottenuti per granulazione o pellettazione della miscela dei singoli componenti minerali ed organici. L'efficacia del processo di reazione (interazione delle

componenti) non dipende in modo sostanziale dallo stato fisico delle componenti medesime (ad esempio se le componenti minerali siano allo stato polverulento o granulare), ma dipende in particolare da come avviene il processo di interazione fra i nutritivi minerali e la parte organica. Quindi in sintesi, la “qualità agronomica” (Benedetti A., 1983) del concime organo-minerale è determinata dalla tecnologia produttiva per far interagire le componenti fra loro. È bene precisare che non è una condizione sufficiente una buona matrice organica per far avvenire la voluta interazione organo-minerale, così pure un buon aspetto fisico del prodotto non è una condizione sufficiente per determinare la reale efficienza agronomica del concime medesimo, bensì i processi biologici che avvengono nel suolo a seguito del rilascio degli elementi nutritivi e all’asportazione colturale (Florio *et al.*, 2016).

CAPITOLO II. Analisi bibliometrica sul settore delle piante aromatiche

1 Riassunto

La prima attività svolta nell'ambito del percorso di dottorato è stata un'analisi bibliometrica volta ad identificare le principali aree di ricerca inerenti lo studio del rapporto tra le piante aromatiche ed officinali e il suolo. Nella ricerca sono state considerate unicamente le pubblicazioni (articoli e *reviews*) scritte in inglese e pubblicate dal 1976 sino al 2017. Per la ricerca bibliografica è stato utilizzato il *database* scientifico Scopus (Elsevier).

La comunità scientifica ha sempre avuto attenzione al settore delle piante officinali (Medicinal and Aromatic Plant, MAP) e ai suoi derivati, come confermato dagli 863 documenti ritrovati nell'indagine condotta su Scopus nel periodo considerato. Un trend incrementale negli ultimi 25 anni ha evidenziato un forte interesse sul settore, in particolar modo su temi trasversali, dalle tecniche chimiche degli estratti agli effetti biologici sino all'ambiente e al suolo. L'analisi bibliometrica, relativa al presente lavoro, ha rivelato che la ricerca delle MAP interessa 110 Paesi, tra i quali l'Italia si colloca al terzo posto per numero di articoli pubblicati nel settore. La Network Analysis condotta con il software VOSviewer ha consentito di mappare la conoscenza del settore delle MAP. La mappa ricavata ha consentito di individuare tre *clusters* principali che interessano l'intero settore delle MAP, ovvero, chimico, biochimico e agrario. I primi due *clusters* (chimico e biochimico) sono ben collegati vista l'attinenza dei termini e dei lavori che co-occorrono tra loro, ma entrambi risultano essere distanti dal terzo *cluster* (agrario), segno di una non forte interazione scientifica tra le aree scientifiche chimiche-biochimiche ed agrarie.

2 Materiali e metodi

2.1 Sorgenti dati

In un primo *step* è stata interrogata la piattaforma Scopus (<https://www.scopus.com>) utilizzando le seguenti Keywords: “Officinal PRE/1 Plant AND Soil”, “Aromatic PRE/1 Plant AND Soil”, “Officinal PRE/1 Plant AND Drug”, “Aromatic PRE/1 Plant AND Drug”, “Officinal PRE/1 Plant AND Fertilizer” e “Aromatic PRE/1 Plant AND Fertilizer”. Tale approccio ha consentito l'individuazione di 863 pubblicazioni relative a piante aromatiche, officinali e fertilizzazione.

Il secondo *step* dell'analisi dei dati ottenuti con Scopus, è consistito nel visualizzare l'informazione contenuta nei metadati mediante il “science mapping approach”, che si basa sull'impiego di tecniche avanzate di analisi quali la network analysis (Van Eck e Waltman, 2010; Nardi *et al.*, 2016). Nello

specifico, i dati sono stati processati utilizzando il software VOSviewer, www.vosviewer.com (Van Eck e Waltman, 2010) e successivamente visualizzati in uno spazio bidimensionale (mappe).

2.2 Data processing

È stata creata una mappa detta “*term map*”. In questa mappa, ogni termine è individuato da un cerchio il cui diametro è proporzionale al numero delle pubblicazioni che hanno tale termine nei rispettivi titoli o *abstracts*. Termini che co-occorrono più frequentemente nelle pubblicazioni sono posizionati vicino nella mappa. Al contrario, termini che co-occorrono poco sono posizionati lontano l’uno dall’altro. In particolare, la *term map*, definisce la “struttura” della ricerca su piante officinali e relativa fertilizzazione.

3 Risultati e discussioni

La figura 1 riporta il numero di articoli pubblicati per anno durante il periodo considerato (1976-2017). L’incremento costante del numero di pubblicazioni evidenzia l’interesse della comunità scientifica internazionale nello studio delle piante aromatiche.

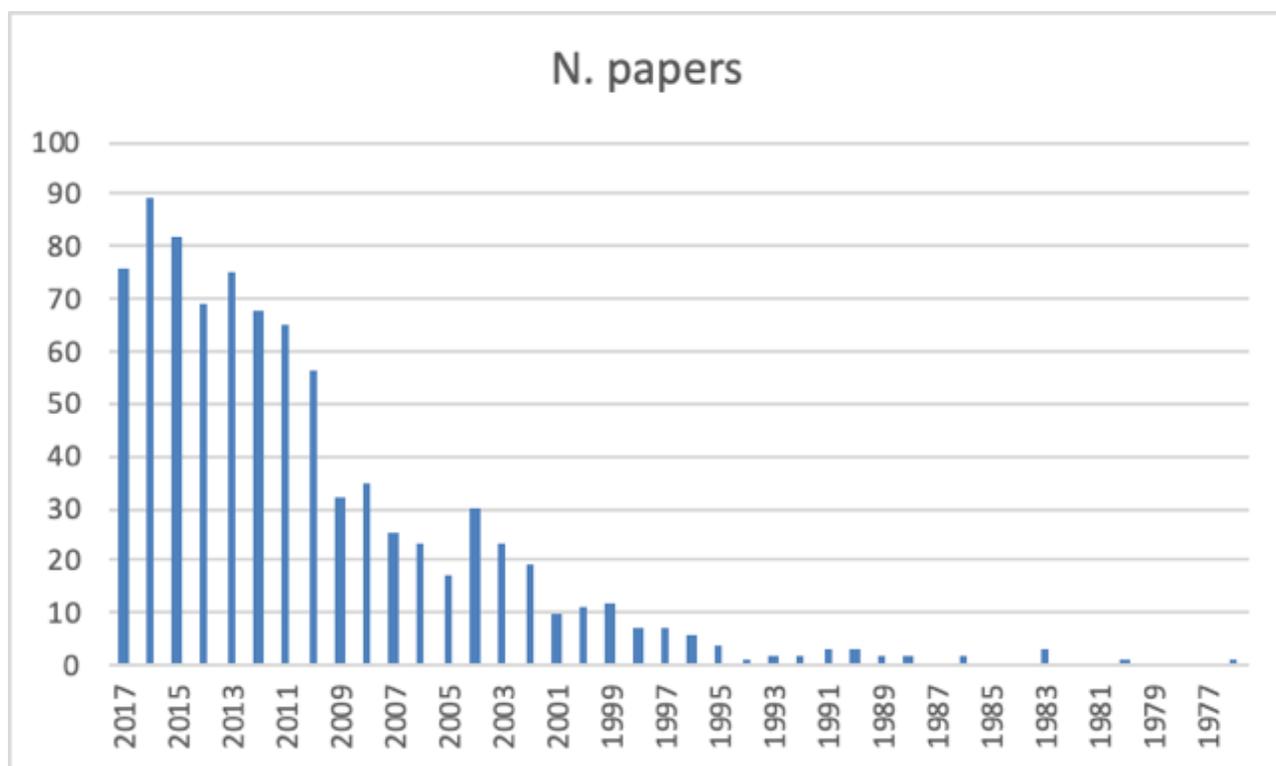


Figura 1 Numero di pubblicazioni su piante aromatiche e fertilizzanti n. 863 (totali) nel periodo 1976- 2017.

Nella tabella 1 sono riportati i principali Paesi impegnati nella ricerca in tale settore in termini di numero di pubblicazioni prodotte durante il periodo considerato. In tale panorama, l’Italia risulta uno

dei paesi più produttivi collocandosi al terzo posto con 73 pubblicazioni prodotte evidenziando pertanto un chiaro interesse del nostro Paese in questa area di ricerca. Nella tabella 2 sono riportate le affiliazioni scientifiche con più elevato numero di pubblicazioni sull'argomento.

Tabella 1. Principali Paesi impegnati nella ricerca in ambito aromatiche (110 totali paesi).

Paesi	N pubblicazioni
India	183
Brasile	86
Italia	73
Stati Uniti	49
Iran	40
Francia	38
Grecia	38
Spagna	38
Argentina	36
Turchia	35

Tabella 2. Affiliazioni scientifiche con più elevato numero di pubblicazioni sull'argomento.

Affiliazioni	N pubblicazioni
Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants India	43
Universidade Federal de Sergipe	26
Universidad Nacional de Cordoba	19
Universidade Federal da Paraiba	17
National Research Centre	15
University of Massachusetts	14
Aristotle University of Thessaloniki	13
Universidad Nacional de Rio Cuarto	13
Instituto Multidisciplinario de Biologia Vegetal	12
Consejo Nacional de Investigaciones Cientificas y Tecnicas	10
UNESP-Universidade Estadual Paulista	10
Universita di Salerno	10
ENSCM Ecole Nationale Superieure de Chimie de Montpellier	10

Universita degli Studi di Palermo

9

Geoponiko Panepistimion Athinon

9

La *Term map* riportata in Figura 2 identifica quattro principali aree di ricerca in forma di *clusters* di diverso colore. Procedendo in senso orario, il *cluster* blu identifica l'area di ricerca prettamente chimica in quanto contiene termini relativi ai sistemi di analisi chimiche (gas cromatografia, idrodistillazione, etc.) e relativi composti (terpeni, linalolo, mentolo, carvacrolo, limonene, etc.).

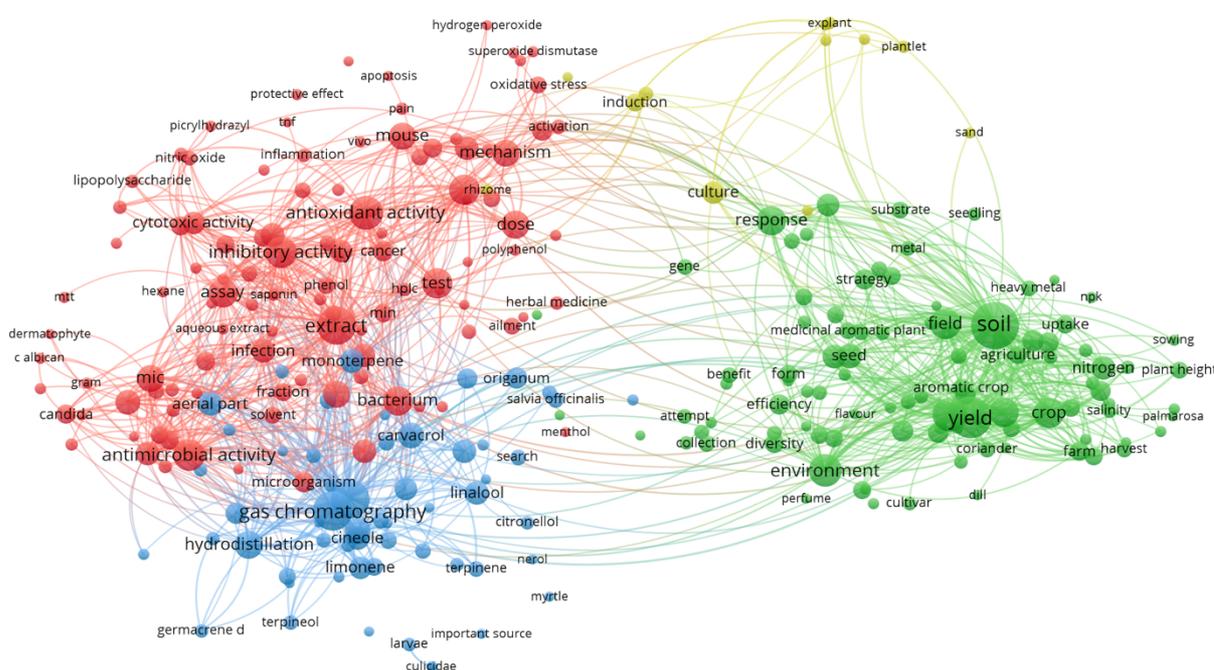


Figura 2: Network delle collaborazioni tra paesi/settori nell'ambito della ricerca sulle aromatiche ed officinali nel rapporto sistema pianta/ suolo.

Il *cluster* rosso identifica l'area di ricerca sugli effetti dei composti derivanti dalle estrazioni dei principi attivi ricavati dalle piante officinali, su attività microbiche e metaboliche (estratti, attività antiossidante, attività inibitoria, attività antimicrobica, dose, rizoma, cavie, attività citotossica, candida, etc. ...).

L'attinenza tra i *cluster* rosso e blu evidenzia come queste due aree di ricerca siano ben collegate l'una all'altra.

Il *cluster* giallo identifica l'area di ricerca appartenente ad una corrente di studio basato su effetti di natura antropica e culturale legato al mondo delle piante aromatiche attraverso termini come cultura, induzione, pianeta, stress, sabbia ed espianto.

Sul lato destro della mappa, ben distanziato dai tre *clusters* precedenti, troviamo il *cluster* verde che identifica l'area di ricerca prettamente agronomica. Infatti, in esso si ritrovano termini quali suolo, rese, campo e ambiente. Si individuano tuttavia dei *term bridge*, ovvero dei termini che fanno da ponte tra i *clusters*, sono quelli situati nella zona centrale della mappa, quasi equidistanti tra i *clusters*. In conclusione, i settori chimico e biologico sono ben collegati tra loro mentre quello agronomico non è ben collegato a questi, evidenza di poca interazione tra i campi citati, ovvero si rileva un numero inferiore di studi interdisciplinari, oppure uno scarso numero di pubblicazioni con un approccio integrato tra diverse discipline. Alla luce di tale stato dell'arte, il lavoro svolto nella presente tesi di dottorato si colloca idealmente in una posizione centrale della mappa, che sottolinea l'interdisciplinarietà dello studio condotto, mirato a valutare la sostenibilità delle colture aromatiche in un'ottica di filiera, attraverso l'indagine agronomica svolta in campo, relativa all'inserimento di queste specie in due ambienti differenti adottando tre tipi di fertilizzanti (attività attinente all'area di ricerca agronomica), e lo studio in laboratorio sugli effetti della coltivazione delle piante aromatiche e della fertilizzazione sulla sostanza organica del suolo e sugli indicatori di fertilità biologica. (entrambe le attività attinenti all'area di ricerca chimica e biologica).

CAPITOLO III. Scopo della ricerca

Lo scopo della ricerca durante tutto il percorso del dottorato è stato quello di verificare la sostenibilità della coltivazione in campo delle colture aromatiche. Lo studio bibliografico effettuato ha dimostrato che il mondo scientifico che studia le piante officinali (MAP) pone molte attenzioni ad argomenti come “Suolo, Resa, Campo, Ambiente”. Entrando nel merito delle produzioni scientifiche, si è visto che molti autori studiano gli effetti legati alle rese quali-quantitative delle produzioni agroindustriali della filiera delle produzioni delle MAP, visti i forti interessi sugli estratti che se ne ricavano. Uno scenario secondario è rivolto invece agli effetti delle MAP sull’ambiente in caso di inserimento nei piani colturali. Lo scopo del presente lavoro, quindi, è stato quello di studiare l’effetto della coltivazione delle MAP sul suolo e, in particolare, la variazione dell’indicatore della Sostanza Organica del Suolo (SOM) durante due annate agrarie. Inoltre, sono stati indagati gli effetti delle fertilizzazioni sulla fertilità del suolo durante la prima fase produttiva delle MAP. Per tale indagine sono stati determinati i parametri utili a determinare la fertilità biologica (IBF) del suolo ante e post preparazione di fondo e messa a dimora delle MAP (a 6 mesi dall’inizio prova). Data l’eterogeneità dell’ambiente Mediterraneo, sono stati considerati due casi studio in due siti, uno costiero e uno collinare, caratterizzati da due tipi di suoli: *Haplic Luvisol* e *Calcaric Cambisol*. Per valutare gli effetti sullo stato di salute del suolo dopo la messa in campo delle specie con relativa fertilizzazione, sono stati caratterizzati i due suoli in pre-impianto in base alla loro attività microbica (con e senza aggiunta di fertilizzante in dose di campo) e determinati i relativi valori dell’IBF e dei parametri biochimici di: Sostanza Organica del suolo (SOM), Respirazione basale (C_{bas}), Respirazione cumulativa (C_{cum}), Carbonio microbico (C_{mic}), Quoziente metabolico (qCO₂) e Quoziente di mineralizzazione (qM). Inoltre, sono stati indagati parametri chimici come il TOC e N_{Tot} verificandone il contenuto in tre fasi principali:

- 1) T₀, prima delle operazioni per la preparazione del campo alla coltivazione (Marzo-Aprile);
- 2) T₁, 6 mesi dopo la preparazione, fertilizzazione e trapianto delle specie coltivate (settembre-ottobre prima annata agraria produttiva);
- 3) T₂, a 18 mesi dall’inizio della coltivazione (settembre-ottobre seconda annata agraria produttiva).

Il lavoro ha previsto 4 prove aventi intenti diversi:

- 1) Effetto della fertilizzazione sull’attività microbica potenziale in mesocosmo dei due suoli indagati;

- 2) Effetto della coltivazione in campo di 4 specie MAP con tre trattamenti fertilizzanti (più un controllo Non Fertilizzato) sul TOC e N_{tot} della SOM nei due tipi di suoli a breve termine (T1);
- 3) Effetto di due annate agrarie (T2) delle 4 MAP con tre tipi di fertilizzazione (più un controllo Non Fertilizzato) sul TOC e N_{tot} della SOM nei due tipi di suoli;
- 4) Messa a punto di un metodo per monitorare gli accrescimenti, basato sull'elaborazione di immagini digitali ricavate da foto nadirali.

La struttura del presente progetto è stata incentrata sullo studio di 4 specie di piante officinali interessate dal mercato di cui due sono specie appartenenti alla biodiversità locale, ovvero due specie autoctone della Maremma etrusca (*Foeniculum vulgare* e *Mentha suaveolens*) e 2 comunemente prodotte a scopi commerciali (*Origanum hirtum* e *Thymus vulgaris*).

Le 4 prove possono essere ricondotte ad un unico scopo generale: valutare come una MAP poliennale può essere coltivata e gestita in modo efficace per conservare la SOM e, nel contesto ulteriore, verificare se la produzione di piante officinali può rappresentare una valida alternativa proponibile alle aziende agricole, tale da diversificare la produzione e offrire colture alternative da inserire negli avvicendamenti colturali, rappresentando un'opportunità in caso di sviluppo di una microfiliera locale.

CAPITOLO IV. Materiali e Metodi

1 Lavoro di sperimentazione

Le prove sperimentali di campo sono state effettuate a Tarquinia presso l'azienda sperimentale dell'Agenzia Regionale per lo Sviluppo dell'Innovazione dell'Agricoltura della regione Lazio (ARSIAL) ed a Rieti presso il Centro Appenninico del Terminillo C. Jucci dell'Università degli Studi di Perugia (UNIPG). Le attività di laboratorio e studio sono state condotte presso CREA-AA, Centro di ricerca Agricoltura e Ambiente di Roma.

Il personale dell'UNIPG Centro Appenninico Jucci si è occupato della propagazione delle piante da materiale certificato rinvenuto dal commercio (seme) delle 4 specie che sono state trapiantate sia presso la loro sede che presso l'azienda ARSIAL di Tarquinia, della conduzione della prova e della prelaborazione del materiale vegetale atto alla determinazione dei parametri biometrici e di produzione presso la loro sede aziendale.

Il personale dell'ARSIAL di Tarquinia si è occupato della conduzione della prova e della prelaborazione del materiale vegetale atto alle determinazioni dei parametri biometrici e di produzione della biomassa della produzione presso la loro sede aziendale.

Il personale dell'Università La Sapienza si è occupato delle prove relative all'estrazione e caratterizzazione degli oli essenziali della pianta di menta (di cui non si relaziona nella presente tesi).

La prova sperimentale ha avuto come oggetto di studio due suoli della Regione Lazio provenienti da due ambienti differenti: a Tarquinia (Viterbo) presso l'Azienda Sperimentale della Regione Lazio (ambiente di terrazzo marino costiero con suolo caratterizzato da calcarenite) e a Rieti, presso l'Azienda Sperimentale del Centro Appenninico Jucci dell'Università di Perugia (ambiente montano con suolo caratterizzato da depositi fluvio-lacustri di una conca pianeggiante). In entrambi i siti di studio è stato adottato il medesimo schema sperimentale e sono state condotte le seguenti indagini, i cui metodi sono riportati nei capitoli relativi.

1.1 Prova dell'effetto della fertilizzazione sull'attività microbica del suolo in due ambienti differenti (Capitolo V)

Lo studio ha riguardato campioni di suolo prelevati in due diversi momenti, come sarà dettagliato nei paragrafi seguenti: allo stato iniziale pre-prova (T0) e con le piante in campo (T1).

È stato condotto lo studio dell'attività microbica del suolo in tre fasi:

- sul suolo allo stato iniziale dei campioni prelevati al periodo T0, ovvero su suolo non soggetto a fertilizzazione e coltivazione;

- sul suolo iniziale addizionato in laboratorio della stessa aliquota di fertilizzante distribuito in campo (T0 + aggiunte);
- sul suolo prelevato dal campo dopo il primo ciclo colturale (T1), ovvero su suolo che ha subito i primi sei mesi di ciclo colturale di piante aromatiche con relative fertilizzazioni a confronto (Minerale, Organica e Organo-Minerale).

Lo schema sperimentale di coltivazione in campo e quello di prelievo dei campioni di suolo ai tempi T0 e T1 sono descritti in questo capitolo IV; i metodi di analisi di laboratorio sono invece dettagliatamente riportati nel capitolo V, paragrafi 2.3, 2.4 e 2.5.

1.2 Prova dell'effetto della coltivazione biennale di piante aromatiche sui contenuti di carbonio organico totale e azoto totale (Capitolo VI)

La prova ha avuto come oggetto di studio l'effetto della coltivazione di n. 4 specie di piante officinali con tre tipi di fertilizzazione (più un controllo Non Fertilizzato) sul TOC e N_{Tot} della SOM nei due tipi di suoli nel corso di due anni di coltivazione sono stati quindi posti a confronto dati relativi ai campionamenti T0 (pre-prova), T1 (primo ciclo colturale), T2 (secondo ciclo colturale).

Lo studio dell'andamento spaziale dei contenuti del TOC e N_{Tot} nel suolo rilevati al T0, T1 e T2 è stato effettuato ricorrendo a tecniche analitiche di geostatistica e, tramite lo studio dei semivariogrammi, si è proceduto alla mappatura dei contenuti con Kriging: i relativi metodi sono descritti nel Capitolo VI, par 4.3. Le metodologie relative al prelievo dei campioni di suolo sono ampiamente descritte in questo Capitolo IV, paragrafo 4, mentre i metodi analitici per TOC e N_{Tot} nel suolo sono descritti nel Capitolo 5, paragrafo 2.3.

1.3 Stima della copertura vegetale di colture aromatiche da immagini digitali (Capitolo VII)

L'obiettivo di questo studio è stato quello di testare l'accuratezza della fotografia digitale per stimare la copertura vegetale da immagini aeree. Questo sistema, già ampiamente usato nello studio delle chiome in specie forestali, è stato adattato per la stima della copertura vegetale delle specie oggetto di studio nel presente lavoro di ricerca.

La fase di campagna ha previsto dei fotorilievi calendarizzati che consistevano in fotografie nadirali di ogni sub-parcella costituita da 10 piante aromatiche disposte in fila binata ad un sesto di 40 x 40 cm. Questa fase è dettagliatamente descritta al Capitolo VII, Paragrafo 2.2.

La fase di laboratorio ha previsto l'acquisizione delle immagini digitali ricavate dalle foto nadirali e ha permesso la messa a punto del metodo Rosin per l'utilizzo su specie aromatiche. I dettagli di questa fase sono trattati al Capitolo VII, Paragrafo 2.3.

2 Area di studio

Le aree di studio sono ubicate nella regione Lazio: una nella provincia di Viterbo, a Tarquinia ($42^{\circ}13'33,18''N$; $11^{\circ}43'57,81''E$), ed una nella provincia di Rieti ($42^{\circ}25'19,48''N$; $12^{\circ}48'41,41''E$), come riportato in Fig.1.

Per le aree studiate, sono state recuperate le informazioni descrittive ed analitiche dei profili di suolo che le caratterizzano dal database del CREA AA e riportate in schede nelle due pagine seguenti (per il sito di Tarquinia Osservazione Laz50_1 P 52, per il sito di Rieti Osservazione Laz250_2 P 189).

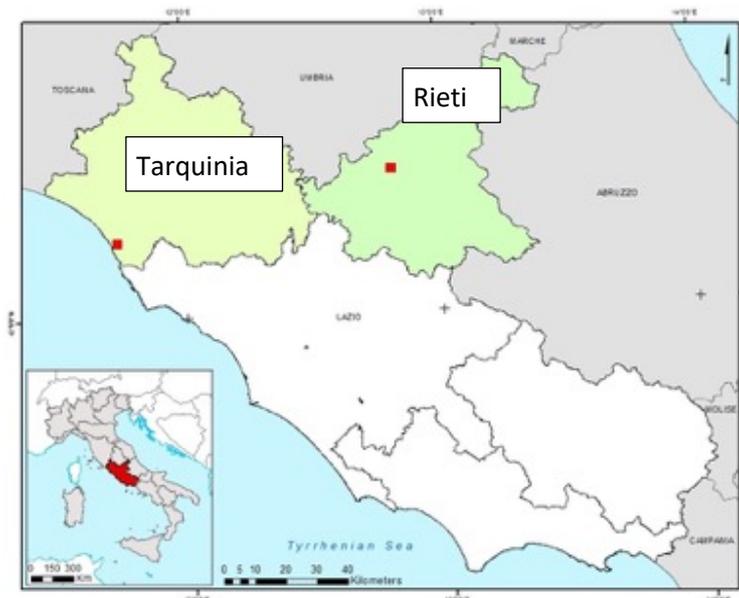


Figura 1. Ubicazione delle due aree sperimentali di Tarquinia e Rieti.

Per l'area di Tarquinia il profilo caratteristico è un Haplic Luvisol (classificazione WRB, 2014) profondo su un terrazzo marino calcarenitico pianeggiante. Per l'area di Rieti il profilo caratteristico è invece un Calcaric Cambisol (classificazione WRB, 2014) molto profondo sui depositi fluvio-lacustri della conca pianeggiante di Rieti (Banca dati CREA-AA <https://crea-qa.cube.extrasys.it/web/agricoltura-e-ambiente/-/soil-database-250-banca-dati-suoli>).

OSSERVAZIONE LAZ50_1 P 52

UTS e STS:	Ciam2	Correlazione:	tipico	Rilevamento:	10/3/2014
Soil region:	60.7	Coordinate:	utm-wgs84 3 N: 4679939 E: 230386 LAT: 42.23 LON: 11.73	Località:	C.le la Portaccia
Sistema:	212MS20	Comune:	Tarquinia	Provincia:	Viterbo
Sottosistema:		Pietrosità:	piccola assente media assente grande assente		
Unità di terre:		Uso e copert:	colture orticole in pieno campo o protette in aree irrigue		
Quota:	24 m s.l.m.	Forma hm:	terrazzo marino		
Pendenza:	0 %	Esposizione:	*		
Rocciosità:	assente	Elem. morfologico dm:	pianura		
Uso e copert:		Substrato:	calcarenite		
Forma hm:		Materiale pedogenetico:	detrito in posto; limoso o franco		
Elem. morfologico dm:		Caratteri e qualità:	Tipo falda: assente, assenza di erosione, scorrimento superficiale trascurabile, drenaggio interno: ben drenato, profondità utile elevata (100-150 cm), limite radicale: contatto lithic continuo, capacità idrica elevata (150-200 mm)		
Substrato:		Class. USDA:	10° ed. (2006) Typic Haploxeralfs fine-loamy, mixed, thermic		
Materiale pedogenetico:		Class. WRB:	3° ed. (2014) Haplic Luvisols (EndoCutanic, Clayic)		
Caratteri e qualità:		Note:	Azienda ARSIAL		

ORIZZONTI

Ap 45 cm		colore umido 7,5YR 3/4 Bruno scuro, scheletro assente; struttura poliedrica subangolare grande, moderatamente sviluppata; consistenza resistente; adesivo; debolmente plastico, conducibilità idraulica mod. alta (1-10 µm/s); pori fini (0,5-1 mm) comuni (0,5-2%) e fini (0,5-1 mm) comuni (0,5-2%); radici fini (1-2 mm) poche (1-10); attività biologica assente; effervescenza nessuna; stima reazione: debolmente acida (pH 6,1-6,5); limite abrupto lineare
Bt 110 cm		colore umido 5YR 4/4 Bruno rossastro, scheletro assente; struttura poliedrica angolare media, fortemente sviluppata; consistenza molto resistente; adesivo; plastico, conducibilità idraulica mod. alta (1-10 µm/s); pori fini (0,5-1 mm) comuni (0,5-2%); noduli ferro-manganesiferi estremamente piccole (<2 mm) comuni (2-20%); pellicole di argilla scarse (<10%) localizzate sulle facce degli aggregati; facce di pressione scarse (<10%); radici fini (1-2 mm) poche (1-10); attività biologica assente; effervescenza nessuna; stima reazione: debolmente acida (pH 6,1-6,5); limite chiaro lineare
BC 140 cm		colore umido 7,5YR 5/6 Bruno forte, scheletro assente; struttura poliedrica subangolare grande, debolmente sviluppata; consistenza resistente; non adesivo; non plastico, conducibilità idraulica alta (10-100 µm/s); pori fini (0,5-1 mm) comuni (0,5-2%); attività biologica assente; effervescenza debole; stima reazione: moderatamente alcalina (pH 7,9-8,4); limite abrupto lineare

R

ANALISI CHIMICHE E FISICHE

Orizz.	Profondità cm	Sabbia dag/kg						Limo dag/kg			Argilla d.app dag/kg	C.C. g/cm ³	P.A. (cm/m)	COLE	Text	Gran		
		m. grossa	grossa	media	fine	m. fine	totale	grossa	fine	totale								
Ap	0 45	0.7	2.7	5.3	19.1	8.9	36.7	13.5	21.5	35.0	28.3				FA	FFI		
Bt	45 110	0.7	1.8	3.0	11.0	5.6	22.1	11.5	10.2	21.7	56.1				A	AFI		
BC	110 140	0.5	1.1	1.5	46.0	14.3	63.4	8.4	2.6	11.0	25.6				FSA	FFI		
Orizz.	Profondità cm	Comp. di scambio cmol(+)/kg					TSB	ESP	P	K	N tot	CaCO ₃ dag/kg	C. org dag/kg	C/N	reazione H ₂ O	pH	E.C. CaCl ₂	dS/m 1:2.5 ecc
		Ca	Mg	Na	K	H+Al												
Ap	0 45	10.5	2.5	0.2			19.00	77	26.0	0.07	0.00	0.00	0.62	8.8	6.3	5.9	0.44	0.00
Bt	45 110	16.0	4.4	0.5			26.00	82	4.0	0.03	0.00	0.00	0.23	7.8	6.3	5.8	0.15	0.00
BC	110 140	11.5	3.2	0.5			15.00	102	4.0	0.01	0.20	0.00	0.06	5.9	7.5	7.1	0.32	0.00

OSSERVAZIONE LAZ250_2 P 189

UTS e STS:	Pval1	Correlazione:	rappresentativo
Soil region:	16.4	Rilevamento:	10/15/2013
Sistema:		Coordinate:	utm-wgs84 3 N: 4698287 E: 320663 LAT: 42.42 LON: 12.82
Sottosistema:		Località:	Casa Pilati
Unità di terre:		Comune:	Rieti
Quota:	378 m s.l.m.	Provincia:	Rieti
Pendenza:	0 %	Pietrosità:	piccola assente
Rocciosità:	assente		media assente
Uso e copert:	seminativi in aree irrigue		grande assente
Forma hm:	conca di riempimento complesso		
Elem. morfologico dm:	pianura curvatura: lineare-lineare		
Substrato:	depositi di piena a bassa energia; limoso o franco		
Materiale pedogenetico:	depositi di piena a bassa energia; limoso o franco		
Caratteri e qualità:	Tipo falda: assente, assenza di erosione, scorrimento superficiale trascurabile, drenaggio interno: mod. ben drenato, profondità utile molto elevata (>150 cm), limite radicale: nessuna limitazione o impedimento, capacità idrica elevata (150-200 mm)		
Class. USDA:	11° ed. (2010) Fluventic Eutrudepts fine-silty		
Class. WRB:	3° ed. (2014) Calcaric Cambisols (AnoClayic)		
Note:	profilo eseguito a circa 200 m dal sito indicato per la presenza di coltura in atto. Orizzonte 4_Bg campionato (analisi routinarie) anche tra 160 e 200 cm di profondità. Carattere fluventico da verificare con le analisi.		
ORIZZONTI			

Ap  colore umido 10YR 4/3 Da bruno a bruno scuro, screziature assenti, scheletro assente; struttura granulare grande, debolmente sviluppata; struttura secondaria assente, massivo; consistenza resistente; adesivo; molto plastico, conducibilità idraulica mod. alta (1-10 µm/s); pori fini (0,5-1 mm) scarsi (0,1-0,5%), concentrazioni assenti; attività biologica assente; effervescenza notevole; stima reazione: moderatamente alcalina (pH 7,9-8,4); limite chiaro ondulato

Bw1  colore umido 10YR 4/4 Bruno giallastro scuro; figure redox principali, 10YR 5/3, scarse (2-5%) piccole (<5 mm), di evidenza debole, localizzazione su masse impoverite di ferro e presenza di aree con arric.di ferro e manganese, scheletro assente; struttura poliedrica subangolare grande, debolmente sviluppata; consistenza resistente; adesivo; molto plastico, conducibilità idraulica mod. bassa (0,1-1 µm/s); pori fini (0,5-1 mm) comuni (0,5-2%) e fini (0,5-1 mm) scarsi (0,1-0,5%), concentrazioni assenti; attività biologica assente; effervescenza notevole; stima reazione: moderatamente alcalina (pH 7,9-8,4); limite chiaro ondulato

Bw2  colore umido 10YR 5/4 Bruno giallastro; figure redox principali, 10YR 5/2, molto scarse (<2%) piccole (<5 mm), di evidenza distinta, localizzazione su masse impoverite di ferro e presenza di aree con arric.di ferro e manganese, scheletro assente; struttura poliedrica subangolare grande, debolmente sviluppata; struttura secondaria prismatic grande, moderatamente sviluppata; consistenza molto resistente; adesivo; molto plastico, conducibilità idraulica mod. bassa (0,1-1 µm/s); pori molto fini (<0,5 mm) scarsi (0,1-0,5%), concentrazioni assenti; attività biologica assente; effervescenza notevole; stima reazione: moderatamente alcalina (pH 7,9-8,4); limite chiaro ondulato

Bg  colore umido 10YR 5/2 Bruno grigiastro; figure redox principali, 10YR 4/6, scarse (2-5%) piccole (<5 mm), di evidenza distinta, localizzazione su masse arricchite di ferro, scheletro assente; struttura poliedrica subangolare grande, moderatamente sviluppata; struttura secondaria prismatic grande, moderatamente sviluppata; consistenza molto resistente; adesivo; molto plastico, conducibilità idraulica mod. bassa (0,1-1 µm/s); pori molto fini (<0,5 mm) scarsi (0,1-0,5%), concentrazioni assenti; attività biologica assente; effervescenza notevole; stima reazione: moderatamente alcalina (pH 7,9-8,4); limite sconosciuto

ANALISI CHIMICHE E FISICHE

Orizz.	Profondità cm	Sabbia dag/kg							Limo dag/kg			Argilla d.app C.C. P.A. COLE		Text	Gran	
		m.	grossa	grossa	media	fine	m. fine	totale	grossa	fine	totale	dag/kg	g/cm3			(cm/m)
Ap	0 40	0.5	0.3	0.3	0.4	0.9	2.4	15.9	45.9	61.8	35.8	1.45			FLA	AFI
Bw1	40 100	0.0	0.0	0.1	0.3	0.5	0.9	14.9	43.3	58.2	40.9	1.43			AL	AFI
Bw2	100 135	0.0	0.0	0.2	0.7	1.3	2.2	21.2	40.8	62.0	35.8	1.44			FLA	AFI
Bg	135 200	0.0	0.0	0.2	0.5	1.0	1.7	16.6	43.4	60.0	38.3	1.47			FLA	AFI

Orizz.	Profondità cm	Comp. di scambio cmol(+)/kg					TSB	ESP	P	K	N tot	CaCO3 dag/kg	C. org	C/N	reazione	pH	E.C.	dS/m
		Ca	Mg	Na	K	H+Al												
Ap	0 40	25.3	2.2	0.1			27.00	104	19.0	0.14	13.70	2.70	1.35	9.6	7.8	7.5	0.41	0.00
Bw1	40 100	26.8	2.4	0.1			28.00	106	6.0	0.07	14.10	2.80	0.66	9.4	8.2	7.8	0.24	0.00
Bw2	100 135	26.4	2.1	0.1			27.00	107	6.0	0.08	14.50	2.90	0.69	8.6	8.1	7.9	0.24	0.00
Bg	135 200	25.3	2.1	0.1			28.00	100	8.0	0.08	15.20	3.00	0.68	8.5	8.1	7.9	0.24	0.00

2.1 Clima

2.1.1 Area sperimentale 1 - Tarquinia

Si tratta di un appezzamento all'interno dell'azienda dimostrativa di Tarquinia dell'Agenzia Regionale per lo Sviluppo dell'Innovazione dell'Agricoltura della Regione Lazio (ARSIAL).

L'appezzamento ha un'estensione di 450 mq ed è posto su una superficie pianeggiante ad una quota di circa 15 m s.l.m. È situato su un terrazzo marino costiero, costituito da depositi sabbiosi marini e di transizione prevalentemente sabbiosi (Pliopleistocene-Olocene), con *Cutanic Luvisol* (Napoli R. *et al.*, 2019). La temperatura media annua (nel periodo temporale 1981-2010) dell'aria della provincia di Viterbo è 14,3 °C (da 10,0 °C a 18,6 °C), mentre la piovosità media annua cumulata è 799,1 mm (<https://www.reterurale.it/agroclima>).

I dati meteo relativi al campo sperimentale di Tarquinia sono stati ricavati dalla stazione di rilevamento meteo sita nell'azienda stessa (dati forniti da ARSIAL).

Tabella 1. Dati meteo dell'Azienda dimostrativa di Tarquinia (ARSIAL), annate 2017 e 2018.

Tarquinia	2017	2018	Medie 2017/18
Temperatura minima media annua (°C)	10,21	11,76	11,00
Temperatura del giorno più freddo (°C)	-4,2 (07/01)	-5,9 (27/02)	
Temperatura massima media annua (°C)	21,76	22,10	21,94
Temperatura del giorno più caldo (°C)	36,5 (05/08)	36,1 (01/08)	
Temperatura media (°C)	16,21	16,93	16,57
Precipitazione (mm)	370,2	824,4	

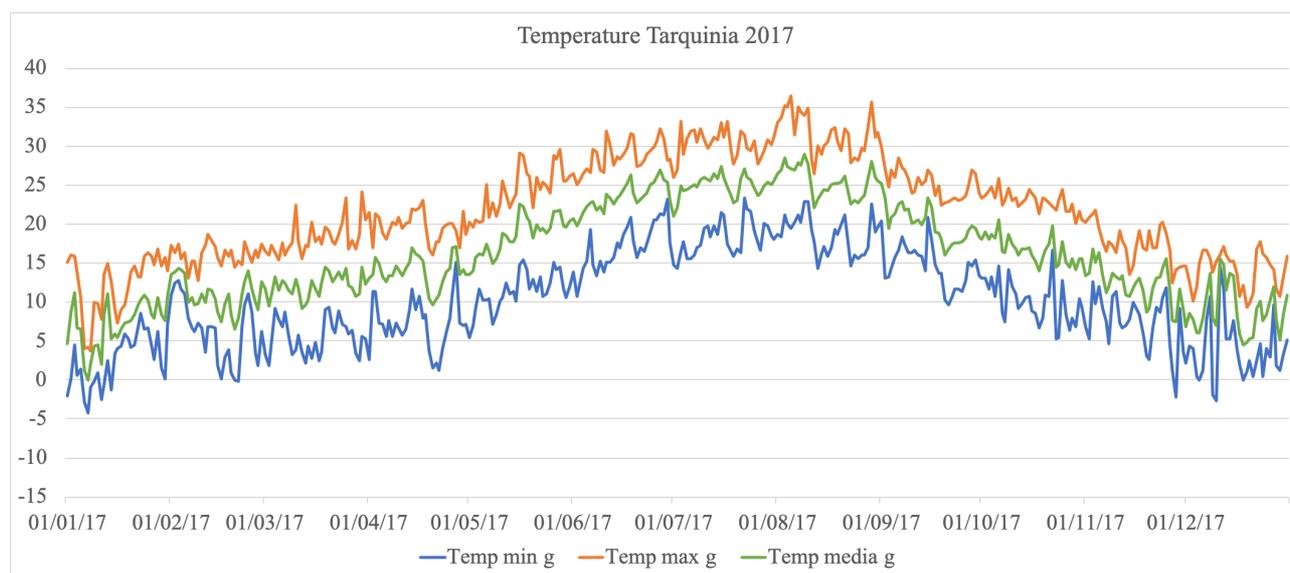


Figura 2. Grafico dell'andamento temperature giornaliere minime (linea blu), medie (linea verde) e massime (linea arancione) relative all'annata 2017 dell'Azienda dimostrativa di Tarquinia (ARSIAL).

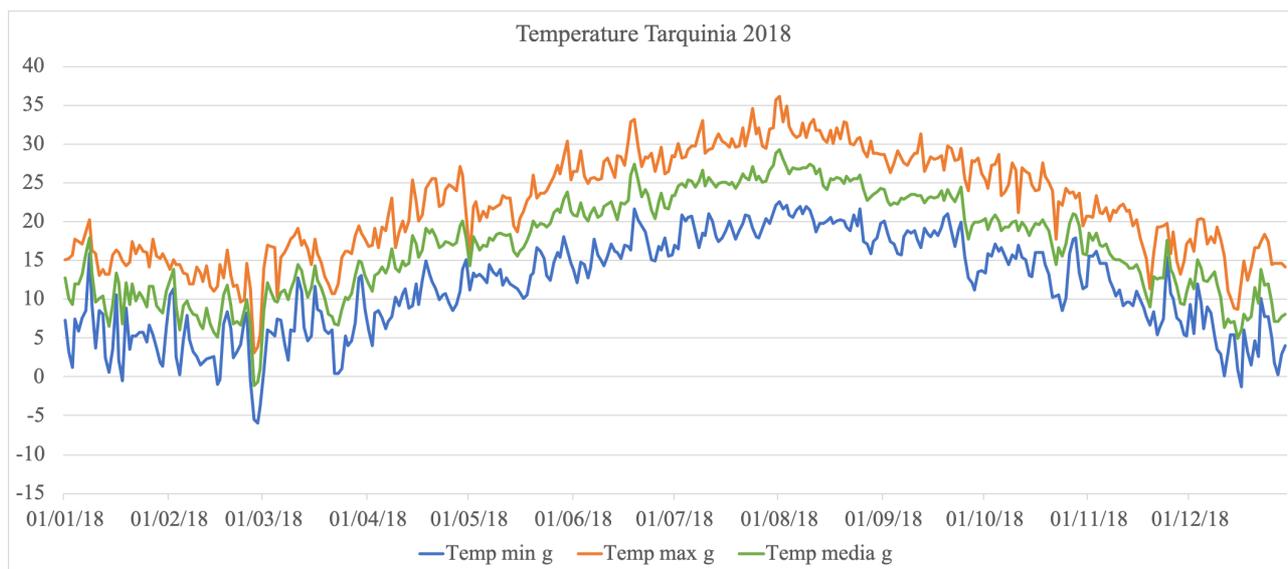


Figura 3. Grafico dell'andamento temperature giornaliere minime (linea blu), medie (linea verde) e massime (linea arancione) relative all'annata 2018 dell'Azienda dimostrativa di Tarquinia (ARSIAL).

2.1.2 Area sperimentale 2 - Rieti

Si tratta di un appezzamento all'interno del Centro Appenninico del Terminillo C. JUCCI dell'Università degli Studi di Perugia.

L'appezzamento ha un'estensione di 1.330 mq ed è posto su una superficie pianeggiante ad una quota di circa 377 m s.l.m. È situato nella pianura di Rieti su sedimenti fluvio-alluvionali (Olocene), con *Fluvic Cambisol* (Napoli *et al.*, 2019). La temperatura media annua dell'aria (nel periodo temporale 1981-2010) della provincia di Rieti è 11,4 °C (da 6,7 °C a 16,0 °C), mentre la piovosità media annua cumulata è 853,1 mm (<https://www.reterurale.it/agroclima>).

I dati meteo relativi al campo sperimentale di Rieti sono stati ricavati dalla stazione di rilevamento meteo sita nell'azienda stessa.

Tabella 2: Dati meteo del Centro Appenninico del Terminillo C. JUCCI dell'Università degli Studi di Perugia, annate 2017 e 2018.

Rieti	2017	2018	Medie 2017/18
Temperatura minima media annua (°C)	5,29	7,56	6,43
Temperatura del giorno più freddo (°C)	-12,0 (11/01)	-15,0 (28/02)	
Temperatura massima media annua (°C)	20,67	20,36	20,51
Temperatura del giorno più caldo (°C)	39,8 (04/08)	34,9 (31/07)	
Temperatura media (°C)	12,70	13,50	13,31
Precipitazione (mm)	721,2	1054,8	

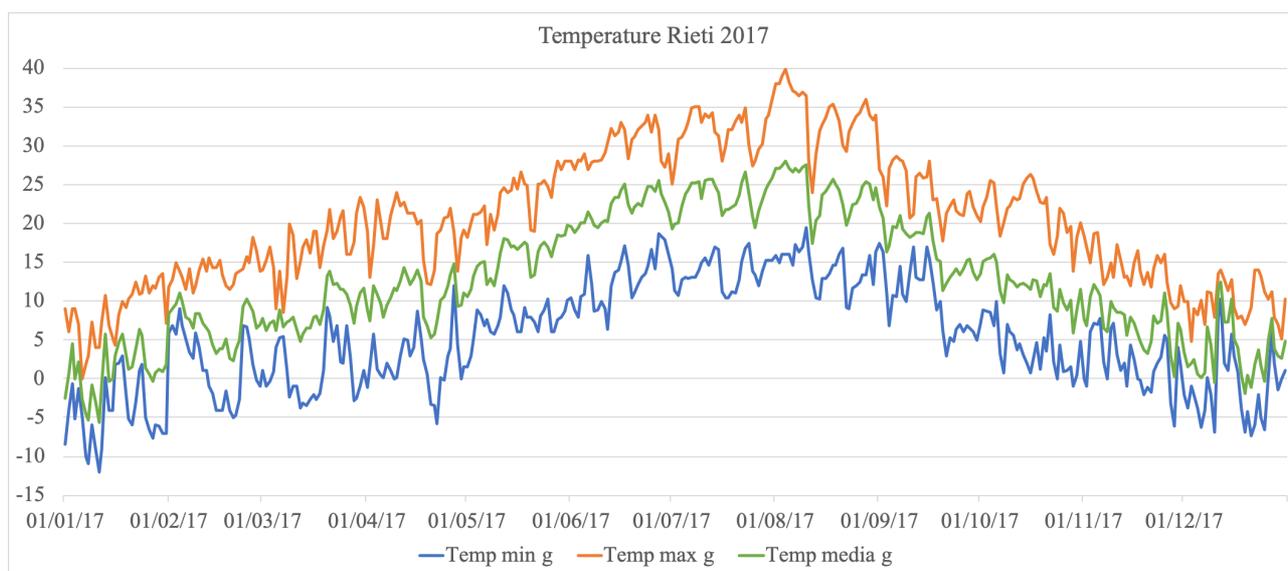


Figura. 4. Grafico dell'andamento temperature giornaliere minime (linea blu), medie (linea verde) e massime (linea arancione) relative all'annata 2017 del Centro Appenninico del Terminillo C. JUCCI dell'Università degli Studi di Perugia (dati forniti dal Centro Jucci).

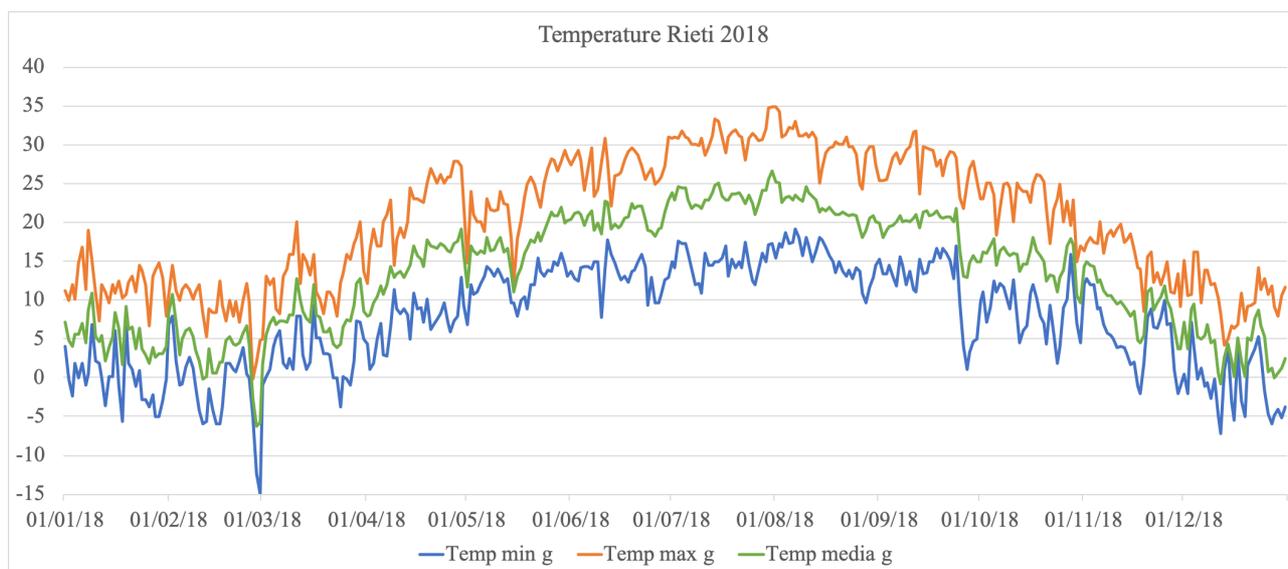


Figura. 5: Grafico dell'andamento temperature giornaliere minime (linea blu), medie (linea verde) e massime (linea arancione) relative all'annata 2018 del Centro Appenninico del Terminillo C. JUCCI dell'Università degli Studi di Perugia (dati forniti dal Centro Jucci).

3 Disegno sperimentale

Per la scelta dell'area sperimentale su cui impostare la prova sono state individuate porzioni di seminativi aziendali non interessate da precedenti prove sperimentali di fertilizzazione, di inoculo con microrganismi e di trattamenti con biostimolanti e tenuti a riposo produttivo da circa un decennio. Sugli stessi appezzamenti individuati è stata eseguita un'indagine preliminare sull'omogeneità

spaziale del contenuto di TOC, prelevando 16 carotaggi (profondità 0-20 cm) secondo lo schema a griglia seguente (Figura. 6).

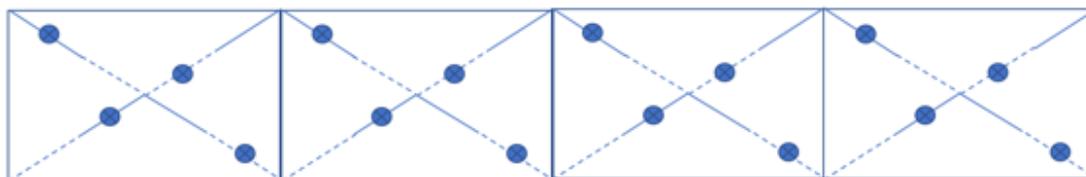


Figura. 6: Schema a griglia utilizzato in fase preliminare per il prelievo dei 16 campioni/carotaggi di suolo (profondità 0-20 cm) al tempo T0 per verificare l'omogeneità spaziale del contenuto di TOC nei due siti.

Lo studio dell'andamento spaziale dei contenuti del TOC nel suolo rilevati al T0 è stato effettuato ricorrendo a tecniche analitiche di geostatistica (studio dei semivariogrammi e mappatura con *Kriging* al T0, come verrà descritto al Capitolo VI, Paragrafo 4.6). Da tale indagine, è stata dedotta la mancanza di dipendenza spaziale della variabile studiata ed esclusa la presenza di gradienti nelle varie direzioni dell'appezzamento. Questo ha permesso la pianificazione di un disegno sperimentale *ad hoc* al fine di studiare la dinamica della SOM nello spazio e in tempi caratterizzanti il ciclo biennale delle colture in prova (preimpianto-prima annata-seconda annata).

Il disegno sperimentale è stato realizzato su blocco unico ricondotto ad uno schema "*strip-plot*" non replicato per ragioni di operatività ed economicità avendo riscontrato una sostanziale omogeneità dell'appezzamento rispetto ai contenuti di TOC e N_{Tot} . Le parcelle principali "*strip*" sono state ricavate da strisce di appezzamento all'interno di ognuna delle quali sono state impiantate le specie oggetto di studio (timo, origano, menta e finocchietto); ogni strip principale è stata suddivisa in quattro sub-parcelle trasversali alla principale (strip secondaria) all'interno delle quali sono state distribuite le tesi di fertilizzazione (Minerale, Organico e Organo-Minerale) oltre al Controllo non fertilizzato (Figura. 7). All'interno di ogni sub-parcella sono stati effettuati campionamenti ripetuti (pseudorepliche secondo Hulbert, 1984) su tre punti di prelievo la cui eventuale dipendenza dovuta alla vicinanza spaziale è stata controllata ricorrendo a tecniche statistiche di ANOVA a misure ripetute (General Linear Model Repeated Measures-SPSS).

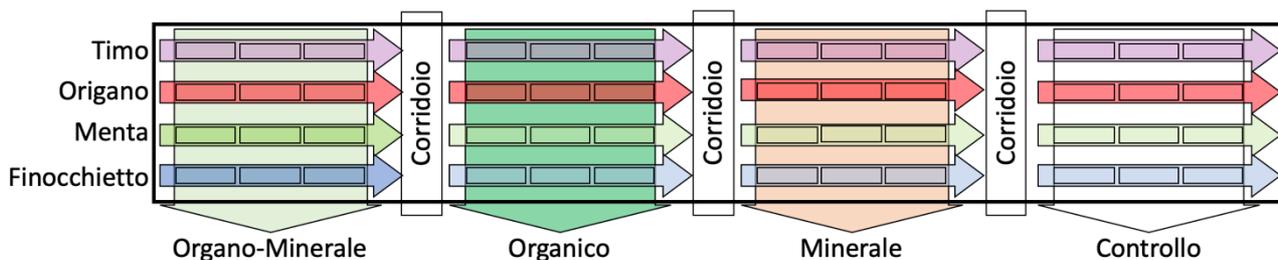


Figura. 7: Disegno sperimentale su blocco unico ricondotto ad uno schema “strip-plot” non replicato: nel presente blocco le *strip* orizzontali rappresentano il fattore coltura aromatica (timo, origano, menta e finocchietto), mentre le *strip* verticali rappresentano il fattore fertilizzazione (Organo-Minerale, Organico, Minerale) ed un Controllo non fertilizzato. Tra le *strip* verticali relative ai trattamenti sono stati predisposti dei corridoi incolti di circa 5 metri sottoposti a sfalci periodici di pulizia su cui non vi è stato nessun trattamento fertilizzante.

Delle quattro specie officinali indagate, 2 sono specie autoctone di Finocchietto selvatico e Mentone (*Foeniculum vulgare* e *Mentha suaveolens*) e 2 comunemente prodotte a scopi commerciali di Origano e Timo (*Origanum hirtum* e *Thymus vulgaris*).

I trattamenti di fertilizzazione, effettuati prima del trapianto, hanno apportato le seguenti quantità di unità fertilizzante ad ettaro relativamente ai macroelementi N-P-K le cui dosi sono state calcolate in funzione dei titoli dichiarati in etichetta dei fertilizzanti reperiti in commercio:

- Concimazione Minerale con concime ternario NPK (11-22-16): 165 kg ha⁻¹ N, 330 kg ha⁻¹ P₂O₅, 240 kg ha⁻¹ K₂O (ammesso nei disciplinari integrati);
- Concimazione Organica N (5): 187 kg ha⁻¹ N (ammesso in agricoltura biologica);
- Concimazione Organo-Minerale NP (3-11): 90 kg ha⁻¹ N, 330 kg ha⁻¹ P₂O₅ (ammesso in agricoltura biologica).

La dose della tesi relativa al fertilizzante Organo-minerale NP (3-11) è stata dimezzata in relazione alla particolare formulazione che consente un lento rilascio degli elementi garantendo una maggiore efficacia nutrizionale.

Tutte le strip secondarie (entro le sub-parcelle) sono state predisposte con una doppia fila di manichette per garantire il fabbisogno irriguo delle quattro colture. In ogni sub-parcella è stata messa a dimora una fila binata di piante disposte ad un sesto di 40 x 40 cm (30 piante) (Figura. 8), eccetto per il finocchietto che è stato disposto su fila singola (15 piante) (Figura. 9).

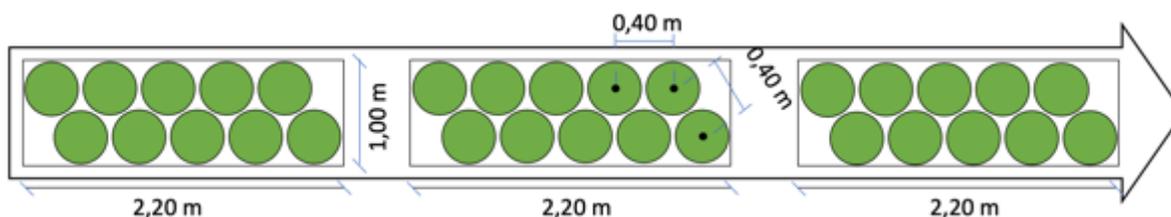


Figura. 8: Schema di impianto delle colture aromatiche di timo, origano e menta utilizzato nei due siti. Ogni *strip* orizzontale relativa al fattore coltura è costituito da 30 piante disposte in fila binata ad un sesto 40x40 cm distribuite in tre sub-parcelle interne di 2,20 x 1,00 m.

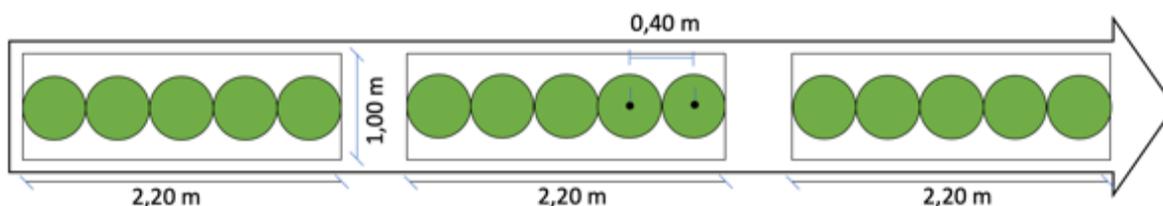


Figura. 9: Schema di impianto della coltura aromatica di finocchietto utilizzato nei due siti. Ogni *strip* orizzontale relativa al fattore coltura è costituito da 15 piante disposte in fila singola ogni 40 cm distribuite in tre parcelle interne di 2,20 x 1,00 m.

Per favorire la normale esecuzione della prova sono stati necessari scerbamenti nell'interfila con decespugliatori, mentre sulla fila sono stati effettuati a mano, accompagnando la coltura fino alla completa copertura.

4 Raccolta campioni

I campioni di suolo sono stati prelevati con operazione di carotaggio utilizzando trivella manuale alla profondità 0-20 cm dal livello di campagna relativo al primo orizzonte pedologico di suolo lavorato (Ap).

Nei due siti sono stati effettuati tre campionamenti in tempi diversi:

- T0: febbraio-marzo 2017, prima delle pratiche agronomiche per un'indagine preliminare volta a verificare l'omogeneità spaziale della SOM e l'implementazione del disegno sperimentale;
- T1: agosto-settembre 2017, fine prima annata produttiva, ovvero 6 mesi dopo la fertilizzazione di base e il trapianto;
- T2: agosto-settembre 2018, fine seconda annata produttiva, ovvero a 18 mesi dal T0.

Per entrambi i siti sono stati adottati i medesimi schemi di prelievo per il campionamento dei suoli T0 (Figura. 6), T1 e T2 (Figura. 10).

Il prelievo T0 è consistito nella raccolta di 16 campioni ricadenti su griglie diagonali all'interno di quattro sub-appezzamenti di uguale dimensione (Figura. 6).

I campionamenti al tempo T1 e T2 sono stati pianificati sulla base del disegno sperimentale adottato (strip-plot con pseudorepliche) con n. 3 prelievi (carotaggi) egualmente distanziati sulla linea mediana di ogni strip secondaria (Figura 10). Pertanto a ciascuno dei tempi T1 e T2 sono stati prelevati 48 campioni ad una profondità compresa tra 0-20 cm nella porzione interessata dall'esplorazione radicale denominata *root-zone*.

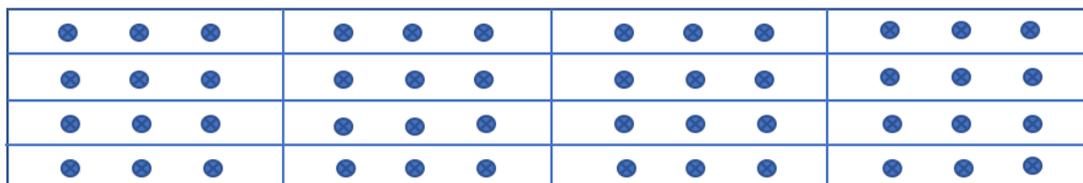


Figura. 10: Schema di campionamento al tempo T1 e T2, entro le 4 sub-parcelle “trattamento” e lungo le strip orizzontali “coltura”, come da schema sperimentale in Figura 7. Il prelievo è costituito da 48 campioni/carote di suolo ad una profondità di 0-20 cm. Ogni campione di suolo è stato prelevato al centro di ogni parcella che rappresenta una replica interna alla coltura (pseudoreplica secondo Hulbert S. H., 1984) relativa alla sub-parcella del trattamento fertilizzante.

Inoltre, al tempo T2, all'interno della sub-parcella Controllo, è stato eseguito un campionamento costituito da un maggior numero di prelievi per la creazione della mappa al fine di verificare l'effetto della coltura in assenza di fertilizzante rispetto al suolo nudo. Quindi, sono stati prelevati campioni di suolo nell'interfila e ai bordi della parcella non interessata né da fertilizzazione e né da coltivazione delle piante come in Figura. 11.

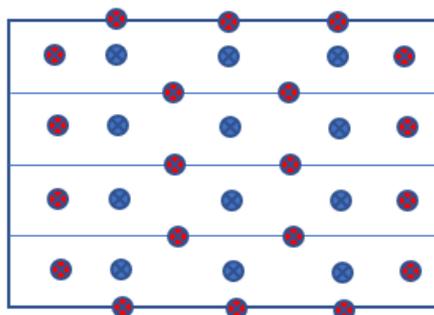


Figura. 11: Dettaglio dello Schema di campionamento al tempo T2 solo per l'area di Controllo. I punti in rosso sono i campioni di suolo relativi a porzioni di suolo non trattati né con fertilizzazione e né da coltivazione.

Sui campioni di suolo prelevati nel T0 e T1 sono state eseguite le analisi relative ai contenuti di TOC, N_{Tot} , nonché le analisi relative all'attività microbica (C_{bas} , C_{cum} , C_{mic} , qCO_2 e qM), mentre sui campioni di suolo prelevati nel T2 sono stati determinati solo i contenuti di TOC e N_{Tot} , i cui metodi verranno descritti al capitolo V relativo alla fertilità biologica del suolo nella coltivazione di piante aromatiche in due diversi ambienti: risorse e metabolismo, Paragrafo 2.3.

5 Analisi statistica

I dati rinvenuti dalle analisi dei contenuti di TOC e N_{tot} sono stati elaborati statisticamente con una ANOVA a misure ripetute e successivamente con il Test di Bonferroni per la separazione delle medie. Per la conduzione della prova si è proceduto con l'adozione di due disegni sperimentali simili per entrambe le aree, i cui gli schemi sono dettagliati nel Capitolo IV relativo ai Materiali e Metodi, Paragrafo 3.

Lo studio dell'andamento spaziale dei contenuti del TOC e N_{tot} nel suolo rilevati ai tempi T0, T1 e T2 è stato effettuato ricorrendo a tecniche analitiche di geostatistica e, tramite lo studio dei semivariogrammi, si è proceduto alla mappatura dei contenuti con Kriging.

Le stime ottenute dalle fotografie nadirali delle colture sono state confrontate e sottoposte ad ANOVA e test HSD con quelle ricavate da immagini artificiali con copertura vegetale nota; ciò ha permesso di valutare l'influenza della copertura vegetale e della dimensione media degli oggetti (foglia/sfondo) sulla stima indiretta della copertura. I risultati sono stati inoltre confrontati con immagini reali di colture agricole.

CAPITOLO V. Fertilità biologica del suolo nella coltivazione di piante aromatiche in due diversi ambienti: risorse e metabolismo

Riassunto

Nel presente studio si è valutato l'inserimento di specie aromatiche in un sistema suolo relativo a due ambienti differenti, non interessati da coltivazione e fertilizzazione da circa un decennio. Lo studio condotto sull'attività microbica e la fertilità del suolo ha osservato: l'attività potenziale in condizioni controllate (mesocosmo) del suolo con e senza fertilizzante, in assenza di pianta; gli effetti sul suolo in campo della coltivazione di piante aromatiche con e senza fertilizzazione dopo il primo ciclo produttivo (T1). La quantità di biomassa microbica del suolo rilevata nei prelievi di suolo effettuati in campo al tempo T1 ha dimostrato come la coltivazione di piante aromatiche può contrarne il contenuto, pur mantenendone l'attività fisiologica. Inoltre è stato osservato come la fertilizzazione (Organica, Organo-Minerale e Minerale) influisce sull'attività microbica e sugli indicatori della qualità del suolo nei due ambienti differenti (montano di Rieti e costiero di Tarquinia). La fertilizzazione Organica, in entrambi gli ambienti (significativamente in ambiente costiero), è stata la fertilizzazione che più di tutte, dopo il primo ciclo colturale, ha attenuato la contrazione del contenuto di biomassa microbica, riportando le consistenze maggiori rispetto ai contenuti riscontrati nelle altre fertilizzazioni. Inoltre, il trattamento organico ha preservato il metabolismo microbico a livello della rizosfera ottenendo i valori più bassi in termini di quoziente metabolico. I risultati di questo studio suggeriscono che, per l'effetto dell'inserimento di queste specie nel suolo, che la fertilizzazione organica influisce positivamente sugli indicatori del suolo, ma necessita di un monitoraggio nel lungo termine per poter studiare meglio sia il bilancio degli input/output relativi al ripristino e/o conservazione del TOC del suolo sottoposto a coltivazione con piante aromatiche.

1 Introduzione

La qualità del suolo è l'elemento portante della fertilità e dello sviluppo agricolo sostenibile. Come definito da Doran *et al.* (1994), la qualità del suolo è la capacità di interagire con l'ecosistema al fine di mantenere la produttività biologica, la qualità ambientale e garantire la salute animale e vegetale. I parametri biologici hanno assunto particolare importanza nella valutazione della qualità del suolo e della fertilità, anche in ambienti estremi dove gli organismi rispondono più rapidamente a fluttuazioni naturali e non. Infatti, i parametri biochimici mostrano una correlazione diretta con alcune variabili chimiche e fisiche e riflettono la diversità biologica nel tempo e nello spazio (Arshad e Martin, 2002),

soprattutto in ambienti contaminati e laddove le attività antropiche hanno creato forti squilibri all'interno delle comunità microbiche (Renzi e Benedetti, 2015).

La fertilità biologica di un qualsiasi suolo è strettamente correlata alla dimensione della comunità microbica e al pool di materia organica del suolo e dipende dalle sue condizioni ambientali e dalla gestione del suolo stesso (Basso *et al.*, 2000).

Quando si considera il legame tra qualità e gestione del suolo, è dimostrato che suoli meno disturbati possono avere una qualità maggiore e dotazioni più elevate di carbonio (TOC) (Parras-Alcántara *et al.*, 2015) mentre la messa a coltura di suoli antropogenici di ambienti aridi può favorire attività e dimensione del consorzio microbico del suolo (Camilli *et al.*, 2016).

Isermeyer (1952) sostiene che monitorare la respirazione microbica del suolo (SMR, C-CO₂) consente di studiare l'evoluzione della CO₂ prodotta dall'attività microbica. Il monitoraggio di un suolo avviene in condizioni standardizzate di laboratorio attraverso il rilevamento della SMR, della biomassa microbica (C_{mic}), del carbonio e del N_{Tot} e dell'azoto potenzialmente mineralizzabile (Kang *et al.*, 2005). Questi indici vengono, se considerati nell'insieme, sono utili alla valutazione dello stato di fertilità di un suolo e per valutare la sostenibilità ambientale di un intervento agronomico (Muscolo *et al.*, 2014; Muñoz-Rojas *et al.*, 2016; Renzi *et al.*, 2017).

L'obiettivo di questo studio è quello di valutare il grado di sostenibilità della coltivazione in campo di piante aromatiche, in particolare gli effetti sulla conservazione della SOM e della fertilità biologica del suolo in due diversi ambienti agrari all'interno del territorio della Regione Lazio, valutando parametri chimici, biochimici e l'indice di fertilità biologica (Pompili *et al.*, 2008; Renzi *et al.*, 2017) su parcelle di suolo sottoposte a differenti tecniche di fertilizzazione (organica, organo minerale, minerale). Inoltre si è voluto indagare sull'adattabilità di specie locali a diversi ambienti, ricavando indicazioni sulla sostenibilità della loro coltivazione in termini di fertilità biologica: a tale scopo, nel piano sperimentale sono state utilizzate anche due specie (*Mentha suaveolens* e *Foeniculum vulgare*) autoctone del territorio di uno dei due ambienti di studio considerati. Lo studio si è basato su due distinte prove di laboratorio: i) una in mesocosmi con aggiunta di fertilizzante in condizioni modello di laboratorio per lo studio della mineralizzazione potenziale in assenza di pianta (paragrafi 2.4 e 3.2), e ii) prove di incubazione in laboratorio di campioni di suolo prelevati prima e durante la coltivazione, per la determinazione della fertilità biologica del suolo (paragrafi 2.5, 3.1 e 3.3).

2 Materiali & Metodi

2.1 Area di studio

Ai fini della sperimentazione sono state individuate due aree situate nella Regione Lazio. Per la scelta della prova è stato usato il criterio di individuare una porzione omogenea, pianeggiante che non sia

stata interessata recentemente da produzioni agricole. Per la valutazione degli effetti in due ambienti differenti, sono stati scelti il sito dell'Agencia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio (ARSIAL), a Tarquinia (VT) per la prova in ambiente costiero, e il Centro Appenninico C. Jucci dell'Università degli Studi di Perugia (UNIPG), a Rieti (RT) per la prova in ambiente collinare (400 m.s.l.m.).

I 2 siti sono già stati dettagliatamente descritti nel Capitolo IV relativo ai Materiali e Metodi, Paragrafo 2.

2.2 Disegno sperimentale e campionamento del suolo

Il disegno sperimentale su cui è impostato il presente studio sulla fertilità biologica del suolo è stato descritto nel Capitolo IV Materiali e Metodi, Paragrafo 3. I metodi e le modalità di campionamento del suolo utile per lo studio degli indicatori della qualità del suolo prima della prova sperimentale (T0) e dopo il primo ciclo colturale (T1) sono stati descritti nel Capitolo IV relativo ai Materiali e Metodi, Paragrafi 3 e 4.

2.3 Analisi di laboratorio

I campioni di suolo sono stati essiccati all'aria a temperatura ambiente e le analisi condotte sulla frazione di terreno essiccato e setacciato a 2 mm (Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, 1999 - Metodi Ufficiali di Analisi Chimica, Volume 1124.2 Parti: I, VII XIV; Metodi Ufficiali di Analisi Biochimica del Suolo, Parti: I, II e III, 3 e 4, Franco Angeli Editore). Sono poi state determinate l'umidità residua in stufa a 105°C e la capacità di ritenzione idrica di campo a $pF=2.5$, secondo il metodo della piastra di Richards (Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, 2000 - Metodi Ufficiali di Analisi Fisica del Suolo, Volume 1124.1, Parte: VIII, Franco Angeli Editore).

L'azoto totale (N_{Tot}) è stato determinato mediante analizzatore elementare Nitrogen Analyzer FP628 LECO.

Il carbonio organico del suolo (TOC) è stato determinato mediante Carbon Analyzer RC612 LECO e la materia organica del suolo è stata calcolata con la formula $SOM = TOC \times 1,724$ applicando il coefficiente Van Bemmelen (Nelson e Sommers, 1982).

Il carbonio della biomassa microbica (C_{mic}), espresso in $mg\ C\ kg^{-1}$ di terreno, è stato determinato con il metodo di estrazione tramite fumigazione in cloroformio ($CHCl_3$) (Vance *et al.*, 1987), su terreni essiccati all'aria, preconditionati da un'incubazione di 10 giorni in barattoli di vetro aperti a capacità di campo ed alla temperatura di 30 °C, per ripristinare l'attività microbica del suolo. Ogni campione è stato replicato in sestupli, tre porzioni di 20gr di campione di terreno umido sono stati sottoposti ad una estrazione, priva di $CHCl_3$ (non fumigati), con 80 mL di $0,5\ mol\ L^{-1}\ K_2SO_4$ per 30

minuti oscillando con agitazione a 200 rp min^{-1} , seguita da filtrazione con Whatman n. 42. Il secondo gruppo di tre repliche è stato fumigato per 24 ore a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ con CHCl_3 . Successivamente, dopo rimozione del fumigante, il terreno è stato estratto in modo simile ai campioni di terreno non sottoposti a fumigazione. Il Carbonio organico della biomassa microbica (C_{mic}) degli estratti è stato determinato mediante analizzatore elementare TOC SHIMADZU. La differenza tra il carbonio dei campioni fumigati e non fumigati (E_c) rappresenta il C derivante dalla biomassa microbica vivente, secondo la formula $C_{mic} = 2,64 \times E_c$ (Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, Decreto 23 febbraio 2004 - Metodo Ufficiale n. I.1. Supplemento Ordinario G.U. n.61 del 13.03.2004).

Per misurare la respirazione microbica del suolo, prelevato a ciascuno dei tempi di campionamento T0 (stato iniziale prima della fertilizzazione e coltivazione) e T1 (a sei mesi dalla fertilizzazione e coltivazione alla fine della prima annata agraria), sono stati inseriti 25 g di campione in barattoli di vetro chiusi e incubati al buio a capacità di campo ed alla temperatura di $30 \text{ }^\circ\text{C}$ (Van de Werf e Verstraete, 1987).

La CO_2 evoluta è stata fissata su $0,5 \text{ N NaOH}$ dopo 1, 2, 4, 7, 10, 14, 17, 21, 28 giorni di incubazione e determinata dalla titolazione dell'eccesso di NaOH con $0,5 \text{ N}$ di HCl (Isermeyer H, 1952). Sono stati calcolati la respirazione basale (C_{bas}), come valore di respirazione all'ultimo giorno di incubazione in $\text{mg di C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ suolo d}^{-1}$, e la respirazione cumulata C_{cum} durante il periodo di incubazione, espressa in $\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ terreno}$. Il quoziente metabolico (q_{CO_2}) è la CO_2 oraria che si è prodotta per unità di biomassa microbica: esso esprime la relazione tra l'attività (respirazione basale) e il contenuto di carbonio del C_{mic} (Anderson e Domsch, 1993), ovvero la respirazione specifica per unità di biomassa microbica di carbonio e consente di valutare gli effetti dei disturbi esterni sul metabolismo microbico.

Il quoziente di mineralizzazione (q_M) è il rapporto tra il C_{cum} e TOC, ed è espresso in %. Il quoziente indica l'efficienza della microflora nel metabolizzare il TOC (Dommergues, 1960).

2.4 Prove di incubazione e respirazione (SMR) in mesocosmo con aggiunte di fertilizzante

Lo studio è stato impostato per evidenziare in laboratorio possibili differenze nell'attività metabolica dei microrganismi del suolo collegata all'aggiunta di fertilizzanti, imputabile alla diversa fertilità biologica dei suoli nei due siti, che si differenziano per caratteristiche pedologiche e condizioni climatiche.

L'indagine è stata condotta attraverso un approfondimento analitico su sistemi modello di laboratorio in assenza di pianta (mesocosmi) e successivo confronto con dati ottenuti su campioni di suolo prelevati in campo in corso di coltura.

Al fine di studiare l'attività microbica in condizioni di potenzialità ed in assenza dell'azione della pianta, sono state allestiti dei mesocosmi con l'aggiunta dei fertilizzanti, in cui è stata rilevata l'attività respirometrica di mineralizzazione per 28 giorni e calcolati i quozienti metabolico e di mineralizzazione, come già descritto nel paragrafo 2.3. Per il calcolo del quoziente di mineralizzazione è stato tenuto conto dell'aggiunta di carbonio organico con i fertilizzanti nelle tesi ORG e OM.

I mesocosmi sono stati preparati utilizzando i campioni compositi di suolo prelevati nei due siti al tempo T0, all'allestimento delle prove parcellari, prima della fertilizzazione e trapianto.

I fertilizzanti sono stati aggiunti rispettando le dosi reali distribuite in campo. Come già riportato in precedenza (Cap. IV, paragrafo 3), la dose di fertilizzante nella tesi Organo-minerale NP (3-11) è stata dimezzata in relazione alla particolare formulazione che garantisce una maggiore efficacia nutrizionale grazie al lento rilascio.

In base ai titoli e all'efficienza certificata dei prodotti, si è proceduto al calcolo delle dosi riportate in Tabella 1. Le altre condizioni sperimentali erano identiche a quanto già descritto.

Tabella 1. Tabella riassuntiva dei fertilizzanti usati in campo, dosi distribuite in campo, titolo del fertilizzante e dose inserita nel campione di suolo nel mesocosmo.

	Minerale	OM	Organico
Dose di N (unità) distribuita in campo	165	90	187
Campione suolo per respirazione in mesocosmo (g)	25	25	25
Titolo N del fertilizzante distribuito	11	3	5
mg di N contenuto nel bulk da 100 gr di suolo	4,125	2,25	4,675
mg di fertilizzante inserito nel bulk da 100 gr di suolo	37,5	75	93,5

N.B.: Nel protocollo di laboratorio le aggiunte si calcolano considerando convenzionalmente il peso di 1 Ha pari a 4.000 ton (Tombesi L., 1977), perciò 4,125 mg sono l'aggiunta per la preparazione del bulk da 100 g di suolo, successivamente si ricavano le tre aliquote da 25 g ciascuna per la respirazione.

2.5 Indice di fertilità biologica

L'indice di fertilità biologica (IBF) è un indicatore sintetico (Pompili L. *et al.*, 2008) che tiene conto delle seguenti variabili: SOM, Cbas, Ccum, Cmic, qCO₂ e qM. Esso è composto da una scala di valutazione costituita da 5 intervalli per ciascuna variabile (SOM, Cbas, Ccum, Cmic, qCO₂ e qM) cui sono stati assegnati punteggi crescenti da 1 a 5. Ogni intervallo (Tabella 2) è stato individuato in base alle evidenze dedotte da studi precedenti disponibili in letteratura (Vance *et al.*, 1987; Brookes,

1995; Oberholzer e Höper, 2000; Bloem *et al.*, 2006). La somma algebrica dei punteggi fornisce, per ogni parametro, le classi proposte di fertilità biologica (Tabella 3).

Tabella 2. Punteggi assegnati a differenti intervalli di valori dei parametri (da Pompili e Benedetti, 2008).

Parametri	Punteggio				
	1	2	3	4	5
SOM	<1	1 – 1,5	1,5 – 2	2 – 3	>3
Respirazione basale	<5	5 – 10	10 – 15	15 – 20	>20
Respirazione cumulativa	<100	100 – 250	250 – 400	400 – 600	>600
Biomassa microbica	<100	100 – 200	200 – 300	300 – 400	>400
Quoziente metabolico	>0,4	0,3 – 0,4	0,2 – 0,3	0,1 – 0,2	<0,1
Quoziente di mineralizzazione	<1	1 – 2	2 – 3	3 – 4	>4

Tabella 3. Scala di classi in funzione dell'indice di fertilità biologica (IBF) (da Pompili e Benedetti *et al.*, 2008).

Classe di Fertilità	I	II	III	IV	V
	Stanchezza - allarme	Stress - preallarme	Media	Buona	Alta
Punteggio	0 - 6	7 - 12	13 - 18	19 - 24	25 - 30

2.6 Analisi Statistica

I parametri biochimici ad ogni tempo di osservazione sono stati sottoposti ad analisi univariata della varianza secondo il modello lineare generalizzato (GLM) a misure ripetute per il controllo dell'eventuale dipendenza spaziale dei dati. La separazione delle medie è stata effettuata secondo il test post hoc LSD di Fisher, laddove è stata verificata la significatività dei trattamenti ($p < 0,05$). L'analisi statistica è stata condotta con il software Statistica 8.0 Statsoft, Tulsa, USA.

3. Risultati e Discussione

3.1 Parametri biochimici del suolo al tempo T0.

I due siti si differenziano per condizioni climatiche e tipo di suolo, hanno una diversa dotazione di TOC di partenza e di dimensione della frazione microbica (Tab. 4). Il sito di Tarquinia, con valori di TOC 9,348 (g kg⁻¹) corrispondente ad un valore di SOM di 1,63 %, presenta una dotazione organica

medio bassa, diffusa in suoli agrari italiani specie in area costiera (Atlas, 2006 pp. 41-62 Gli indicatori chimici di qualità del suolo); il valore di Cmic 154,20 (mg kg⁻¹) è nella norma essendo il rapporto Cmic/TOC= 0,0165, ovvero la frazione microbica è 1,65% del TOC, con valori ritenuti normali nel range 1-3%, (Nannipieri *et al.*, 1990); infine il rapporto C/N 10,28 indica una buona disponibilità di azoto. Il sito di Rieti, con valori di TOC 19,621 (g kg⁻¹), si presenta ben dotato in SOM (3,42%) ma con una quota di carbonio microbico Cmic 228,234 (mg kg⁻¹) proporzionalmente inferiore rispetto al contenuto di SOM, seppure il rapporto Cmic/TOC= 0,01163 (ovvero frazione microbica 1,16% del TOC) sia nell'intervallo di normalità con C/N 12,51.

Per quanto riguarda l'attività microbica funzionale, i valori di respirazione sia basale che cumulativa allo stato iniziale T0 sono più elevati nel suolo di Rieti che di Tarquinia, come riportato nella tabella 4 relativa ai valori IBF iniziali (T0), coerentemente con la diversa attività microbiologica e dotazione organica di partenza (Melero *et al.*, 2006). L'insieme di tali dati costituisce la base di partenza per il confronto con i parametri biochimici rilevati sui campioni di suolo prelevati successivamente al tempo T1 (par. 3.3).

Tabella 4. Risultati dell'analisi statistica descrittiva dei siti di Rieti e di Tarquinia al tempo T0 prima che venissero effettuate fertilizzazione e trapianto delle colture aromatiche. SOM (Sostanza Organica del Suolo, %); TOC (Carbonio Organico Totale, %); N_{Tot} (Azoto Totale, %); C_{bas} (Respirazione Microbica Basale, mg C-CO₂ Kg⁻¹d⁻¹); C_{cum} (Respirazione microbica Cumulativa, mg C-CO₂ Kg⁻¹); C_{micr} (Carbonio Microbico, mg C Kg⁻¹); qCO₂ (Quoziente metabolico, mg C-CO₂ 10⁻² h⁻¹ mg Cmic⁻¹); qM (Quoziente di Mineralizzazione, %); IBF (Indice di Fertilità Biologica).

T0 Rieti	SOM	TOC	N_{Tot}	C_{bas}	C_{cum}	C_{micr}	qCO₂	qM	IBF
Conteggio	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Media	3,418	1,962	1,55	12,393	370,605	228,234	0,224	1,902	19,167
Deviazione standard	0,045	0,022	0,16	1,245	8,786	6,963	0,024	0,041	0,389
Minimo	3,338	1,916	1,39	10,278	357,730	212,693	0,183	1,830	19
Massimo	3,473	1,994	1,73	13,892	383,620	235,652	0,257	1,977	20
Livello di confidenza (95%)	0,029	0,012	0,006	0,663	4,682	4,424	0,015	0,026	0,247

T0 Tarquinia	SOM	TOC	N_{Tot}	C_{bas}	C_{cum}	C_{micr}	qCO₂	qM	IBF
Conteggio	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Media	1,628	0,935	0,91	6,561	195,854	154,203	0,178	2,115	15,830
Deviazione standard	0,044	0,022	0,12	0,109	5,989	6,823	0,008	0,104	0,389
Minimo	1,551	0,891	0,71	6,346	188,490	144,642	0,168	1,953	15
Massimo	1,694	0,973	1,05	6,752	204,411	164,178	0,193	2,273	16
Livello di confidenza (95%)	0,028	0,012	0,007	0,058	3,191	4,335	0,005	0,066	0,246

$SOM=TOC \times 1,724$; $qCO_2=(C_{bas}/C_{micr})/24 \times 100$; $qM=C_{cum}/TOC/100$.

3.2 Prove di incubazione e respirazione in mesocosmo con aggiunte di fertilizzante.

La prova di respirazione in mesocosmo, in presenza di fertilizzante in dosi corrispondenti a quelle applicate in campo, aveva lo scopo di verificare l'attività fisiologica potenziale dei microrganismi del suolo in assenza di pianta. L'aggiunta di fertilizzante ha indotto come atteso una attivazione della popolazione microbica, con aumento dell'attività respirometrica, più spiccata nel caso dei due fertilizzanti organici (Figura 1 e Figura 2). In entrambi i suoli, infatti, si è registrata la maggiore emissione di CO₂ con il fertilizzante organico, seguito dall'organo minerale e dal minerale (nell'ordine), rispetto al controllo non fertilizzato, con differenze nell'entità della respirazione cumulativa nei due suoli (Tabella 5a). Infatti, gli incrementi di respirazione cumulativa nelle tesi fertilizzate rispetto ai controlli sono: nel suolo di Tarquinia di 2,98 volte per la tesi con aggiunta di Org e 1,49 volte per la tesi con aggiunta di Min, mentre nel suolo di Rieti di 1,76 volte per la tesi con aggiunta di Org e di 1,18 volte per la tesi con aggiunta di Min.

La normalizzazione dei dati, considerando che nelle tesi ORG e O-M con la fertilizzazione è stato introdotto carbonio organico in diversa quantità, ha consentito di stimare la mineralizzazione del carbonio a 28 giorni (parametrata sul contenuto di C organico), che è risultata più elevata nelle prove con il suolo di Tarquinia che di Rieti (qM dei suoli a confronto dei siti Rieti e Tarquinia, in Tabella 5b). Considerate le caratteristiche tessiturali del suolo di Tarquinia (Franco-Argilloso vs Franco-Limoso-Argilloso in Rieti, Capitolo IV, Paragrafo 2, pp. 41-42) e la minore dotazione di sostanza organica, la condizione di umidità costante a valori corrispondenti alla capacità di campo, realizzata nelle prove in mesocosmo, ha favorito maggiormente l'attività microbica aerobica, confermata dai valori più elevati del quoziente di mineralizzazione (normalizzato sul C) in tutte le tesi, rispetto alle prove sul suolo di Rieti.

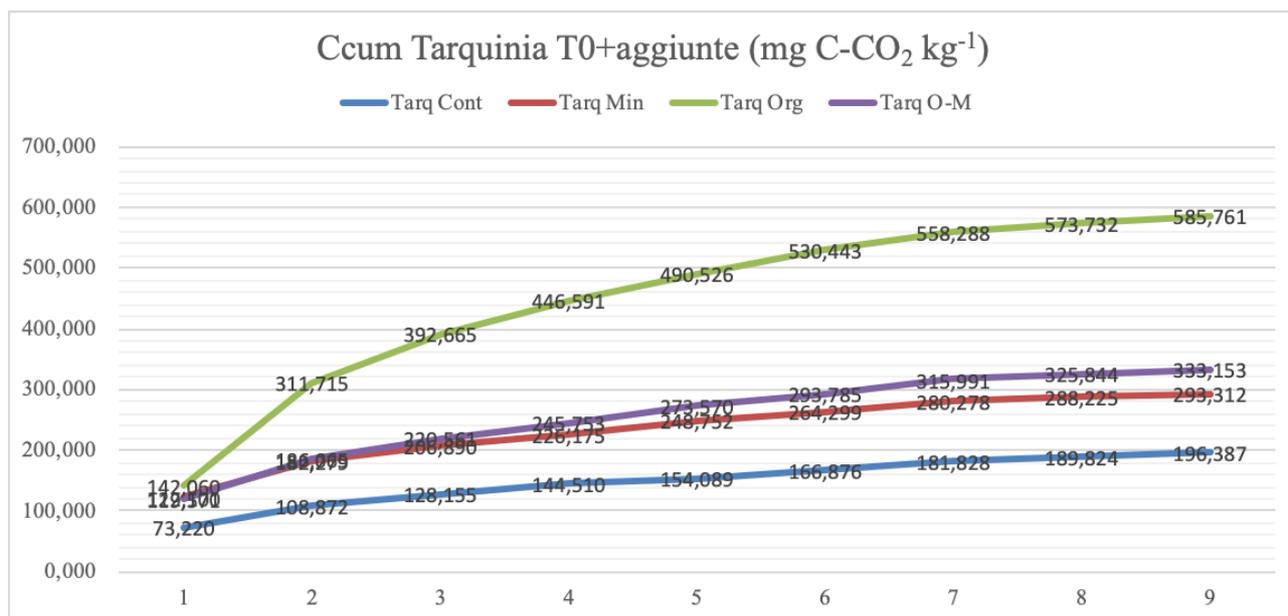


Figura 1. Curve di respirazione cumulativa ottenute in 28 giorni in condizioni controllate di umidità e temperatura: suolo di Tarquinia T0 addizionato di fertilizzanti (valori di respirazione espressi come mg C-CO₂ kg⁻¹ suolo).

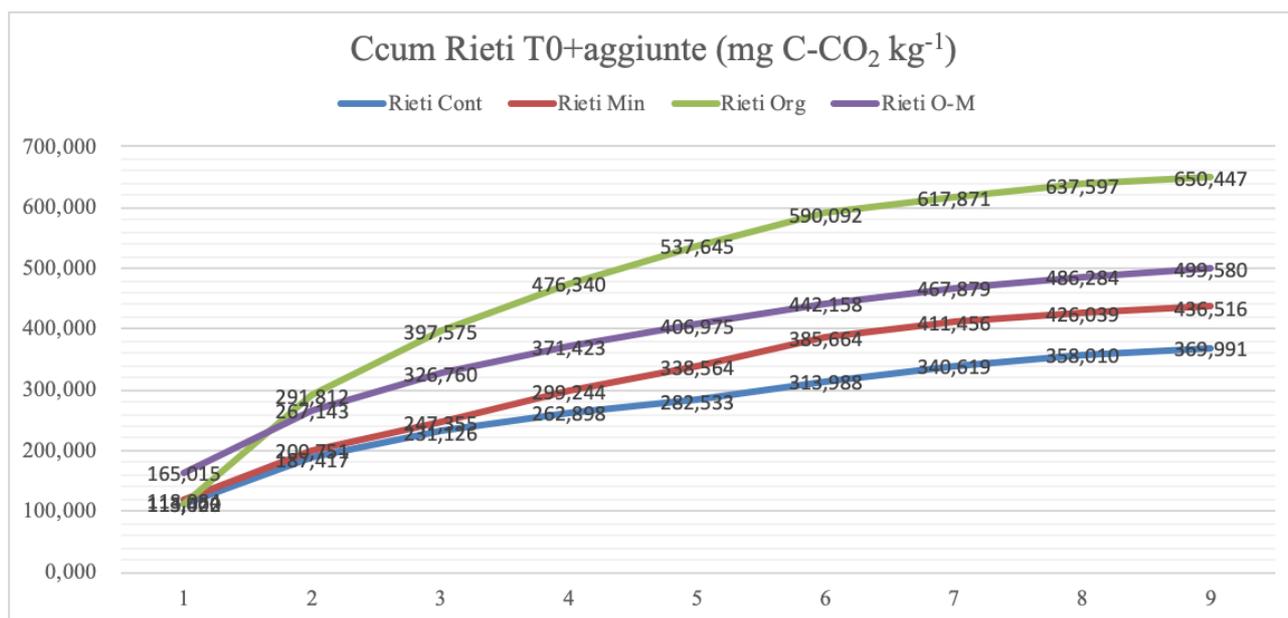


Figura 2. Curve di respirazione cumulativa ottenute in 28 giorni in condizioni controllate di umidità e temperatura: suolo di Rieti T0 addizionato di fertilizzanti (valori di respirazione espressi come mg C-CO₂ kg⁻¹ suolo).

Osservando l'attività microbica del suolo addizionato con fertilizzante T0+aggiunte (Tab. 5a) si notano aumenti significativi di Ccum e qM rispetto alla tesi non fertilizzata. Infatti, la fertilizzazione azotata causa l'aumento dell'attività metabolica e della mineralizzazione (Dick e Gupta, 1994), che nel suolo di Rieti ha comportato un aumento del quoziente di mineralizzazione da 1,89% del controllo al 3,3% delle tesi Org, con valori intermedi ma statisticamente significativi per le altre tesi. Nel suolo

di Tarquinia tale effetto è stato più accentuato, con un aumento del q_M di circa tre volte nella tesi Org rispetto al controllo. Inoltre, nelle prove in mesocosmi T0+aggiunte di Tarquinia è stato rilevato un effetto dell'aggiunta del fertilizzante anche sul metabolismo microbico, con un aumento significativo della respirazione basale nelle tesi ORG e del quoziente metabolico nelle tesi Organica e Organo-Minerale, in cui i valori di q_{CO_2} aumentano da 0,178 ($mg\ C-CO_2\ 10^{-2}\ h^{-1}\ mg\ C_{mic}^{-1}$) del controllo a 0,323 e 0,207 ($mg\ C-CO_2\ 10^{-2}\ h^{-1}\ mg\ C_{mic}^{-1}$) rispettivamente dell'Organico e Organo-Minerale, risultato riscontrato in precedenti prove in campo (Mancinelli *et al.*, 2010). Al contrario, nella tesi Minerale si è osservata una diminuzione del quoziente metabolico ($0,133\ mg\ C-CO_2\ 10^{-2}\ h^{-1}\ mg\ C_{mic}^{-1}$), determinata dalla somministrazione di azoto in forma ammoniacale e ureica in fertilizzazione, similmente a quanto riscontrato in studi simili eseguiti in campo somministrando nitrato di ammonio (Kowalenko *et al.*, 1978; Wilsonand e Al-Kaisi, 2008; Mancinelli *et al.*, 2010).

Tabella 5a. Risultati delle prove in mesocosmo con il suolo al tempo T0 ed aggiunte dei fertilizzanti in condizioni di laboratorio per stimare l'attività microbica potenziale in assenza di pianta. SOM (Sostanza Organica del Suolo, %); TOC (Carbonio Organico Totale, %); Cbas (Respirazione Microbica Basale, mg C-CO₂ Kg⁻¹d⁻¹); Ccum (Respirazione microbica Cumulativa, mg C-CO₂ Kg⁻¹); Cmicr (Carbonio Microbico, mg C Kg⁻¹); qCO₂ (Quoziente metabolico, mg C-CO₂ 10⁻² h⁻¹ mg Cmic⁻¹); qM (Quoziente di Mineralizzazione, %). Le lettere in ogni colonna indicano differenze significative (p 0,05) tra i trattamenti (test post hoc LSD di Fisher), Deviazione Standard dei valori e gli asterischi indicano la significatività.

Suolo di Rieti T0 con aggiunte

TRATTAMENTO	SOM	TOC	Cbas	Ccum*	Cmic	qCO ₂	qM*
CTRL	3,405±0,062	1,955±0,036	11,980±1,961	369,991±16,518 d	230,661±5,150	0,217±0,036	1,894±0,0118 d
MIN	3,430±0,032	1,969±0,018	10,476±0,594	436,516±6,506 c	231,486±4,973	0,189±0,015	2,217±0,054 c
ORG	3,412±0,060	1,959±0,034	12,580±0,115	650,447±8,378 a	223,404±10,475	0,240±0,013	3,322±0,096 a
O-M	3,425±0,045	1,966±0,026	13,296±1,876	499,580±4,109 b	227,384±6,703	0,244±0,032	2,541±0,043 b

Suolo di Tarquinia T0 con aggiunte

TRATTAMENTO	SOM	TOC	Cbas*	Ccum*	Cmic	qCO ₂ *	qM*
CTRL	1,635 ±0,031	0,938±0,018	6,563±0,230 bc	196,387±8,128 d	154,142±8,867	0,178±0,010 bc	2,093±0,086 d
MIN	1,625±0,064	0,933±0,037	5,087±0,801 c	293,312±4,497 c	160,089±4,251	0,133±0,023 c	3,147±0,095 c
ORG	1,647±0,036	0,945±0,021	12,029±1,968 a	585,761±15,843 a	154,945±5,463	0,323±0,041 a	6,200±0,267 a
O-M	1,607±0,055	0,923±0,031	7,309±0,846 b	333,153±18,931 b	147,638±3,473	0,207±0,028 b	3,617±0,303 b

* p < 0,05

N.B. al tempo "T0 con aggiunte" sono stati usati i campioni di suolo ricadente nella parcella che è stata destinata alla fertilizzazione. In mesocosmo il campione di suolo è stato accuratamente arricchito della dose proporzionata a quella distribuita in campo

Segue il confronto tra i qM dei suoli di Rieti e Tarquinia T0 con aggiunte alla pagina successiva.

Tabella 5b. Risultati a confronto dei quozienti di mineralizzazione (qM, %) dei due siti. Le lettere in ogni colonna indicano differenze significative tra i valori dei due siti con lo stesso trattamento (test post hoc LSD di Fisher), Deviazione Standard dei valori e gli asterischi indicano la significatività.

qM a confronto dei suoli di Rieti e Tarquinia T0 con aggiunte		
TRATTAMENTO	Rieti	Tarquinia
CTRL	1,894±0,0118	2,093±0,086
MIN***	2,217±0,054 b	3,147±0,095 a
ORG***	3,322±0,096 b	6,200±0,267 a
O-M**	2,541±0,043 b	3,617±0,303 a

** p < 0,01; *** p < 0,001.

N.B. al tempo "T0 con aggiunte" sono stati usati i campioni di suolo ricadente nella parcella che è stata destinata alla fertilizzazione. In mesocosmo il campione di suolo è stato accuratamente arricchito della dose proporzionata a quella distribuita in campo

3.3 Parametri biochimici del suolo al tempo T1 vs T0

Per calcolare l'indice di fertilità biologica IBF, si sono utilizzati i valori di SOM, TOC, Respirazione basale (C_{bas}), Respirazione cumulativa (C_{cum}), quoziente metabolico (qCO₂), quoziente di mineralizzazione (qM) determinati nei 2 diversi siti, al fine di valutare la sostenibilità della coltivazione delle specie aromatiche, quindi, prima e dopo la fertilizzazione e il trapianto.

Precedenti convalide dell'indicatore sono state effettuate in Italia, in diversi siti con inquinamento da metalli pesanti e composti organici e l'indicatore IBF ha consentito di discriminare lo stato di fertilità biologica del suolo rispetto ai suoli non inquinati (Renzi e Benedetti, 2015). Un recente studio ha utilizzato diverse combinazioni delle 6 variabili biochimiche che sono state valutate su 1079 campioni di suolo raccolti in Italia, confermando la sua adeguatezza come indicatore multidimensionale per discriminare la fertilità biologica del suolo (Renzi *et al.*, 2017).

I risultati ottenuti ci permettono di valutare il primo livello di biodiversità fondato sulla caratterizzazione di base del suolo in termini chimici e biologici. In questo modo è possibile definire la fertilità biologica del suolo come parametro routinario, veloce e sintetico sviluppando un indice di fertilità biologica, direttamente correlato con il grado di biodiversità e sostenibilità del suolo. I risultati delle analisi dei dati al tempo T1 sono riportati nella tabella 6 e sono confrontabili con i risultati delle analisi al tempo T0 in tabella 4.

Come si può osservare dai dati ottenuti, il valore di fertilità biologica al tempo T1 si sviluppa in modo diversificato nelle diverse zone di campionamento, soprattutto in considerazione dei livelli di SOM del suolo, presenti prima e dopo apporto di fertilizzazione, in rapporto ad una concentrazione variabile della biomassa microbica presente. Per seguire l'attività metabolica dei microorganismi è stato determinato il carbonio della biomassa microbica del suolo e le relative attività respirometriche espresse dai microorganismi presenti nel pool di carbonio disponibile.

L'utilizzo dell'IBF ha permesso di evidenziare l'effetto nel tempo (T1 vs. T0) delle fertilizzazioni sul livello di fertilità media dei suoli. Infatti, da un primo confronto temporale si nota come l'IBF del suolo controllo non fertilizzato del sito di Rieti segna un valore al T0 di 19 contro un T1 di 14, mentre nel sito di Tarquinia non si osserva alcuna variazione conservando un valore invariato di 16 sia al T0 che al T1. Al T1, la parcella trattata con fertilizzante organico, sia nel sito di Rieti (IBF-Org= 20) che nel sito di Tarquinia (IBF-Org= 19), ha evidenziato un livello di fertilità buono.

Osservando l'attività microbica al tempo T1 (Tab. 6), ovvero alla fine del primo ciclo colturale, si sono osservati, seppur non significativi, valori di qCO₂ più bassi per le tesi Organiche di entrambi i siti, come verificato anche in lavori simili condotti in ambiente mediterraneo per coltivazioni di specie colturali diverse da quelle aromatiche (Mancinelli *et al.*, 2010; Vavala *et al.*, 2015). In definitiva, seppur non sia significativa la diminuzione della qCO₂ nelle tesi Organiche di entrambi i siti, i valori di biomassa

microbica al T1 (Tab. 6) presentano valori maggiori (Rieti 115,14 mg C kg⁻¹; Tarquinia 53,45 mg C kg⁻¹) rispetto alle altre tesi e soprattutto rispetto al controllo non fertilizzato, ove agisce solo l'effetto della pianta sul suolo, indicando un minor stress della biomassa microbica del suolo.

Un dato importante è la diminuzione consistente di biomassa microbica che si osserva tra il valore iniziale al T0 (Tab. 4) e al T1 (Tab. 6): in assenza di fertilizzazione il suolo di Rieti presentava un contenuto in Cmic di 228,23 mg C kg⁻¹ (T0) vs. 66,20 mg C kg⁻¹ (T1) e quello di Tarquinia di 154,20 mg C Kg⁻¹ vs. 24,76 mg C Kg⁻¹ (T1), ciò è ascrivibile ad un'azione antimicrobica a livello radicale delle piante aromatiche che esercita un effetto allelopatico su batteri e funghi terricoli (Ushiki J. *et al.*, 1996; Melero S. *et al.*, 2006). Questa contrazione del contenuto di biomassa microbica nel periodo di osservazione T1 è osservabile in tutti i trattamenti nei due siti. Mentre nel sito di Rieti il contenuto di biomassa microbica (T1) non presenta differenze significative tra i trattamenti, nel sito di Tarquinia sono state osservate differenze significative, in particolare le fertilizzazioni Organica e Organo-Minerale hanno presentato valori maggiori rispetto alla fertilizzazione minerale e il controllo.

Tale risultato suggerisce che nel suolo di Tarquinia, a minore fertilità biologica e contenuto di carbonio organico, l'attivazione microbica esercitata dalla fertilizzazione organica ed organo-minerale bilanci maggiormente l'impatto depressivo delle piante aromatiche sulla dimensione del pool microbico del suolo. Tale aspetto verrà trattato nel prossimo paragrafo, relativamente alle tesi senza fertilizzante.

Tabella 6. Risultati dei suoli dei siti di Rieti e Tarquinia al tempo T1. SOM (Sostanza Organica del Suolo, %); TOC (Carbonio Organico Totale, %); Cbas (Respirazione Microbica Basale, mg C-CO₂ Kg⁻¹d⁻¹); Ccum (Respirazione microbica Cumulativa, mg C-CO₂ Kg⁻¹); Cmic (Carbonio Microbico, mg C Kg⁻¹); qCO₂ (Quoziente metabolico, mg C-CO₂ 10⁻² h⁻¹ mg Cmic⁻¹); qM (Quoziente di Mineralizzazione, %); IBF (Indice di Fertilità Biologica). Le lettere in ogni colonna indicano differenze significative (p 0,05) tra i trattamenti (test post hoc LSD di Fisher) e gli asterischi indicano la significatività.

Sito Rieti T1

TRATTAMENTO	SOM*	TOC*	Cbas*	Ccum*	Cmic	qCO ₂	qM*	IBF
CTRL	3,244±0,055 c	1,862±0,031 c	10,517±0,733 b	234,584±2,207 c	66,195±9,889	0,670±0,097	1,26±0,033 c	14
MIN	3,371±0,033 b	1,935±0,019 b	12,996±0,049 a	697,943±3,776 b	110,807±38,230	0,489±0,153	3,607±0,031 a	20
ORG	3,764±0,050 a	2,161±0,029 a	12,581±0,266 a	741,899±12,752 a	115,140±31,973	0,455±0,111	3,433±0,039 b	20
O-M	3,807±0,101 a	2,186±0,058 a	13,636±1,228 a	742,369±17,403 a	89,221±11,842	0,637±0,147	3,398±0,100 b	19

Sito Tarquinia T1

TRATTAMENTO	SOM*	TOC*	Cbas*	Ccum*	Cmic*	qCO ₂	qM	IBF
CTRL	1,905±0,025 b	1,093±0,014 b	9,870±0,467 d	565,468±28,207 bc	24,758±2,241 c	1,667±0,110	5,170±0,207	16
MIN	2,102±0,060 a	1,207±0,035 a	13,410±0,30 b	591,610±9,805 b	31,124±12,704 bc	1,795±0,847	4,906±0,201	18
ORG	2,127±0,038 a	1,221±0,022 a	12,527±0,351 c	631,899±17,538 a	53,448±9,919 a	0,977±0,172	5,175±0,142	19
O-M	1,928±0,067 b	1,107±0,038 b	15,822±0,244 a	539,036±22,588 c	46,826±10,340 ab	1,408±0,282	4,870±0,038	18

* p < 0,05

3.4 Effetto delle colture aromatiche sul suolo in assenza di fertilizzazione – Il trattamento Controllo (CTRL)

Dall'insieme dei dati biochimici ottenuti sui campioni di suolo T1 è stato possibile estrapolare quelli relativi al controllo non fertilizzato per valutare l'effetto della pianta in assenza di fertilizzazione, attraverso la variazione dei parametri di: Cbas, Ccum, Cmic e TOC avvenuta nei primi sei mesi di coltivazione.

Come atteso, sulla base delle differenze già riscontrate tra le risorse biologiche dei due suoli, le risposte sono state differenti. Nel suolo di Tarquinia l'inserimento delle specie aromatiche ha dimostrato di stimolare l'attività microbica (Cbas e Ccum) pur riducendo la dimensione del *pool* microbico (Cmic); un transiente incremento del TOC sembra indicare che l'aumento della mineralizzazione sia stato bilanciato dagli input organici a livello radicale (Figura 3).

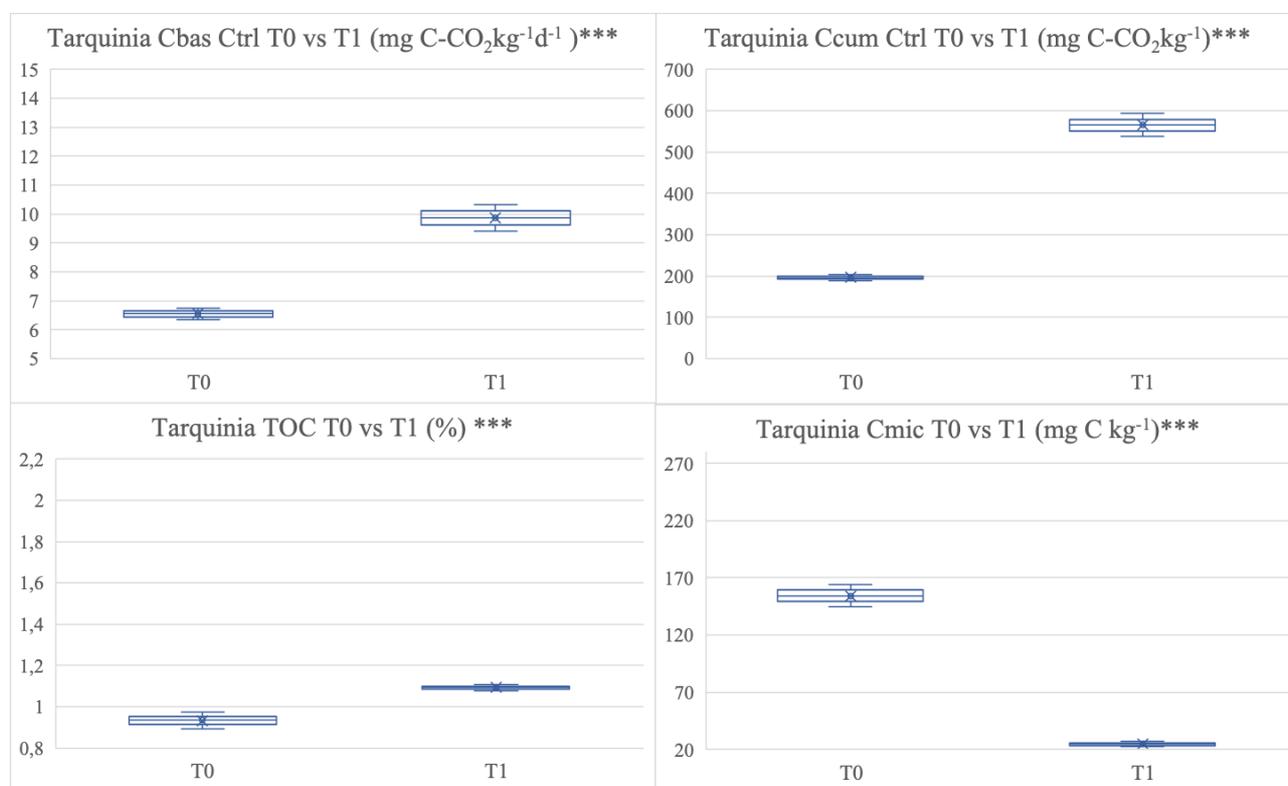


Figura 3. Parcelle di controllo in campo, non fertilizzate, Tarquinia. Grafici Box-plot di confronto T0 vs. T1 dei parametri relativi all'attività microbica del suolo di Tarquinia: respirazione cumulativa (Ccum in mg C-CO₂ kg⁻¹), respirazione basale (Cbas in mg C-CO₂ kg⁻¹d⁻¹), biomassa microbica (Cmic mg C kg⁻¹) e TOC (%), gli asterischi indicano la significatività ***p < 0,001.

Nel suolo di Rieti l'inserimento delle specie aromatiche ha indotto una riduzione sia dell'attività microbica che del pool microbico, come si evince dal confronto T0-T1 dei valori di Ccum e di Cmic; un leggero (ma significativo) decremento del TOC indica che la mineralizzazione non è stata bilanciata dagli input organici a livello radicale (Figura 4). La diversa risposta dei due suoli all'introduzione della coltivazione di piante aromatiche fa ipotizzare che, anche in assenza di fertilizzazione, il suolo di Tarquinia (meno dotato dal punto di vista della fertilità biologica) nel breve termine (tempo T1) tragga vantaggio dall'azione di stimolazione dell'attività microbica, mentre nel sito di Rieti, più ricco in sostanza organica, prevalgano effetti di feedback pianta-suolo attraverso molecole bioattive immesse nel comparto suolo esplorato dall'apparato radicale (Hu *et al.*, 2018; Klironomos, 2002, Pascale *et al.*, 2020). In studi simili condotti in pieno campo in ambiente mediterraneo (Regione Lazio), in rotazione colturale caratterizzata da frumento-girasole-riposo rotazionale-trifoglio (specie differenti dalle specie aromatiche oggetto del presente studio), non sono stati osservati incrementi significativi del contenuto di TOC durante il periodo di monitoraggio (settembre 2000-novembre 2001), diversamente da quanto osservato negli indicatori di qualità del suolo (Cmic, qCO₂) ove la gestione biologica ha ottenuto contenuti di biomassa microbica maggiore e di attività microbica inferiore rispetto la gestione convenzionale (Marinari *et al.*, 2006). Nel presente studio si è valutato l'inserimento (T0-T1) di specie aromatiche con le relative fertilizzazioni nel sistema suolo e, diversamente da quanto osservato da Marinari *et al.*, 2006, sono stati osservati effetti differenti nei due ambienti sul contenuto di TOC. Ciò potrebbe essere posto in relazione con l'attività antimicrobica delle specie aromatiche (Insam & Haselwander, 1989; Ushiki *et al.*, 1996; Juteau *et al.*, 2003; Baser *et al.*, 2002; Vavala *et al.*, 2015; Ilic, *et al.*, 2019) sui batteri e funghi terricoli dei due diversi suoli monitorati nel presente studio. Gli effetti a lungo termine dell'introduzione della coltivazione in campo di piante aromatiche necessitano ulteriori approfondimenti.

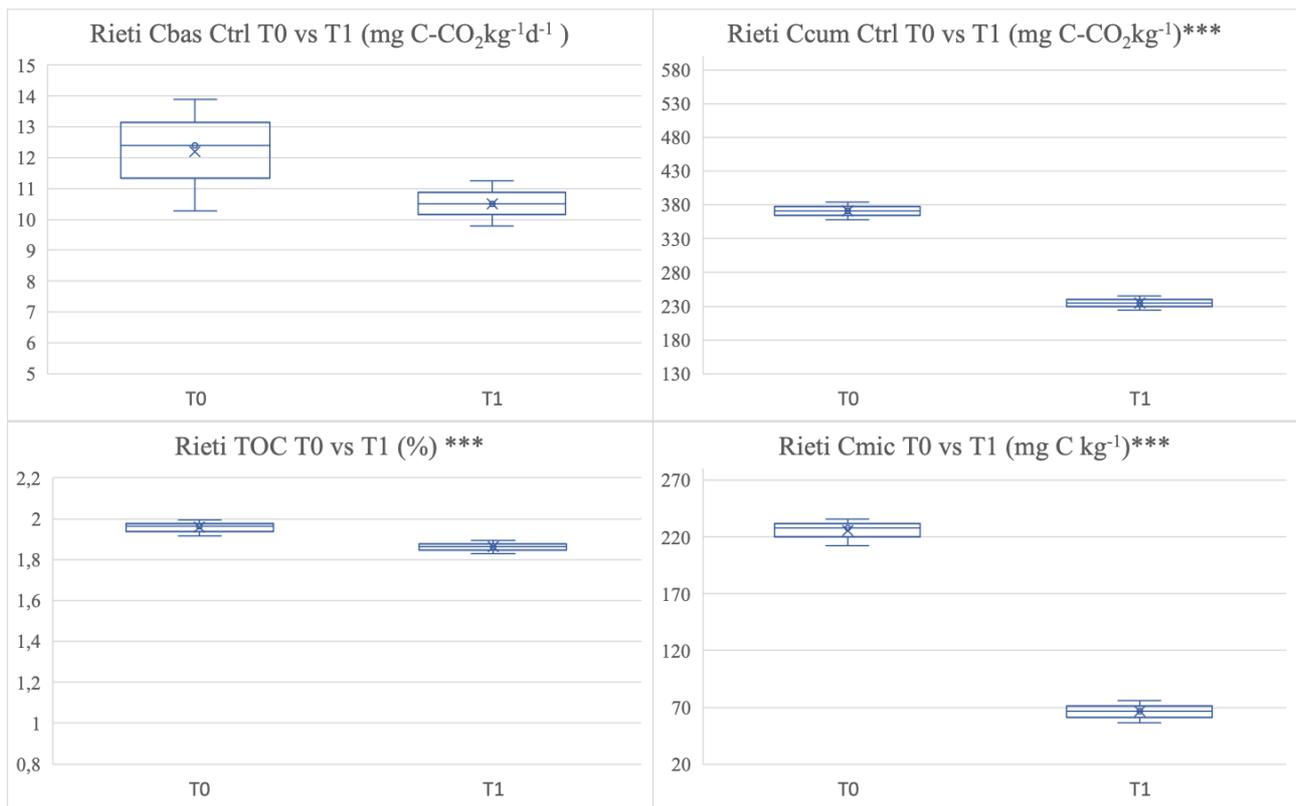


Figura 4. Parcelle di controllo in campo, non fertilizzate, Rieti. Grafici Box-plot di confronto T0 vs. T1 dei parametri relativi all'attività microbica del suolo di Rieti: respirazione cumulativa (Ccum in mg C-CO₂ Kg⁻¹), respirazione basale (Cbas in mg C-CO₂ Kg⁻¹d⁻¹), biomassa microbica (Cmic mg C Kg⁻¹) e TOC (%), gli asterischi indicano la significatività ***p < 0,001.

4. Conclusioni

Nel presente lavoro sono stati considerati molteplici fattori al fine di caratterizzare la SOM del suolo e di valutare gli effetti sulla biomassa microbica e relativa attività a seguito dell'introduzione delle colture di piante aromatiche.

Lo studio del TOC, del suo *pool* microbico e dei parametri di attività microbica ha permesso di trarre indicazioni sull'effetto della gestione del suolo agrario con colture aromatiche e degli aspetti legati alla vita microbica in ambienti gestiti con differenti dotazioni iniziali di SOM in differenti condizioni pedologiche. In entrambi i siti la presenza di piante aromatiche ha indotto nella rizosfera una riduzione della dimensione del *pool* microbico, in possibile relazione con l'effetto allelopatico dell'attività antimicrobica promossa dai composti contenuti nei tessuti delle specie aromatiche, aspetto che merita ulteriori approfondimenti. Tuttavia, gli effetti sono stati differenziati nei due siti. Nel suolo a minore fertilità biologica iniziale (Tarquinia), l'introduzione delle piante aromatiche e la relativa fertilizzazione hanno stimolato l'attività microbica, evidenziando una maggiore mineralizzazione della sostanza organica del suolo nel breve termine. Di contro, nel suolo a maggiore fertilità biologica iniziale (Rieti), con una maggiore dotazione in SOM, tale stimolazione ha indotto un maggior depauperamento delle risorse organiche. In entrambi i casi, per la sostenibilità del sistema suolo è necessaria una fertilizzazione specifica in base al sito e alle colture considerate.

Quindi, alla luce di quanto rilevato in esperimenti simili, i risultati ottenuti nel presente lavoro confermano come sia determinante una gestione sostenibile del suolo nel garantire un mantenimento del livello di fertilità biologica, nonché la necessità di adottare un piano di fertilizzazione razionale, favorendo l'utilizzo di prodotti organici che provvedono nel tempo ad evitare il degrado della SOM di partenza, consentendo una maggiore resilienza sia nei confronti della SOM che nei riguardi dei parametri biochimici coinvolti nel metabolismo del consorzio microbico. Tuttavia, la diminuzione della biomassa microbica dei due suoli coltivati con specie aromatiche con relativa fertilizzazione, appartenenti ad ambienti differenti, suggerisce la necessità ulteriori indagini, sia al T2 sia negli anni successivi, considerato che si tratta di specie aromatiche poliennali. Ciò per comprendere meglio, sul lungo periodo, il ripristino o la dinamica dell'equilibrio microbico che si andrebbe a stabilire nel suolo inserendo queste specie in un sistema colturale.

CAPITOLO VI. Sostanza organica del suolo e piante officinali: effetti della coltivazione biennale sui contenuti di carbonio organico totale e azoto totale

Riassunto

Il contenuto della SOM di un suolo è una delle componenti più importanti per definire la fertilità globale di un terreno e, di conseguenza, il suo stato di “salute”. Un terreno fertile aumenta la produttività, in termini di capacità del suolo di aumentare la resa delle coltivazioni, la qualità ambientale e la salute degli organismi viventi (delle piante, degli animali e dell’uomo).

Le piante aromatiche sono da sempre oggetto di studio, principalmente per il prezioso contenuto dei loro oli essenziali. La maggior parte delle specie aromatiche sono spontanee poliennali, prediligono l’ambiente del bacino Mediterraneo e destano l’interesse delle realtà aziendali per l’inserimento nei loro avvicendamenti colturali. Di contro, risultano molto rari studi specifici dell’impatto della coltivazione di piante aromatiche sulla SOM in conduzione aziendale.

Lo scopo della ricerca effettuata è stato quello di fornire informazioni sul contenuto dei parametri chimici della SOM (TOC e N_{Tot}) di due suoli in due areali mediterranei (regione Lazio), coltivati con quattro specie aromatiche, sottoposte a tre trattamenti di fertilizzazione in pretrapianto. Ciò è stato fatto monitorando tali parametri in due annate agrarie. Non sono stati effettuati ulteriori interventi di fertilizzazione. L’indagine è stata svolta in tre tempi: fase iniziale (T0, prima della fertilizzazione e coltivazione) dopo 6 mesi (T1, fine primo ciclo produttivo con le colture in campo) e dopo 18 mesi (T2, fine secondo ciclo produttivo con colture in campo).

I risultati sono stati analizzati al livello statistico e, successivamente, sono stati spazializzati, fornendo la mappatura del TOC e dell’ N_{Tot} per le aree di Tarquinia e Rieti. Le mappe evidenziano il diverso comportamento nei due areali. Nel sito costiero di Tarquinia si riscontra che sia il TOC che l’ N_{Tot} , dopo una prima fase di aumento del loro contenuto, dovuto alla fertilizzazione, alla fine della prova ritornano sostanzialmente alla situazione di partenza. Nel sito della pianura di Rieti invece, entrambi i parametri tendono a scendere al di sotto del livello iniziale alla fine della seconda annata.

1 Introduzione

Come già detto nel capitolo di introduzione, l’agricoltura sostenibile rappresenta una gestione efficace delle risorse agricole soddisfacendo al contempo i bisogni umani, mantenendo o migliorando la qualità ambientale e conservando le risorse naturali per le generazioni future. La conservazione del

suolo, la tutela del patrimonio microbico e delle risorse idriche della Terra, sono la base dell'approccio sostenibile atto a impattare il meno possibile sull'ecosistema tutelando tutti i microorganismi utili per i processi critici ed ecosistemici a tutelare la biodiversità delle piante, esseri animali e dell'uomo (FAO, 2008).

Le tecniche di agricoltura intensiva utilizzate un tempo da agricoltori per rispondere ad una domanda del prodotto, oggi non sono ritenute idonee in ottica di agricoltura sostenibile. Infatti, la gestione agricola intensiva ha contribuito al degrado ambientale attraverso l'aumento delle emissioni di gas serra, la perdita di biodiversità e la ridotta offerta di molti servizi ecosistemici inclusa la conservazione del suolo e dell'acqua (Millennium Ecosystem Assessment, 2005; Kirschenmann, 2010). Oggi, in termini di sostenibilità ambientale, la priorità è proprio la conservazione della qualità del suolo che, a causa delle nuove tecniche di gestione aziendale intensiva, è sollecitata/depauperata in modo considerevole. Tecniche come l'aratura meccanica (Arshad *et al.*, 1990), assieme ai sistemi di agricoltura intensiva, favoriscono il depauperamento della materia organica e alterazioni delle proprietà biochimiche del suolo e della biodiversità (Rusco *et al.*, 2001).

Di contro, l'uso di fertilizzanti organici dimostra di essere uno strumento chiave per il mantenimento della qualità e della sostenibilità del suolo nei sistemi di agricoltura intensiva e non (Doran *et al.*, 1994; Bossio *et al.*, 1998; Bulluck *et al.*, 2002).

Il contenuto della SOM di un suolo ci aiuta a definire la fertilità globale di un terreno e di conseguenza anche il suo stato di salute. Un terreno fertile aumenta la produttività in termini di capacità del suolo di aumentare la produttività biologica delle piante, la qualità ambientale attenuando le contaminazioni ambientali da patogeni e danni esterni, la salute delle piante favorendo l'interazione con i microrganismi probiotici presenti nel suolo e nell'ambiente (Provorov e Vorobyov, 2006).

Le piante aromatiche da sempre sono oggetto di studio principalmente per il prezioso contenuto dei loro oli essenziali. La maggior parte delle specie aromatiche sono spontanee poliennali, prediligono l'ambiente del bacino Mediterraneo e destano interesse alle realtà aziendali per l'inserimento nei loro avvicendamenti colturali. Osservando i dati rilevati dall'ultimo censimento dell'agricoltura 2010, si contano 2.938 aziende con una superficie investita a "piante aromatiche, medicinali e da condimento" di 7.191 ettari in totale, notevolmente aumentate rispetto al 2000, quando vi erano più aziende ma meno superfici destinate alla loro coltivazione. Inoltre vi è sempre più interesse a queste coltivazioni da parte degli operatori del biologico (Piano di settore delle piante officinali 2013-2016 il punto coldiretti, 2018).

Nonostante ciò, non risultano studi specifici dell'impatto della coltivazione di piante aromatiche sulla SOM in conduzione aziendale.

Lo scopo della seguente ricerca è quello di capire lo stato di “salute” dei suoli in due ambienti Mediterranei (regione Lazio) coltivati con quattro specie aromatiche monitorando il contenuto di SOM durante un ciclo biennale con tre trattamenti di fertilizzazione in pre-trapianto più un controllo. La mappatura dei contenuti di TOC e N_{Tot} in entrambi i suoli, ha reso comprensibile le dinamiche differenti dei predetti contenuti nei due siti oggetto di studio durante i tre periodi di osservazione (T0 T1 e T2). La mappa rappresenta in modo efficace i contenuti del TOC e N_{Tot} visivamente grazie a delle classi colorimetriche con delle classi di contenuti di TOC e NTOT attraverso delle classi colorimetriche.

I dati poi sono stati soggetti ad analisi statistica e spazializzati tramite metodica geostatistica (Meul M. e Van Meirvenne M., 2003; Goovaerts P. *et al.*, 1995) per visualizzare su mappa il contenuto dei parametri analizzati nelle fasi: pretrapianto (T0), levata (T1 a 8 mesi dal trapianto) e fine prova (T2 a 2 anni dal trapianto).

2 Piante aromatiche e loro relazione con Carbonio e Azoto del suolo

Come già detto nel capitolo di introduzione, gli elementi nutritivi contenuti nel suolo sono resi disponibili alle piante in base a determinate condizioni fisico-chimiche. Il pH è uno dei fattori del suolo che indicano la disponibilità di un suolo a rilasciare elementi nutritivi alla radice/pianta. Catizone *et al.* (1986) hanno dimostrato come un’alta concentrazione di calcio nel suolo inibisce la disponibilità di elementi utili alla nutrizione della pianta di arnica, questo effetto è manifestato dall’effetto di clorosi nella pianta. Un suolo caratterizzato da un pH acido determina una forte disponibilità degli elementi minerali, e metalli pesanti (Cd, Ni, ecc.) possono essere più facilmente assimilabili dalle piante di Erba di San Giovanni, achillea, ecc. (Radanovic' D. e Antic-Mladenovic', 2012). Un pH compreso tra 6.8-7.2 rappresenta un *range* idoneo per l’attività microbica di microrganismi coinvolti nel processo di decomposizione della sostanza organica (Panero, 1985; ARPAV,1990; Fuentes *et al.*, 2006, Aciego Petri e Brookes, 2008; Geisseler e Scow, 2014).

Molti autori hanno studiato le piante aromatiche e officinali dal punto di vista delle produzioni in termini di qualità e quantità degli estratti (Figueiredo *et al.*, 1997; D’Antuono *et al.*, 2000; Figueiredo *et al.*, 2008), altri hanno indagato sulla fertilizzazione sostenibile (Carruba, 2015; Macedo *et al.*, 2017). Per il presente studio non sono stati trovati lavori specifici che abbiano studiato l’evoluzione del contenuto di SOM in un suolo destinato alla coltivazione delle specie aromatiche utilizzate in questo esperimento, pertanto sono stati studiati esperimenti nel breve e nel lungo periodo condotti con altre essenze aromatiche e con specie diverse, sia in conduzione biologica che convenzionale (Singh e Rao, 1994; Conant *et al.*, 2001; Schippmann *et al.*, 2002; Tilman *et al.*, 2002; Arabaci e

Bayram, 2004; Baricevic *et al.*, 2004; Schneider, 2004; Kang *et al.*, 2005; Marinari *et al.*, 2006; Melero *et al.*, 2006; Schippmann *et al.*, 2006; Carruba, 2015; Camilli *et al.*, 2016; Macedo *et al.*, 2017).

3 Coltivazioni meno impattanti e/o più sostenibili rispetto all'apporto di N

Come già detto nel capitolo di introduzione, l'effetto della fertilizzazione sulle piante è stato studiato su molte specie. Prove dimostrano che un maggiore contenuto di elementi nutritivi forniti alla pianta induce ad un aumento di biomassa. Se lo scopo della produzione non consiste nelle porzioni verdi della biomassa, bensì altre parti come radici, fiori e semi, è opportuno un apporto specifico di elementi e una fertilizzazione dedicata che prevede determinate forme di distribuzione, tempi e tassi accuratamente pianificati e gestiti (Carruba, 2015).

Nella coltivazione delle piante aromatiche (*Bupleurum chinense* DC) la somministrazione di fertilizzanti a base di N-P ha effetti positivi sulla produzione di biomassa stimolando e sostenendo la pianta in caso di siccità, soprattutto perché il fosforo è il principale componente di molecole fondamentali per il metabolismo centrale, come adenosina trifosfato (ATP), acidi nucleici e fosfolipidi (Zhu *et al.*, 2009). Infine, per problematiche ambientali, una fertilizzazione gestita male o non efficace comporta la dispersione nel suolo di minerali che non verranno assimilati dalle colture e che, inevitabilmente, possono essere cause di accumulo o di lisciviazione in falda.

4 Materiali and Metodi

4.1 Area di studio

Le aree di studio sono ubicate nella regione Lazio: una nella provincia di Viterbo, a Tarquinia (42°13'33,18''N; 11°43'57,81E), ed una nella provincia di Rieti (42°25'19,48''N; 12°48'41,41''E).

Gli schemi dei prelievi di campioni di suolo per l'analisi sono dettagliatamente descritti nel Cap. IV relativo ai Materiali & Metodi, Paragrafo 2.

4.2 Disegno sperimentale e sorgenti dati

I dati trattati per la creazione delle mappe sono stati prodotti dalle analisi chimiche per la determinazione del TOC e N_{Tot} nello studio della fertilità biologica dei suoli trattato nel presente lavoro. Sono stati analizzati i contenuti di TOC e N_{Tot} dei suoli di entrambi i siti per verificare l'omogeneità spaziale dei relativi contenuti e sono state generate le mappe dei contenuti di TOC e N_{Tot} , nonché dei relativi errori nei tre periodi scelti per il monitoraggio della SOM.

Il disegno sperimentale è chiaramente descritto al Capitolo IV relativo ai Materiali e Metodi, Paragrafo 3, mentre per il campionamento del suolo che ha rappresentato la sorgente dei dati utilizzati in questo capitolo si fa riferimento ai prelievi relativi al T0, T1 e T2 trattato nel Capitolo IV relativo ai Materiali e Metodi, Paragrafo 4.

4.3 Elaborazioni spaziali

I dati georiferiti di TOC e N_{Tot} sono stati spazializzati con il programma ArcGIS (versione 9.10) utilizzando il metodo *Empirical Bayesian Kriging*. Tale modello si serve della interpolazione statistica per predire i valori nelle aree intermedie rispetto ai punti rilevati mediante una correlazione spaziale. Questo consente di ricavare una mappa per visualizzare i valori dei parametri considerati misurati e predetti. Il modello spaziale consente anche di generare una mappa dell'errore che indica l'attendibilità del dato mediante la maggiore/minore probabilità di errore nelle diverse aree.

L'elaborazione spaziale consente di verificare la distribuzione di un contenuto sull'area o nel volume in esame. Nel caso di una distribuzione omogenea sarà verificata l'omogeneità spaziale, o meglio si può affermare che non vi è “dipendenza spaziale”; in caso contrario, laddove la distribuzione di un contenuto non dovesse essere omogenea variando in maniera continua, sarà verificata la correlazione spaziale tra i contenuti affermando la “dipendenza spaziale”. Il grado di detta “dipendenza spaziale” viene descritta dalla struttura di covarianza spaziale del contenuto studiato in opportuna modellizzazione (Castrignanò *et al.*, 1998).

La scala dei valori relativi ai *range* dedicati ai colori della mappa è stata settata previo una analisi dei dati per discriminare statisticamente i valori significativamente differenti, quindi laddove è percepibile un cambio di colore significa che vi è un gradiente di contenuto di TOC o di N_{Tot} .

4.4 Analisi Statistica

Si è proceduto al confronto statistico dell'andamento di ciascun parametro nel tempo per ciascun sito tenendo conto di fattori e livelli impostati (fertilizzazione e specie vegetali) tramite l'analisi della varianza (ANOVA) univariata.

5 Risultati

Per entrambi i siti sono state elaborate le mappe per la verifica dell'omogeneità spaziale dei contenuti di TOC e N_{Tot} al tempo di osservazione T0, mentre nell'elaborazione dei predetti contenuti relativi ai periodi di osservazione T1 e T2 è stata rilevata la dipendenza spaziale dei contenuti di TOC e N_{Tot} sulle aree dei siti sperimentali causata dall'effetto della coltivazione delle specie aromatiche con e senza la relativa fertilizzazione.

5.1 TOC e N_{Tot} prima della prova sperimentale

Il primo stadio di questo studio è stato quello di verificare l'omogeneità spaziale dei siti, in termini di contenuto di TOC e N_{Tot} . Quindi si è proceduto alle analisi a tempo T0 (pre-lavorazione e pre-impanto) dei contenuti di TOC e N_{Tot} del suolo dei siti (Figura 1).

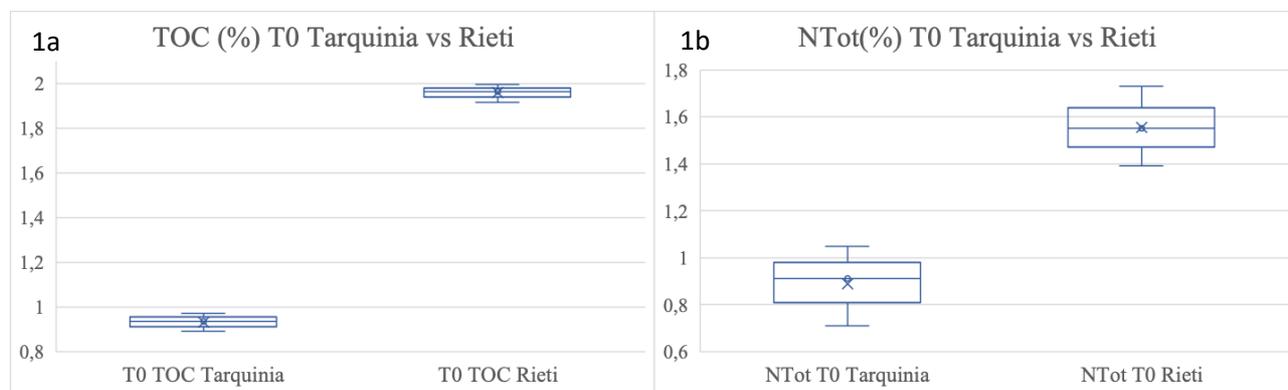


Figura 1 Grafico rappresentante i rispettivi contenuti di TOC (1a) e N_{Tot} (1b) nei due siti al tempo T0 (Prima dell'implementazione della prova sperimentale). Valori espressi in % (p/p).

La spazializzazione dei contenuti di carbonio organico nel suolo rilevati al T0 ha escluso la presenza di gradienti. Infatti, i semivariogrammi relativi al T0 (Figure nn. 2 e 3) ottenuti sono caratterizzati da un effetto *nugget* (Goovaerts *et al.*, 1996), ovvero, la semivarianza ha un andamento completamente casuale ed è confermata la non esistenza di autocorrelazione.

Inoltre, da un'indagine di statistica descrittiva è stata verificata la bassa variabilità dei parametri studiati al tempo T0 (Tabella. 1).

Tabella 1. Statistica descrittiva dimostrante la deviazione standard dei valori di TOC e N_{Tot} rilevato nei siti di Tarquinia e di Rieti al tempo T0.

Sito	N. validi	Media	Minimo	Massimo	Dev. Std.
<i>TOC (%) T0</i>					
Tarquinia	16	0,935	0,891	0,973	0,022
Rieti	16	1,962	1,916	1,994	0,022
<i>N_{Tot} (%) T0</i>					
Tarquinia	16	0,91	0,71	1,05	0,012
Rieti	16	1,55	1,39	1,73	0,012

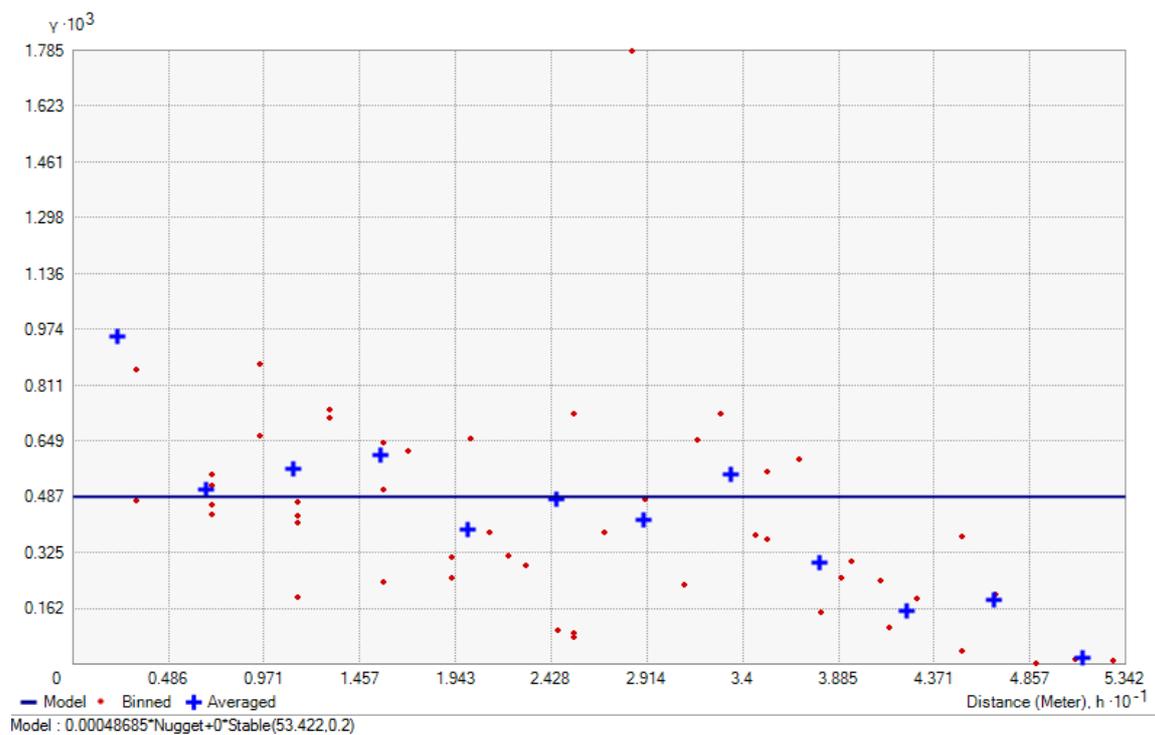


Figura. 2 Grafico della semivarianza del contenuto di TOC al tempo T0 (Prima dell'implementazione della prova sperimentale) del sito di Tarquinia. I lags illustrati nel presente grafico (croci blu) illustrano la semivarianza che ha un andamento completamente casuale ad effetto *nugget* (Goovaerts, 1997) confermando la non esistenza di autocorrelazione e, quindi, l'omogeneità spaziale.

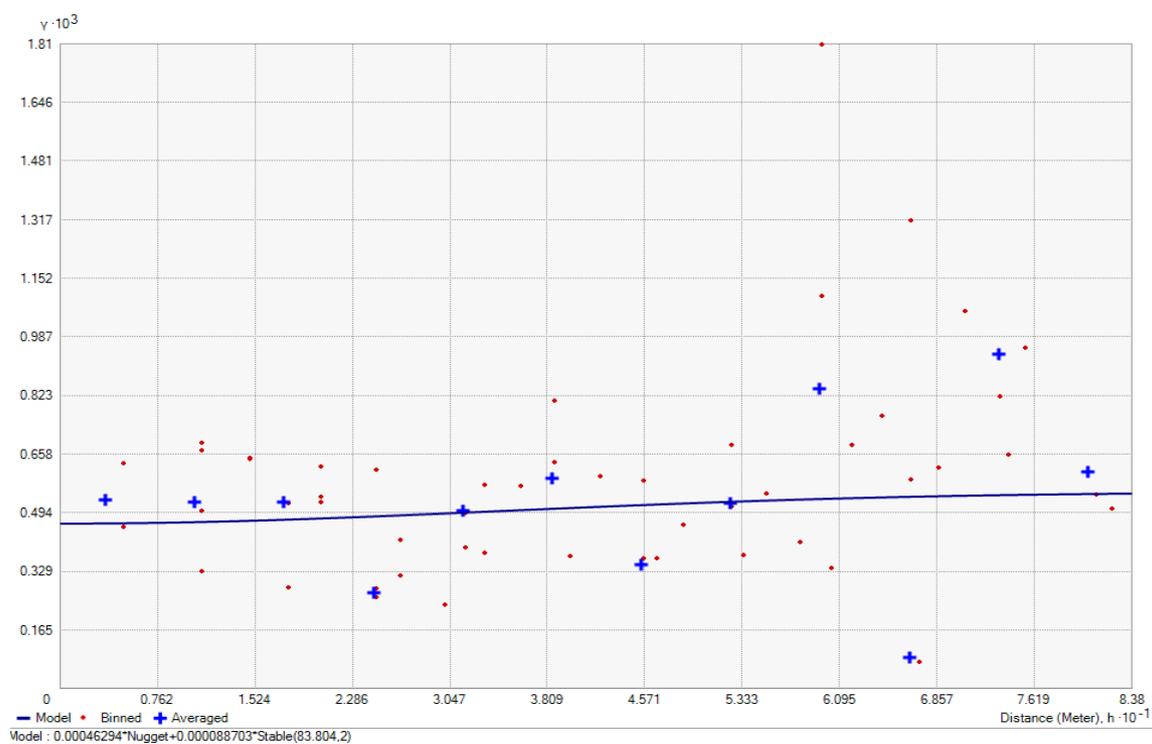


Figura. 3 Grafico della semivarianza del contenuto di TOC al tempo T0 (Prima dell'implementazione della prova sperimentale) del sito di Rieti. I lags illustrati nel presente grafico (croci blu) illustrano la semivarianza che ha un andamento completamente casuale ad effetto *nugget* (Goovaerts, 1997) confermando la non esistenza di autocorrelazione e, quindi, l'omogeneità spaziale.

5.2 TOC nel sito Tarquinia

L'analisi statistica ha dimostrato differenze significative a carico del trattamento di fertilizzazione con valori sempre significativamente maggiori nelle tesi trattate con fertilizzante Organico e Minerale rispetto al Controllo e Organo-Minerale. Si riscontra (Fig. 4 e Tab.2) un valore maggiore di carbonio al T1; non si sono osservati effetti ascrivibili alla specie vegetale impiegata, mentre risulta un effetto di interazione tra tempo e specie (*Foeniculum* x T2).

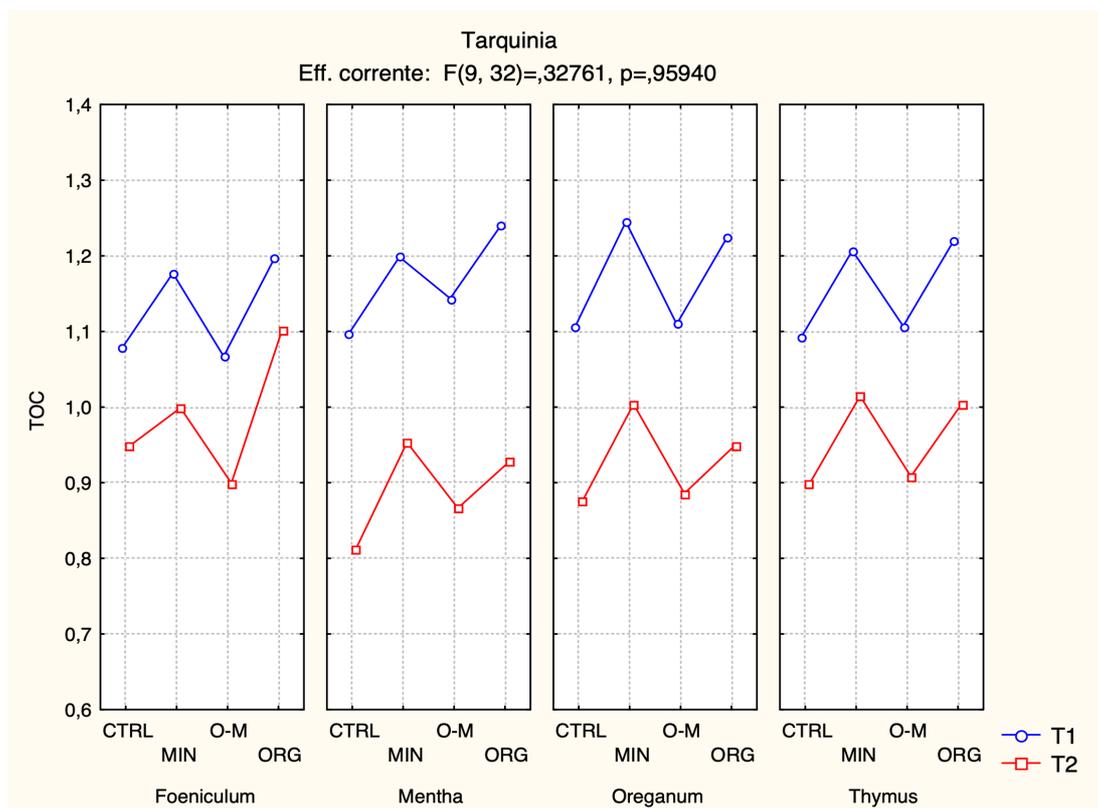


Figura 4. Grafico degli effetti della fertilizzazione e della specie sul contenuto di TOC al tempo T1 e T2 nel sito di Tarquinia.

Tabella 2 Tabella relativa all'ANOVA dei valori di TOC contenuto nel sito di Tarquinia al T1 e T2 (ss, Gradi di libertà, Ms, F, P value con significatività in rosso).

Analisi della Varianza Misure Ripetute TOC Tarquinia					
	SS	Gradi di	MS	F	p
Intercetta	105,5979	1	105,5979	25456,70	0,000000
specie	0,0124	3	0,0041	1,00	0,407589
tratt	0,2959	3	0,0986	23,78	0,000000
specie*tratt	0,0258	9	0,0029	0,69	0,711547
Errore	0,1327	32	0,0041		
TEMPO	1,1243	1	1,1243	272,21	0,000000
TEMPO*specie	0,0625	3	0,0208	5,04	0,005655
TEMPO*tratt	0,0008	3	0,0003	0,06	0,978639
TEMPO*specie*tratt	0,0122	9	0,0014	0,33	0,959404
Errore	0,1322	32	0,0041		

5.3 TOC nel sito Rieti

L'analisi statistica ha dimostrato differenze significative per tutti i fattori (Fig. 5 e Tab.3), i livelli e le interazioni del disegno sperimentale. In particolare al T1 si osservano valori sempre maggiori nei trattamenti O-M e ORG rispetto al Ctrl e al Minerale con valori tendenzialmente maggiori nell'origano ed effetto d'interazione tra *Oreganum* x trattamento O-M. Al T2 si osservano valori sempre inferiori rispetto al T1; per quanto attiene alla concimazione si riscontrano valori superiori di TOC nel trattamento ORG per le specie *Foeniculum* e *Mentha*.

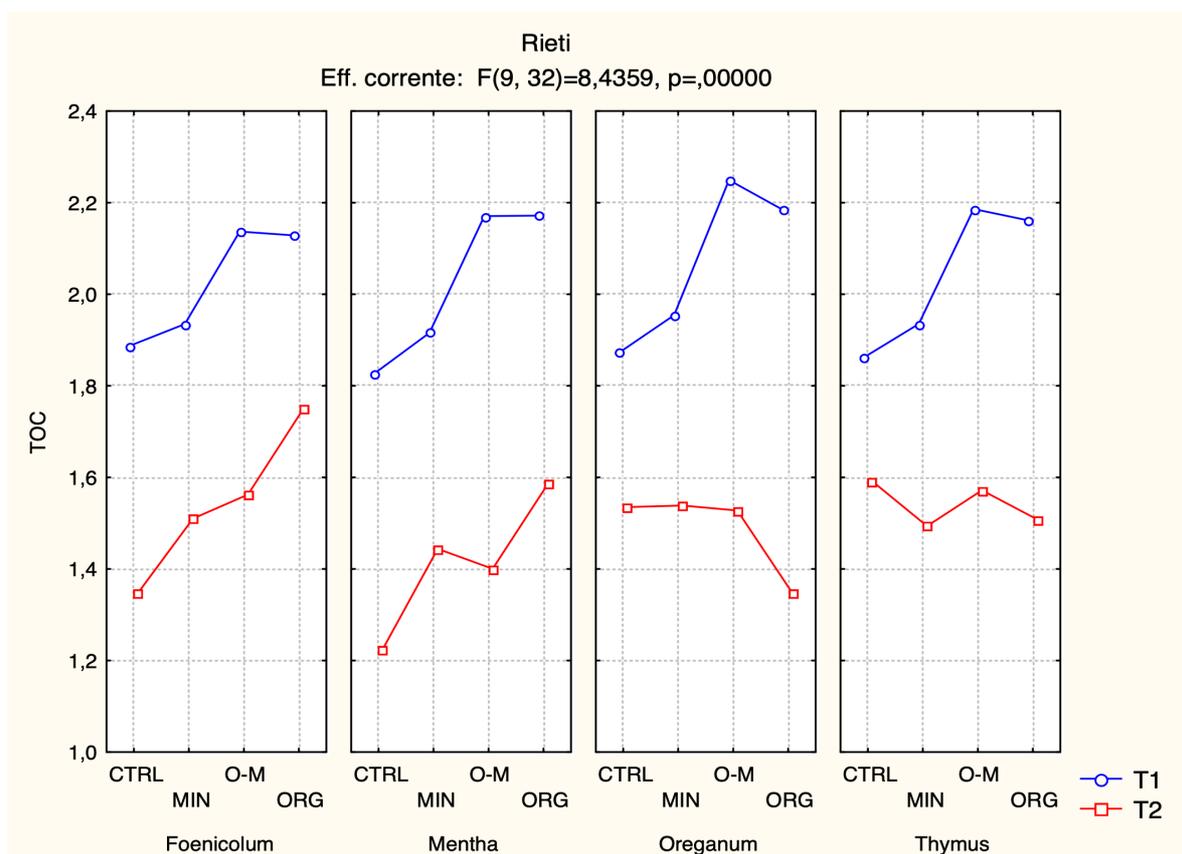


Figura 5 Grafico degli effetti della fertilizzazione e della specie sul contenuto di TOC al tempo T1 e T2 nel sito di Rieti.

Tabella 3 Tabella relativa all'ANOVA dei valori di TOC contenuto nel sito di Rieti al T1 e T2 (ss, Gradi di libertà, Ms, F, P value con significatività in rosso).

Analisi della Varianza Misure Ripetute TOC Rieti					
	SS	Gradi di	MS	F	p
Intercetta	299,4199	1	299,4199	91114,69	0,000000
specie	0,0780	3	0,0260	7,91	0,000437
tratt	0,7789	3	0,2596	79,01	0,000000
specie*tratt	0,2210	9	0,0246	7,47	0,000009
Errore	0,1052	32	0,0033		
TEMPO	6,9954	1	6,9954	2190,92	0,000000
TEMPO*specie	0,0704	3	0,0235	7,35	0,000699
TEMPO*tratt	0,2592	3	0,0864	27,06	0,000000
TEMPO*specie*tratt	0,2424	9	0,0269	8,44	0,000003
Errore	0,1022	32	0,0032		

5.4 N_{Tot} nel sito Tarquinia

L'analisi statistica ha dimostrato differenze significative per tutti i fattori (Fig.6 e Tab.4), i livelli e le interazioni del disegno sperimentale, ad eccezione di "tempo x specie". In particolare al T1 si osservano valori sempre maggiori di N_{Tot} nel trattamento ORG con valori tendenzialmente maggiori (interazione) nella *Mentha*. Al T2 si osservano valori tendenzialmente maggiori rispetto al T1e, per quanto attiene alla concimazione, si riscontrano valori superiori di N_{Tot} nel trattamento Minerale per le specie: *Foeniculum*, *Oreganum* e *Thymus*.

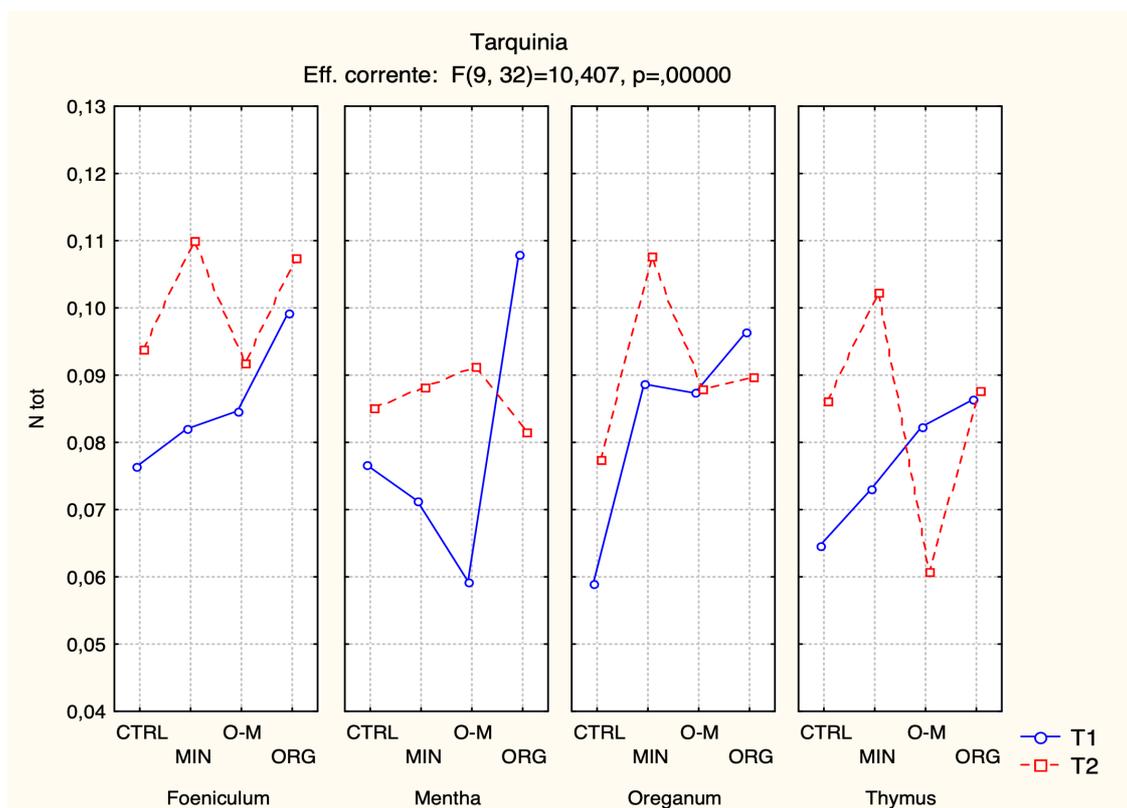


Figura 6 Grafico degli effetti della fertilizzazione e della specie sul contenuto di N_{Tot} al tempo T1 e T2 nel sito di Tarquinia.

Tabella 4 Tabella relativa all'ANOVA (parametrizzazione sigma ristretta) dei valori di N_{Tot} contenuto nel sito di Tarquinia al T1 e T2 (ss, Gradi di libertà, Ms, F, P value con significatività in rosso).

	SS	Gradi di	MS	F	p
Intercetta	0,706344	1	0,706344	23541,18	0,000000
specie	0,002259	3	0,000753	25,10	0,000000
tratt	0,004657	3	0,001552	51,74	0,000000
specie*tratt	0,002104	9	0,000234	7,79	0,000006
Errore	0,000960	32	0,000030		
TEMPO	0,002229	1	0,002229	63,99	0,000000
TEMPO*specie	0,000249	3	0,000083	2,38	0,087642
TEMPO*tratt	0,003019	3	0,001006	28,88	0,000000
TEMPO*specie*tratt	0,003263	9	0,000363	10,41	0,000000
Errore	0,001115	32	0,000035		

5.5 N_{Tot} nel sito Rieti

L'analisi statistica ha dimostrato differenze significative per tutti i fattori (Fig.7 e Tab.5), i livelli e le interazioni del disegno sperimentale, ad eccezione di “tempo x Trattamento” e “Tempo x Specie x Trattamento”. In particolare al T1, mentre non si osservano effetti evidenti a carico della fertilizzazione si riscontrano valori sempre maggiori di N_{tot} nella specie *Foeniculum* ed un effetto interazione tra trattamento ORG x *Thymus*. Al T2 si osservano valori tendenzialmente maggiori rispetto al T1 e, per quanto attiene alla concimazione, si riscontrano valori superiori di N_{Tot} nel trattamento Organico per tutte le specie. Si riscontra inoltre l'interazione tra trattamento Organico x *Foeniculum*.

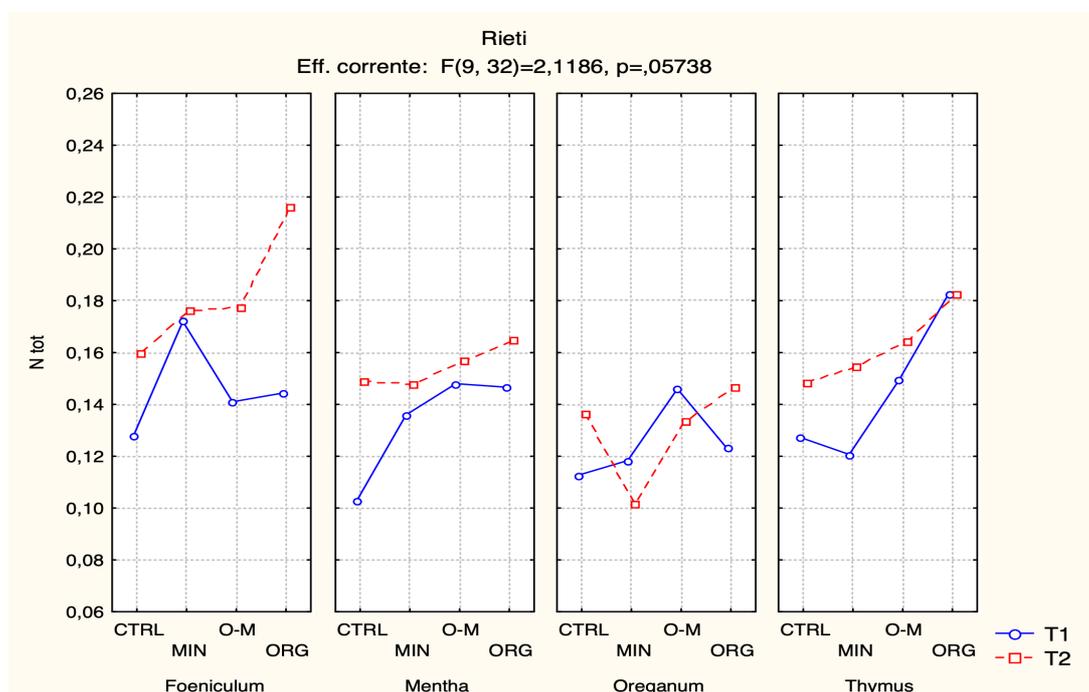


Figura 7 Grafico degli effetti della fertilizzazione e della specie sul contenuto di N_{Tot} al tempo T1 e T2 nel sito di Rieti.

Tabella 5 Tabella relativa all'ANOVA (parametrizzazione sigma stretta decomposizioni ipotesi effettive) dei valori di N_{Tot} contenuto nel sito di Rieti al T1 e T2 (ss, Gradi di libertà, Ms, F, P value con significatività in rosso).

	SS	Gradi di	MS	F	P
Intercetta	2,083807	1	2,083807	9167,926	0,000000
specie	0,017875	3	0,005958	26,215	0,000000
tratt	0,012701	3	0,004234	18,627	0,000000
specie*tratt	0,006660	9	0,000740	3,256	0,006435
Errore	0,007273	32	0,000227		
TEMPO	0,009475	1	0,009475	32,648	0,000002
TEMPO*specie	0,003065	3	0,001022	3,521	0,025968
TEMPO*tratt	0,002339	3	0,000780	2,686	0,063055
TEMPO*specie*tratt	0,005534	9	0,000615	2,119	0,057381
Errore	0,009287	32	0,000290		

5.6 Spazializzazioni

In Figura 8 è rappresentato il contenuto di TOC del suolo di Tarquinia per i tre tempi T0, T1 e T2. Qui, a seguito di una distribuzione omogenea dei contenuti, si osserva l'assenza di gradienti di TOC nello stato iniziale T0 del sito, pertanto è da ritenersi omogeneo e caratterizzato da un contenuto di TOC compreso nel *range* 0,889-1,026 C%. Al T1, a seguito della fertilizzazione e della messa a dimora delle specie, si evidenzia un incremento del TOC nelle sub-parcelle con trattamento MIN e ORG (1,163-1,232 C%), meno invece nella parcella con trattamento O-M nel CTRL (1,095-1,163 C%). Osservando le specie, si nota che le aree di suolo interessate dalle specie Finocchietto e Menta nella tesi CTRL hanno un contenuto di TOC inferiore (1,026-1,095 C%) rispetto alle altre specie. Analogo gradiente si osserva nel Finocchietto nella tesi O-M.

Nel T2 i valori del TOC (0,889-1,026 C%) scendono a valori prossimi a quelli riscontrati nel T0 (0,850-0,889 C%) con i minimi nel trattamento O-M (tutte le specie).

In Figura 9 è rappresentato l'errore di stima dei dati di TOC per la verifica dell'attendibilità della spazializzazione. Considerato un errore STD per il TOC di 0,13 (Tabella 2) si considera attendibile la spazializzazione del parametro in base ad un errore di stima compreso tra 0,009-0,075.

In Figura 10 è rappresentato il contenuto di N_{Tot} del suolo di Tarquinia per i tre tempi T0, T1 e T2. Qui si può vedere che nel T0 il sito non presenta gradienti di N_{Tot} , pertanto è da ritenersi omogeneo e caratterizzato da un contenuto medio di N_{Tot} di 0,90%. Al T1, a seguito della fertilizzazione e della messa a dimora delle specie, si osserva un incremento della frazione azotata nelle parcelle con trattamento ORG (0,85-1,30 N_{Tot} %) e, in misura minore, nelle parcelle col trattamento MIN e O-M (0,70-0,85 N_{Tot} %) e nel CTRL (0,56-0,70 N_{Tot} %). Osservando le specie, si nota che il suolo per le specie Finocchietto e Menta, nella tesi ORG ha un contenuto di N_{Tot} % maggiore rispetto alle altre specie. Diversamente, Origano e Timo nel CTRL hanno evidenziato un depauperamento di N_{Tot} .

Nel T2, rispetto al T0 (0,85-1,00 N_{Tot} %), si verifica un incremento di N_{Tot} in tutte le specie del trattamento MIN (1,00-1,30 N_{Tot} %) e un decremento in Timo e Origano nell'O-M (0,70-0,85 N_{Tot} %).

In Figura 11 è rappresentato l'errore di stima dei dati di N_{Tot} per la verifica dell'attendibilità della spazializzazione. In questo caso si considera attendibile la spazializzazione in quanto l'errore di stima risulta inferiore al limite di rilevabilità (0,01).

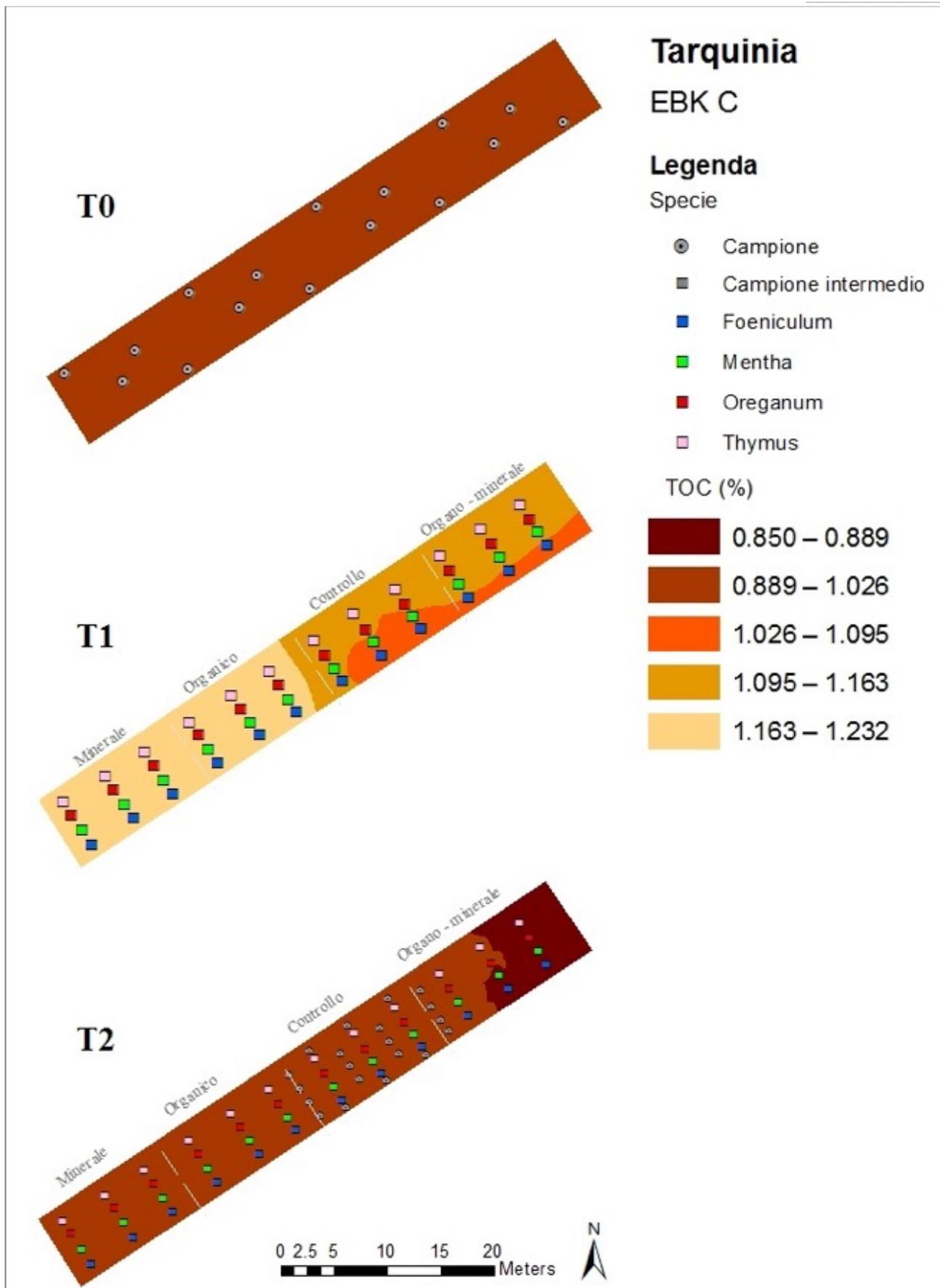


Figura 8. Mappa relativa al sito di Tarquinia raffigurante l'*Empirical Bayesian Kriging* del contenuto di TOC nei tre periodi di monitoraggio: T0, T1 e T2.

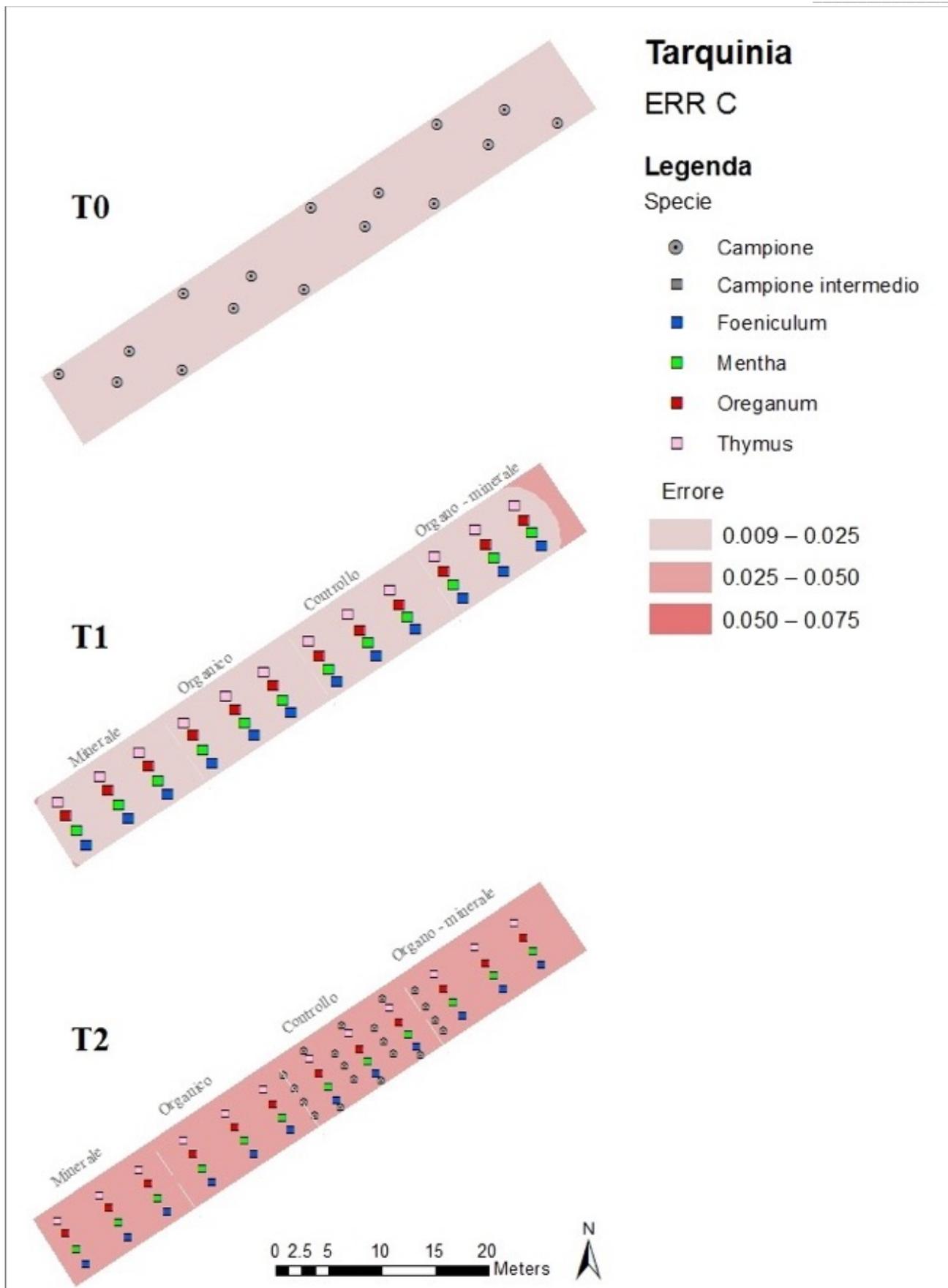


Figura 9. Mappa dell'errore dell'*Empirical Bayesian Kriging* dei dati di TOC nei tre periodi di monitoraggio T0, T1 e T2 del sito di Tarquinia.

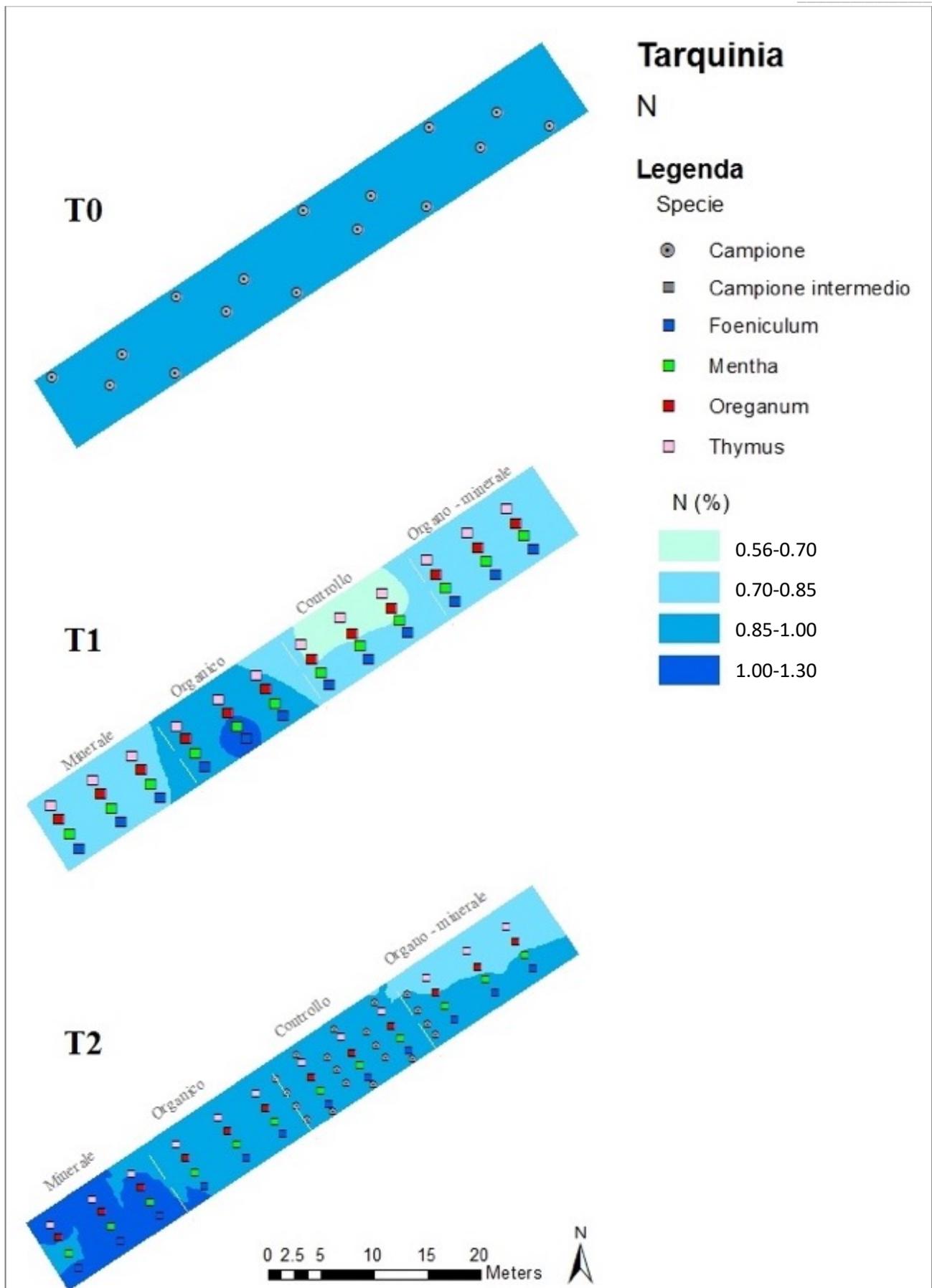


Figura 10. Mappa relativa al sito di Tarquinia raffigurante l'*Empirical Bayesian Kriging* del contenuto di N_{Tot} nei tre periodi di monitoraggio: T0, T1 e T2.

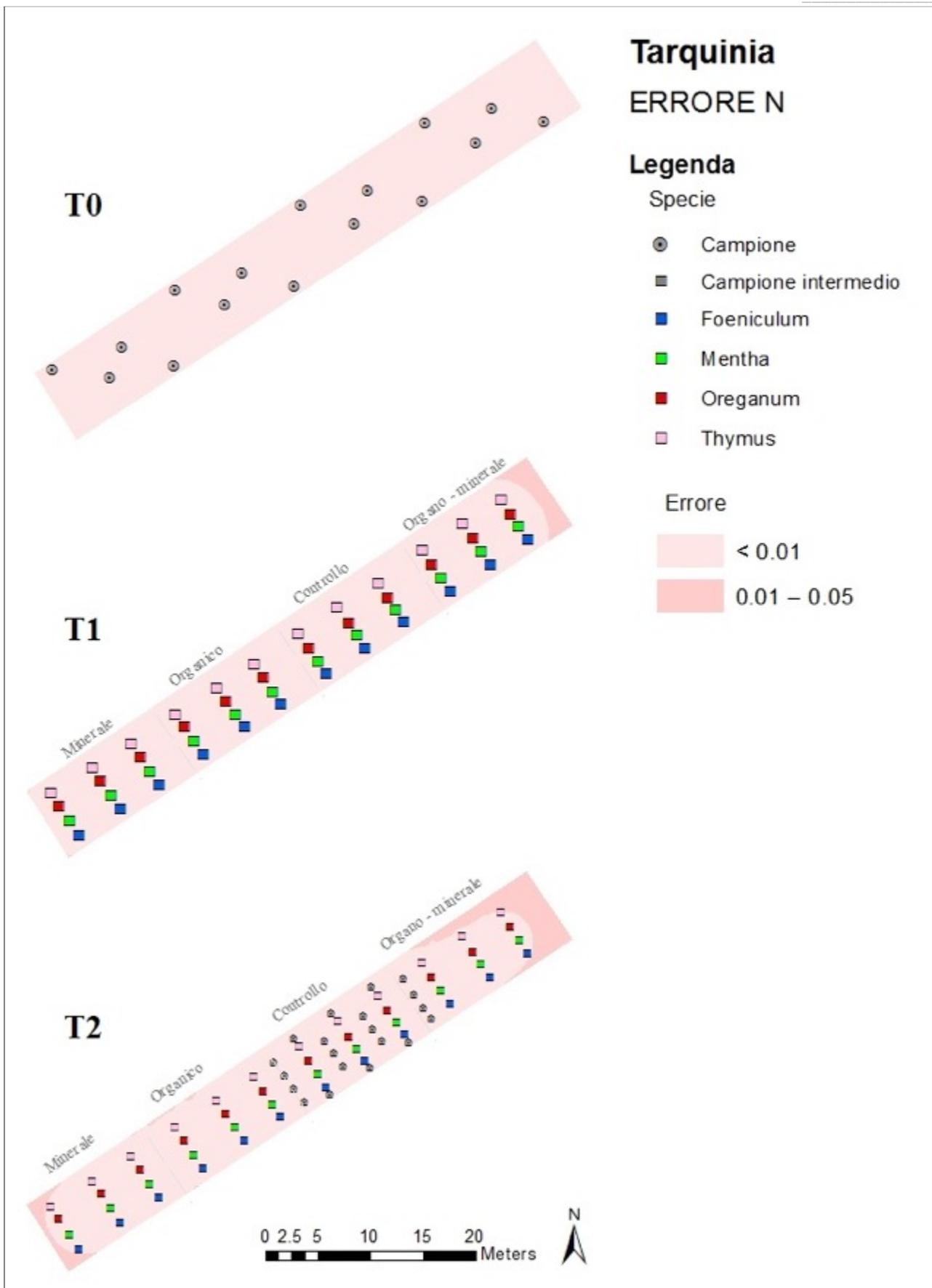


Figura 11. Mappa dell'errore dell'*Empirical Bayesian Kriging* dei dati di N_{Tot} nei tre periodi di monitoraggio T0, T1 e T2 del sito di Tarquinia.

In Figura 12 è rappresentato il contenuto di TOC del suolo di Rieti per i tre tempi T0, T1 e T2. Qui si evidenzia che nel T0 il sito non presenta gradienti di TOC pertanto è da ritenersi omogeneo e caratterizzato da un contenuto di TOC compreso tra 1,917-1,985 C%. Al T1, a seguito della fertilizzazione e della messa a dimora delle specie, si osserva un incremento della frazione organica nelle parcelle con trattamento O-M e ORG (2,122-2,191 C%), nessun incremento nel minerale ed invece un decremento nel CTRL (1,848-1,917 C%). Osservando le specie, si nota che il suolo nella tesi O-M per l'Origano dà un contenuto di TOC (2,191-2,259 C%) superiore rispetto alle altre specie. Al contrario, la Menta nel trattamento CTRL presenta il contenuto di TOC (1,780-1,848 C%) più basso rispetto alle tutte le altre specie e trattamenti.

Nel T2 si osserva un generale decremento di TOC fino a valori inferiori rispetto al T0, senza gradienti di rilievo in base a trattamenti e/o specie.

In Figura 13 è rappresentato l'errore di stima dei dati di TOC per la verifica dell'attendibilità della spazializzazione. Considerato un errore STD per il TOC di 0,105 (Tabella 3) si considera attendibile la spazializzazione del parametro in base ad un errore di stima compreso tra 0,009-0,099.

In Figura 14 è rappresentato il contenuto di N_{Tot} del suolo di Rieti per i tre tempi T0, T1 e T2. Qui risultano nel T0 gradienti di modesta entità compresi tra 0,115-0,160 di N_{Tot} %. Al T1, a seguito della fertilizzazione e della messa a dimora delle specie, si osserva in primo luogo la scomparsa dei gradienti del T0. Quanto all'effetto della fertilizzazione, si rilevano effetti visibili di incremento di N_{Tot} solo nei trattamenti ORG e O-M. Osservando le specie, la menta è quella che presenta sempre il contenuto in N_{Tot} più basso, tale da distinguersi nel CTRL col valore minimo di 0,085-0,100 di N_{Tot} . Nel T2 ritroviamo una situazione di omogeneità per trattamenti e specie con valori di N_{Tot} (0,115-0,130 %) mediamente inferiori al T0 (0,155, Tabella 1).

In Figura 15 è rappresentato l'errore di stima dei dati di N_{Tot} per la verifica dell'attendibilità della spazializzazione. Considerato un errore STD per N_{Tot} di 0,007 (Tabella 5) si considera attendibile la spazializzazione del parametro solo per T0 e T1.

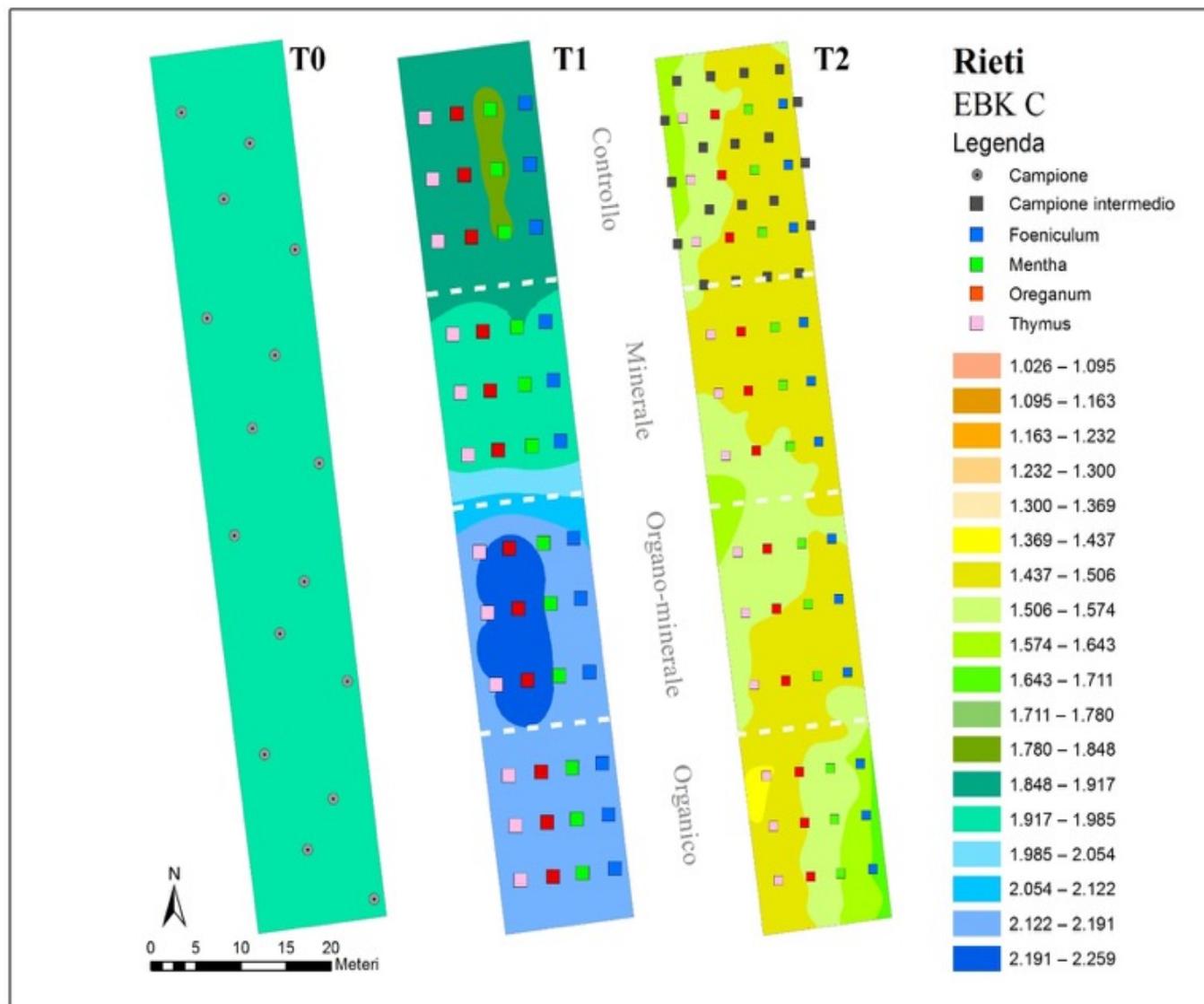


Figura 12. Mappa relativa al sito di Rieti raffigurante l'*Empirical Bayesian Kriging* del contenuto di TOC nei tre periodi di monitoraggio: T0, T1 e T2.

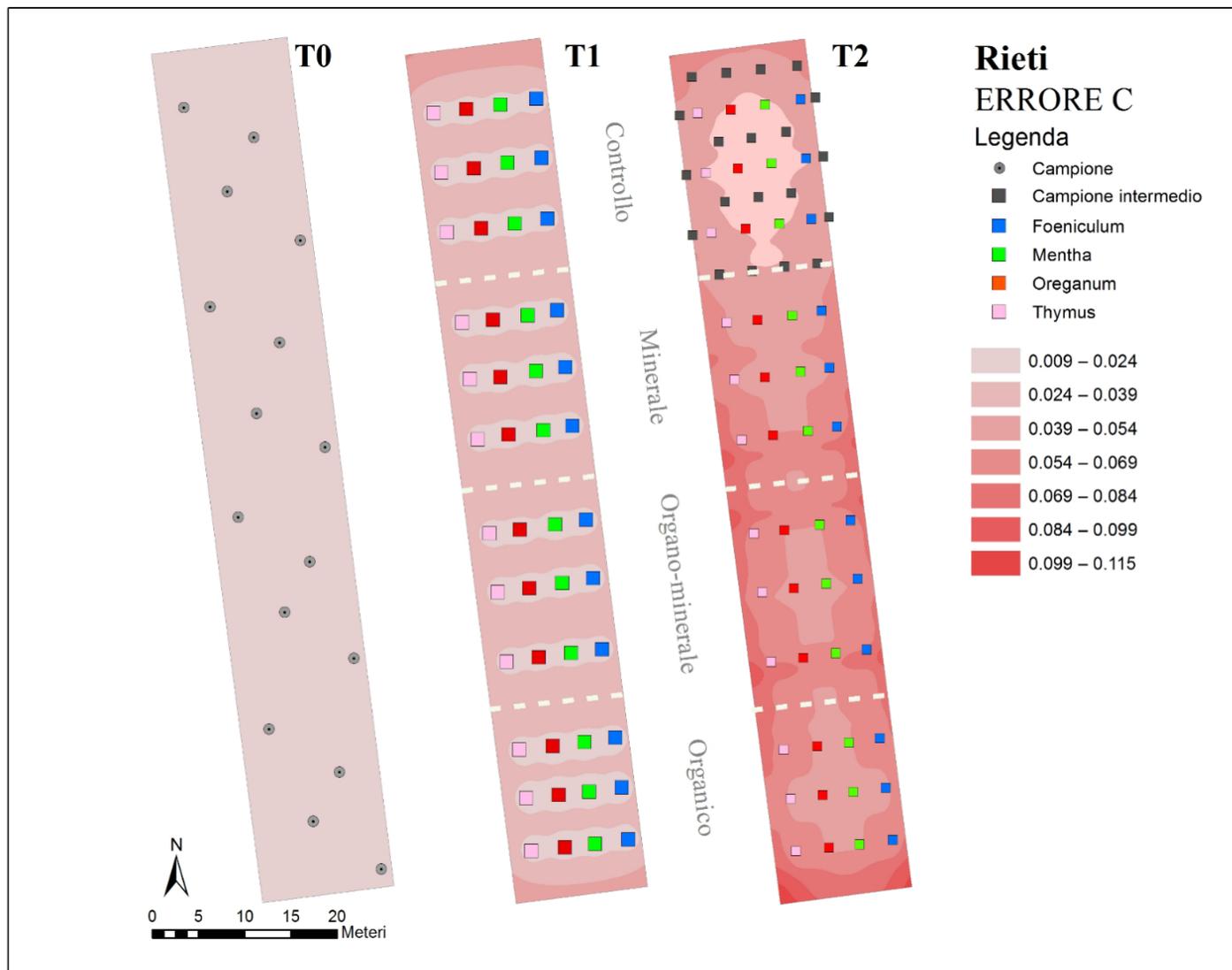


Figura 13. Mappa dell'errore dell'*Empirical Bayesian Kriging* dei dati di TOC nei tre periodi di monitoraggio T0, T1 e T2 del sito di Rieti.

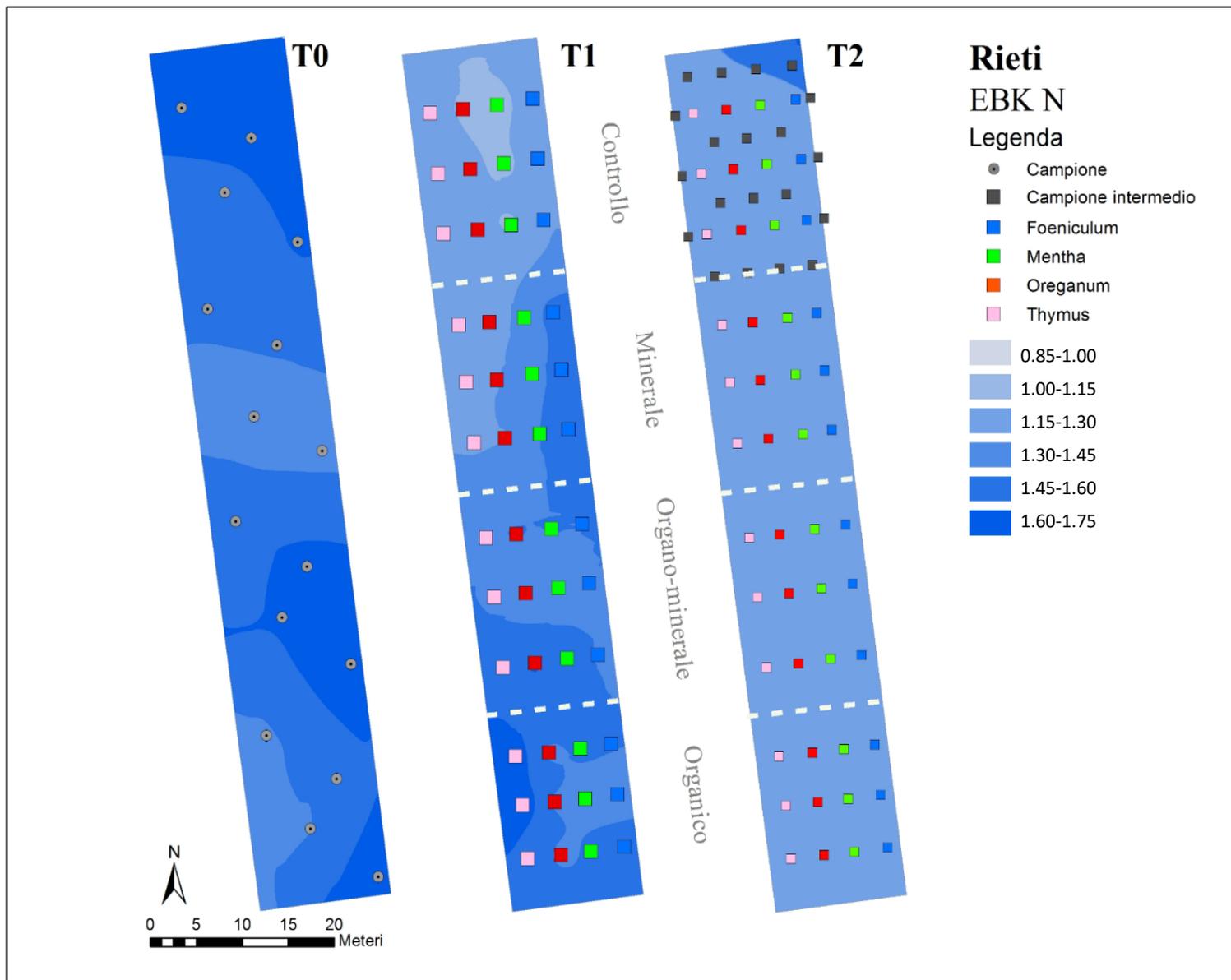


Figura 14. Mappa relativa al sito di Rieti raffigurante l'*Empirical Bayesian Kriging* del contenuto di N_{Tot} nei tre periodi di monitoraggio: T0, T1 e T2.

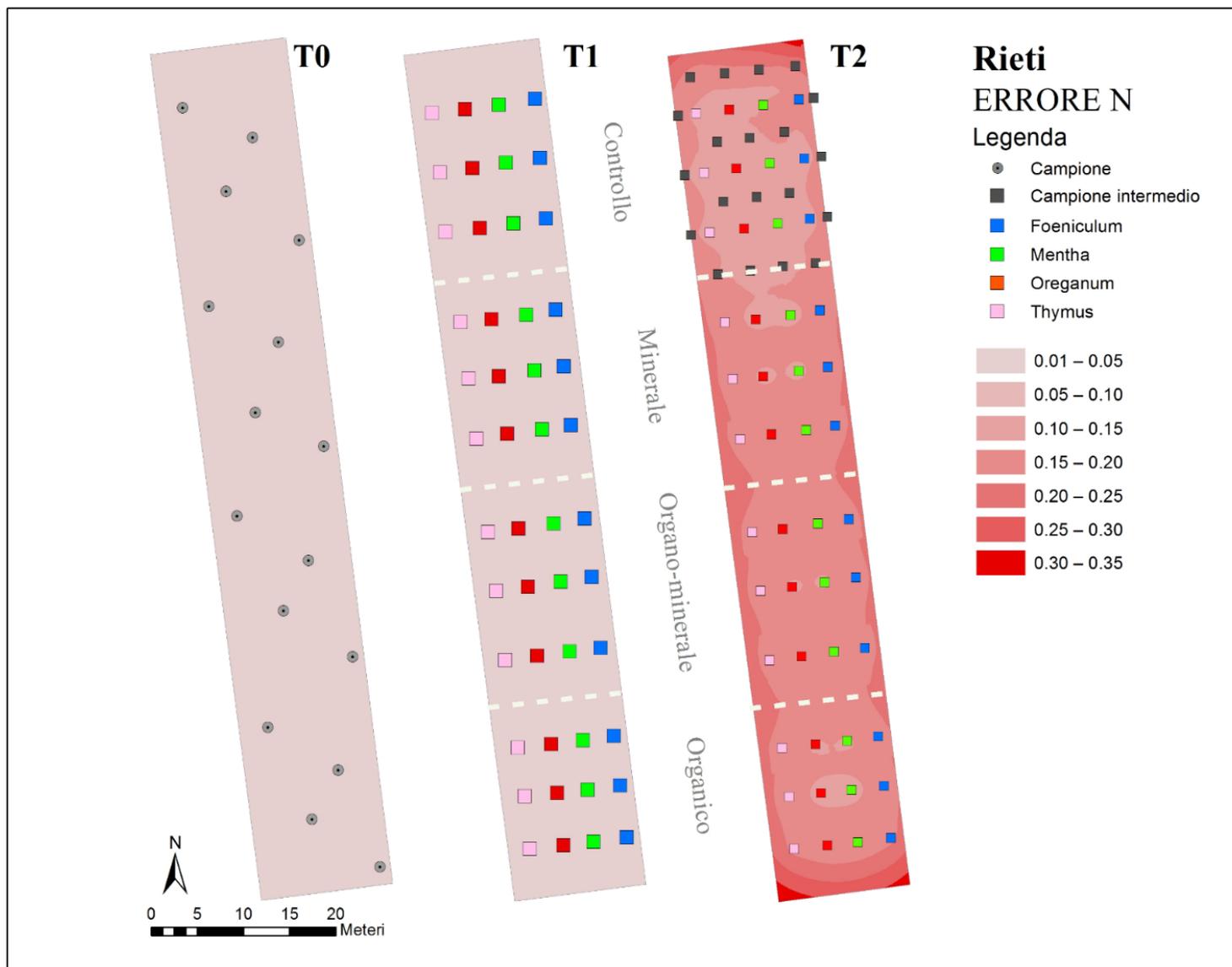


Figura 15. Mappa dell'errore dell'*Empirical Bayesian Kriging* dei dati di N_{Tot} nei tre periodi di monitoraggio T0, T1 e T2 del sito di Rieti.

6 Discussioni e Conclusioni

Lo scopo della seguente ricerca è stato quello di indagare gli effetti sul suolo della coltivazione di quattro specie aromatiche (finocchietto, timo, origano e menta) con tre diversi trattamenti (Min, Org e O-M) per un periodo totale di due annate agrarie in due ambienti laziali differenti: Tarquinia e Rieti. I risultati hanno evidenziato le diverse dinamiche relative sia ai due siti che alle quattro specie e, all'interno della stessa specie, in relazione ai tre trattamenti.

Sono stati analizzati e valutati i contenuti di TOC e N_{Tot} dei suoli e, grazie all'*Empirical Bayesian Kriging*, sono stati spazializzati i dati e create le mappe sulle quali sono state studiate le evoluzioni temporali dei contenuti nei tre periodi (T0, T1 e T2).

Per le discussioni del presente studio, è stata necessaria l'interpretazione incrociata dei dati relativi ai contenuti di TOC e N_{Tot} del presente lavoro con i risultati relativi alla SOM e all'attività microbica del suolo ricavati nello studio della fertilità biologica del suolo, trattata nel Capitolo V.

Inoltre, per una migliore discussione degli effetti riscontrati nei due siti a seguito dell'esperimento di coltivazione con piante aromatiche e fertilizzazione sul suolo, si riporta di seguito la tabella relativa alla classificazione del suolo in base al contenuto di SOM (Tabella. 6).

Tabella 6. Tabella relativa alla classificazione dei suoli in base al contenuto di SOM secondo lo schema interpretativo ARPAV (Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione Ambientale del Veneto)

Giudizio	SOM (%)
Molto povero	<0,8
Scarso	0,8-1,2
Medio	1,2-2,0
Buono	2,0-4,0
Ricco	4,0-8,0
Molto Ricco	>8,0

Caso studio del suolo costiero di Tarquinia

Il suolo del sito di Tarquinia, classificabile in termini di contenuto di sostanza organica come un suolo mediamente dotato (contenuto di SOM di 1,628 %, Tabella 6) nel periodo di osservazione T2 (mappa in Figura 6) non ha evidenziato a fine coltura significative differenze in contenuto di TOC a seguito di coltivazione di piante aromatiche, come osservato anche in altri studi condotti nel breve periodo (Marinari *et al.*, 2006), tranne per la sub-parcella relativa al trattamento Organo-Minerale che ha evidenziato un depauperamento del carbonio organico a seguito di una mineralizzazione anomala causata da un evento di ristagno idrico che potrebbe aver favorito l'attività di microrganismi anaerobici a scapito della popolazione microbica aerobica (Ponnamperuma, 1984). Inoltre, questo suolo, essendo caratterizzato da un pH debolmente acido (pH 6.1-6.5 come riportato in scheda Osservazione Profilo del suolo LAZ50_1P52 al Capitolo IV Materiali e Metodi, Paragrafo 2 Area di studio), rappresenta un sistema in un equilibrio delicato per l'attività microbica a differenza di suoli caratterizzati da un pH compreso tra 6.8-7.2, considerato un *range* idoneo per l'attività microbica di microrganismi coinvolti nel processo di decomposizione della sostanza organica (Panero, 1985; ARPAV, 1990; Fuentes *et al.*, 2006, Aciego Petri e Brookes, 2008; Geisseler e Scow, 2014). Non si può trascurare l'effetto transiente avvenuto nei primi 6 mesi di prova (T1) in cui vi è stato un aumento di TOC in tutti i trattamenti, ma in modo differenziato come di seguito esposto. Studiando l'effetto del solo inserimento delle specie aromatiche in questo suolo (Controllo non fertilizzato) nel periodo di osservazione T1 è evidente come la menta ed il finocchietto impattino maggiormente sul contenuto di TOC del suolo rispetto all'origano e al timo, fenomeno ascrivibile alla funzione allelopatica dei composti contenuti in queste due specie (Ushiki *et al.*, 1996; Juteau *et al.*, 2003; Vavala *et al.*, 2015) e alla rapida ed espansiva azione esplorativa radicale che caratterizza queste due specie (questo effetto motivo di ulteriore studio). Analizzando l'effetto dell'uso del fertilizzante Organo-Minerale (che presentava un apporto azotato inferiore rispetto all'organico e al minerale), non si osservano grandi differenze rispetto al controllo (fenomeno da attribuire al tipo di rilascio a lento effetto osservato da Benedetti, 1983) tranne che nella menta, in cui si nota come l'apporto organico di questo fertilizzante abbia compensato la diminuzione del contenuto carbonio totale causato dall'assorbimento dei nutrienti e dallo sviluppo radicale della pianta nel suolo (vedi la diminuzione osservata nel controllo). L'apporto di fertilizzante Minerale e Organico interagisce positivamente con le specie aromatiche utilizzate in prova ottenendo al T1 l'incremento massimo di TOC nel suolo.

Per quanto concerne lo studio svolto sulla dinamica del contenuto di N_{Tot} durante l'intero periodo di osservazione T0, T1 e T2, l'effetto più evidente osservato nell'inserimento delle specie aromatiche (Controllo) in un suolo mediamente dotato (come indicato in Figura 8 al T0, con un valore medio di N_{Tot} 0,910 %) è che l'origano ed il timo (specie di interesse commerciale) sono le specie più esigenti

in termini di fabbisogno azotato rispetto a menta e finocchietto (specie autoctone ben inserite in questo ambiente) segnando un depauperamento del contenuto di N_{Tot} al T1. Un altro effetto che risalta in mappa (Figura 8 al T1) è una contrazione del contenuto di N_{Tot} nonostante gli apporti azotati delle fertilizzazioni sia per la tesi minerale che organo-minerale, segno di un bilanciamento non corretto da parte degli *input*, tranne che per il trattamento organico in cui l'apporto organico ha mantenuto costante il contenuto di N_{Tot} per tutta la durata dell'esperimento, dal T0 sino al T2, un effetto studiato da Jenkinson *et al.* (1985) in risposta alla fertilizzazione effettuata attraverso somministrazione dell'azoto in altre produzioni. Sulla scorta di quanto osservato da Sen (1996) durante la coltivazione di ginseng, in cui fu riscontrato un calo dei contenuti di sostanza organica e di N_{Tot} nel suolo, anche nella presente prova è stata osservata una diminuzione del contenuto di N_{Tot} nel suolo evidenziando tre effetti al T2, come di seguito riportato: il primo è un ripristino del contenuto di N_{Tot} in tutti i trattamenti, tranne che nell'organo-minerale, in cui l'origano ed il timo (che, come nel controllo del T1 avevano segnalato un depauperamento della componente azotata del suolo) hanno sottratto maggiore quantità di N_{Tot} . Quest'ultimo è un fenomeno che andrebbe studiato meglio verificando i dati produttivi; il secondo è un aumento del contenuto di N_{Tot} nel trattamento minerale, ciò perché una parte di azoto distribuito viene immobilizzato nelle sostanze organiche del suolo per essere rilasciato nei tempi successivi (Nannipieri e Ciardi, 1982); il terzo è che nel controllo non fertilizzato si è ripristinato il contenuto iniziale di N_{Tot} , fenomeno che potrebbe essere dovuto ad un equilibrio transiente tra l'effetto dell'esplorazione radicale e l'attività microbica della rizosfera.

Caso studio del suolo collinare di Rieti

Il suolo del sito di Rieti classificabile in termini di contenuto di sostanza organica come un suolo ben dotato (contenuto di SOM di 3,418 %, Tabella 6), nello studio condotto sulla dinamica/evoluzione dei contenuti del TOC nei periodi di osservazione T0, T1 e T2 (mappa in Figura 10) ha reso noto che la coltivazione delle aromatiche è collegata a significative differenze in contenuto di TOC a fine ciclo T2, a differenza di quanto è avvenuto per il sito di Tarquinia. Questo suolo definito moderatamente alcalino (pH 7.9 e 8.4 come riportato in scheda Osservazione Profilo del suolo LAZ250_2P189 al Capitolo IV Materiali e Metodi, Paragrafo 2 Area di studio), rappresenta un sistema diverso rispetto al caso di Tarquinia, per l'attività microbica di microrganismi coinvolti nel processo di decomposizione della sostanza organica. Il più elevato contenuto di SOM iniziale, di pH, di contenuto di biomassa microbica (composizione e struttura non sono state studiate) possono essere co-responsabili nel suolo di Rieti di un possibile "*priming effect*" positivo (Kuzyakov *et al.*, 2000) e di una diversa risposta agli *input* degli essudati radicali rilasciati dalle specie coltivate nei due siti.

Non si può trascurare l'effetto transiente avvenuto anche a Rieti nei primi 6 mesi di prova (T1) in cui si è registrato un aumento di TOC in tutti i trattamenti in campo, ma in modo differenziato come di seguito esposto. Studiando l'effetto del solo inserimento delle specie aromatiche in questo suolo (Controllo non fertilizzato) nel periodo di osservazione T1 è evidente come abbiano un impatto negativo sul contenuto di TOC nel suolo (T0 TOC 1,96% vs. T1 1,848<TOC>1,917%), tranne la menta che ha impattato maggiormente rispetto le altre sul contenuto di TOC (1,780<TOC>1,848%) del suolo rispetto alle altre specie, fenomeno ascrivibile per la funzione allelopatica dei composti contenuti in queste specie (Juteau *et al.*, 2003; Ushiki *et al.*, 1996; Vavala *et al.*, 2015)) e alla rapida ed espansiva azione esplorativa radicale che caratterizza queste due specie (questo effetto sarà motivo di ulteriore studio). L'apporto di fertilizzante minerale non ha comportato variazione del contenuto di TOC al T1 rispetto allo stato iniziale T0, seppur riscontrando una contrazione in termini di contenuto di biomassa microbica ed un incremento dell'attività metabolica del comparto microbico (effetti studiati nel Capitolo V relativo alla fertilità biologica). L'apporto di fertilizzante organico ed organo-minerale interagisce positivamente con le specie aromatiche utilizzate in prova ottenendo al T1 l'incremento massimo di TOC nel suolo (2,122<TOC>2,191), ciò si è riscontrato soprattutto nell'origano in fertilizzazione organo-minerale in cui sono stati rilevati valori di TOC compresi tra 2,191-2,259%. Quanto sopra fa ipotizzare (da verificare con ulteriore indagine) che il fertilizzante associato con la specie origano riesca a conservare/incrementare, in questo periodo, la componente organica.

Sul suolo trattato con fertilizzante organico il contenuto di TOC al T1 è maggiore rispetto al contenuto iniziale T0 ed è distribuito con una certa uniformità, effetto riscontrato anche in studi simili dove fertilizzanti organici e organo minerali caratterizzati da un rilascio lento hanno evidenziato un aumento graduale del TOC nel suolo (Benedetti, 1983; Benedetti, 1994; Bulluck *et al.*, 2002).

Al T2 si osserva un generale decremento di TOC fino a valori inferiori rispetto al T0 (T0 TOC 1,96% vs. T2 1,437<TOC>1,574%), senza gradienti di rilievo in base a trattamenti e/o specie.

Per quanto concerne lo studio svolto sulla dinamica del contenuto di N_{Tot} , durante l'intero periodo di osservazione T0, T1 e T2, l'effetto più evidente osservato nell'inserimento delle specie aromatiche (Controllo) in un suolo ben dotato (come indicato in Figura 12 al T0 con valore medio di N_{Tot} 1,55%) è che la menta ha evidenziato un depauperamento del contenuto di N_{Tot} (0,85< N_{Tot} >1,00%) al T1. Un altro effetto che risalta in mappa (Figura 12 al T1) è l'aumento del contenuto di N_{Tot} avvenuto a seguito di apporti azotati rivenienti dalla fertilizzazione minerale ove si distinguono tre gradienti crescenti dalle specie timo e origano alla menta fino al finocchietto (1,30< N_{Tot} >1,60%). Effetto simile è stato riscontrato da Geisseler e Scow (2014) in studi condotti su suoli sottoposti a fertilizzazione minerale, ove è stato osservato che la fertilizzazione minerale (azoto) contribuisce all'aumento

complessivo della biomassa microbica del suolo aumentandone anche il contenuto di carbonio organico totale. Quindi, nel presente lavoro la fertilizzazione minerale riesce a contenere al tempo T1 il consumo di carbonio organico del suolo liberando una buona dose di azoto per le due specie più esigenti, la menta e soprattutto per il finocchietto.

Per la componente azotata del suolo trattato con fertilizzante organo-minerale sono distinguibili due gradienti maggiori rispetto al minerale e controllo, ma la loro distribuzione non segue una direzione comune alle quattro specie. Ciò è ascrivibile ad un'attività transiente di questo tipo di suolo che attiva la degradazione della componente azotata organica, caratteristica dei fertilizzanti organo-minerali a lento rilascio (Benedetti, 1983; Benedetti, 1994; Bulluck *et al.*, 2002), in modo differente rispetto al suolo di Tarquinia.

La componente azotata fornita dalla fertilizzazione organica presenta un aumento al T1, ma distribuito su tre gradienti crescenti, dal finocchietto alla menta e all'origano, fino a raggiungere il contenuto massimo nel timo. Questo indica che la fertilizzazione organica in questo tipo di suolo riesce a conservare la sostanza organica e attiva i processi di degradazione della componente azotata (Benedetti, 1994; Bulluck *et al.*, 2002; Geisseler e Scow, 2014), soprattutto, in questo caso, in associazione con il timo.

Al T2 si evidenzia un fenomeno di omogeneità del contenuto di N_{Tot} che si attesta tra i valori di N_{Tot} 1,15-1,30% inferiori rispetto allo stato iniziale al T0 di 1,55%, per effetto della coltivazione, segno di un depauperamento della componente azotata distribuita uniformemente per tutti i trattamenti e tutte le specie.

Conclusioni

L'attività di mappatura e spazializzazione di TOC ed N_{Tot} nei suoli dei due siti di prova, pre e in corso di coltura, ha permesso una migliore lettura ed interpretazione dei parametri del suolo studiati nei tre periodi di riferimento, in particolare, si è rivelata molto utile per l'interpretazione della dinamica della SOM consentendo lo svolgimento dell'indagine procurando il minor impatto in termini di superfici occupate nei campi resi disponibili dalle aziende che hanno ospitato la prova. Il presente studio basato su un approccio preliminare volto a studiare gli effetti della coltivazione in campo di specie aromatiche sulla sostanza organica del suolo di due ambienti differenti (costiero e montano), ha evidenziato come suoli di differente natura, caratterizzati da diverso contenuto di sostanza organica e dimensione del *pool* microbico, condizioni di pH diverse e non ottimali per l'attività microbica del suolo, possano presentare una diversa suscettibilità al consumo della risorsa organica del suolo a parità di condizioni di gestione agronomica.

Infatti, i fenomeni differenziati osservati nei due ambienti nel breve periodo, hanno evidenziato che l'introduzione delle colture aromatiche (finocchietto selvatico, menta, timo e origano) in campo adottando tre tipi di fertilizzazione (organica, minerale e organo-minerale) determina inizialmente un sensibile aumento del contenuto di sostanza organica (T1, Capitolo V, Paragrafo 3.3, Tabella 6), principalmente ad opera degli apporti azotati forniti dalle fertilizzazioni organiche e organo-minerali. Tuttavia, alla fine del secondo ciclo colturale (T2) la coltivazione delle specie aromatiche determina il depauperamento del contenuto di sostanza organica nei due suoli rispetto al primo ciclo (T1) per effetto sia dell'attività microbica del suolo che dello sviluppo (epi-ipogeo) delle essenze coltivate. L'entità di quest'ultimo effetto è risultato differenziato tra i due siti e maggiormente marcato nel suolo dotato di maggior contenuto iniziale di sostanza organica (in ambiente montano). Infatti, nel suolo costiero si osserva un ripristino del contenuto iniziale della sostanza organica, mentre nel suolo montano si evidenzia un contenuto addirittura inferiore rispetto allo stato iniziale, segno di mineralizzazione più spinta promossa dal *pool* microbico del suolo più ricco. Dal punto di vista della gestione agronomica, i risultati ottenuti sembrano indicare la necessità di effettuare fertilizzazioni ripetute ad ogni ciclo colturale, modulandone l'entità in funzione delle caratteristiche del suolo e dell'ambiente (sito-specifica).

Pertanto, necessitano ulteriori indagini negli anni per poter definire l'effettivo impatto della coltivazione nel tempo sulla sostanza organica dei suoli, come riscontrato in altri lavori di studio sul contenuto della SOM nel breve-medio periodo.

CAPITOLO VII. Stima della copertura vegetale di colture aromatiche da immagini digitali

Riassunto

Stimare la copertura vegetale in modo rapido e accurato è fondamentale per un'ampia serie di applicazioni e studi agronomici. La valutazione visiva è un metodo tradizionalmente impiegato per stimare la copertura vegetale in campo, ma è limitata dai costi, dalla soggettività e dalla non riproducibilità delle stime prodotte. La fotografia digitale è un metodo alternativo a basso costo. In questo studio abbiamo testato due metodi automatizzati di classificazione delle immagini per stimare la copertura vegetale da immagini aeree di colture agricole, il primo è basato su un metodo di analisi dell'istogramma (Rosin), il secondo basato su una combinazione di un indice di vegetazione visibile e di una conversione spazio colore (LAB2, $L^*a^*b^*$) precedentemente testati in ambito forestale e un metodo classificazione supervisionata delle immagini (Winscanopy). Questi metodi sono stati testati usando immagini artificiali con copertura nota; questo ha permesso di esplorare l'influenza della densità della chioma e della dimensione degli oggetti sulla stima della copertura vegetale da fotografia. Il metodo Rosin ha fornito le migliori stime della copertura vegetale in immagini artificiali, la cui precisione non è stata influenzata dalla variazione della densità della copertura e delle dimensioni dell'oggetto. Al contrario, il LAB2 ha sistematicamente sovrastimato la copertura vegetale, a causa della sensibilità del metodo alle piccole variazioni di cromaticità delle immagini artificiali. Winscanopy ha mostrato buone prestazioni quando almeno due regioni per classe sono state selezionate manualmente da un'immagine rappresentativa. I risultati sono stati replicati in immagini reali di coltivazioni aromatiche. Le principali evidenze indicano che la fotografia digitale è un metodo efficace per ottenere misure rapide, accurate e riproducibili della copertura vegetale di immagini aeree di colture agricole, comprese le piante aromatiche.

1 Introduzione

Stime accurate della copertura della chioma, detta anche copertura vegetale frazionata, definita come la frazione di superficie coperta dalla proiezione verticale del fogliame (Walker e Tunstall, 1981), sono fortemente richieste per una vasta gamma di studi, tra cui idrologia, ciclo del carbonio e dei nutrienti, e cambiamento globale (Angelini *et al.*, 2015; Fathizadeh *et al.*, 2017). Poiché la copertura è uno dei principali fattori determinanti della riflettanza della vegetazione da rilievi satellitari, questa variabile è necessaria anche per calibrare il telerilevamento di vegetazione e, indirettamente, gli indici

di vegetazione da remoto e per stimare l'indice di area fogliare utilizzando formule derivate dalla teoria del trasferimento radiativo (Ahmed *et al.*, 2015; Asner *et al.*, 2015; Pfeifer *et al.*, 2017).

Per quanto riguarda la determinazione della copertura in campo, la maggiore problematica è che non esiste un metodo diretto per la misura di questo parametro. La valutazione visiva è un metodo alternativo ampiamente usato, ma sono ben noti i suoi svantaggi, che includono l'errore dell'operatore (Luscier *et al.* 2006; Richardson *et al.*, 2001), l'incapacità di distinguere tra intervalli di copertura inferiori al 10% (Hahn e Scheuring, 2003) o l'insoddisfacente capacità di riprodurre le misurazioni.

Come alternativa alla valutazione visiva, i metodi ottici indiretti sono stati a lungo utilizzati per stimare la copertura vegetale negli ecosistemi (Chianucci, 2016; Song *et al.*, 2015). Ad esempio, il ceptometro AccuPAR (Decagon, Pullman, WA, US) e l'analizzatore LAI-2000 (Li-COR, Lincoln, NE) sono stati spesso utilizzati per stimare la copertura vegetale dalla trasmittanza della radiazione misurata allo zenit o al nadir (Rautiainen *et al.*, 2005). Tuttavia, questi metodi sono limitati dal costo degli strumenti e dai limiti al loro uso su chiome basse, come in alcune colture agricole (ad esempio: distanza minima tra l'obiettivo e il sensore, dimensioni del campione; Chianucci e Cutini, 2012).

Grazie ai recenti sviluppi tecnologici, le fotocamere digitali stanno diventando sempre più accessibili e consentono l'uso della fotografia digitale per stimare indirettamente le caratteristiche della copertura. La fotografia della chioma è stata utilizzata principalmente in campo forestale e, in misura minore, per le colture agricole (ad es.: Jannoura *et al.*, 2015; Liu Y. *et al.*, 2012; Liu J. *et al.*, 2013; Liu N.F. e Treitz P., 2016; Mora, 2016; Patrignani e Ochsner, 2015; Ramirez-Garcia *et al.*, 2012; Roth Streit, 2018; Song *et al.*, 2015), mentre nessuna applicazione è stata testata prima su piante aromatiche selvatiche o coltivate. L'uso degli indici di vegetazione visibile permette di estrarre i pixel della vegetazione dalle tradizionali immagini RGB (rosso, verde, blu), così favorendo l'uso della fotografia digitale per stimare la copertura delle colture agricole. Tuttavia, pochi studi hanno testato l'accuratezza della stima della copertura vegetale confrontando le stime ottenute da fotografia con valori noti.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di testare l'accuratezza della fotografia digitale per stimare la copertura vegetale da immagini aeree. Allo scopo, stime ottenute dalle fotografie sono state confrontate con quelle ricavate da immagini artificiali con copertura vegetale nota; ciò ha permesso di valutare l'influenza della copertura vegetale e della dimensione media degli oggetti (foglia/sfondo) sulla stima indiretta della copertura. I risultati sono stati inoltre confrontati con immagini reali di colture agricole. Lo studio è stato pubblicato nel 2018 sulla rivista *Biosystems Engineering* (Chianucci *et al.*, 2018)

2 Materiali and Metodi

2.1 Immagini artificiali di copertura vegetale

L'idea di misurare un obiettivo artificiale per calibrare le misure di copertura vegetale è stata proposta da vari autori (Chianucci, 2016; Macfarlane *et al.*, 2014; Song *et al.*, 2014). Tuttavia, studi precedenti hanno utilizzato principalmente obiettivi a due colori (bianco e nero), che sono idonei per la classificazione binaria di immagini rivolte verso l'alto (allo Zenith) su cielo/chioma. Un bersaglio artificiale ideale per immagini rivolte verso il basso dovrebbe essere rappresentativo della variabilità cromatica spettrale della vegetazione e del suolo di sfondo. Per questa ragione, sono state generate 200 immagini artificiali con copertura vegetale nota, che sono state colorate con una palette di colori rappresentativi della vegetazione reale. Innanzitutto, è stata generata una routine R (R Core Development team, Vienna) per riempire in modo random immagini vuote da 1000 x 1000 pixel con cerchi scuri (rappresentanti la chioma) di 1 pixel di raggio. Il range della copertura simulato varia da 0,01 (copertura 1%) a 0,80 (copertura 80%), rappresentando un gradiente verosimile di coperture vegetali in colture di campo. Successivamente, abbiamo creato due palette di colori, il primo rappresentativo della vegetazione e l'altro rappresentativo del suolo.

Ogni palette è stata ottenuta combinando 6-7 colori base, che sono stati selezionati arbitrariamente come rappresentativi della vegetazione (codici esadecimali: # B4EEB4, # CAFF70, # 7FFF00, # 00FF7F, # 2E8B57, # 006400) e suolo (# EED5B7, # FFF68F, # DAA520, # DEB887, # CDAD00, # A52A2A, # 000000). I pixel di vegetazione e suolo sono stati quindi ricolorati selezionando casualmente i colori dalle due palette. Le immagini artificiali contengono circa 400.000 colori diversi, prodotte dalle due *palette*. Per indagare l'influenza della dimensione degli oggetti sulla stima della copertura vegetale sono state prodotte inoltre 8 immagini da 1000 x 1000 pixel utilizzando un modello a scacchiera in bianco/nero (copertura vegetale di 0,5) e variando arbitrariamente la dimensione della scacchiera (per simulare le dimensioni degli oggetti) da 0,1-10% dell'area dell'immagine. I pixel bianco/neri sono stati poi ricolorati casualmente selezionando i colori dalle palette suolo e vegetazione.

2.2 Immagini di copertura vegetale delle colture di campo

Le immagini sono state raccolte nell'Azienda Sperimentale di Tarquinia (42°130 N, 11°430 E), Lazio, Italia centrale. Tre specie aromatiche appartenenti alla famiglia delle *Lamiaceae* sono state impiantate: *Mentha suaveolens Ehrh*, *Origanum vulgare subsp. hirtum L.* e *Thymus vulgaris L.* Le specie selezionate erano di altezza compresa tra 0,50-1,00 m e sono state trapiantate con un sesto di 40 x 40 cm (fila e interfila), come dettagliatamente descritto nel Capitolo IV, paragrafo 3.

Sono state raccolte trentasei immagini per specie tra Luglio ed Agosto 2017 per un totale di 108 immagini, tramite fotocamera posta a 2,00 m di altezza orientata verso il basso perpendicolarmente al terreno. La risoluzione delle immagini è stata impostata a 3465 x 2266 pixel.

2.3 Analisi di immagine

Sia le immagini artificiali che quelle reali sono state analizzate usando due metodi di classificazione sviluppati da Macfarlane e Ogden (2012), ossia LAB2 e Rosin P.L. (2001), che sono stati precedentemente testati in campo forestale (Chianucci *et al.*, 2014 a; Chianucci *et al.*, 2016; Chianucci *et al.*, 2014 b; Macfarlane e Ogden, 2012). Innanzitutto, quattro gruppi di pixel (*training set*) sono stati selezionati automaticamente dalle immagini sulla base di regole logiche in base ad un valore numerico digitale (*digital number*; DN) del pixel (Tabella 1). Per eseguire la classificazione LAB2, è stato calcolato un indice di vegetazione visibile come segue (Booth *et al.*, 2005; Louhaichi *et al.*, 2001; Woebbecke *et al.*, 1995):

$$GLA=(2G-R-B)/(2G+R+B)$$

dove, R, G e B è il DN dei canali rosso, verde e blu dell'immagine RGB. È stato quindi applicato uno stretch lineare di GLA per aumentare il contrasto dell'indice. Le immagini RGB sono state inoltre convertite nello spazio colore CIE L* a* b* (Mclaren, 1976), i cui canali rappresentano la luminosità del colore (L*), la sua posizione tra rosso/magenta e verde (a*) e la sua posizione tra il blu ed il giallo (b*). I valori medi di GLA, e a* b* dei *training set* sono stati calcolati ed il metodo LAB2 è stato eseguito basandolo sulla distanza minima delle medie di gruppo. Il metodo Rosin è stato applicato solo ai pixel del gruppo 4 (Tabella 1). È stata tracciata una linea retta dal punto massimo dell'istogramma all'ultimo istogramma vuoto e la soglia è stata presa come punto di massima deviazione della linea dalla curva dell'istogramma. Le analisi delle immagini sono state eseguite utilizzando MATLAB (Mathworks, Natick, Massachusetts, USA) usando le routine codificate da Macfarlane e Ogden (2012).

Un vantaggio rilevante dei due metodi è che la classificazione è automatizzata e quindi, operatore-indipendente. Come alternativa a questi due metodi, abbiamo eseguito una classificazione dei colori supervisionata utilizzando il software Winscanopy.

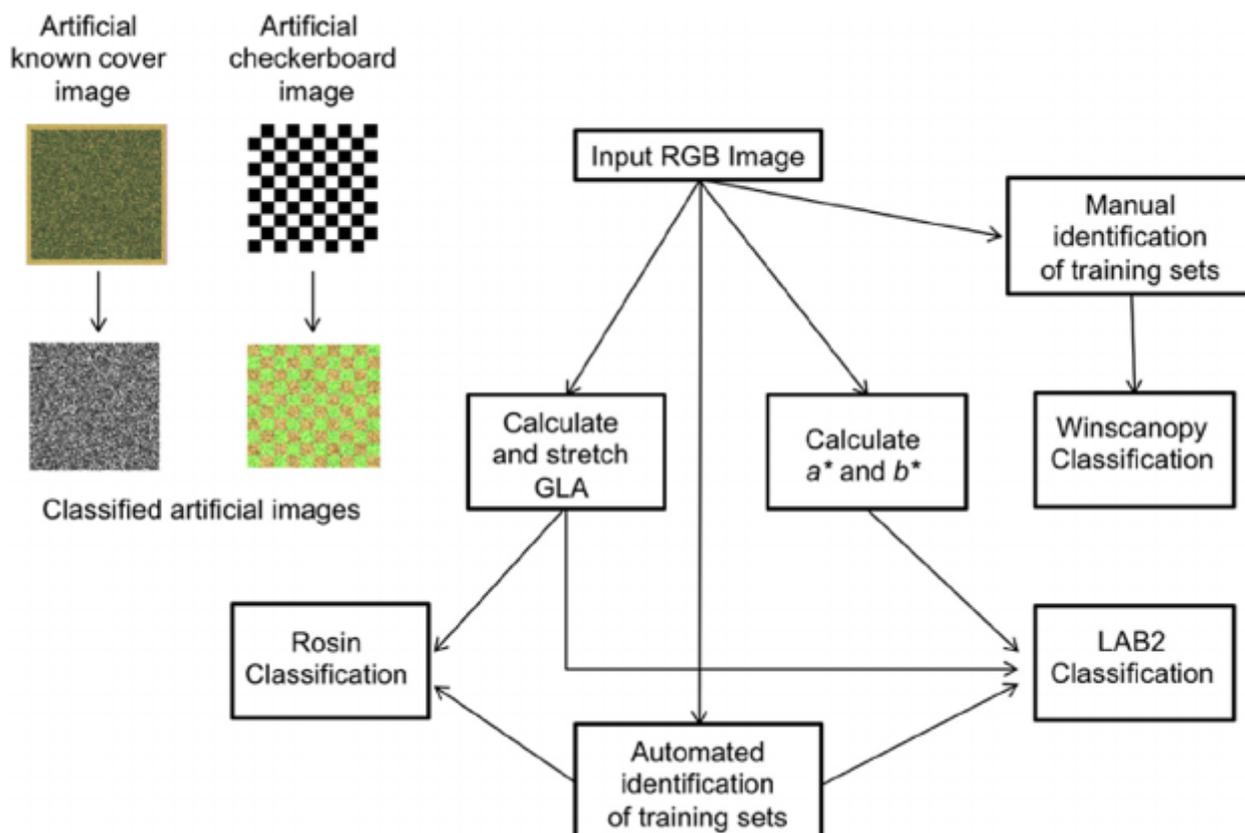


Figura 1. Diagramma di flusso illustrativo dei passaggi di elaborazione adottati per stimare la copertura vegetale da immagini reali ed artificiali (da Chianucci *et al.*, 2018).

Il software richiede che almeno due classi debbano essere selezionate in modo interattivo da un'immagine rappresentativa appartenente rispettivamente alle classi di vegetazione e di suolo (selezione manuale dei “*training sets*”). Abbiamo eseguito la classificazione selezionando o due classi (“vegetazione” e “non-vegetazione”) o quattro classi (due “vegetazione” e due classi “non-vegetazione”) da un'immagine rappresentativa. In tutti i metodi di classificazione delle immagini adottati, la copertura vegetale è stata stimata come la frazione di pixel di vegetazione classificata. La Figura 1 riassume i passaggi della classificazione delle immagini.

Tabella 1. Identificazione dei pixel del training set in base a regole logiche (per il significato di R, G, B e GLA, vedi Sezione 2.3).

Gruppo	Descrizione	Regola logica
1	Nessun materiale di vegetazione (sfondo)	$R + B \geq 2G = GLA \leq 0$
2	Vegetazione verde (primo piano)	$G > R; G > B; G > 25$
3	Pixel scuri, senza vegetazione	$G \leq 25$
4	Residui della precedente classificazione	-

2.4 Analisi statistica

Abbiamo confrontato i risultati ottenuti dai metodi di classificazione e dalla copertura vegetale nota di immagini artificiali tramite regressione lineare semplice. I risultati dei diversi metodi di classificazione ottenuti in immagini reali sono stati confrontati utilizzando ANOVA e test HSD di Tukey. Le analisi statistiche sono state eseguite in R (R Core Development team, Vienna).

3 Risultati

3.1 Immagini artificiali di copertura vegetale

Tutti i metodi di classificazione hanno fornito stime della copertura vegetale significativamente correlate ai valori di riferimento (Pearson test, $p < 0,001$). Tuttavia, i metodi hanno mostrato diversa performance come risulta evidente dai risultati dell'analisi di regressione (Tabella 2). Nel complesso, il metodo Rosin è risultato migliore degli altri metodi nei parametri di regressione (Tabella 2 e Figura 2). Al contrario, il metodo LAB2 ha sovrastimato sistematicamente la copertura vegetale artificiale, con le maggiori deviazioni osservate ai valori di copertura vegetale medi (Figura 2). Le stime ricavate dal metodo Winscanopy hanno dato i migliori risultati quando sono state selezionate in modo interattivo quattro classi (due "vegetazione" e due "non-vegetazione") da immagine rappresentativa. Le stime peggiori sono state ottenute usando il metodo Winscanopy su due classi (Tabella 2).

Tabella 2. Coefficiente di regressione per le stime della copertura vegetale ottenute utilizzando diversi metodi di analisi dell'immagine (asse y) e copertura vegetale nota (asse x) misurata nelle immagini di copertura vegetale artificiale. L'equazione utilizzata è $y = ax + b$. R^2 : coefficiente di determinazione; RMSE: errore quadratico medio della regressione. Tutte le regressioni sono significative ($p < 0.01$).

Metodo	a	b	R^2	RMSE
Rosin	1.01	-0.10	0.99	0.02
LAB2	0.54	0.44	0.97	0.02
Winscanopy-2 classi	0.49	0.58	0.67	0.08
Winscanopy-4 classi	0.72	0.13	0.99	0.01

a: versante; R^2 : coefficiente di determinazione; RMSE: errore quadratico medio della regressione. Tutte le regressioni sono significative ($p < 0.01$).

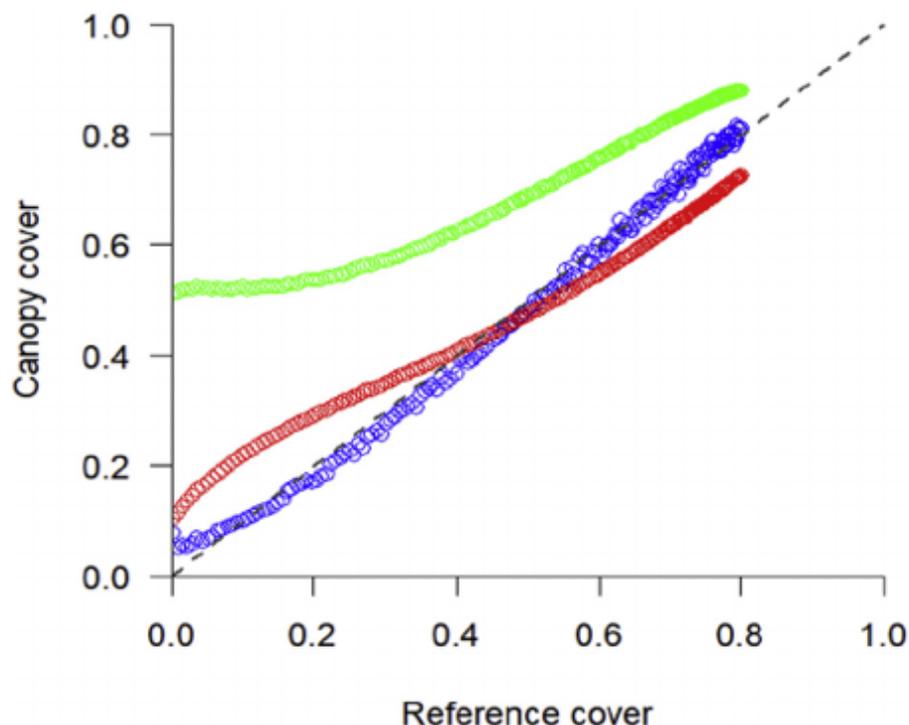


Figura 2. Confronti di copertura vegetale stimata da fotografia (asse y) usando metodi LAB2 (verde), Rosin (blu) e Wincanopy (rosso) e copertura vegetale nota (asse x) stimata da immagini di copertura vegetale artificiale. Per Wincanopy, le stime sono riportate per l'analisi delle quattro classi (da Chianucci *et al.*, 2018).

L'analisi delle immagini artificiali a scacchiera ha rilevato che sia il metodo Rosin che il Wincanopy basati sulle quattro classi forniscono stime attendibili, indipendentemente dalla dimensione media degli oggetti, nonostante la tendenza del Rosin a sovrastimare la copertura in immagini di dimensione intermedia (Figura 3); un più accurato controllo di queste immagini ha rivelato che le immagini intermedie hanno una proporzione maggiore di "pixel misti", che sono probabilmente più inclini ad essere classificati erroneamente con il metodo Rosin, rispetto ad altre immagini, in cui vi è un maggiore contrasto tra i pixel vegetazione (lato sinistro dell'istogramma) e suolo (lato destro dell'istogramma; Figura 4). Il metodo LAB2 è risultato non sensibile alle dimensioni dell'oggetto, ma il metodo ha sistematicamente sovrastimato la copertura vegetale (Figura 3). Il metodo Wincanopy basato su due classi ha mostrato la più grande variabilità nelle stime di copertura vegetale in relazione alla dimensione dell'oggetto (Figura 3).

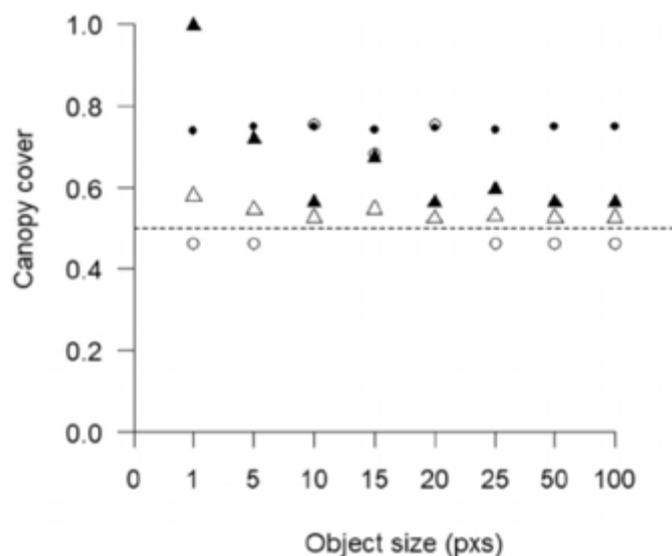


Figura 3. Variazione della copertura vegetale stimata dai diversi metodi di classificazione delle immagini fotografici (asse y) in rapporto alla dimensione media degli oggetti (asse x, pixel). Cerchi vuoti: Rosin; Cerchi pieni: LAB2; Triangoli vuoti: Winscanopy basato su 4 classi; Triangoli riempiti: metodo Winscanopy basato su 2 classi.

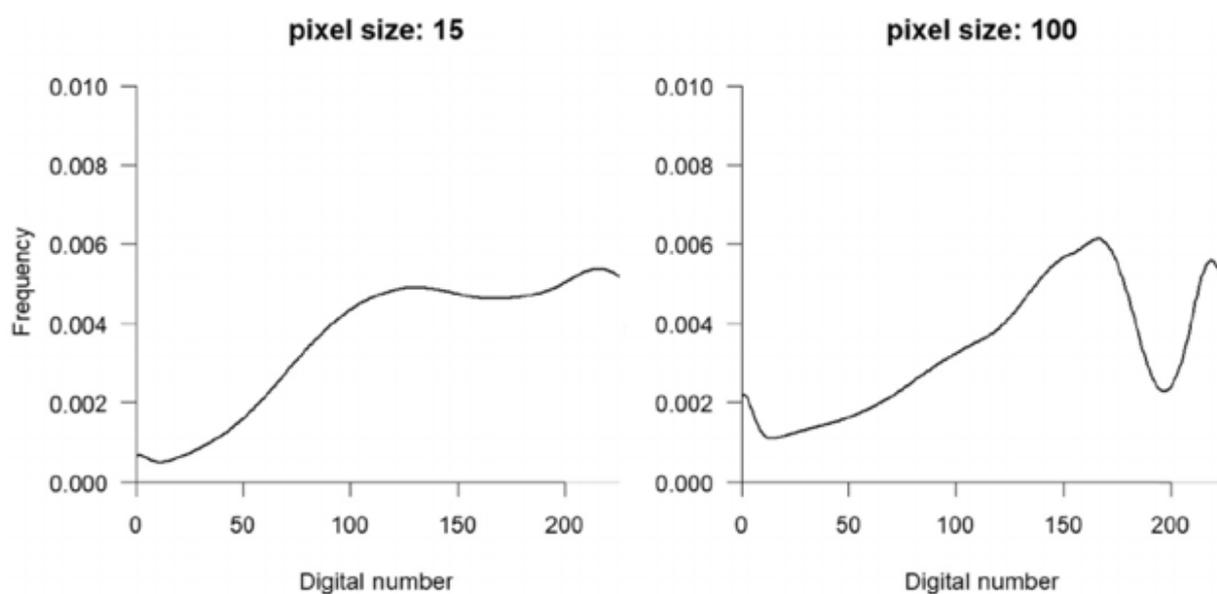


Figura 4. Istogramma (versione in scala di grigi delle immagini RGB) di immagini artificiali a scacchiera con diverse dimensioni dell'oggetto. e sinistra: 15 pixel (1,5% dell'area d'ill'immagine); a destra: 100 pixel (10% dell'area dell'immagine).

3.2 Immagini di copertura vegetale reale

La Tabella 3 riassume i risultati ottenuti da metodi di classificazione dell'immagine. Nel complesso, tutti i metodi hanno fornito stime attendibili della copertura vegetale, che sono significativamente correlate tra loro (test r di Pearson, $p < 0,001$). L'unica eccezione sono stati i risultati ottenuti usando Winscanopy con due classi, che ha fornito stime superiori della copertura vegetale e significativamente diverse da quelle ottenute con gli altri metodi (ANOVA e Tukey's HSD test, $p < 0,001$). Rispetto al metodo Rosin, LAB2 ha sovrastimato la copertura vegetale quando le stime di Rosin erano inferiori a 0,5 e, in particolare, quando queste erano inferiori a 0,1, mentre ha sottostimato

la copertura vegetale quando le stime di Rosin erano superiori a 0,5, sebbene le differenze tra i due metodi fossero generalmente inferiori al 10%. È stata osservata una maggiore variabilità tra i due metodi e Winscanopy, particolarmente a valori di copertura vegetale media (0,4-0,8), in cui il secondo metodo ha dato una stima chiaramente inferiore della copertura vegetale a confronto di Rosin e LAB2 (Figura 5).

Tabella 3. Medie e deviazione standard (SD) delle stime della copertura del baldacchino ottenute in immagini reali utilizzando diversi metodi di analisi delle immagini.

Metodo	Specie	Media	SD
Rosin	<i>Mentha suaveolens</i>	0.39	0.27
Rosin	<i>Origanum vulgare subsp. hirtus</i>	0.31	0.22
Rosin	<i>Thymus vulgaris</i>	0.15	0.07
LAB2	<i>Mentha suaveolens</i>	0.37	0.27
LAB2	<i>Origanum vulgare subsp. hirtus</i>	0.33	0.16
LAB2	<i>Thymus vulgaris</i>	0.18	0.06
Winscanopy-2 classi	<i>Mentha suaveolens</i>	0.43	0.25
Winscanopy-2 classi	<i>Origanum vulgare subsp. hirtus</i>	0.35	0.11
Winscanopy-2 classi	<i>Thymus vulgaris</i>	0.23	0.07
Winscanopy-4 classi	<i>Mentha suaveolens</i>	0.38	0.22
Winscanopy-4 classi	<i>Origanum vulgare subsp. hirtus</i>	0.29	0.09
Winscanopy-4 classi	<i>Thymus vulgaris</i>	0.19	0.05

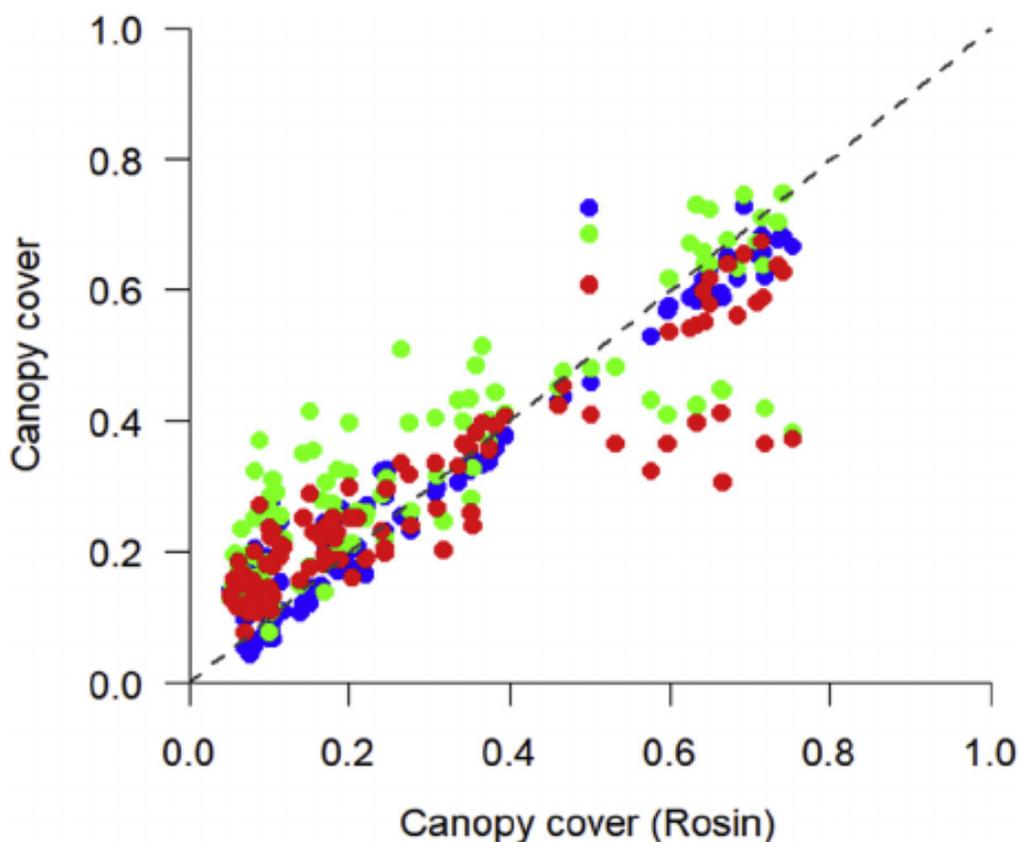


Figura 5. Confronto tra le stime della copertura ottenute usando il metodo Rosin (asse x) e gli altri metodi (asse y) in immagini reali di colture agricole. Colore blu: LAB2; Colore verde: Winscanopy (2 classi); rossi: Winscanopy (4 classi).

4 Discussioni

I risultati mostrano come la fotografia digitale sia un metodo efficace per stimare la copertura vegetale nelle colture agricole, e possieda numerosi vantaggi rispetto alla valutazione visiva tradizionale, in termini di costi, accuratezza e riproducibilità delle misurazioni. Un punto di forza del nostro studio è che abbiamo usato immagini artificiali con copertura vegetale nota per valutare l'accuratezza dei metodi fotografici ed accertare l'influenza della copertura vegetale unita alla dimensione degli oggetti sull'accuratezza della stima di copertura vegetale da fotografia. Gli studi precedenti si basavano sul confronto delle stime indirette e dirette dell'indice di area fogliare, derivato dalle stime di copertura, che non hanno condotto a conclusioni paragonabili a quelli dello studio presente per quanto riguarda l'accuratezza di stima di copertura vegetale da fotografia (Chianucci e Cutini, 2013; Liu e Pattey, 2010; Ryu *et al.*, 2010). Un elemento importante da valutare è se le immagini prodotte artificialmente siano rappresentative della variabilità cromatica delle immagini reali, poiché le fotografie reali delle colture possono contenere diverse specie vegetali nelle immediate vicinanze, combinate con la presenza di sfondo eterogeneo costituito da lettiera, detriti legnosi grossolani, carbone, terra nuda,

che possono creare una complessa e variabile luminosità dell'immagine su cui vanno classificati i vegetali. Nel confrontare le immagini artificiali con quelle reali, abbiamo osservato in media che le immagini artificiali contengono circa il 30% in più di colori rispetto alle immagini reali. Sulla base dei risultati delle immagini artificiali, abbiamo dimostrato che il metodo Rosin fornisce le migliori stime di copertura vegetale, che sono relativamente insensibili alla dimensione dell'oggetto, nonostante una tendenza osservata a sopravvalutare la copertura vegetale nelle immagini di dimensioni intermedie; queste immagini sono caratterizzate da un istogramma multimodale, per il quale l'approccio unimodale di Rosin era più incline a classificare erroneamente i "pixel misti" (Macfarlane, 2011). Al contrario, il metodo LAB2 è apparso poco adatto per classificare immagini artificiali, probabilmente perché il metodo era sensibile alle piccole variazioni di cromaticità nelle immagini, una caratteristica che è comune nei metodi di classificazione di minima distanza dalla media (Lillesand *et al.*, 2008; Macfarlane e Ogden, 2012). Nelle nostre immagini artificiali, qualsiasi pixel ha potenzialmente un colore diverso rispetto ai pixel limitrofi, fatto che spiega la classificazione errata del metodo LAB2. Complessivamente, questi risultati hanno suggerito che le immagini artificiali possono essere considerate un "test limite", perché la complessità spettrale cromatica delle immagini artificiali testate è verosimilmente maggiore di quella osservabile nelle condizioni di campo. Su questa linea, le buone prestazioni del metodo Rosin su immagini artificiali supportano ulteriormente l'uso del metodo per la classificazione di immagini aeree delle colture agricole studiate, oltre alla buona prestazione precedentemente osservata del metodo nell'uso forestale *understory* (Macfarlane e Ogden, 2012) e *overstory* (Chianucci *et al.*, 2016). Il metodo LAB2 ha dato risultati simili nelle coperture reali, per le quali questo metodo può anche essere usato nelle condizioni di campo: per esempio Macfarlane e Ogden (2012) e Chianucci *et al.* (2014 b) suggeriscono di usare LAB2 a meno che il metodo Rosin non fornisca stime sulla copertura vegetale <10%. Il metodo Winscanopy ha fornito buone stime della copertura vegetale con entrambi i tipi di immagini, artificiali o reali, ma solo quando almeno due regioni per classe sono state selezionate da un'immagine rappresentativa. Rispetto agli altri due metodi, Winscanopy ha lo svantaggio della soggettività (è richiesta una sessione di addestramento pratico), del costo elevato del software e, infine, ha dato in generale risultati meno accurati del Rosin.

È improbabile che qualsiasi metodo possa essere accurato del 100% e il controllo di qualità della classificazione delle immagini sarà sempre necessario. Tuttavia, il forte vantaggio dell'utilizzo della fotografia digitale è che il metodo esclude l'errore dell'operatore, aumenta la precisione delle stime della copertura vegetale, consente la riproducibilità delle misure e consente l'ispezione, da parte dell'utente dei risultati della classificazione, a differenza di altri metodi esistenti.

5 Conclusioni

Il confronto del metodo Rosin con il metodo LAB2 ha permesso la messa a punto di un metodo di misurazione adatto per il monitoraggio della copertura vegetale delle colture aromatiche. Il vantaggio ricavato dal presente studio ha permesso di poter monitorare l'accrescimento delle specie aromatiche, oggetto di studio, stimandone la copertura vegetale. Pertanto è opportuno consigliare l'utilizzo del metodo Rosin per misure di routine e monitoraggio delle coperture vegetali nelle colture agricole, sulla base della sua semplicità e accuratezza. In caso di coperture vegetali molto dense, potrebbe essere opportuno l'uso accoppiato dei metodi LAB2 e Rosin per verificare le prestazioni dei due metodi, limitando l'intervento dell'utente al controllo di qualità post-analisi di classificazione. Grazie alla messa a punto di questo metodo si possono monitorare gli accrescimenti studiando la copertura vegetale delle colture. Ciò permette di condurre prove impattando il meno possibile sul disegno sperimentale e sulla densità colturale. Infatti evitando i prelievi distruttivi si eliminano le tare da reintegrare con piante disetanee, oltre a interrompere o viziare la simulazione di una ordinaria produzione biennale di piante aromatiche.

CAPITOLO VIII. Conclusioni e Prospettive Future

Conclusioni generali

Il presente lavoro si è articolato su un approccio preliminare volto a studiare gli effetti sulla sostanza organica del suolo di due ambienti differenti (costiero e montano) a seguito dell'introduzione di colture aromatiche (finocchietto selvatico, menta, timo e origano) adottando tre tipi di fertilizzazione (organica, minerale e organo-minerale). Lo studio si è basato su tre momenti di osservazione: stato iniziale preimpianto (T0); fine primo ciclo colturale (T1), ovvero dopo 6 mesi; fine del secondo ciclo colturale (T2), ovvero dopo 18 mesi.

Sono stati considerati:

- 1) lo stato iniziale della sostanza organica dei suoli (Capitolo V, Paragrafo 3.1, Tabella 4), ove il suolo montano risulta essere più ricco di sostanza organica rispetto al suolo costiero;
- 2) lo studio condotto in mesocosmo sull'attività metabolica dei microrganismi dei suoli con l'aggiunta dei fertilizzanti (Capitolo V, Paragrafo 3.2, Tabella 5a, Figure 1 e 2), ove il *pool* microbico del suolo montano, seppur più ricco di sostanza organica, evidenzia un'attività metabolica più lenta rispetto a quella del suolo costiero più povero di sostanza organica;
- 3) lo studio condotto sull'attività metabolica dei microrganismi dei suoli al termine del primo ciclo colturale (T1) (Capitolo V, Paragrafo 3.3, Tabella 6) ed il confronto con lo stato iniziale (T0) (Capitolo V, Paragrafo 3.1, Figure 3 e 4), conferma quanto ottenuto in mesocosmi di cui al punto 2;
- 4) a seguito dell'inserimento nell'ecosistema delle specie aromatiche e dei fertilizzanti al termine dei 18 mesi della sperimentazione si è evidenziato un processo di mineralizzazione della sostanza organica. Ciò è rappresentato nelle mappe prodotte grazie all'*Empirical Bayesian Kriging* dei dati relativi ai contenuti di TOC e N_{Tot} (Capitolo VI, Paragrafo 5.6, Figure 8-10-12-14) nei tre periodi di osservazione

Il sensibile aumento del contenuto di sostanza organica riscontrato alla fine del primo ciclo colturale in entrambi i suoli (T1, Capitolo V, Paragrafo 3.3, Tabella 6), è dovuto principalmente agli apporti azotati forniti dalle fertilizzazioni organiche e organo-minerali. Infatti, alla fine del secondo ciclo colturale (T2), si è evidenziato un depauperamento del contenuto di sostanza organica nei due suoli rispetto al contenuto di sostanza organica del suolo al primo ciclo (T1), e nel caso del suolo montano (maggiormente dotato di sostanza organica) anche inferiore al contenuto iniziale (T0). L'attività microbica di entrambi i suoli, a seguito delle fertilizzazioni, ha contribuito alla mineralizzazione della sostanza organica, come emerso dallo studio dell'attività microbica condotta in mesocosmo (Capitolo V), fenomeno che nel suolo più ricco di sostanza organica ha prodotto il maggiore effetto. Inoltre,

studiando l'effetto dell'inserimento di queste piante in assenza di fertilizzazione (controllo non fertilizzato) sugli indicatori di fertilità biologica del suolo è stato osservato l'effetto negativo di queste specie sul *pool* microbico del suolo, vista la diminuzione del contenuto di carbonio microbico del suolo nel periodo di osservazione tra il T0 e T1 (Capitolo V, Paragrafo 3.4, Figura 4), oltre a un aumento del quoziente metabolico, segno di una condizione di stress causata da un incremento dell'attività microbica sostenuta da un *pool* microbico di dimensione ridotta rispetto a quella iniziale. Infatti, mentre nel suolo costiero (più povero in contenuto di sostanza organica rispetto a quello montano) si è riscontrato un ripristino pressoché omogeneo del contenuto iniziale di sostanza organica (indice di una maggiore resilienza in caso di inserimento di specie aromatiche che conferma la vocazione di questo ambiente per queste specie), nel suolo montano si è evidenziato un contenuto di sostanza organica inferiore rispetto allo stato iniziale differenziato a seconda delle specie coltivate. Relativamente a quest'ultimo effetto di depauperamento differenziato a seconda delle specie coltivate, una delle ipotesi da approfondire potrebbe essere relativa all'azione svolta dall'apparato radicale in fase di esplorazione e dalla copertura del suolo dovuto dalle specie caratterizzate da un maggiore sviluppo degli apparati (epi-ipogei).

Quindi, in entrambi gli ambienti, al fine di mantenere il giusto contenuto di sostanza organica nei suoli si ritengono necessari ripetuti apporti azotati equilibrati attraverso fertilizzazioni organica e organo-minerale volte a garantire le condizioni idonee all'attività microbica del suolo e al reintegro della componente organica mineralizzata riveniente dall'attività microbica stessa. Ciò in particolare nel suolo con indice di fertilità biologica IBF più elevato, ossia quello montano, che ha mostrato globalmente una diminuzione di fertilità biologica a breve termine (T1) rispetto a quello costiero che invece ha registrato un generale incremento dell'indice.

Pertanto, si può affermare che gli effetti studiati nei due ambienti hanno avuto un carattere differenziato in termini di attività microbica e di contenuto di sostanza organica mineralizzata osservata durante i tre periodi, in cui il suolo dell'ambiente costiero, a differenza di quello montano, si avvantaggia dell'inserimento delle colture aromatiche e degli *input* in termini di attività microbica, come riscontrato nell'aumento di contenuto di carbonio organico totale, tranne nel trattamento con fertilizzante organo-minerale ove, a causa di un evento di ristagno idrico che ha favorito l'attività microbica di microrganismi anaerobici, si è verificato un contenuto finale di carbonio organico totale inferiore rispetto allo stato iniziale.

Nel suolo di Tarquinia, per quanto riguarda l' N_{Tot} , laddove è stato riscontrato un aumento di carbonio determinato dalla fertilizzazione organica nel T1 (Capitolo VI, Paragrafo 5.2, Figura 4, Tabella 2), si è evidenziata una conservazione dell'azoto organico rilasciato nel suolo raggiungendo apici interessanti per finocchietto e menta (Capitolo VI, Paragrafo 5.4, Figura 6, Tabella 4). Al T2,

tendenzialmente, si è evidenziato un depauperamento uniforme della componente azotata tranne che per le specie origano e timo (specie di interesse commerciale inserite nell'esperimento, Capitolo VI, Paragrafo 5.4, Figura 6, Tabella 4), ove sono stati rilevati valori di azoto inferiori persino rispetto alla fase iniziale T0 (Capitolo VI, Paragrafo 5.6, Figura 10).

Nel suolo di Rieti, laddove è stato riscontrato un aumento di carbonio determinato dalla fertilizzazione organica nel T1 (Capitolo VI, Paragrafo 5.3, Figura 5, Tabella 3), si è osservato una conservazione dell'azoto organico rilasciato nel suolo a differenza di quanto riscontrato nel suolo di Tarquinia, mentre nel T2 si evidenzia come i due anni di coltivazione abbiano depauperato omogeneamente il contenuto di azoto tanto da renderlo più povero rispetto all'inizio della prova sperimentale.

In entrambi gli ambienti, nel breve termine di due annate agrarie, la coltivazione delle piante aromatiche, sia nel caso di specie autoctone che in quello delle specie di interesse commerciale (con o senza fertilizzazione), ha comunque determinato un impatto sul contenuto di sostanza organica del suolo. Nell'ambiente montano questo effetto è maggiormente evidente e si rende necessario un buon bilanciamento degli *input/output* organici. Quindi, l'inserimento e/o l'estensione della coltivazione di piante aromatiche in questi due ambienti, ricadenti nella stessa regione, non è da ritenersi sostenibile se non si conosce a fondo lo stato iniziale della fertilità del suolo ove si intende coltivare queste specie.

Si pensava che l'utilizzo dei fertilizzanti organico e organo-minerale, considerato l'apporto organico ed il lento rilascio di questi formulati, avrebbe rappresentato in entrambi i casi un'azione di bilanciamento a favore della frazione organica, invece lo studio condotto in mesocosmo relativo agli effetti dei fertilizzanti sull'attività microbica del suolo ha evidenziato un effetto differenziato dei fertilizzanti nei suoli dei due ambienti. Nel suolo dell'ambiente costiero lo studio sull'effetto del fertilizzante organo-minerale sull'attività microbica del suolo ha evidenziato una respirazione cumulativa ed un contenuto di carbonio organico totale inferiore rispetto agli altri due trattamenti (organico e minerale) ed al controllo non fertilizzato. Nel suolo montano invece è stata osservata un'attività microbica simile tra i due trattamenti a base di fertilizzante organico e organo-minerale, nonostante il diverso apporto di carbonio organico totale determinato dai due fertilizzanti. L'effetto si è reso più evidente nelle prove di coltivazione nel suolo costiero ove al T2 il trattamento organo-minerale ha segnato un contenuto finale di carbonio organico totale inferiore persino a quello iniziale, mentre nel suolo montano si è evidenziata una diminuzione del carbonio organico totale estesa su tutta l'estensione del campo. Quindi, ne deriva che non si può adottare lo stesso fertilizzante in egual quantità per le stesse specie nei due ambienti ricadenti nella stessa regione.

Nel presente studio preliminare di osservazione nel breve termine, considerando il ripristino dei valori di TOC nei *range* iniziali, si è notato che, nonostante sia stata somministrata una sola dose di fertilizzazione all'introduzione delle piante aromatiche, il suolo dell'ambiente costiero di Tarquinia è un ecosistema, per quanto meno dotato, più resiliente, mentre quello di Rieti risulta essere più sensibile e più attivo in risposta agli stimoli della fertilizzazione. Per tali motivi è necessario proseguire le indagini per acquisire maggiori informazioni atte a fornire ulteriori risultati in merito agli effetti riscontrati.

Pertanto, ai fini della conservazione della sostanza organica del suolo, alla luce dei risultati ottenuti dalla sperimentazione e degli effetti riscontrati in due annate agrarie, è da ritenersi necessaria la fertilizzazione specifica in base all'ambiente e alle specie aromatiche che si desidera inserire nel proprio avvicendamento colturale.

Prospettive future

Alla luce di quanto riscontrato nel percorso del presente studio sugli effetti della coltivazione di piante officinali in due ambienti mediterranei differenti, sono sorti alcuni aspetti interessanti su cui sarebbe opportuno indagare e porre l'attenzione in futuro.

Il primo è che osservando le mappe del Carbonio organico del suolo di entrambi i siti si notano molti gradienti nel T2 a Rieti: ciò significa che l'attività metabolica osservata nelle due annate agrarie è in una fase transiente che desta motivo per ulteriori approfondimenti e, quindi, d'indagine. Diversamente, nel suolo di Tarquinia, laddove al T2 era osservabile un contenuto di TOC simile al T0 e distribuito omogeneamente, sarebbe opportuno indagare sul periodo utile affinché si ristabilizzino i contenuti (valutazione effetto “resilienza”).

Il secondo è quello di valutare l'idonea fertilizzazione per conservare la sostanza organica dei suoli per la coltivazione di piante aromatiche in funzione delle caratteristiche del suolo e comprendere meglio i processi microbiologici a livello di impatto sulla comunità microbica del suolo che sono indotti dall'uso di fertilizzanti ammessi in agricoltura ma di formulazione diversa (organico vs. organo-minerale).

Il terzo è uno degli obiettivi perseguiti *in itinere* con l'Università La Sapienza di Roma, e cioè valutare gli aspetti qualitativi degli estratti di menta ai fini della produzione di molecole bioattive. Ciò trova utilità negli studi della vocazionalità di suoli e di ambienti rispetto ad altre specie aromatiche per l'ottimizzazione della produzione di molecole bioattive.

Il quarto è uno degli obiettivi perseguiti *in itinere*, e cioè di produrre un lavoro sul monitoraggio degli accrescimenti e della copertura vegetale in campo attraverso l'analisi di immagini artificiali, quindi escludendo l'errore dell'operatore a favore della raccolta dei parametri. Inoltre, il metodo è risultato

efficace per il monitoraggio e la rilevazione della copertura delle specie aromatiche studiate e potrebbe esserlo anche per lo studio di altre specie.

Bibliografia

- Aciego Petri J.C., Brookes P.C. (2008). Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. *Soil Biology and Biochemistry*. Volume 40, Issue7, pp 1856-1861. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.03.020>
- Ahmed O. S., Franklin S. E., Wulder M. A., & White J. C. (2015). Characterizing stand-level forest canopy cover and height using landsat time series, samples of airborne LiDAR, and the random forest algorithm. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 101, 89e101.
- Amaral W.I., Deschamps C., Machado M.P., Koeler H.S., Scheer A.P., Côcco L.C. (2014). Development of chamomile and essential oil yield and quality at different harvesting times. *Rev. Bras. Plant. Med.* 10, 1–8.
- Angelini A., Corona P., Chianucci F., & Portoghesi L. (2015). Structural attributes of stand overstory and light under the canopy. *Annals of Silvicultural Research*, 39, 23e31. <https://doi.org/10.12899/ASR-993>.
- Anderson J. P. E. (1982). Soil respiration. In: Page, A.L. (ed.) *Methods of soil analysis*, Part 2.
- Anderson T.H., Domsch K.H. (1993). The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology Biochemistry*. 25, 393–395.
- Anderson T.H., Domsh K.H. (2010). Soil microbial biomass: The eco-physiological approach. *Soil Biology and Biochemistry*. 2039-2043.
- Antille D.L., Godwin R.J., (2013). Determining the particle size range of organomineral fertilisers based on the spreading characteristics of the material. American Society of Agricultural and Biological Engineers, St. Joseph, Michigan. Paper number 131620197, 2013 Kansas City, Missouri, July 21 - July 24, 2013. (doi: <http://dx.doi.org/10.13031/aim.20131620197>).
- Arabaci O., Bayram E., (2004). The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristic of *Ocinum basilicum* L. *Basil. – Journal of Agronomy*. 2004, 3(4):255-262;
- ARPAV (1990). L'interpretazione delle analisi del terreno – Strumento per la sostenibilità ambientale. *Verdenauta*.
- Arshad M.A., Schnitzer M., Angers D.A., Ripmeester J.A. (1990). Effects of till vs no-till on the quality of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 22, 5, 595- 599.
- Arshad M.A., Martin S., (2002). Identifying critical limits for soil quality indicators in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 88 (2), 153–160.
- Asner G. P., Martin R. E., Anderson C. B., & Knapp, D. E. (2015). Quantifying forest canopy traits: Imaging spectroscopy versus field survey. *Remote Sensing Of Environment*, 158, 15-27.
- Avagyan A., Karttunen K., DeVit C., Rioux J. (2015) – Learning tool on Nationally Appropriate Mitigation Actions (NAMAs) in agriculture, forestry and other land use (AFOLU) sector – MICCA in Programme Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO) Rome.ISBN 978-92-5-108786-2.
- Barker A V. e Pilbeam D.J. (2015). *Handbook of Plant Nutrition*. 2nd edition. CRC Press. ISBN 9781439881972 – CAT# K13875.
- Baricevic D, Bern´ath J, Maggioni L and Lipman E. (2004). Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. *Gozd Martuljek*, ed. By Baričević D, Bern´ath J, Maggioni L and Lipman E., ECP/GR – IPGRI, Rome, pp. 14–18.

- Bartolucci F., Peruzzi L., Galasso G., Albano A., Alessandrini A., Ardenghi N. M. G., Astuti G., Bacchetta G., Ballelli S., Banfi E., Barberis G., Bernardo L., Bouvet D., Bovio M., Cecchi L., Di Pietro R., Domina G., Fascetti S., Fenu G., Festi F., Foggi B., Gallo L., Gottschlich G., Gubellini L., Iamonico D., Iberite M., Jiménez-Mejías P., Lattanzi E., Marchetti D., Martinetto E., Masin R. R., Medagli P., Passalacqua N. G., Peccenini S., Pennesi R., Pierini B., Poldini L., Prosser F., Raimondo F. M., Roma-Marzio F., Rosati L., Santangelo A., Scoppola A., Scortegagna S., Selvaggi A., Selvi F., Soldano A., Stinca A., Wagensommer R. P., Wilhalm T. & Conti F. (2018) An update checklist of the vascular flora native to Italy. *Pl. Biosystems*, 154(2):179-303.
- Baser K.H.C., Demirci B., Kocak S., Akinci C., Malyer H. e Guleryuz G. (2002). Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Achillea multifida*. *Planta medica* 68(10): 941-943
- Basso F., Bove E., Dumontet S., Ferrara A., Pisante M., Quaranta G., Taberner M. (2000). Evaluating environmental sensitivity at the basin scale through the use of geographic information systems and remote sensed data: an example covering the Agri basin (southern Italy). *Catena* 40, 19–35.
- Bending, G.D., Turner, M.K., Rayns, F., Marx, M.C., Wood, M. (2004). Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. *Soil Biol. Biochem.* 36, 1785–1792.
- Benedetti A. (1983). *Fertilità biologica del suolo e fertilizzanti a lento rilascio*. Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante, Roma.
- Benedetti A. e Sequi P. (1998). “I fertilizzanti organici”. Volume n. 1 della collana PANDA. Edizioni l’Informatore Agrario, ISBN 88-7220-105-5.
- Benedetti A., Dell’Abate M.T., Mocali S., Pompili L. (2006). Indicatori microbiologici e biochimici della qualità del suolo. In: *ATLAS - Atlante di Indicatori della Qualità del Suolo*. Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, Osservatorio Nazionale Podologico. Edizioni Delta Grafica, Città di Castello (Perugia).
- Blair GJ, Lefroy RDB and Lisle L. (1995). Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems, *Australian Journal of Agricultural Research* 46(7) 1459 – 1466.
- Bloem, J., Benedetti, A., Hopkins, D. (2006). *Microbial Methods for Assessing Soil Quality*. CABI 2005, London.
- Boira H and Blanquer A. (1998). Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochem Syst Ecol* 26:811–822.
- Borrelli L., Farina R., Melchiorre Carroni A., Ruda P., Salis M., Bazzoffi P., Carnevale S., Rocchini A., Virzi N., Intrigliolo F., Palumbo M., Cambrea M., Platania A., Sciacca F., Licciardiello S., Troccoli A., Russo M., Speroni M., Cabassi G., Degano L., Fuccella R., Francaviglia R., Neri U., Falcucci M., Simonetti G., Masetti O., Renzi G., Ventrelle D., Vonella V.A., Giglio L., Fornaro F., Leogrande R., Vitti C., Mastrangelo M., Montemurro F., Sartori E., Barbieri A., Fagotto F., Fedrizzi F., Sperandio G., Pagano M., Fanigiulo R., Guerrieri M., Puri D., Taglibue P., Colauzzi M. (2011). Efficacia ambientale dello Standard BCCA di condizionalità 2.2 “Mantenimento del livello di sostanza organica nel terreno mediante l’avvicendamento delle colture” e valutazione economica del differenziale di competitività a carico delle aziende agricole. *Italian Journal of Agronomy*. DOI:10.4081/ija.2015.689
- Borugă, O., Jianu, C., Mișcă, C., Goleț, I., Gruia, A.T., Horhat, F.G. (2014). *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and antimicrobial activity - *Journal of medicine and life*, Volume 7. 3, 2014, Pages 56-60.

- Bossio D., Scow K., Gunapala N. (1998). *Microb Ecol* 36: 1.
- Booth D. T., Cox S. E., Fifield C., Phillips M., & Williamson N. (2005). Image analysis compared with other methods for measuring ground cover. *Arid Land Research and Management*, 19, 91e100.
- Brookes P.C. (1995). The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology and Fertility of Soil* 19, 269-279.
- Bulluck L.R., Brosius M., Evanoylo G.K., Ristaino J.B. (2002). Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology* 19, 147-160.
- Burney J.A., Davis S.J., Lobell D.B. (2010). Greenhouse gas mitigation by agricultural intensification. *PNAS* 107, 12052-12057.
- Camilli B., Dell'Abate M.T., Mocali S., Fabiani A., Dazzi C. (2016). Evolution of organic carbon pools and microbial diversity in hyperarid anthropogenic soils. *J. Arid Environ.* 124, 318–331.
- Cantino P.D. (1990). The phylogenetic significance of stomata and trichomes in the Labiatae and Verbenaceae. *Journal of Arnold Arbiculture*, 71:323-370
- Carozza F. (2011). L'agricoltura mondiale oltre il 2020: sostenibilità della produzione europea e ruolo dei nuovi Paesi protagonisti. *Atti dei Georgofili 2011. Accademia dei Georgofili*.
- Catizone P., Marotti M., Toderi G. e Tetenyi P. (1986). *Coltivazione delle piante aromatiche*. Patron Editore. Bologna.
- Carruba A. (2015). Sustainable Fertilization in Medicinal and Aromatic Plants. *Medicinal and Aromatic Plants of the World: Scientific, Production, Commercial and Utilization Aspects* (pp.187-203).
- Castrignanò A., D'Agostino V. e Lopez G. (1998). A new Geostatistical non-parametric approach for estimating soil salinity. *Atti del "First Trans-National Meeting" su "Salinity as a Limiting Factor for Agricultural Productivity in the Mediterranean Basin"*, Napoli, 24-25 marzo 1997.
- Chander K., Goyal S., Mundra M.C., Kapoor K. (1997). Organic Matter, microbial biomass and enzyme activity of soils under different crop rotations in the tropics. *Biology and Fertility of Soils*. 24, 306– 310.
- Chianucci F. (2016). A note on estimating canopy cover from digital cover and hemispherical photography. *Silva Fennica*, 50, 11. <https://doi.org/10.14214/sf.1518>.
- Chianucci F., Cutini A. (2012). Digital hemispherical photography for estimating forest canopy properties: Current controversies and opportunities. *IForest-biogeosciences and Forestry*, 5, 290-295
- Chianucci F., Cutini A. (2013). Estimation of canopy properties in deciduous forests with digital hemispherical and cover photography. *Agricultural and Forest Meteorology*, 168, 130-139.
- Chianucci F., Cutini A., Corona P., Puletti N. (2014 a). Estimation of leaf area index in understory deciduous trees using digital photography. *Agricultural and Forest Meteorology*, 198, 259-264.
- Chianucci F., Disperati L., Guzzi D., Bianchini, D., Nardino, V., Lastri C. (2016). Estimation of canopy attributes in beech forests using true colour digital images from a small fixed-wing UAV. *International Journal of Applied Earth Observation And Geoinformation*, 47, 60e68.
- Chianucci F., Lucibelli A., Dell'Abate M.T. (2018). Estimation of ground canopy cover in agricultural crops using downward-looking photography. *Biosystems engineering* 169 (2018) 209 e 216. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2018.02.012>

- Chianucci F., Puletti N., Venturi E., Cutini A., Chiavetta, U. (2014 b). Photographic assessment of overstory and understory leaf area index in beech forests under different management regimes in Central Italy. *Forestry Studies*, 61, 27e34.
- Colombo M.L., Dalfrà S., Manzo A., Pistelli L., Di Renzo L. (2014). La filiera delle piante officinali. Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, Ministero della Salute.
- Conant R.T., Paustian, K. Elliott, E.T. (2001). Grassland management and conversion into grassland: effects on soil carbon. *Ecological Applications* 11, 343–355.
- Curry J.P., Good J.A., (1992) Soil Faunal Degradation and Restoration. In: Lal R., Stewart B.A. (eds) *Soil Restoration. Advances in Soil Science*, vol 17. Springer, New York, NY.
- D'Antuono L. F., Galletti G. C., Bocchini P. (2000). Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. populations from a North Mediterranean area (Liguria region, Northern Italy). *Annals of botany*, 86:471-478
- Darrah, P.R. (1993). The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach. *Plant Soil* 155, 1–20. <https://doi.org/10.1007/BF00024980>.
- De la Fuente EB, Gil A, Lenardis AE, López Pereira M, Suárez SA, Ghersa CM (2003). Response of winter crops differing in grain yield and essential oil production to some agronomic practices and environmental gradient in the Rolling Pampa, Argentina. *Agriculture Ecosystems Environment* 99:159–169.
- Del Greco A, Baričević D, Maggioni L and Lipman E, (2009). Report of a Working Group on Medicinal and Aromatic Plants. Olomouc, ECP/GR, Bioversity International, Rome, pp. 15–28.
- De Maria G., (1992). *Le nostre erbe e piante medicinali*, Fratelli Melita editori, 37-40.
- Dick R.P., Gupta V.V.S.R., (1994). A conceptual model for the role of abiotic soil enzymes in microbial ecology: a potential analogue for soil quality. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R., Grace, P.R. (Eds.), *Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems*. CSIRO, Melbourne, pp. 167–168.
- Dommergues Y., (1960). La notion de coefficient de mineralisation du carbone dans le sols. *L'Agronomie tropicale* XV(I), 54-60.
- Doran J.W., Coleman D.C., Bezdicek D.F., Stewart B.A. (1994). *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. SSSA Spec. Publ. 35SSSA and ASA, Madison, WI <http://dx.doi.org/10.2136/sssaspecpub35>.
- Douglas W. Pribyl, (2010). A critical review of the conventional SOC to SOM conversion factor. *Geoderma* 156: 75-83.
- Eldor A. Paul (2016). The nature and dynamics of soil organic matter: Plant inputs, microbial transformations, and organic matter stabilization. *Soil Biology & Biochemistry*, 98, 109-126.
- FAO (2008). Proceedings of the international Technical Workshop on investing in sustainable crop intensification: the case of improving soil health, 22-24 July. *Integrated Crop Management*, 6. FAO, Rome. www.fao.org/ag/ca/.
- Fathizadeh O., Hosseini, S. M., Zimmermann, A., Keim, R. F., & Bolorani, A. D. (2017). Estimating linkages between forest structural variables and rainfall interception parameters in semi-arid deciduous oak forest stands. *Science of the Total Environment*, 601, 1824–1837.
- Federici E., Multari G., Gallo F. R., Palazzino G. (2005). Le droghe vegetali: dall'uso tradizionale alla normativa. *Annuario Istituto Superiore della Sanità*, 41(1):49-54.
- Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G., Scheffer J. J. C. (1997). Physiological aspects of essential oil production. *Essential oils: Basic and applied research, Proceedings of the 27th*

international symposium on essential oils, Allured Publishing, Carol Stream: Franz, Ch., Máthé, Á. and Buchbauer, G., editors, 95-107.

- Figueiredo C. A., Barroso J. Pedro L. G., Scheffer J. J.C., (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 23(12): 213-226.
- Fleisher Z., Fleisher A. e Nachbar R.D. (2002). The chemiovariation of *Artemisia herba alba* Asso. Aromatic plants of the Holy land and the Sinai. Par XVI. *JEOR* 14(3): 156-160.
- Florio A., Felici B., Migliore M., Dell'Abate M.T., Benedetti A., (2016). Nitrogen losses, uptake and abundance of ammonia oxidizers in soil under mineral and organo-mineral fertilization regimes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96:2440-2450, <https://doi.org/10.1002/jsfa.7364>
- Franz C. (1996). Significant medicinal and aromatic plants to be cultivated in the Mediterranean region, in *Proceedings of the conference Cultivation and Breeding of Medicinal Plants*, Trento, ISAF/MiRAAF, pp. 239–250.
- Fuentes J.P., Bezdicek D.F., Flury M., Albrecht S., Smith J.L. (2006). Microbial activity affected by lime in a long-term no-till soil. *Soil and Tillage Research*. Volume 88, Issue 1-2, pp 123-131. <https://doi.org/10.1016/j.still.2005.05.001>
- Geisseler D., Scow K.M. (2014). Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganism. *Soil Biology and Biochemistry*. Volume 75, pp 54-63.
- Goovaerts P. (1997). *Geostatistics for natural resources evaluation*. New York, Oxford – Oxford University Press.
- Goovaerts P., Journel A.G. (1995). Integrating soil map information in modelling the spatial variation of continuous soil properties. *European Journal of Soil Science*, 46:397-414).
- Goovaerts P., Webster R., Dubois J.P. (1996) Assessing the risk of soil contamination in the Swiss Jura Using indicator geostatistics. *Environmental and Ecological Statistics*, 3.
- Green V.S., Stott D.E., Cruz J.C., Curi N. (2007) Tillage impacts on soil biological activity and aggregation in a Brazilian Cerrado Oxisol. *Soil and Tillage Research*, 92, 114-121.
- Gunapala, N., Scow, K.M. (1998). Dynamics of soil microbial biomass and activity in conventional and organic farming systems. *Soil Biology and Biochemistry*. 30, 805–816.
- Hahn I., & Scheuring I. (2003). The effect of measurement scales on estimating vegetation cover: A computer-assisted experiment. *Community Ecology*, 4, 29-33.
- Herrick, J.E., (2000). Soil quality: an indicator of sustainable land management? *Applied Soil Ecology* 15, 75–83.
- Houghton R. A., Davidson E. A. & Woodwell G. M. (1998) Missing sinks, feedbacks, and understanding the role of terrestrial ecosystems in the global carbon balance. *Global Biogeochem. Cycles* 12, 25–34.
- Hu L., Robert C.A.M., Cadot S. (2018). Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nature Communications* 9, 2738 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05122-7>
- [Hulbert S. H. \(1984\). *Pseudoreplication and the Design of Ecological Field Experiments*. *Ecological Monographs*, Volume 54, Issue 2. https://doi.org/10.2307/1942661](https://doi.org/10.2307/1942661)
- Ilić D.P., Stanojević L.P., Troter D.Z., Stanojević J.S., Danilović B.R., Nikolić V.D., Nikolić L.B., (2019) Improvement of the yield and antimicrobial activity of fennel (*Foeniculum vulgare*

Mill.) essential oil by fruit milling - *Industrial Crops and Products*, Volume 142, 15 December 2019, Article number 111854.

- Insam H. & Haselwandter K. (1989). Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. *Oecologia* 79, 174-178.
- Isermeyer H. (1952). Eine Einfache Methode sur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. *Z Pflanzanernah Bodenk* 56: 6–38.
- ISMEA (1994) - Ministero delle Risorse Agricole, Alimentari e Forestali, Osservatorio Nazionale Pedologico per la Qualità del Suolo. Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo con commenti ed interpretazioni.
- ISMEA (2013) – Piano di settore della filiera delle piante officinali 2014-16. Mipaaf.
- Jannoura R., Brinkmann K., Uteau D, Bruns C., & Joergensen, R. G. (2015). Monitoring of crop biomass using true colour aerial photographs taken from a remote controlled hexacopter. *Biosystems Engineering*, 129, 341-351.
- Jenkinson D.S. (1965). Studies on the Decomposition of Plant Material in SOil.I; Losses of Carbon from 14Carbon Labelled RyegrassIncubated with Soil in the Field. *Journal of Soil Science and Plant*, 16: 104-115.
- Jenkinson D.S., Fox R.H., Rayner J.H. (1985). Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen – the so-called “priming” effect. *European Journal of Soil Science*, Volume 36, Issue 3, pp. 425-444. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1985.tb00348.x>
- Juang T.C., Wang M.K., Chen H.J., Tan C.C. (2001). Ammonium fixation by surface soils and clays. *Soil Science Vol* 166, Issue 5, 345-352
- Juteau F., Jerkovic I., Masotti V., Milos M., Mastelic J., Bessiere J.M. e Viano J. (2003) Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France. *Planta Medica* 69(2): 158-61.
- Kang G., Beri V., Sidhu B., Rupela O. (2005). A new index to assess soil quality and sustainability of wheat-based cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 41, 389–398.
- Kazakis N., Voudouris K.S. (2015). Groundwater vulnerability and pollution risk assessment of porous aquifers to nitrate: Modifying the DRASTIC method using quantitative parameters. *Journal of Hydrology*. Volume 525, Pages 13-25 <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2015.03.035>
- Kirschenmann F., (2010). Alternative agriculture in an energy- and resource-depleting future. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 25(2), 85-89. doi:10.1017/S1742170510000141.
- Klironomos, J. N. (2002). Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature* 417, 67–70.
- Kokkini S. (1997). Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. *Oregano*. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, 8-12 may 1996, Valenzano (Bari), Italy. 2-12, Padulosi S. editor.
- Kosakowska O., Węglarz Z., Bączek K., (2019). Yield and quality of ‘Greek oregano’ (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*) herb from organic production system in temperate climate - *Industrial Crops and Products*, Volume 141, 1 December 2019, Article number 111782).
- Kowalenko C.G., Ivarson K.C., Cameron D.R., (1978). Effect of moisture content, temperature and nitrogen fertilization on carbon dioxide evolution from field soils. *Soil Biol. Biochem. J.* 10,417–423.
- Kuzyakov Y., Friedel J.K., Stahr K. (2000) Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Chemistry*. 32, 1485-1498.

- Ladd T.I., Ventullo R.M., Wallis P.M., Costerton J.W. (1982) Heterotrophic activity and biodegradation of labile and refractory compounds by groundwater and stream microbial populations, *Applied and Environmental Microbiology* Aug 1982, 44 (2) 321-329.
- Landi L. (1994). Breeding of medicinal and aromatic species, *Acta Accademia dei Georgofili* 40:160–189.
- Landi L., Renella G., Nannipieri P., (2000). Indicatori chimici della qualità del suolo: il ruolo della sostanza organica. *Rendiconti Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL, Memorie di Scienze Fisiche e Naturali* 118°, vol. XXIV: 239-248.
- Lanza D., (2011) *La Coltivazione dell'Origano nell'Alto Jonio cosentino: un'alternativa produttiva.*
- Liebig M.A., Doran J.W., (1999). Impact of organic production practices on soil quality indicators. *Journal Environmental Quality* 28, 1601–1609.
- Lillesand T.M., Kiefer R.W., & Chipman J.W., (2008). *Remote sensing and image interpretation* (6th ed.). Hoboken, NJ: Wiley.
- Liu Y., Mu X., Wang H., & Yan G., (2012). A novel method for extracting green fractional vegetation cover from digital images. *Journal of Vegetation Science*, 23, 406 418.
- Liu J., & Pattey E., (2010). Retrieval of leaf area index from top-of-canopy digital photography over agricultural crops. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150, 1485 1490.
- Liu J., Pattey E., & Admiral S., (2013). Assessment of in situ crop LAI measurement using unidirectional view photography. *Agricultural and Forest Meteorology*, 169, 25e34.
- Liu N. F., & Treitz P., (2016). Modelling high arctic percent vegetation cover using field digital images and high resolution satellite data. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 52, 445-456.
- Lopedota O., Bianco V., (2009). Mediterranean wild herbaceous species, salinity tolerant, used for food and medicinal uses, (in Italian) *Italian Journal of Agronomy*, 4, pp. 663-668.
- Louhaichi M., Borman M. M., & Johnson D. E. (2001). Spatially located platform and aerial photography for documentation of grazing impacts on wheat. *Geocarto International*, 16, 65-70.
- Luscier J. D., Thompson W. L., Wilson J. M., Gorham B. E., & Dragut L. D. (2006). Using digital photographs and object-based image analysis to estimate percent ground cover in vegetation plots. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 4, 408-413.
- MacCarthy P., Clapp C.E, Malcom R.L., Bloom P.R. (1990). *Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings*. Soil Science Society of America, Madison, WI, USA. ISBN 0-89118-104-0.
- Macedo S. S., Magno Queiroz J. L., Menezes Nogueira P.A., Blank A.F., Sampaio S.T., Oliveira Pinto J.A., Wisniewski A.J. (2017). Organo-mineral fertilization effects on biomass and essential oil of lavender (*Lavandula dentata* L.). *Industrial Crops and Products*, Volume 103, September 2017, Pages 133-140 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.004>.
- Macfarlane C. (2011). Classification method of mixed pixels does not affect canopy metrics from digital images of forest overstory. *Agricultural and Forest Meteorology*, 151(7), 833 840.
- Macfarlane C., Ogden G. N. (2012). Automated estimation of foliage cover in forest understory from digital nadir images. *Methods in Ecology and Evolution*, 3, 405 415.
- Macfarlane C., Ryu Y., Ogden G. N., Sonnentag O. (2014). Digital canopy photography: Exposed and in the raw. *Agricultural and Forest Meteorology*, 197, 244 253.

- Madejón E., Murillo J.M., Moreno F., Lúpez M.V., Arrue J.L., Alvaro-Fuentes J., and Cantero C. (2009). Effect of long-term conservation tillage on soil biochemical properties in Mediterranean Spanish areas. *Soil Tillage Research*, 105, 55-62.
- Mancinelli R., Campiglia E., Di Tizio A., Marinari S. (2010). Soil carbon dioxide emission and carbon content as affected by conventional and organic cropping systems in Mediterranean environment. *Applied Soil Ecology*. Elsevier. doi: 10.1016/j.apsoil.2010.06.013.
- Marinari S., Mancinelli R., Campiglia E., Grego S. (2006). Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in Central Italy. *Ecological Indicators* 6 (2006) 701–711. Elsevier. doi: 10.1016/j.ecolind.2005.08.029.
- McConnell J. and Anderson S. (2002), Micronutrients for coriander and dill; macronutrients for coriander, dill, and caraway, Spoke Program Research Report. Saskatchewan Agriculture and Food, Saskatoon, pp. 175–176.
- Mclaren K. (1976). The development of the CIE 1976 (L*a*b*) uniform colour-space and colour-difference formula. *Journal of the Society of Dyers and Colourists*, 92, 338-341.
- Melero S., Porras J.C., Herencia J.F., Madejon E. (2006). Chemical and biochemical properties in a silty loam soil under conventional and organic management. *Soil Tillage Research*, 90, 162-170. doi.org/10.1016/j.still.2005.08.016
- Melillo J.M., Aber J.D. and Muratore J.F., 1982. The influence of substrate quality on leaf litter decay in a northern hardwood forest. *Ecology*, 63, 62
- Metodi di analisi chimica del suolo (2000) Franco Angeli Editore.
- Metodo Ufficiale n. I.1. Supplemento Ordinario G.U. n.61 del 13.03.2004.
- Meul, M., Van Meirvenne, M., (2003). Kriging soil texture under different types of non stationarity. *Geoderma* 112, 217–233. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0016-7061 (02)00308-7.
- Millenium Ecosystem Assessment (MEA), (2005). Current state and trends: findings of the conditions and trends working group. In: Hassan, R., Scholes, R., Ash, N. (Eds.), *Ecosystems and Human Well-being*. Island Press, Washington DC, USA. <http://millenniumassessment.org/documents/document.356.aspx.pdf>.
- Ministero per le Politiche Agricole (1999). Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo. D.M. del 13/09/99, *Gazzetta Ufficiale* n. 248 del 21.10.99
- Mora M., Avila F., Carrasco-Benavides M., Maldonado G., Olguin-Caceres J., & Fuentes S. (2016). Automated computation of leaf area index from fruit trees using improved image processing algorithms applied to canopy cover digital fotografies. *Computers and Electronics in Agriculture*, 123, 195-202.
- Morelli I., (1981). *The Active Ingredients of Medicinal Plants*. Edagricole, Bologna.
- Morison R. (1672). *Plantarum Umbelliferarum Distributio Nova*. Eebo Editions, January 2011.
- Mulas M. and Mulas G. (2005). Cultivar selection from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) spontaneous populations in the Mediterranean area. *Acta Horticultural*, 676:127–133.
- Munkholm L., Schjønning P., Deboz K., Jensen H. E. and Christensen B. (2002). Aggregate strength and mechanical behaviour of a sandy loam soil under long-term fertilization treatments. *European Journal of Soil Science*, 53: 129-137. doi:10.1046/j.1365-2389.2002.00424.x.
- Muñoz-Rojas M., Erickson T.E., Dixon K.W., Merritt D.J. (2016). Soil quality indicators to assess functionality of restored soils in degraded semiarid ecosystems. *Restoration Ecology*, 24, S43–S52.

- Muscolo A., Panuccio M.R., Mallamaci C., Sidari M. (2014). Biological indicators to assess short-term soil quality changes in forest ecosystems. *Ecological Indicators*, 45, 416–423.
- Nannipieri P., Ciardi C. (1982). La problematica relativa ai processi di mineralizzazione dell'azoto nel terreno: una introduzione. *Informatore botanico italiano*, vol. 14 pp. 134-136.
- Nannipieri P., Grego S., Ceccanti B., Bollag J.M., Stotzky G. (1990). Ecological significance of the biological activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 6, 293–355.
- Nannipieri, P. (1993). *Ciclo della sostanza organica nel suolo: aspetti agronomici, chimici, ecologici e selvicolturali*. Patron Editore. ISBN 8855522434.
- Nannipieri, P. (1994). The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta VVSR, Grace, PR. (Eds.), *Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems*. CSIRO, Melbourne, pp. 238–244.
- Napoli R., Paolanti M., Riviaccio R., Di Ferdinando (2019). La Carta dei suoli del Lazio in scala 1:250.000. Atlante con Vol., 1 pagg. 1-320, e Legenda con note illustrative, pagg. 1-73. ARSIAL - Regione Lazio. Publisher: Selca.
- Nardi P., Di Matteo G., Palahi M., Scarascia Mugnozza G. (2016). Structure and Evolution of Mediterranean Forest Research: A science Mapping Approach. *PloS ONE* 11(5): e0155016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155016>
- Nelson D. W. & Sommers L. E. (1982). Total carbon, organic carbon and organic matter. In: A. L. Page, R. H. Miller & D. R. Keeney (eds). *Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy* 9, (2nd edn). American Society of Agronomy, Madison, USA. pp. 539-579.
- Novak J., Draxler L., Gohler I., Franz C. M. (2005). Essential oil composition of *Vitex agnus-castus* - Comparison of accessions and different plant organs. *Flavour and Fragrance journal*, 20 (2):186-192.
- Oberholzer H.R., Höper H. (2000). Reference Systems for the Microbiological Evaluation of Soils. 55. *Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten*, pp. 19–34.
- OECD (2007). Gross nitrogen balances – Handbook. Eurostat. www.oecd.org/tad/env/indicators
- Panero M.S. (1985) *Il pH del terreno*. Edagricole.
- Parras-Alcántara L., Díaz-Jaimes L., Lozano-García B. (2015). Organic farming affects C and N in soils under olive groves in Mediterranean areas. *Land Degrad. Dev.* 26, 800–806.
- Pascale A, Proietti S, Pantelides IS and Stringlis IA (2020) Modulation of the Root Microbiome by Plant Molecules: The Basis for Targeted Disease Suppression and Plant Growth Promotion. *Frontiers in Plant Science*, 10:1741. doi: 10.3389/fpls.2019.01741
- Patrignani A., & Ochsner T. E. (2015). Canopeo: A powerful new tool for measuring fractional green canopy cover. *Agronomy Journal*, 107, 2312-2320.
- Pfeifer M., Korhonen L., Wheeler C., & Rautiainen M. (2017). Forest canopy structure and reflectance in humid tropical Borneo: A physically-based interpretation using spectral invariants., *Remote Sensing of Environment*, 201 314 330.
- Piano di settore delle piante officinali 2013-2016 il punto coldiretti, 2018 <https://www.ilpuncocoldiretti.it/wp-content/uploads/2018/02/Piano-Settore-officinali.pdf>
- Piccaglia R., Marotti M., Galletti G.C. (1989). Effect of Mineral Fertilizers on the Composition of *Salvia officinalis* Oil. *Journal of Essential Oil Research*. Volume 1, 1989 – Issue 2, pages 73-83. <https://doi.org/10.1080/10412905.1989.9697754>

- Piccolo A. (Ed.) (1996). *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*. Elsevier, Amsterdam. ISBN 0-444-81516-3.
- Pignatti S. (1982). *Flora d'Italia Edagricole* vol 3.
- Pompili L., Mellina A.S., Benedetti A., Bloem J. (2008). Microbial indicators in three agricultural soils with different management. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17, 1128–1136.
- Ponnamperuma F.N. (1984) *Effects of Flooding on Soils – International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines – Physiological Ecology, A series of Monographs, Texts and Treatises, Flooding and Plant Growth* edited by T.T. Kozlowski, Department of Forestry University of Wisconsin Madison, Wisconsin.
- Popović I. and Obratov-Petković D. (2004) Medicinal plants on serpentinite of Divčibare, in *Proceedings of the conference Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries, Nitra*, ed. By Habán M, Slovak University of Agriculture, Nitra, p. 38.
- Provorov N.A., Vorobyov N.I. (2006). Interplay of Darwinian and frequency-dependent selection in the host-associated microbial populations. *Theoretical Population Biology*, 70 (2006), pp. 262–272.
- Quinlan M.B., Quinlan R. e Nolan J.M. (2002). Ethnophysiology and herbal treatments of intestinal worms in Dominica. *West Indies. Journal of Ethnopharmacology* 80(1): 75-83.
- Radanović D., Antić-Mladenović S. (2012). Uptake, Accumulation and Distribution of Potentially Toxic Trace Elements in Medicinal and Aromatic Plants. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology- 6 (special Issue 1)*, 54-68 – Global Science Books.
- Raimondo F.M., Gianguzzi L. and Ilardi V. (1992). Inventory of at risk species in the vascular flora of Sicily (in Italian). *Quaderni di Botanica Ambientale e Applicata* 3:65–132.
- Ramirez-Garcia, J., Almendros, P., & Quemada, M. (2012). Ground cover and leaf area index relationship in a grass, legume and crucifer crop. *Plant Soil and Environment*, 58, 385–390.
- Rautiainen M., Stenberg P., & Nilson T. (2005). Estimating Canopy cover in Scots pine stands. *Silva Fennica*, 39, 137–142.
- Reddy K.R. and Patrick W.H. jr (1974). Effect of alternate aerobic and anaerobic conditions on redox potential, organic matter decomposition and nitrogen loss in a flooded soil. *Soil Biology Biochemistry*. 7, 87-94. Pergamon Press 1975. Printed in Great Britain.
- Reeves D.W. (1997). The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil and Tillage Research*. 43, 131–67.
- Renzi G., Canfora L., Salvati L., Benedetti A. (2017). Validation of the soil biological fertility index (BFI) using a multidimensional statistical approach: a country-scale exercise. *Catena* 149, 294–299.
- Renzi G., Benedetti A. (2015). Caratterizzazione microbiologica dei suoli. Progetto di Monitoraggio Ambientale su tutto il Territorio della Regione Lombardia (Progetto Soil): Indagine conoscitiva della qualità e dello stato di salute dei suoli lombardi, Report EUR 27161 IT. Publications Office of the European Union Luxembourg, pp. 309–315.
- Richardson M. D., Karcher D. E., & Purcell L. C. (2001). Quantifying turfgrass cover using digital image analysis. *Crop Science*, 41, 1884–1888.
- Robles C. and Garzino S. (2000). Intraspecific variability in the essential oil composition of *Cistus monspeliensis* leaves. *Phytochemistry* 53:71–75.
- Rosin P. L. (2001). Unimodal thresholding. *Pattern Recognition*, 34, 2083–2096.

- Roth, L., & Streit, B. (2018). Predicting cover crop biomass by lightweight UAS-based RGB and NIR photography: An applied photogrammetric approach. *Precision Agriculture*, 19(1), 93-114.
- Rusco E., Jones R.J., Bidoglio G. (2001). Organic matter in soil of Europe: present status and future trends. EUR 20556 EN. JRC, Office for Official Publication of the European Communities Luxembourg.
- Russo M., Galletti G. C., Bocchini P., Carnacini A. (1988). Essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Iestwaart): a preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by Cluster Analysis. 1. Inflorescences, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, (9):3741 – 3746,
- Ryu Y., Sonnentag O., Nilson T., Vargas R., Kobayashi H., Wenk R. (2010). How to quantify tree leaf area index in an open savanna ecosystem: A multi-instrument and multimodel approach. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150, 63-76.
- Satović Z, Legal Protection (2004) Conservation and Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants in Croatia. Medicinal and Aromatic Plants (ECP/GR) Working Group. Gozd Martuljek, ed. by Baričević D, Bernáth J, Maggioni L and Lipman E. ECP/GR – IPGRI, Rome, pp. 34–38.
- Sbaraglia M., Lucci E. (1994). Guida all'interpretazione dell'analisi del terreno ed alla fertilizzazione. Studio Pedon, Pomezia.
- Scheffer J. J. C. (1993) The isolation of essential oils – factors influencing the oil composition. *Acta Hort* 344:1–8.
- Schippmann U., Leaman D.J. and Cunningham A.B. (2002), Impact of cultivation and gathering of medicinal plants on biodiversity: global trends and issues, in *Biodiversity and the Ecosystem Approach in Agriculture, Forestry and Fisheries*. Genetic resources for food and agriculture, inter-departmental working group on biological diversity for food and agriculture. FAO, Rome.
- Schippmann U., Leaman D.J. and Cunningham A.B. (2006) A comparison of cultivation and wild collection of medicinal and aromatic plants under sustainability aspects, in *Medicinal and Aromatic Plants*, ed. by Bogers RJ, Craker LE and Lange D. Springer, Dordrecht, pp. 75–95.
- Schneider E. (2004). The Origin of Medicinal Plants in Central Europe – An Ecological Approach. Medicinal and Aromatic Plants (ECP/GR) Working Group. Gozd Martuljek, ed. by Baričević D, Bernáth J, Maggioni L and Lipman E., ECP/GR – IPGRI, Rome, pp. 21–24.
- Schoelnholtz S.H., Van Miegroet H., Burger J.A. (2000). A review of chemical and physical properties as indicators of forest soil quality: challenges and opportunities – *Forest Ecology and Management*, Volume 138, Issue 1-3, 1 November 2000, Pages 335-356.
- Sequi P. (1989). *Chimica del suolo*. Pàtron, Bologna.
- Sen D. (1996). Effect of Ginseng Cultivation on Chemical Properties of Soil. *Journal of Jilin Agricultural University*; 1996-03.
- Sharafzadeh S., Ebrahimi M. H., Bazrafshan F. (2014). The influence of nitrogen levels on growth and bulb yield of two garlic cultivars. *Pelagia research Library - European Journal of Experimental Biology*, 4(1):270-272.
- Singh S.D., Rao J.S. (1994). Yield-water-nitrogen response analysis in coriander. *Ann Arid Zone* 3(33):239–243.
- Smith O. H., Petersen G. W., Needelman B. A. (2000). Environmental indicators of agroecosystems. *Advances in Agronomy*, vol.69: 75-97.

- Sofa A., Ciarfaglia A., Scopa A., Camele I., Curci M., Crecchio C., Xiloyannis C., Palese A.M. (2014) Soil microbial diversity and activity in a Mediterranean olive orchard using sustainable agricultural practices, in *Soil Use and Management*, vol. 30, 160-167, doi:10.1111/sum.12097.
- Song G. Z. M., Doley D., Yates, D., Chao K. J., & Hsieh C. F. (2014). Improving accuracy of canopy hemispherical photography by a constant threshold valued derived from an unobscured overcast sky. *Canadian Journal of Forest Research*, 44, 17-27.
- Song, W., Mu, X., Yan, G., & Huang, S. (2015). Extracting the green fractional vegetation cover from digital images using a shadow-resistant algorithm (SHAR-LABFVC). *Remote Sensing*, 7(8), 10425-10443.
- Sparks D.L. (1995). *Environmental Soil Chemistry*. Academic Press, San Diego, USA.
- Sreevalli Y., Kulkarni R.N., Baskaran K., Chandrashekara R.S. (2004). Increasing the content of leaf and root alkaloids of high alkaloid content mutants of periwinkle through nitrogen fertilization. *Industrial Crops and Products*. Volume 19, Issue 2, March 2004, Pages 191-195. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2003.09.005>
- Stevenson F. J. (1986). *Cycles of Soil. Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*. John Wiley&Sons, New York, USA. ISBN 0-471-82218-3.
- Strasburger E. (2007). *Trattato di Botanica*. Antonio Delfino editore, 2:850.
- Stockmann U., M.A. Adams, J.W. Crawford, D.J. Field (2013) The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon *Agriculture, Ecosystems and Environmental*, 164, pp. 80-99.
- Tilman D., Cassman K.G., Matson P.A., Naylor R., Polasky S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 671–677.
- Tombesi L. (1977) *Elementi di scienza del suolo e di biologia vegetale. Guida all'interpretazione delle analisi dei terreni*. Edagricole- Edizioni Agricole. Bologna, 1977; br., pp. VIII-438, ill. ISBN: 88-2061917-2 – EAN: 9788820619176.
- Trumbore S.E. and Torn M.S., 2003. *Soils and the Global Carbon Cycle*. Earth System Science, University of California.
- Ushiki J, Hayakawa Y., Tadano T. (1996) Medicinal plants for suppressing soil-borne plant diseases: I. Screening for medicinal plants with antimicrobial activity in roots. *Soil Science and Plant Nutrition*, 42:2, 423-426 <https://doi.org/10.1080/00380768.1996.10415116>.
- Valgimigli L. (2012) Essential oils: an overview on origins, chemistry, properties and uses. In L. Valgimigli, *Essential oils as natural food additives*. New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Valdinar B. Santos, Ademir S.F. Araújo, Luiz F.C. Leite, Luís A.P.L. Nunes, Wanderley J. Melo (2012). Soil microbial biomass and organic matter fractions during transition from conventional to organic farming systems, *Geoderma*, Volume 170, Pp. 227-231, ISSN 0016-7061, <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.11.007>.
- Valtcho D. Zheljzkov, Charles L. Cantrell, Tess Astatkie, and M. Wayne Ebelhar (2009). Peppermint Productivity and Oil Composition as a Function of Nitrogen, Growth Stage, and Harvest Time, *Agronomy Journal*, Volume 102, Issue I, doi:10.2134/agronj2009.0256
- Van Bemmelen J.M. (1890). Über die Bestimmung des Wassers, des Humus, des Schwefels, der in den colloidalen Silikaten gebundenen Kieselsäure, des Mangans u. s. w. im Ackerboden. *Die Landwirthschaftlichen Versuchs-Stationen* 37, 279–290.
- Van Eck N.J., Waltman L. (2010). Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric 575 mapping, *Scientometrics*, 84:523-538.

- Van de Werf H., Verstraete W. (1987). Estimation of activity soil microbial biomass by mathematics analysis of respiration curves: calibration and test procedure. *Soil Biology and Biochemistry*, 19, 261-265.
- Vance E.D., Brookes P.C., Jenkinson D.S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*. 19, 703-707.
- Vavala E., Passariello C., Pepi F., Colone M., Stefania Garzoli, Rino Ragno, Pirolli A., Stringaro A., Angiolella L. (2015). Antibacterial activity of essential oils mixture against PSA, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, DOI: 10.1080/14786419.2015.1022543
- Visser S., Parkinson D., (1992). Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms. *American Journal of Alternative Agriculture*, 7, 33–37.
- Walker J., & Tunstall B. R., (1981). Field estimation of foliage cover in Australian woody vegetation. Canberra: CSIRO.
- Wander M.M., Traina S.J., Stinner B.R., Peters S.E., (1994). Organic and conventional management effects on biologically active soil organic matter pools. *Soil Science Society of American Journal*. 58, 1130– 1139.
- Wardle D.A., Ghani A., (1995) A critique of the microbial metabolic quotient (qCO_2) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development, *Soil Biology and Biochemistry*, Volume 27, Issue 12, Pp. 1601-1610, ISSN 0038-0717, [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(95\)00093-T](https://doi.org/10.1016/0038-0717(95)00093-T).
- Watson C.A., Atkinson D., Gosling P., Jackson L.R., Rayns F.W., (2002). Managing soil fertility in organic farming systems. *Soil Use Management*, 18, 239–247.
- Weiss EA, (1997). *Essential Oil Crops*. CAB International, Wallingford.
- Wilson H.M., Al-Kaisi M.M., (2008). Crop rotation and nitrogen fertilization effect on soil CO₂ emissions in central Iowa. *Applied Soil Ecology*. 39,264–270.
- Witter E., Kanal A., (1998). Characteristics of the soil microbial biomass in soils from a long-term field experiment with different level of C-input. *Applied Soil Ecology*. 10, 37–49.
- Wobbecke D. M., Meyer G. E., Von Bargen K., & Mortensen D. A. (1995). Color indices for weed identification under various soil, residue, and lighting conditions. *Transactions of the ASAE*, 38(1), 259 269.
- World Health Organization, (2003). *Guidelines on Good Agricultural and Collection Practices (GACP) for Medicinal Plants*. WHO, Geneva.
- Zdruli P., Jones R. J. A., Montanarella L. (2004). *Organic Matter in the soils of Southern Europe*. European Soil Bureau Technica Report. EUR 21083 EN. Office for Official Publication of the European Communities, Luxembourg.
- Zengin M, Ozcan MM, C, Gezgin S (2008), Mineral contents of some aromatic plants, their growth soils and infusions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88:581–589.
- Zepp R.G. e Sonntag Ch., (ed) (1995). *The role of Nonliving Organic Matter in the Earth's Carbon Cycle*, Wiley, Chicester, USA.
- Zhu Z, Liang Z, Han R, Wang X (2009) Impact of fertilization on drought response in the medicinal herb *Bupleurum chinense* DC.: growth and saikosaponin production. *Industrial Crop and Products* 2–3(29):629–633. doi:10.1016/j.indcrop.2008.08.002.

Ringraziamenti

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Lista delle pubblicazioni

Published papers

1. Chianucci, F., Lucibelli, A., Dell'Abate, M. T. (2018). Estimation of ground canopy cover in agricultural crops using downward-looking photography. Ed. Elsevier – Biosystems engineering 169; 209-216. (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2018.02.012>).

Lavori in progress

Nei capitoli della presente tesi si è fatto riferimento a lavori in fase di produzione. Infatti i risultati della presente ricerca saranno utili per la produzione scientifica relativa ai temi trattati nei capitoli V e VI, ovvero:

- Fertilità biologica del suolo nella coltivazione di piante aromatiche in due diversi ambienti: risorse e metabolismo.
- Sostanza organica del suolo e piante officinali: effetti della coltivazione biennale sui contenuti di carbonio organico totale e azoto totale.

Per quanto concerne la ricerca condotta nel capitolo VII, già oggetto di pubblicazione, il metodo messo a punto servirà per la produzione scientifica dei risultati inerenti agli accrescimenti e alla copertura delle piante aromatiche sul suolo, ovvero:

- Effetti della fertilizzazione sullo sviluppo e sulla copertura vegetale delle piante aromatiche.

Poster relazioni orali a convegni

1. 17 maggio 2018 - "Bar della scienza 2018", in qualità di relatore del seminario "Piante aromatiche ed officinali per saperne un po' di più", CREA-AA, Via della Navicella 2-4, Roma
2. 23 maggio 2019 - "Workshop Ricerca, sviluppo e innovazione delle piante aromatiche e officinali. L'attività nella Regione Lazio" in qualità di co-relatore, Orto Botanico - Largo Cristina di Svezia 24, Roma
3. 28 novembre 2020 - "Buone pratiche Agricole e applicazione del disciplinare di produzione integrate" in qualità di relatore del seminario "Miglioramento delle produzioni Agricole attraverso l'impiego di strategie di difesa fitosanitaria ecosostenibili", Castello dei Conti, Acerra (NA)

4. 10 January 2020 – “Valorizzazione delle produzioni tradizionali locali: il caso del peperone “papacella napolitana”” in qualità di relatore del seminario “Responsabilità dell’agricoltura sui cambiamenti climatici”, Sala consiliare del comune di Brusciano (NA)
5. 15 January 2020 – “Sostenibilità in agricoltura: impiego dei microrganismi utili” in qualità di relatore del seminario “Impiego di funghi per la biostimolazione e la difesa ecosostenibile delle colture”, Castello dei Conti, Acerra (NA)