

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Agraria e Medicina Veterinaria

Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali

*Corso di Laurea Magistrale in Scienze Forestali e
Ambientali*

**RUOLO DELLA LOMBRICOFAUNA NELLA
FERTILITÀ DEL SUOLO IN SIEPI E COLTIVI
DI AGROECOSISTEMI VENETI**

Relatore

Prof. Giuseppe Concheri

Correlatore

Dott. Federico Gavinelli

Laureando

Alberto Reverenna Cesaro

Matricola n. 2024356

Anno Accademico 2023/2024

SOMMARIO

RIASSUNTO	3
ABSTRACT	5
1. INTRODUZIONE	7
1.1 IL SISTEMA SUOLO	7
1.1.1 LE SIEPI	11
1.1.2 IL COLTIVO	14
1.1.3 LA WETLAND	17
1.2 CENNI DI PEDO-FAUNA	20
1.3 I LOMBRICHI	23
1.3.1 MORFOLOGIA	23
1.3.2 ECOLOGIA	27
1.3.3 LE CATEGORIE ECOLOGICHE	30
1.3.4 RUOLO DEI LOMBRICHI NEL SUOLO	31
1.3.5 I LOMBRICHI COME BIOINDICATORI	33
2. SCOPO DELLA TESI	35
3. MATERIALI E METODI	37
3.1 INQUADRAMENTO DELL'AREA SPERIMENTALE	37
3.2 DESCRIZIONE DEGLI AMBIENTI	38
3.2.1 LA WETLAND	38
3.2.2 IL COLTIVO DI MAIS	40
3.2.3 IL COLTIVO ORTICOLO	41
3.2.4 LA SIEPE	42
3.3 RILIEVI IN CAMPO	43
3.4 ESPERIMENTO DI LABORATORIO	46
3.5 ESTRAZIONE DEL DNA	48
3.6 ANALISI DEI DATI	50
4. RISULTATI	53
4.1 ATTIVITA' DI CAMPO	53
4.3 CONFRONTI TRA ATTIVITA' E QUANTIFICAZIONE DEL DNA	62
5. DISCUSSIONE	65
6. CONCLUSIONI	69
RINGRAZIAMENTI	71
BIBLIOGRAFIA	73
MATERIALE SUPPLEMENTARE	80
TABELLE	80
METODO DELL'OCTET	88

RIASSUNTO

Il suolo agrario non è un substrato inerte nel quale le colture compiono il loro ciclo produttivo traendovi nutrimento e lasciandovi spoglie morte. Al contrario, esso contiene una straordinaria biodiversità di organismi, ed è sede di una complessa rete di relazioni e di attività biotiche che coinvolgono le trasformazioni del suolo stesso, della sostanza organica e dei principali elementi nutritivi. Un elemento importante nella determinazione della biodiversità agraria, che negli ultimi decenni ha avuto uno sviluppo nel campo della ricerca agro-ecologica, è il ruolo della lombrico-fauna come bioindicatore del suolo agrario. È, altresì, importante sottolineare il ruolo della vegetazione marginale, come area di ripopolamento in termini di ricchezza in biodiversità agraria.

L'attività di ricerca trattata ha avuto come obiettivo la valutazione del suolo agrario e del suolo marginale mediante l'analisi della lombrico-fauna.

La prova sperimentale è stata svolta presso l'Azienda Agraria Sperimentale Lucio Toniolo e nel Dipartimento DAFNAE dell'Università degli Studi di Padova prendendo in considerazione due siti che, a loro volta, contengono nello specifico ambienti di siepe, zone umide e coltivo.

I campionamenti sono stati eseguiti durante le stagioni ottimali, per avere una rappresentazione migliore delle specie e dello stadio di sviluppo dei lombrichi. Inoltre, durante il campionamento oltre al suolo sono state raccolte, a diverse profondità, le deiezioni della lombrico-fauna da sottoporre ad analisi di quantificazione del DNA del suolo e del lombrico. Queste analisi hanno caratterizzato gli ambienti in modo efficace portando ad una più approfondita comprensione del suolo e delle relazioni tra i lombrichi, la sostanza organica ed il mosaico paesaggistico.

Tale studio ha consentito di portare un'innovazione nel campo della ricerca, applicando tecniche di nuova concezione, nel panorama non solo italiano, sull'analisi del DNA del suolo con un particolare collegamento alla biodiversità e al ruolo ecologico del lombrico.

I risultati suggeriscono che il suolo del coltivo di mais potrebbe essere meno favorevole per i lombrichi, probabilmente a causa delle pratiche agricole intensive, come ad esempio l'uso di fertilizzanti chimici, pesticidi o la

monocoltura, che possono ridurre la biodiversità e compromettere la qualità del suolo.

L'esperimento evidenzia il fatto che la qualità del suolo è maggiormente sostenuta in ambienti diversificati e meno disturbati come la siepe e il coltivo orticolo, mentre il coltivo di mais, con un valore sensibilmente inferiore, potrebbe necessitare di pratiche di gestione più sostenibili per migliorare la salute del suolo.

ABSTRACT

The agricultural soil is not an inactive substrate where crops grow cyclically, absorbing nutrients and leaving decaying biomass. On the contrary, it includes extraordinary biodiversity, where a complex network of biotic activities transforms the soil, organic matter, and primary nutrients.

The role of earthworms as a bioindicator of agricultural soil has become an essential element in identifying agrarian biodiversity, and this has been the focus of agroecological research over the last ten years.

Moreover, it is essential to underline the role of marginal vegetation, which is intended to allow repopulation in terms of agricultural biodiversity.

The research aimed to evaluate agricultural and marginal soil by analysing earthworms and how they affect the soil's bacterial and fungal counts.

The experiment was performed at Lucio Toniolo's farm and the University of Padua (DAFNAE department), considering two sites that include hedges, wetlands and crops.

The samplings were carried out during optimal seasons better to represent the species and the earthworm developmental stages.

In addition, during the sampling, apart from the soil, some earthworm manure, at a different depth, was collected to analyse the amount of DNA in the soil and the earthworm.

The research provided helpful information about the soil and the relationships between worms, organic matter, and the landscape. This investigation allowed a touch of innovation in the field of research, applying brand-new techniques, not only on the Italian panorama, concerning the DNA analysis of the soil, which is linked to both the biodiversity and the ecological role of the worms.

The results of the research suggest that the corn crop soil of crop may be less favourable for earthworms, probably due to intensive farming practices, such as chemical fertilisers, pesticides or monoculture, which may reduce biodiversity and compromise soil quality. In addition, the experiment shows that soil quality is better supported in diversified and less disturbed environments such as hedges and horticultural crops. On the other hand, corn crops, with a significantly lower value, may require more sustainable management practices to improve the health of the soil.

1. INTRODUZIONE

1.1 IL SISTEMA SUOLO

Il suolo è una risorsa fondamentale per la vita sulla Terra alla base di molti processi ecologici ed agricoli essenziali. Costituisce l'habitat per una vasta gamma di organismi, dai microrganismi ai lombrichi, che svolgono un ruolo cruciale nel ciclo dei nutrienti e nella decomposizione della materia organica. Il suolo è anche indispensabile per la crescita delle piante, poiché fornisce loro i nutrienti necessari, l'acqua ed il supporto fisico. La sua struttura e composizione influenzano, infatti, la capacità di trattenere l'acqua e di sostenere la biodiversità, rendendo il suolo un elemento chiave nella regolazione del clima e nel mantenimento degli ecosistemi. Inoltre, esso agisce come un importante serbatoio di carbonio, contribuendo alla mitigazione dei cambiamenti climatici.

La gestione sostenibile del suolo è, quindi, essenziale per garantire la sicurezza alimentare, la conservazione della biodiversità e la salute ambientale a lungo termine. Non garantire la sua conservazione può portare a fenomeni di erosione dello stesso, perdita di biodiversità funzionale e fertilità che possono causare la desertificazione, con gravi ripercussioni per la società e l'ambiente.

La formazione del suolo (*Fig. 1.1*) inizia quando un determinato materiale, ad esempio la roccia, viene sottoposto all'azione alterante degli agenti atmosferici, quali gelo e disgelo oppure vento e pioggia. La roccia viene ridotta in frammenti che possono rimanere sul posto oppure essere trasportati altrove dall'acqua, dal vento, dal ghiaccio o dalla gravità. Questi frammenti vengono in seguito trasformati dall'azione dei batteri e delle piante.

Successivamente, al materiale originario si uniscono resti di organismi vegetali e animali e, gradualmente, si forma il terreno che gli organismi e gli agenti climatici modificano ulteriormente. Con il tempo il suolo aumenta in profondità, permettendo lo sviluppo di piante di maggiori dimensioni e la vita di animali terricoli, come i lombrichi, che contribuiscono, con la loro attività, a mantenere gli strati superiori del suolo ben aerati e l'acqua, filtrando attraverso il terreno, trasporta in profondità diverse sostanze, andando così ad arricchire il suolo.



Fig. 1.1 Spiegazione schematica della formazione del suolo (fonte ARPAV, 2024)

Come affermato da Zaccone e Sequi (2017), il suolo non ha un'unica definizione: il motivo principale risiede nel fatto che esso ha un ruolo *multifunzionale*, infatti gli autori riportano delle definizioni riferite a diversi studiosi della materia, come ad esempio Dokuchaev (1880-90s) e Ramman (1911). Il primo propose una definizione di tipo naturalistico, ponendo particolare enfasi sul fatto che sarebbe il clima ad influenzare la formazione del suolo stesso, mentre il secondo definì il suolo come “lo strato superficiale della crosta terrestre soggetto a *weathering*”. Molto spesso la percezione che si ha del suolo risulta essere condizionata dalla destinazione d'uso dello stesso. Infatti, per un agronomo, esso rappresenta un substrato per la crescita delle colture; per un geologo esso rappresenta invece una fase relativamente breve nell'ambito del ciclo delle rocce. Infine, per un ingegnere, esso altro non è che un substrato inerte sul quale costruire. Uno dei fattori influenzanti la composizione e le caratteristiche dei suoli è la matrice litologica. Si può, quindi, affermare che la composizione media dei suoli corrisponde, a grandi linee, a quella delle rocce che sono più rappresentate nella matrice litologica. Come accennato in precedenza, una delle peculiarità del suolo, come sistema naturale e non rinnovabile è il suo carattere multifunzionale. I tempi del suo sviluppo sono molto più lunghi rispetto alla durata della vita

umana: si stima che per formare da 1 a 10 cm siano necessari circa 1000 anni e ciò significa che su scala umana il suolo perduto non è ripristinabile.

Il suolo assolve, infatti, a diverse funzioni chiave sia di tipo ambientale che sociale ed economico, quali ad esempio la produzione di alimenti, la trasformazione di nutrienti ed il ruolo di *pool* di biodiversità (Fig. 1.2).

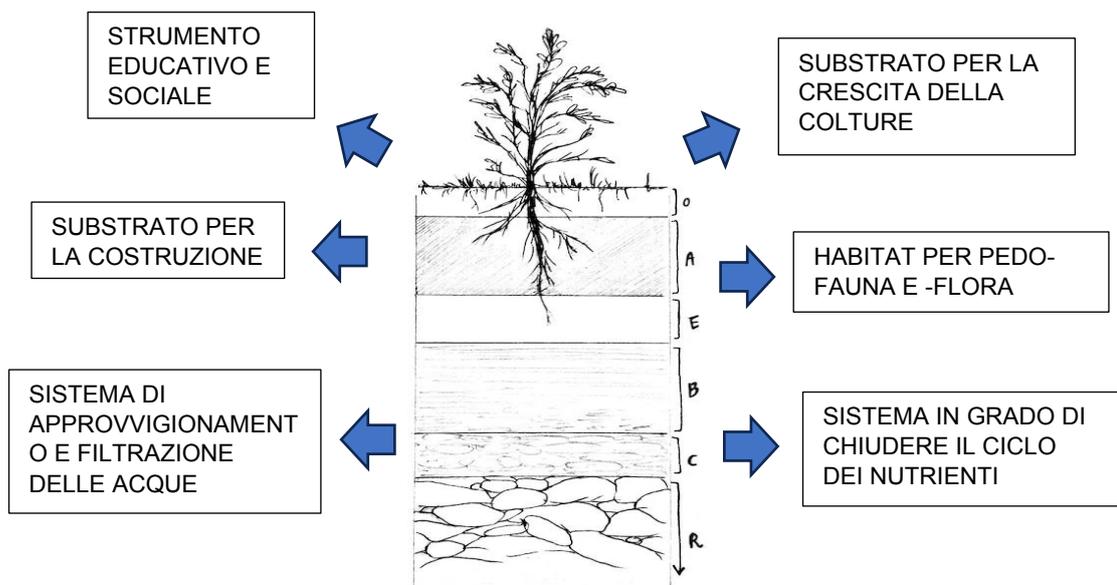


Fig.1.2 Schema esemplificativo delle principali funzioni del suolo

Il suolo è un sistema complesso, composto da parti solide (minerali 45% - sostanza organica 5%), liquide (acqua 20-30%) e gassose (20-30%) che interagiscono tra loro, creando l'ambiente di crescita dei vegetali così come pure l'habitat per microrganismi, micro-fauna e meso-fauna. Le proprietà che determinano la complessità del sistema suolo non sono casuali ma, entro certi limiti, prevedibili e collegabili su scala planetaria a caratteristiche distintive di svariate aree geografiche.

Il suolo non è un corpo statico, ma nasce ed evolve cambiando le sue caratteristiche con il procedere della sua evoluzione in relazione ai cambiamenti ambientali. La genesi dello stesso studia i fattori e i processi grazie ai quali esso si forma ed evolve. La comprensione della genesi del suolo permette di capire le conseguenze delle azioni umane sull'uso che se ne fa e di spiegare la presenza di suoli diversi sulla superficie terrestre, in varie zone di una nazione o di una regione, lungo un versante boscato o all'interno di un'azienda agricola. Oltre a

questa variabilità “orizzontale” dei suoli, la sua evoluzione determina una forte variabilità verticale: le caratteristiche del suolo che vediamo in prossimità della superficie non sono le stesse che si ritrovano più in profondità.

La comprensione delle sue caratteristiche avviene con una prima fase di campo, che consiste nell'identificazione del paesaggio di cui esso è parte, valutandone quindi la variabilità orizzontale e successivamente verticale.

In merito a questo ultimo aspetto, si effettuano delle trivellazioni e dei piccoli scavi la cui finalità è di individuare il sito più rappresentativo dell'area considerata.

Il più piccolo volume di suolo che sia rappresentativo di tutti i suoli di un determinato paesaggio o condizione geomorfologica si chiama *pedon*. La superficie del *pedon* che serve ad osservare la variabilità verticale prende il nome di profilo di suolo (*Fig. 1.3*), il quale si estende dal contatto con l'atmosfera al contatto con la litosfera.

Il profilo permette, inoltre, di rilevare una stratificazione più o meno evidente, la quale può comprendere, ad esempio, colori ed aggregazioni diversi, maggiore o minore abbondanza di radici e frammenti grossolani. I singoli strati che è possibile rilevare vengono chiamati orizzonti e sono il primo strumento utile a comprendere la genesi del suolo.

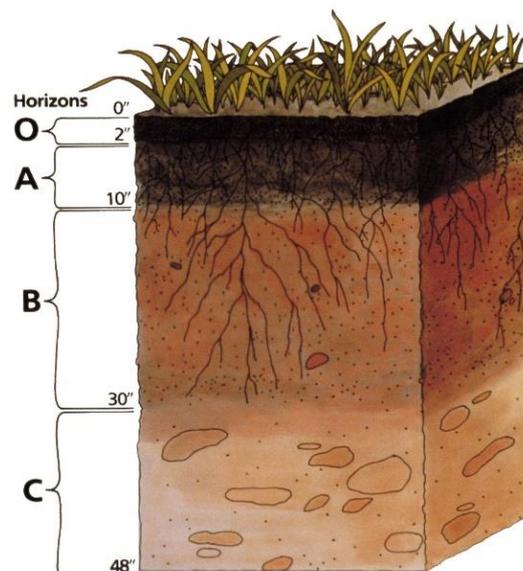


Fig. 1.3 Profilo del suolo (O: orizzonte composto prevalentemente da materiale organico; A: orizzonte a prevalente composizione minerale; B: orizzonte che mostra la massima espressione dei processi pedogenetici; C: orizzonte che mantiene molte caratteristiche del substrato che ha dato origine al suolo) (Pietrasiak, 2015)

Come già detto, la qualità e la biodiversità del suolo in termini di componenti vitali sono fattori determinanti per il mantenimento della salute degli ecosistemi terrestri (Lavelle et al., 2007). La biodiversità contribuisce in modo cruciale a processi fondamentali come la decomposizione della materia organica, il ciclo dei nutrienti e la formazione della struttura del suolo, influenzando direttamente la fertilità e la capacità di supportare la crescita delle piante (Pelosi et al., 2014). La perdita di biodiversità del suolo è, spesso, causata da pratiche agricole intensive, inquinamento e cambiamenti climatici che possono portare a un degrado significativo delle funzioni ecologiche.

La conservazione della biodiversità del suolo è essenziale per garantire ecosistemi resilienti e produttivi, nonché per promuovere la sostenibilità delle pratiche agricole e la mitigazione del cambiamento climatico.

Per la comprensione e il monitoraggio della qualità del suolo, la caratterizzazione e la quantificazione del DNA rappresentano le componenti essenziali nello studio della biodiversità e delle dinamiche ecologiche. Con l'analisi del DNA ambientale (eDNA), è possibile ottenere informazioni preziose sulla composizione biologica del suolo, identificando la presenza di organismi che svolgono un ruolo chiave nei processi di decomposizione della materia organica e nella fertilità del suolo (Maretto et al., 2023). L'analisi del DNA del suolo permette, altresì, di monitorare la salute dell'ecosistema, di valutare l'impatto delle pratiche agricole e di comprendere le interazioni tra le diverse specie presenti nell'ambiente sotterraneo. Tale studio offre una visione dettagliata delle reti trofiche e dei cicli biogeochimici, essendo l'analisi del DNA uno strumento fondamentale per conoscere la biodiversità e migliorare la gestione del suolo.

1.1.1 LE SIEPI

Le siepi (*Fig. 1.4*) sono strutture lineari costituite prevalentemente da specie vegetali arboree ed arbustive. Esse sono di fondamentale importanza soprattutto nelle zone dove i venti rappresentano un fattore climatico non trascurabile. Per l'attività agricola che opera in zone ventose, diventa molto importante l'utilizzo dei frangiventi come barriere posizionate in senso ortogonale alla direzione

prevalente dei venti, esse hanno lo scopo di ridurre la velocità dei venti, a protezione delle colture (Giardini, 2012).

Le siepi, essendo prevalentemente di natura artificiale, in quanto strutture inesistenti in natura, possono avere origine da un disboscamento, dall'assenza prolungata di un disturbo oppure per impianto, quindi richiede l'intervento dell'uomo per conservarsi. Qualora l'uomo non intervenga nella manutenzione le siepi tendono nel tempo a mutare in aree boscate.

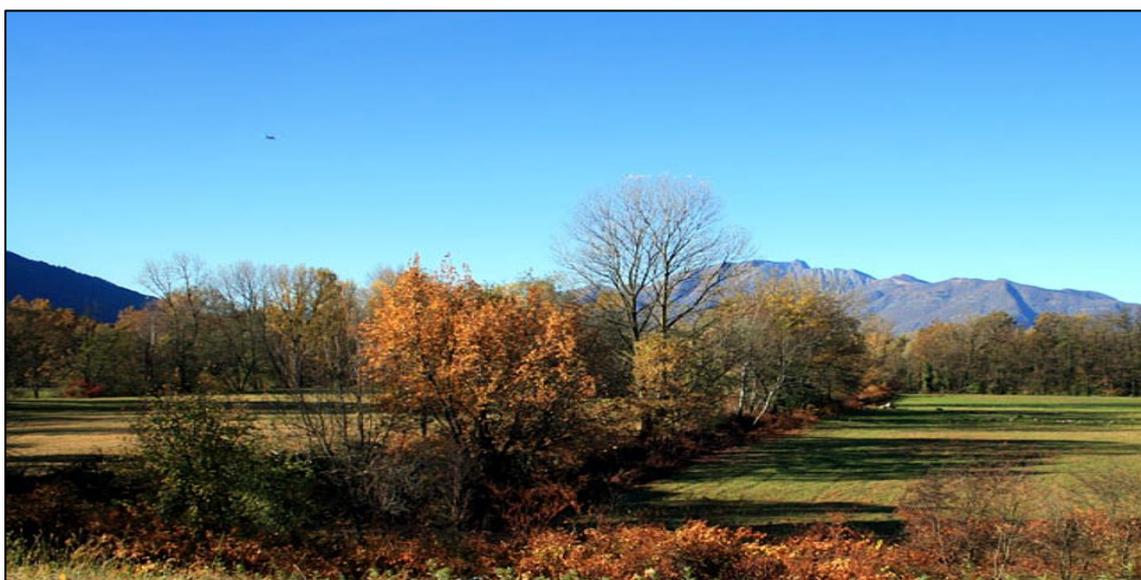


Fig. 1.4 Rappresentazione di una siepe (fonte: Repubblica e Cantone Ticino)

Nel caso in cui le specie vegetali siano messe a dimora è fondamentale che siano idonee alle condizioni pedo-climatiche della stazione per ridurre al minimo la percentuale di fallanze.

Le siepi finalizzate alla produzione di legna da ardere hanno rappresentato, nel passato, uno degli elementi caratteristici del paesaggio rurale veneto. A partire dalla fine degli anni cinquanta e per alcuni decenni si è invece assistito alla progressiva eliminazione e scomparsa di esse. Questo fenomeno è stato determinato essenzialmente da un insieme di fattori tra cui l'evoluzione economica, sociale e tecnologica che hanno caratterizzato l'Italia nel dopoguerra, ovvero la sostituzione della legna con i combustibili fossili, l'allargamento delle strade di campagna, la gestione meccanizzata dei corsi d'acqua, la diffusione di colture agrarie intensive e l'utilizzo in agricoltura di macchinari.

Inoltre, già da alcuni anni si è verificata un'inversione di tendenza con la comparsa, sempre più frequente, di nuove siepi. Infatti, esse costituiscono degli ecosistemi di grande valore, specie quando inserite in contesti territoriali molto degradati dal punto di vista biologico, quali aree destinate all'agricoltura intensiva, in zone industriali, in ambiente urbano, in margini di infrastrutture e lungo le reti fluviali artificiali.

Esse sono fondamentali per la lotta contro la perdita della biodiversità e la frammentazione dei paesaggi rurali (*Fig. 1.5*).



Fig. 1.5 Tipico paesaggio agricolo con le siepi (fonte arch. Giuseppe Gentili)

Per contrastare la perdita di biodiversità degli ambienti agrari possono essere utilizzati alcuni accorgimenti per una conservazione più sostenibile del territorio. La presenza di piani e programmi e strumenti economici può far fronte a questa necessità: è il caso di strumenti europei come la Politica Agricola Comune (PAC) e la Rete Natura 2000 o su territorio locale dagli strumenti quale il Complementi Regionali per lo Sviluppo Rurale (CSR). Infine, le siepi, oltre ad essere fonte di energia, tramite la combustione danno un importante contributo alla "lotta all'effetto serra" attraverso l'assorbimento e la fissazione del carbonio atmosferico mediante il processo delle fotosintesi (Veneto Agricoltura, 2008). Le siepi svolgono inoltre un ruolo fondamentale nel controllo biologico e nella conservazione della biodiversità all'interno degli ecosistemi agricoli e naturali. Queste strutture, come spiegato in precedenza, possono fornire habitat essenziali per organismi, tra cui insetti, uccelli e piccoli mammiferi, promuovendo

la presenza di biodiversità funzionale, non solo nella parte epigea del suolo, potendo garantire stabilità degli agroecosistemi.

Le siepi servono come rifugio per molti predatori naturali e parassitoidi che possono ridurre le popolazioni di parassiti agricoli. Le siepi rappresentano corridoi ecologici che collegano habitat frammentati, permettendo il movimento e la dispersione delle specie attraverso il paesaggio agricolo. Questo è particolarmente importante in regioni intensamente coltivate, dove gli habitat naturali sono spesso ridotti a piccoli frammenti isolati. Inoltre, le siepi possono migliorare la qualità del suolo e delle acque, riducendo l'erosione, aumentando la capacità di ritenzione idrica ed agiscono come filtri per i nutrienti e gli inquinanti. Questo contribuisce non solo alla salute degli ecosistemi locali, ma anche al benessere delle comunità umane che dipendono da questi servizi ecologici.

1.1.2 IL COLTIVO

Il suolo coltivato, o coltivo, è soggetto ad interventi agronomici eseguiti dall'uomo, con semplici attrezzi manuali oppure con macchinari più complessi, allo scopo di permettere la coltivazione. Esse sono rappresentate da un complesso di operazioni meccaniche eseguite con diversi tipi di strumenti capaci di rompere l'apparente continuità del suolo.

Il primo obiettivo delle lavorazioni va dunque individuato nella modifica della struttura al fine di creare un ambiente idoneo per la crescita delle piante.

Malgrado le lavorazioni del suolo siano una delle operazioni agronomiche più importanti nelle coltivazioni erbacee, esse possono avere degli effetti contrastanti.

Infatti, esse comportano il rischio di riportare in superficie strati inerti, interrando troppo quelli fertili. Altro grave problema è il rischio di compattamento, specie con suolo bagnato, perché in questo modo si vengono a creare suole di lavorazione dovute al transito dei mezzi agricoli.

Il problema del compattamento del suolo è determinato dal fatto che le particelle di terreno vengono compresse in un volume minore. Le principali cause che generano il fenomeno ed i suoi effetti negativi possono essere sia naturali (azione battente della pioggia, rigonfiamento e crepacciamento dei terreni e l'azione delle

radici) sia antropiche (traffico improprio di macchinari agricoli di grandi dimensioni, utilizzo di attrezzi impropri nelle lavorazioni dei terreni ed il pascolamento eccessivo). Il compattamento del suolo causa la riduzione della porosità, la riduzione della capacità di infiltrazione dell'acqua e dell'aria, la riduzione della crescita delle radici e l'asfissia radicale. Tutto questo innesca l'aumento del ruscellamento superficiale, di fenomeni erosivi con conseguente riduzione delle rese agricole (Pagliai, 2008).

Relativamente ai suoli agrari (*Fig. 1.6*), l'attività umana può essere considerata come un fattore pedogenetico a sé stante nella determinazione del tipo di suolo che ne deriva. Di conseguenza, in base all'intensità delle attività umane che hanno subito, potremmo suddividere i suoli agrari in antropizzati e antropogenici. Sono suoli antropizzati quelli che subiscono o hanno subito un più o meno elevato disturbo da parte delle attività umane, come possono essere ad esempio i suoli a pascolo con minimi disturbi umani, i suoli impostati a frutteto con modesti disturbi e quelli coltivati a cereali con elevati disturbi antropici (*Fig. 1.7*). Sono invece suoli antropogenici quelli che sono stati creati dall'uomo per motivi diversi, alle volte per favorire la coltivazione limitando il dissesto idrogeologico, come possono essere ad esempio i terrazzamenti o le aree bonificate per contrastare le pestilenze (*Fig. 1.8*).



Fig. 1.6 Rappresentazione di un coltivo (fonte iStock)



Fig. 1.7 Esempio di suolo agrario antropizzato (frutteto) (fonte BFM ITALY)

L'attività antropica ha interferito ed interferisce tuttora, fortemente, sulla morfologia del territorio e dei suoi suoli attraverso una serie di azioni legate all'attività agricola.

Ne sono un chiaro esempio la costituzione delle sistemazioni agrarie, la sostituzione della vegetazione spontanea con quella coltivata, le lavorazioni meccaniche e la posa dei sistemi di irrigazione.

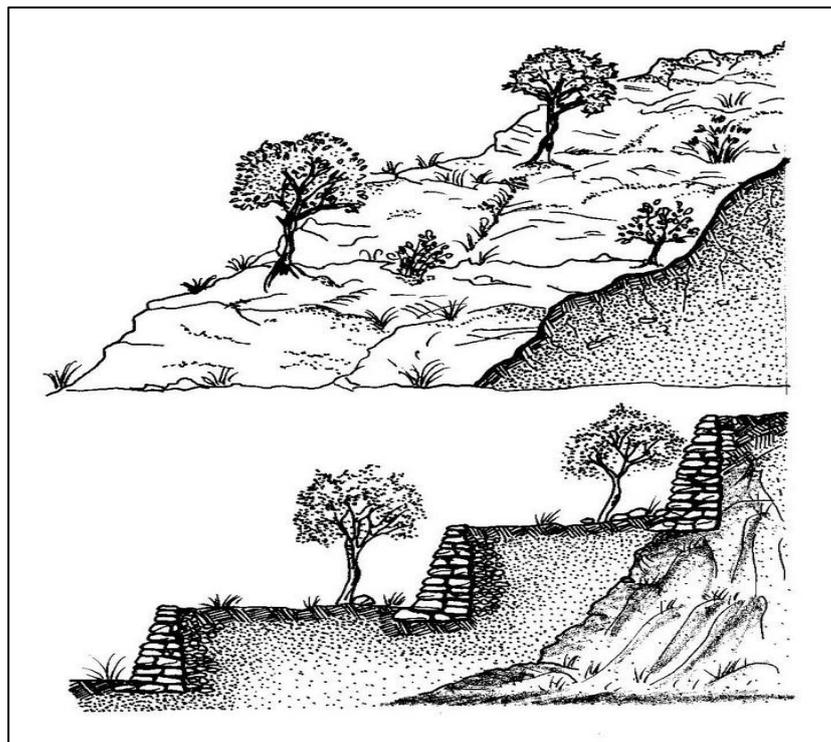


Fig. 1.8 Esempio di suolo antropogenico (terrazzamento) (fonte AtlasFOR)

L'insieme di queste attività, in certi ambienti, ha portato alla modifica non solo della morfologia del territorio e del suolo, ma anche dei regimi idrici e termici. Gli obiettivi principali delle pratiche agronomiche sono quindi il miglioramento della fertilità e la creazione di condizioni ideali per l'impianto e la crescita delle colture.

1.1.3 LA WETLAND

La *wetland* o zona umida (*Fig. 1.9*) è un ambiente saturo d'acqua, il quale è sommerso dall'acqua in modo permanente oppure per periodi brevi con cadenza stagionale.

Le inondazioni fanno sì che prevalgano processi anossici, ovvero privi di ossigeno.

Le zone umide hanno caratteristiche uniche: generalmente si distinguono da altri corpi idrici o morfologie in base al livello dell'acqua ed ai tipi di piante che vivono al loro interno.

La definizione internazionale di zone umide è la seguente: "le zone umide sono aree palustri, acquitrinose o torbose o comunque specchi d'acqua, naturali o artificiali, permanenti o temporanei, con acqua ferma o corrente, dolce, salmastra o salata, compresi i tratti di mare la cui profondità non ecceda i sei metri con la bassa marea" (Pandolfi e Rallo, 1988).



Fig. 1.9 Zona umida (wetland) presente nell'Azienda Agraria Sperimentale Lucio Toniolo

Dalle più lontane epoche storiche fino ai tempi più recenti l'uomo ha sempre nutrito nei confronti delle stesse molti timori. La ragione di questo atteggiamento culturale contrario alle paludi era l'Anofele (*Fig. 1.10*), l'insetto portatrice della malaria (scomparso del tutto solamente nel dopoguerra) e causa di morti in vaste aree della penisola italiana.



Fig. 1.10 Anofele (Anopheles sp. pl.) (fonte sanità informazione)

Tali paure hanno quindi portato, nel corso dei secoli, ad intraprendere opere di bonifica: da una superficie pari a tre milioni di ettari, le zone umide sono passate ad avere una superficie di circa un milione verso la metà dell'800. Questo è tuttavia solo uno dei motivi per cui tali opere di bonifica sono state intraprese. Un'altra ragione di ciò consiste nel fatto che si richiedeva inoltre l'acquisizione di

nuove terre fertili, così come la possibilità di fornire una migliore sistemazione idraulica a quelle circostanti (Pandolfi e Rallo, 1988).

A tal proposito, il 2 febbraio 1971, in Iran (presso Ramsar), è stata firmata la “La Convenzione di Ramsar”, alla quale hanno aderito 172 paesi, con l’obiettivo di tutelare, a livello internazionale, le zone umide tramite la loro individuazione e delimitazione, nonché lo studio di aspetti quali avifauna e la messa in atto di programmi che consentano la conservazione degli habitat, della flora e della fauna. Tuttavia, tale convenzione è stata resa esecutiva dall’Italia con DPR 13 marzo 1976, n. 448 e con il successivo DPR 11 febbraio 1987, n. 184. I principali tipi di zone umide sono classificati in base alle piante dominanti ed alla fonte dell’acqua presente, che può essere dolce oppure salmastra. In aggiunta, esse contribuiscono ad una serie di servizi ecosistemici, cioè funzioni a beneficio delle persone.

Secondo il *Millennium Ecosystem Assessment* (MEA) delle Nazioni Unite (un progetto di ricerca internazionale sviluppato con l’obiettivo di individuare lo stato degli ecosistemi globali) le zone umide sono le più colpite dal degrado ambientale rispetto a qualsiasi altro ecosistema sulla Terra (*Millennium Ecosystem Assessment*, 2005).

Interessante notare che, come affermato da Pandolfi e Rallo (Le zone umide del Veneto, 1988), le *wetland* assolvono a diverse funzioni ed hanno un alto valore naturalistico, idrologico, economico e sociale. Tra di essi prevale l’aspetto ecologico, infatti, le zone umide rivestono una grande importanza per le *biocenosi* (comunità di specie che vive in un determinato ambiente) che vi si instaurano, sia a livello animale che vegetale. Esse costituiscono una componente fondamentale nell’equilibrio idraulico del territorio. In alcune aree rappresentano serbatoi naturali utilizzabili come casse di espansione durante le piene e di regimazione delle acque derivanti da disgeli o piogge, mentre nei periodi estivi assicurano umidità ai terreni circostanti.

Nelle grandi pianure le paludi funzionano come spugne, regolando il livello della falda freatica. Infine, esse possono rappresentare un’ottima difesa dalla risalita dei cunei salini nelle falde in contatto con il mare, e in inverno svolgono

un'importante funzione termoregolatrice influenzando sul microclima rendendolo più mite (Pandolfi e Rallo, 1988).

1.2 CENNI DI PEDO-FAUNA

La pedo-fauna (*Fig. 1.11*), o fauna edafica, è un insieme di organismi animali che svolgono per intero o parzialmente il ciclo vitale all'interno del suolo (Bertolani e Sabatini, 1993).

A seconda del grado di interazione con il suolo, tali organismi vengono definiti *edafobi* se non possono abbandonare tale ambiente, *edafofili* se, nonostante la possibilità di uscirne, prediligono questo habitat ed *edafoxeni* se la loro presenza nel suolo è occasionale.

Un'ulteriore suddivisione degli organismi non *edafobi* distingue i geofili inattivi temporanei, ovvero quelli che affrontano la stagione avversa nel suolo in stato inattivo, i geofili attivi temporanei, che passano nel suolo solo un periodo della vita e, infine, i geofili periodici, corrispondenti agli *edafofili* (Bertolani e Sabatini, 1993; Menta, 2008). La fauna edafica viene distinta anche da un punto di vista dimensionale (Latella e Gobbi, 2015).

Tale suddivisione della pedo-fauna è basata sulle dimensioni degli organismi, le quali dipendono anche dall'attività trofica (tipologia di alimentazione). Le dimensioni permettono di individuare il ruolo che essi hanno nella formazione di differenti strutture nel suolo (Galvan et al., 2005; Gavinelli et al., 2018; Menta, 2008; Zanella et al., 2018).

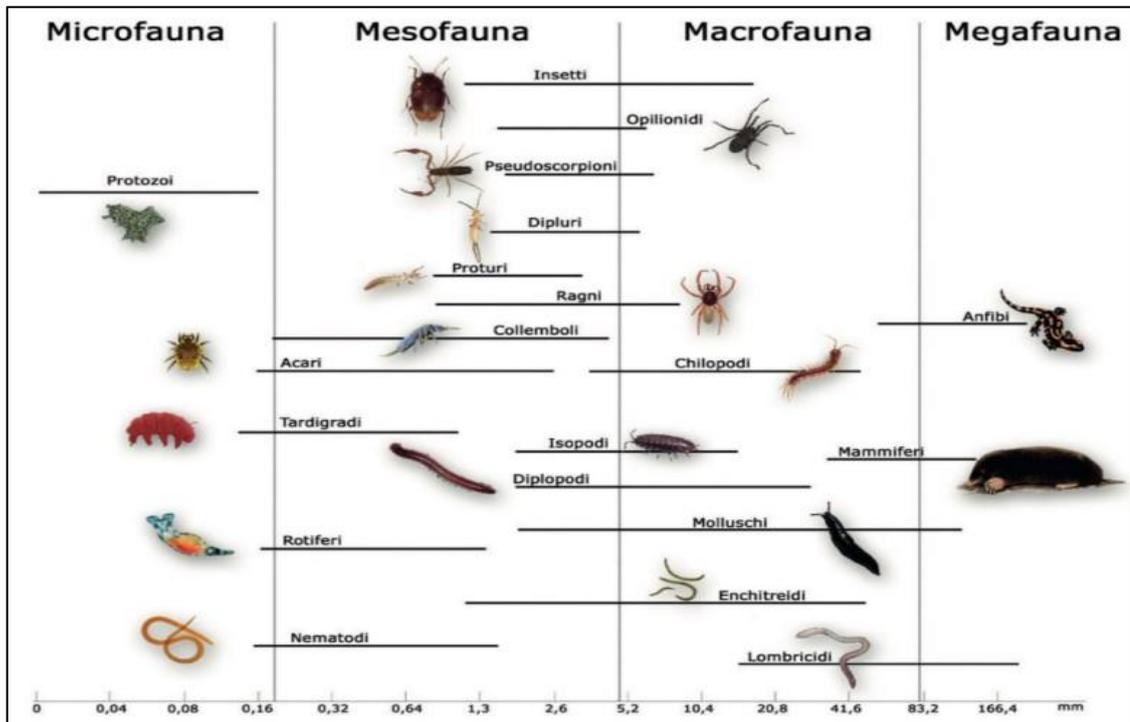


Fig. 1.11 Suddivisione della pedo-fauna in base alle dimensioni corporee (fonte Latella e Gobbi, 2015)

Gli animali abitanti il suolo possono essere distinti in base alla modalità con cui assorbono l'ossigeno. Infatti, l'ossigeno può essere assorbito direttamente (*atmobios*) oppure disciolto in acqua (*hydrobios*). All'*hydrobios* appartengono molte specie di Oligocheti, come ad esempio i lombrichi (Fig. 1.12).



Fig. 1.12 *Lombricus terrestris* (fonte Alamy Foto Stock; ph. Radoczy A.)

La pedo-fauna, in particolar modo i lombrichi, può essere, infine, classificata sulla base della propria ecologia all'interno del suolo, distinguendo animali *epigei*, che svolgono la loro attività nella lettiera, *endogei*, che hanno una certa tendenza a discendere negli orizzonti del suolo, ed *anecici*, i quali abitano in profondità nel suolo minerale. Secondo Bottinelli et al. (2020), Marcuzzi (1970) e Menta (2008) questa classificazione non deve essere interpretata in modo rigido, in quanto gli organismi edafici compiono periodicamente migrazioni verticali, giornaliere o stagionali, in base alle esigenze eco-fisiologiche proprie di ogni specie.

In base al sistema di locomozione, all'interno della pedo-fauna, si possono distinguere alcune forme biologiche: nuotatori, capaci di muoversi nell'acqua capillare o gravitazionale, reptanti, i quali approfittano delle porosità naturali e delle cavità prodotte dagli altri organismi, e scavatori. Questi ultimi, spesso appartenenti alla macro-fauna, sono i responsabili del cambiamento di struttura del suolo e favoriscono la porosità.

I metodi di scavo sono diversi a seconda dei differenti organismi coinvolti ed appartengono a questo gruppo alcuni lombrichi. I reptanti appartengono solitamente alla meso-fauna e microfauna e sono rappresentati da acari, collemboli ed enchitreidi.

La pedo-fauna agendo sul ciclo della sostanza organica promuove la fertilità del suolo e dei nutrienti in essa contenuti.

Attraverso l'interazione attiva con le componenti biotiche del suolo la pedo-fauna influisce sulla formazione e la caratterizzazione delle diverse forme di humus presenti, come evidenziato da Dell'Agnola e Nardi (1993), Hartmann (1970) e Ponge et al. (2002).

Hartmann (1970) e, successivamente, Ponge et al. (2002) e Lavelle (2007), sottolineano come la qualità e la funzionalità degli humus sia maggiore laddove la formazione di questi sia dominata dalla fauna edafica. Hartmann distingue marcatamente gli humus naturali, in cui l'attività è dominata dalla pedo-fauna localmente ottimale, e gli humus patologici, in cui l'attività zoogenica è limitata da uno o più fattori perturbativi e progressivamente sostituita da altri agenti.

1.3 I LOMBRICHI

I lombrichi sono degli invertebrati che rientrano nel subordine Lumbricina (Anellida, Clitellata, Oligochaeta e Haplotaxida), che comprende circa 3700 specie.

Le specie maggiormente presenti in Italia ed in Europa appartengono alle famiglie Lumbricidae, di cui fanno parte i diffusi generi *Lumbricus*, *Aporrectodea* e *Octodrilus*.

I lombrichi sono diffusi in tutto il mondo, tranne nei luoghi in cui la vegetazione è assente, come ad esempio nei deserti e dove vi è la persistenza di neve o ghiaccio.

La presenza dei lombrichi è ubiquitaria in tutti i suoli caratterizzati da un'umidità sufficiente a supportare le loro attività vitali. Inoltre, all'interno degli habitat la densità può essere estremamente variabile (Edwards e Arancon, 2022; Menta, 2008).

1.3.1 MORFOLOGIA

I lombrichi sono bilateralmente simmetrici e caratterizzati da fasce o segmenti il cui numero è costante per tutta la loro vita. Intorno ad ogni segmento, esclusi i primi due, sono presenti delle setole, nei *Lumbricidae* sono solitamente otto, portate dall'epidermide, la cui funzione principale è il movimento.

Tali setole sono disposte intorno al corpo appaiate. Esse, a seconda dell'interdistanza tra le coppie, possono essere accoppiate o distali (Fig. 1.13).

La distanza tra ogni coppia e tra le coppie di setole è costante per ogni specie e ne costituisce una caratteristica morfologica importante per il riconoscimento.

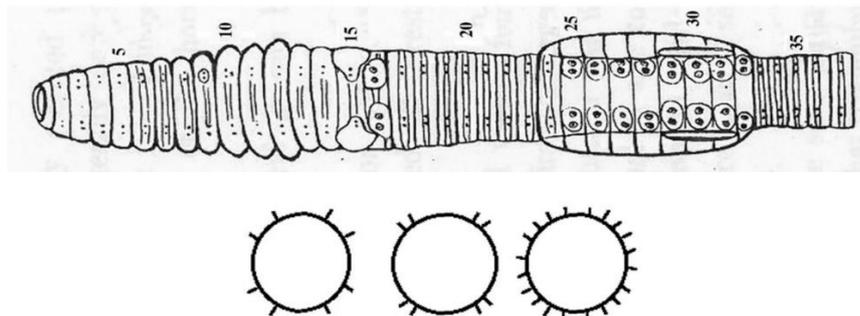


Fig. 1.13 ventrale di lombrico e tipologie di setole presenti nei lombrichi (distanti, appaiate, a corona) (fonte Paoletti e Grandenigo, 1996; Edwards e Arancon, 2022)

Come accennato precedentemente, per quanto riguarda il movimento, oltre alle setole, al di sotto dell'epidermide sono presenti due strati di muscoli circolari verso l'esterno e longitudinali all'interno. Questi, promuovono il movimento attraverso la loro contrazione e il conseguente irrigidimento dei setti all'interno del corpo.

L'apparato digerente dei lombrichi è costituito da un canale che dalla bocca porta all'ano. Esso viene distinto nella cavità orale, faringe, esofago, gozzo, ventriglio e intestino. L'apparato boccale o peristomio è il primo segmento che porta dorsalmente il prostomio, un lobo che ne consente la chiusura. La conformazione del peristomio e del prostomio sono un'importante caratteristica diagnostica tra i *taxa*: essa può essere zigoloba, prolobo, epiloba o taniloba (Fig. 1.14).

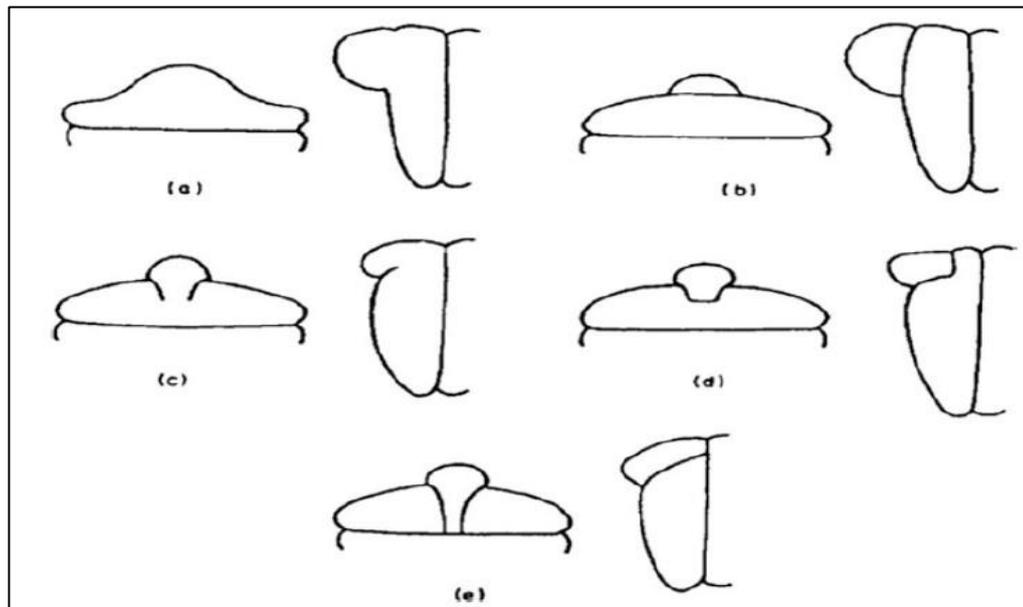


Fig. 1.14 Forme del prostomio: a) zigolobo; b) prolobo; c,d) epilobo; e) tanilobo (fonte Edwards e Arancon, 2022)

I lombrichi sono generalmente detritivori, cioè si cibano della sostanza organica presente nel suolo a vari stadi di decomposizione. Alcune specie ingeriscono anche il suolo minerale insieme alla sostanza organica. Tuttavia, i lombrichi, per la loro nutrizione, risultano essere dipendenti anche dai microrganismi, nello specifico batteri e funghi, associati alla materia organica in decomposizione. Infatti, essi facilitano e favoriscono la digestione di alcuni composti, oltre ad essere fonte nutritiva per i lombrichi stessi.

L'utilizzo dei microrganismi è di fondamentale importanza, in quanto gli anellidi hanno una scarsa produzione enzimatica e buona parte del processo digestivo è demandato a batteri simbiotici assunti attraverso il detrito.

I lombrichi non sono provvisti di organi specializzati per la respirazione, la quale avviene per diffusione attraverso tutta la superficie del corpo, grazie all'utilizzo dei capillari sanguigni che si diramano nella parete dermica (*Fig. 1.15*).

La respirazione e lo scambio dei gas avvengono tramite la cuticola ed il muco presente su di essa, e il tasso di respirazione dei lombrichi dipende dalla categoria ecologica e quindi dall'ambiente in cui si svolge il ciclo vitale, presentandosi maggiore negli epigei e minore nei profondi scavatori.

Il sistema nervoso è presente nei diversi segmenti del lombrico (metameri) con la parte anteriore caratterizzata dalla presenza di diversi gangli. Risposte di fuga sono mediate da fibre nervose situate nel cordone nervoso centrale.

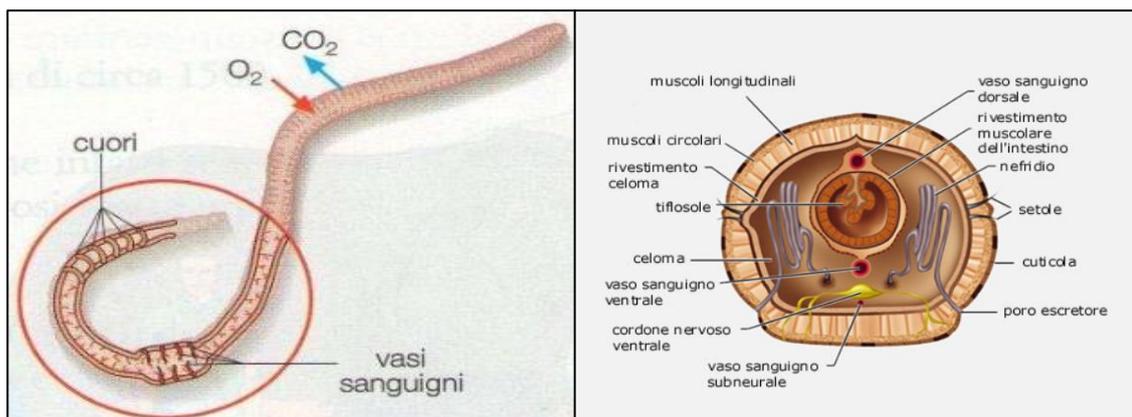


Fig. 1.15 Sistema circolatorio e respiratorio dei lombrichi (fonte forum.indire e luciopesce)

I lombrichi sono privi di organi deputati alla vista, ma rispondono allo stimolo luminoso mediante le cellule fotorecetriche distribuite lungo l'epidermide, in particolare nel prostomio.

I fotorecettori mediano l'attrazione verso la luce debole e respingono la luce intensa promuovendo un differente comportamento a seconda della specie, soprattutto quando il passaggio da scuro a chiaro è repentino reagendo diversamente alle varie lunghezze d'onda della luce in relazione alla categoria ecologica.

La pigmentazione può essere di vario tipo e molti risultano iridescenti. Tale condizione dipende principalmente dalla presenza e dall'abbondanza del

pigmento nello strato muscolare sotto cuticolare. Ad esempio, i lombrichi pigmentati sono rossi o marroni, mentre, i lombrichi da pigmento chiaro o privi di pigmento appaiono di colore rosa, a causa dell'emoglobina nel sangue presente nei vasi capillari in superficie. Infine, i lombrichi la cui cuticola è opaca arrivano ad assumere una colorazione bianca. Generalmente, la loro superficie ventrale risulta essere più chiara rispetto a quella dorsale.

La maggior parte dei lombrichi è ermafrodita a riproduzione incrociata (*Fig. 1.16*), dove le gonadi femminili e maschili consistono in pori accoppiati posti nella posizione ventrale o lateroventrale del corpo principalmente al quattordicesimo e quindicesimo segmento anteriore.

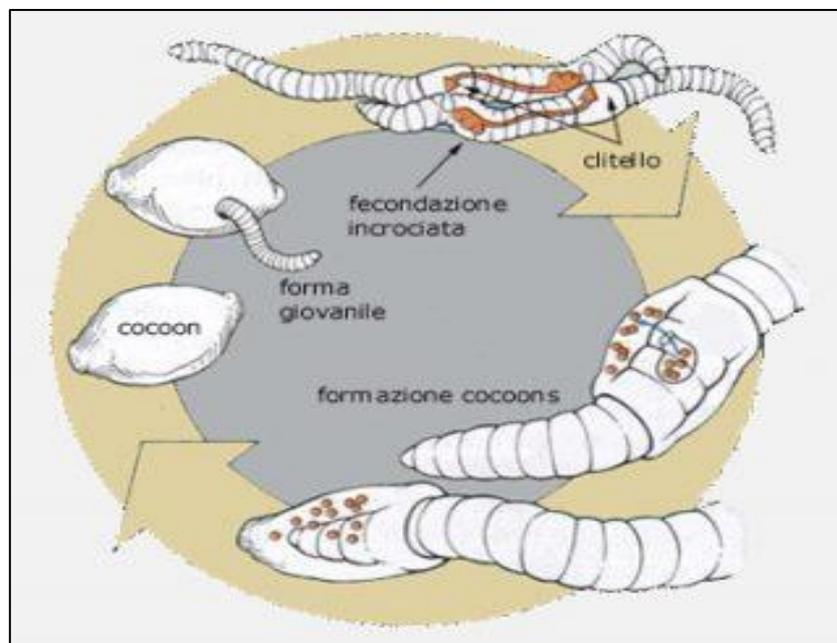


Fig. 1.16 Riproduzione incrociata del lombrico (fonte luciopesce)

L'ermafroditismo in questo ambito è una strategia riproduttiva (adattamento evolutivo) che, data la sua peculiarità di garantire ad ogni esemplare la compresenza dei due caratteri, può, in determinati contesti, aumentare la probabilità di trovare un partner e potrebbe di conseguenza contribuire a contrastare la bassa densità di popolazione.

L'organo deputato alla riproduzione è il *clitello* (Fig. 1.17), il quale è presente solo negli esemplari adulti.



Fig. 1.17 Lombrico adulto con clitello (fonte Puntodidomanda Ester Erolì)

Esso si presenta come un rigonfiamento ghiandolare di alcuni segmenti, come si evince dalla figura 1.17. In seguito all'accoppiamento, esso secerne un muco chitinoso che forma il bozzolo od ooteca. Successivamente il bozzolo viene espulso dal peristomio e deposto nel suolo (Fig.1.16). Solitamente la produzione dei bozzoli avviene quando vi sono condizioni ottimali di temperatura e di umidità. L'idratazione per i lombrichi è di vitale importanza dal momento che essi perdono molta acqua non solo dalla cute, ma anche dall'apparato boccale, dall'ano, dai pori dorsali e dai nefridi. I lombrichi sono costituiti da acqua per l'85%; tuttavia essi possono sopravvivere anche nel caso in cui ne perdano fino al 70-75% (Edwards e Arancon, 2022).

1.3.2 ECOLOGIA

Durante l'anno vi possono essere condizioni del suolo inadatte alla vita dei lombrichi come periodi di aridità, freddo o eccessiva umidità. Essi presentano varie soluzioni per sopravvivere a tali periodi avversi. Un primo metodo, che prevede però la morte della generazione precedente, è il superamento del periodo sfavorevole grazie ai bozzoli, che si schiudono quando ritornano condizioni favorevoli al ciclo vitale. In alternativa essi possono migrare verso

orizzonti più profondi, dove le condizioni del suolo sono più favorevoli, attuando i suddetti meccanismi di difesa secondo tre modalità:

- *Quiescenza*: in cui i lombrichi reagiscono direttamente a condizioni avverse, specie aridità e alte temperature, ma anche gelo, e si riattivano al sopraggiungere di una situazione migliore. Si distinguono una quiescenza per anidrosi e per ibernazione.

- *Diapausa facoltativa*: causata da condizioni ambientali sfavorevoli, ma non interrotta dal termine di queste.

- *Diapausa obbligatoria*: si verifica in periodi definiti all'interno del ciclo annuale, indipendentemente dalle condizioni ambientali; tuttavia, questa si verifica spesso in risposta ad una sequenza di cambiamenti ambientali o a meccanismi interni agli organismi.

Il termine *estivazione* andrebbe utilizzato solamente per la dormienza causata dall'estate o comunque dall'aridità del suolo. Ovviamente la sensibilità alle condizioni che causano la dormienza varia per ogni specie; si può però affermare che la maggior parte dei lombrichi, in funzione del loro ambiente di appartenenza, risultano molto suscettibili alle condizioni di aridità e temperature elevate rispetto a quelle di umidità e freddo.

I lombrichi sono sensibili a varie condizioni ambientali come pH, umidità, tipo di suolo, temperatura, porosità e contenuto di sostanza organica, che ne influenzano lo sviluppo ed il comportamento. Ogni specie è caratterizzata da una diversa sensibilità e tolleranza al variare di tali parametri.

L'umidità è uno dei fattori chiave della vita dei lombrichi: la loro attività è, infatti, sottoposta ad un'adeguata disponibilità di acqua nel suolo, necessaria per il mantenimento del contenuto d'acqua all'interno del corpo e per alcune funzioni vitali come la respirazione. L'umidità del suolo è significativamente correlata con la biomassa e la densità di lombrichi in esso presenti. Anche la temperatura risulta un importante fattore per l'attività della lombrico-fauna: essa influenza, infatti, il metabolismo, la riproduzione, la crescita e l'assunzione del cibo.

Il pH è un parametro particolarmente influente sulla presenza e la distribuzione dei lombrichi. La tolleranza ai diversi valori di pH è diversa a seconda delle specie

(tra i 5.5 e gli 8) (Baker e Whitby, 2003.), ma non mancano specie che si adattano a terreni alcalini o acidi (Edwards e Arancon, 2022; Menta, 2008).

Un ulteriore fattore che influenza la lombrico-fauna è la presenza di ossigeno nel suolo, motivo per cui essi tendono a prediligere ambienti ricchi di ossigeno (Edwards e Arancon, 2022; Menta, 2008). La tessitura riveste grande importanza per i lombrichi: essi prediligono, in realtà, suoli a tessitura intermedia, ovvero né troppo sabbiosi né troppo argillosi, in quanto tale caratteristica influisce sulle proprietà del suolo come l'umidità, i nutrienti disponibili e la struttura. Si può affermare che le proprietà del suolo che favoriscono la formazione di una buona struttura sono la sostanza organica, i cationi flocculanti (Ca e Mg) ed i colloidali. Qualora essi fossero presenti in quantità equilibrate, permetterebbero, altresì, la presenza della lombrico-fauna (Edwards e Arancon, 2022).

La presenza e la densità dei lombrichi nel suolo sono strettamente legate alla distribuzione ed alla qualità della sostanza organica, che costituisce la loro principale fonte di nutrimento. I lombrichi possono consumare una varietà di materiali organici, sfruttando anche la sostanza organica del suolo ed i microrganismi associati, a seconda delle condizioni ambientali. Preferiscono substrati con un basso rapporto carbonio/azoto (C/N) e maturi, poiché tali substrati contengono meno composti non graditi, come i polifenoli. La disponibilità di basi scambiabili nel substrato ne influenza la degradazione e la palatabilità per i lombrichi, rendendoli più adatti al loro consumo.

Le caratteristiche differenti delle lettiere forestali spiegano per quale motivo le foglie di alcune specie (aceri, olmi, frassini, ecc.) scompaiano più rapidamente rispetto alle foglie di altre specie (faggio, querce e soprattutto conifere), le quali, prima di entrare nell'alimentazione dei lombrichi, devono iniziare a degradarsi lungo altre catene alimentari. È stato, inoltre, dimostrato che anche lettiere non appetite, con l'aggiunta di batteri, aumentino la loro palatabilità. Naturalmente, la diversa palatabilità dei substrati dipende dalla specie e dalla categoria ecologica di appartenenza (Ammer et al., 2006; Edwards e Arancon, 2022; Menta, 2008).

Solitamente i lombrichi tendono ad avere una distribuzione piramidale dello stadio di sviluppo, con più esemplari giovani rispetto a quelli adulti. La presenza di più esemplari adulti è tipica di stazioni favorevoli allo sviluppo, mentre l'assenza o la scarsità di questi a favore di individui giovanili denota condizioni di

sviluppo più difficili. I giovani risultano, in realtà, più mobili e con minori esigenze ambientali, per cui risentono meno di eventuali fattori di stress (Edwards e Arancon, 2022; Paoletti et al., 2013; Sommaggio e Paoletti, 2018).

1.3.3 LE CATEGORIE ECOLOGICHE

I lombrichi sono stati classificati in categorie ecologiche, basate prevalentemente sul tipo di alimentazione, la capacità di scavo e la stratificazione verticale all'interno del suolo, oltre che dalle relative dimensioni. La classificazione più utilizzata è quella di Bouché (1977) che distingue tre categorie: epigei, endogei ed anecici. Ulteriori aggiornamenti del triangolo di Bouché, che ovviamente contempla categorie intermedie, sono contenuti in Bottinelli et al. (2020), i cui autori sostanzialmente confermano e affinano tale classificazione alla luce di moderne tecniche statistiche e l'avanzamento delle conoscenze nei quarant'anni intercorrenti tra questi due studi. A queste tre categorie si possono aggiungere quelle categorie degli idrofili, presenti in ambienti molto umidi, e dei coprofagi, lombrichi che come il lombrico rosso californiano prediligono gli ammassi di sostanza organica (letame, compost, ma anche legno morto e degradato in ambiente forestale) (Aswood et al., 2019; Paoletti et al., 2013; Sommaggio e Paoletti, 2018). Perel (1977) suddivide ulteriormente la lombrico-fauna in produttori di humus e consumatori di humus, contraddistinti da caratteristiche morfo-ecologiche: i primi si alimentano nella lettiera (epigei ed anecici), mentre i secondi consumano più materia umificata e fine, oltre a ingerire maggiori quantità di suolo (endogei). Le diverse categorie possiedono caratteristiche morfo-ecologiche comuni di seguito descritte (Bouché, 1977; Edwards e Arancon, 2022; Fusaro et al. 2018; Menta, 2008; Paoletti et al., 2013; Perel, 1977; Sommaggio e Paoletti, 2018).

In riferimento alla prima categoria, quella degli Epigei, essi risultano essere organismi di dimensioni medio-piccole che vivono negli strati organici superficiali del suolo, nutrendosi della lettiera (mesofagi). Essi sono pigmentati, specie nella parte dorsale. Essi sono particolarmente soggetti alle condizioni avverse ed alla predazione e, pertanto, sono caratterizzati da un'elevata mobilità e tasso riproduttivo, nonché di un ciclo vitale piuttosto breve.

Per quanto concerne invece gli endogei, essi sono di medie dimensioni, vivono negli orizzonti organo-minerali nutrendosi della sostanza organica presente nel suolo minerale ed assumendo elevate quantità di questo (microfagi). Essi risultano essere depigmentati o scarsamente pigmentati. Essi presentano generalmente una scarsa mobilità e una longevità intermedia: il tasso riproduttivo è moderato. Superano i periodi avversi entrando in quiescenza. Essi si muovono scavando gallerie orizzontali, spostandosi raramente sulla superficie e sono poco soggetti alla predazione.

Per quanto concerne la categoria degli anecici, essi sono dotati di grandi dimensioni e sono solitamente pigmentati; questi si muovono verticalmente attraverso gallerie permanenti verticali che dalla superficie penetrano nel suolo minerale. Essi si cibano della lettiera (macrofagi) che viene parzialmente portata all'interno del suolo nelle gallerie. Presentano un'elevata mobilità verticale, ma orizzontalmente sulla lettiera risultano più lenti degli epigei e sono in questo caso soggetti a predazione. Gli anecici sono caratterizzati da un ciclo vitale lungo e tassi di riproduzione bassi (Edwards e Arancon, 2022).

La distribuzione e la presenza delle diverse categorie ecologiche dipendono dalle condizioni ambientali e stagionali precedentemente esplicate, quali il pedoclima e la vegetazione presenti, come ben descritto da Zanella et al. (2018a; 2018b).

1.3.4 RUOLO DEI LOMBRICHI NEL SUOLO

I lombrichi hanno un ruolo fondamentale nella formazione del suolo. Attraverso le loro attività, infatti, agiscono sulla componente organica e inorganica. A tal proposito, i lombrichi vengono definiti "ingegneri del suolo" (Fig. 1.18).

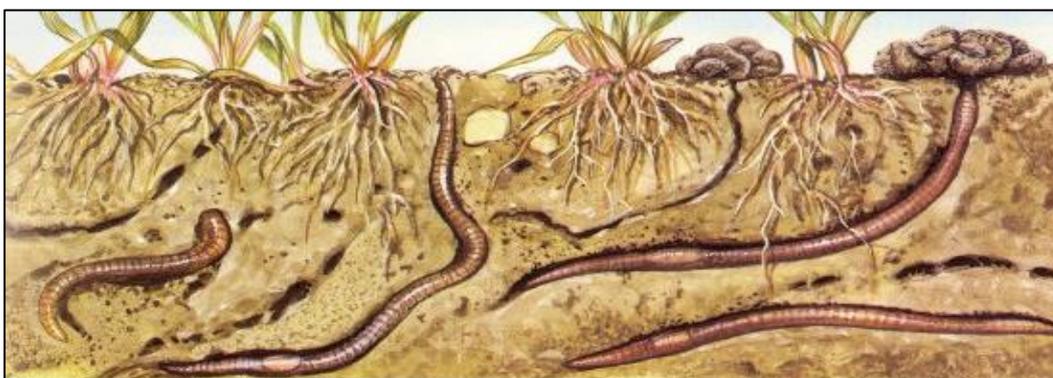


Fig. 1.18 Rappresentazione delle attività dei lombrichi nel suolo (cittadino agricoltura)

La presenza degli anellidi migliora l'incorporazione della sostanza organica e favorisce molteplici funzioni fisiche, chimiche e biologiche, migliorando il ciclo dei nutrienti. Quest'ultimo migliora attraverso le deiezioni (*Fig. 1.19*), le quali avvengono in punti diversi da quelli di alimentazione.

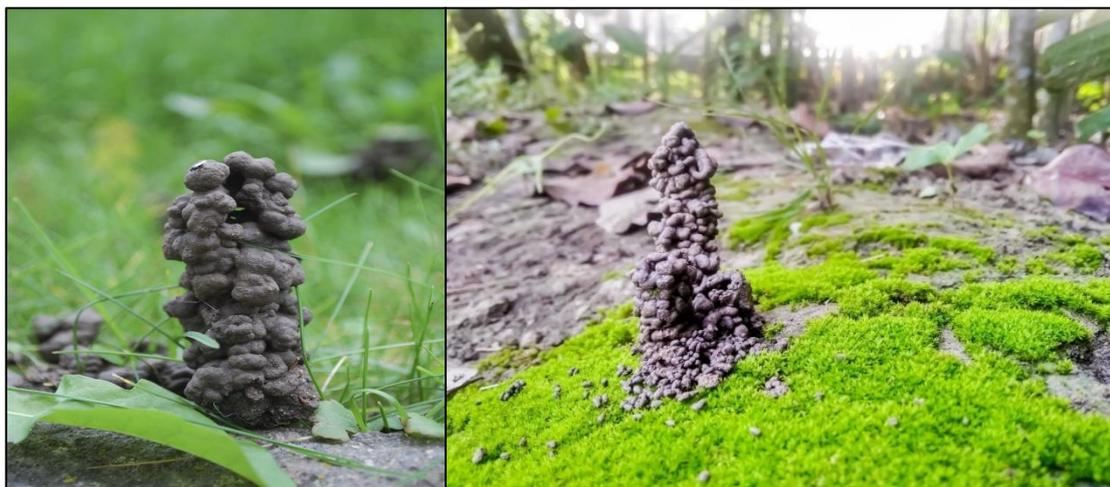


Fig.1.19 Turricolo (deiezione) del lombrico (fonte ilmondonascosto; autore Sahanowaz A.)

In realtà, le deiezioni rimescolano il suolo e la sostanza organica incrementando il tasso di mineralizzazione dello stesso e convertendo forme organiche di nutrienti in forme inorganiche che vengono in seguito assimilate più facilmente dalle piante.

Inoltre, il rimescolamento del suolo favorisce notevolmente il sequestro di carbonio, il quale ha evidenti benefici a livello ambientale (Gavinelli et al., 2018; Edwards e Arancon, 2022).

Un ulteriore beneficio che i lombrichi apportano è legato all'aumento dell'azoto nel suolo attraverso l'escrezione del muco, ricco di ammoniaca ed urea. Molto importante è anche l'apporto di azoto che proviene dalla biomassa morta dei lombrichi stessi, i quali sono costituiti per un 60-80% da proteine. Lo studioso che per primo evidenziò la fondamentale funzione che svolgono i lombrichi nel ciclo della sostanza organica e della fertilità dei suoli fu Charles Darwin, in una delle sue ultime opere, *The Formation of Vegetable Mould Through the Action of Worms* (1881).

I lombrichi migliorano l'attività dei microrganismi e favoriscono la dispersione degli stessi all'interno del suolo e della lettiera. Anche i funghi, che fanno parte della catena trofica dei lombrichi, trovandosi nei substrati di alimentazione, vengono dispersi principalmente attraverso le relative spore contenute nelle deiezioni. Allo stesso modo vengono disperse le *micorrize* (Fig. 1.20).



Fig. 1.20 Le micorrizze: associazioni simbiotiche tra funghi e radici (fonte digilander)

Come già parzialmente spiegato, i lombrichi hanno una grande influenza sulla struttura del suolo e nella formazione di aggregati stabili. Infatti, attraverso l'attività alimentare mescolano il suolo e la sostanza organica, mentre con l'attività di scavo formano dei canali e delle macro-porosità che incrementano la capacità di ritenzione idrica, il drenaggio e l'aerazione del suolo (Edwards e Arancon, 2022; Menta, 2008; Paoletti, 2018).

1.3.5 I LOMBRICHI COME BIOINDICATORI

Come affermato da Lemtiri et al. (2014) i lombrichi sono riconosciuti come importanti bioindicatori della salute del suolo e della sostenibilità agricola. La ricerca sull'impatto delle pratiche agricole sulle popolazioni di lombrichi in Europa è fondamentale per ottimizzare i sistemi agricoli e comprendere appieno il loro ruolo come indicatori ambientali.

Anche Paoletti (1999) sostiene che gli anellidi svolgano un ruolo fondamentale in tal senso, specie nelle zone temperate (quelle che meglio si prestano, infatti, alla campionatura degli stessi). Nella maggior parte dei casi la biomassa o la loro abbondanza in determinati ambienti può offrire uno strumento utile per la valutazione dei diversi impatti ambientali come ad esempio le operazioni agricole, l'inquinamento del suolo ed il compattamento.

Gli anellidi hanno colonizzato ambienti sia terrestri che marini e la maggior parte degli oligocheti, con la loro presenza ubiquitaria, formano parte sostanziale della fauna marina.

Tuttavia è necessario tenere in considerazione che l'utilizzo di pesticidi e le operazioni agronomiche hanno notevolmente influenzato la loro presenza nel suolo (Pelosi et al., 2009). La presenza dei lombrichi può, come già detto, dipendere direttamente dalla fertilità e dalla conservazione del suolo stesso (D'Hervilly et al., 2024; Hoeffner et al., 2021).

Rispetto a ciò, è inoltre importante ricordare che ai fini di una corretta descrizione della popolazione di lombrichi in un determinato ambiente, bisogna conoscere la quantità di anellidi giovani ed adulti: i primi forniscono infatti informazioni utili in merito al tasso di ricambio generazionale; i secondi un indice utile per comprendere quali siano state le condizioni adeguate per poter crescere e svilupparsi, divenendo potenziali riproduttori, assicurando così la sopravvivenza e prosecuzione della specie.

Negli agroecosistemi, che sono usati principalmente per la produzione alimentare, è importante massimizzare la produttività mantenendo un alto livello di qualità. Per questo motivo, è necessario sviluppare metodi efficienti per esaminare rapidamente ed accuratamente la conservazione del suolo e degli ecosistemi. L'analisi delle singole specie è un metodo approfondito ma richiede tempo e competenze specifiche.

Recentemente, si è manifestata l'esigenza di trovare metodi più rapidi e sicuri per valutare gli agroecosistemi, data la grande variabilità delle specie di lombrichi e le difficoltà nel loro studio. L'utilizzo delle categorie ecologiche ed il raggruppamento tassonomico, basato sulle caratteristiche morfo-funzionali, sono emersi come soluzioni più pratiche per la ricerca, senza perdere informazioni essenziali. In questo contesto, il QBS-e (Qualità Biologica del Suolo basato sui lombrichi) è stato sviluppato per soddisfare queste necessità.

2. SCOPO DELLA TESI

La tesi ha avuto lo scopo di analizzare gli effetti positivi dell'interazione che si crea tra lombrico-suolo-siepe e l'abbondanza degli anellidi nel suolo in contesti differenti. Sono stati messi a confronto due diversi siti dell'Azienda Agraria Sperimentale Lucio Toniolo (Legnaro, Padova) ed in particolare siepe-coltivo e *wetland*-mais. In laboratorio è stato invece creato il suolo artificiale allo scopo di monitorare, in un ambiente ideale, lo sviluppo e la crescita dei lombrichi. Il fine ultimo è stato quindi la valutazione della qualità del suolo degli ambienti naturali e seminaturali tramite la presenza e l'attività della lombrico-fauna e la quantificazione del DNA del suolo nei diversi ambienti in condizioni di campo e di laboratorio. In aggiunta, lo studio ha preso in considerazione l'identificazione di eventuali tracce ecologiche del passaggio dei lombrichi con il campionamento delle deiezioni.

3. MATERIALI E METODI

3.1 INQUADRAMENTO DELL'AREA SPERIMENTALE

La prova sperimentale è stata svolta presso l'Azienda Agraria Sperimentale Lucio Toniolo dell'Università di Padova (Fig. 3.1), collocata a Legnaro nei pressi di Padova (45° 21'00" N, 11°57'02"E, 7 m s.l.m.) nella bassa pianura veneta.

Il suolo di Legnaro è di tipo franco-limoso classificato come Fluvi-Calcaric Cambisol (CMcf) (FAO-UNESCO, 2008). L'area è caratterizzata da una bassa fertilità naturale dovuta allo scarso contenuto di sostanza organica (circa 15 g/Kg), da bassa capacità di scambio cationico con elevati livelli di carbonati di calcio (CaCO₃).

L'altezza della falda varia da circa 0.5-1.5 m, durante il periodo di fine inverno-inizio primavera, e fino a 1-2 m, nei mesi estivi.

Il clima locale è di tipo sub-umido, con una temperatura media annua di 13.5°C. Le precipitazioni annuali si aggirano intorno agli 850 mm, distribuite uniformemente durante il corso dell'anno.

Tutte le ortofoto riportate di seguito sono prese da Google Earth 2024.



Fig. 3.1 Inquadramento territoriale (fonte Google Earth)

3.2 DESCRIZIONE DEGLI AMBIENTI

Le aree idonee per l'esperimento (chiamate da qui in poi ambienti) appartengono all'Azienda Agraria Sperimentale Lucio Toniolo dell'Università di Padova e sono la *wetland*, il coltivo di mais, il coltivo orticolo e la siepe (*Fig. 3.2*).

I criteri per la scelta delle aree di saggio sono legati alla finalità della tesi, cioè andare a determinare le interazioni ed i benefici che i lombrichi apportano al suolo nei diversi ambienti collegati tra loro.

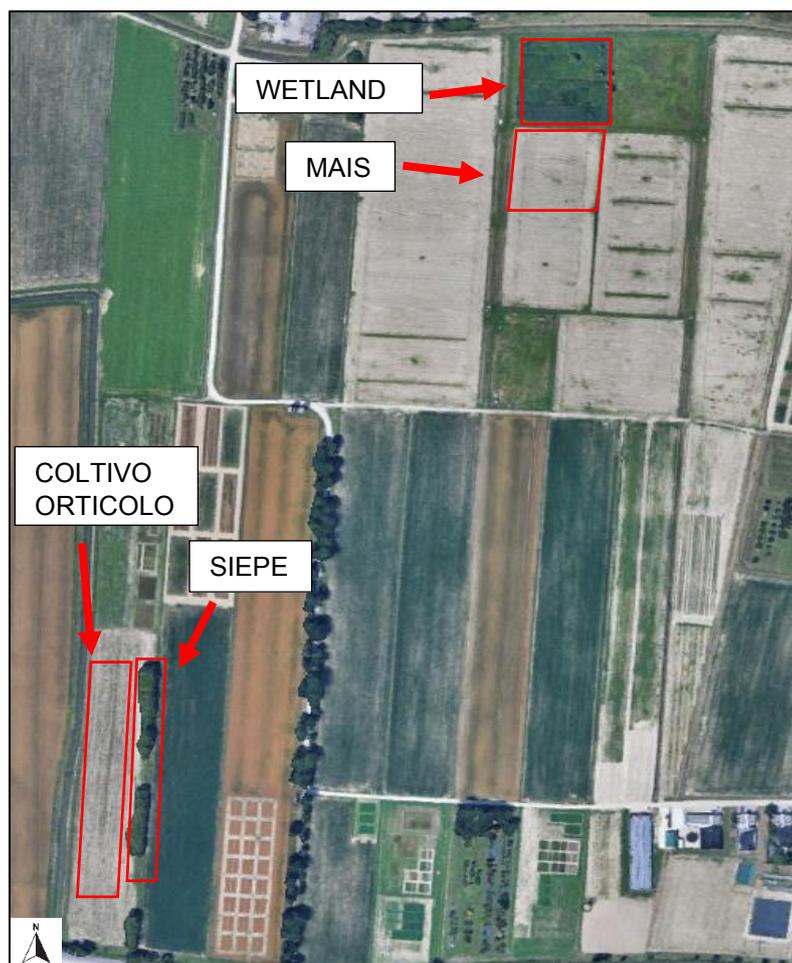


Fig. 3.2 Individuazione delle aree campionate (fonte Google Earth)

3.2.1 LA WETLAND

All'interno dell'azienda sperimentale si trova un impianto di fitodepurazione a flusso superficiale, attivo dal 1996, progettato per il trattamento delle acque reflue di drenaggio agricolo (*Fig. 3.3*). Questo impianto è situato a valle di un sito sperimentale di drenaggio controllato, da cui riceve le acque da depurare.

L'impianto copre una superficie di 3300 m² e si trova a 0,4 m sotto il piano di campagna, circondato da un argine che si eleva di 0,3 m sopra il livello del terreno circostante.

All'interno dell'area dell'impianto sono presenti tre argini interni, progettati per guidare il flusso dell'acqua lungo un percorso di circa 200 m, dall'ingresso all'uscita.

La vegetazione presente è composta prevalentemente da *Phragmites australis* (Cannuccia di palude) e *Carex* sp. (carice), piante comunemente utilizzate nei sistemi di fitodepurazione per la loro capacità di assorbire nutrienti e inquinanti dalle acque reflue (Arduin M., Sartori A., 2014; Mauceri et al., 2018).

Inoltre, nell'area è presente una zona alberata occupata prevalentemente da *Salix alba* (salice bianco), *Acer negundo* (acero americano), *Morus alba* (gelso bianco), *Salix purpurea* (salice rosso), *Celtis australis* (bagolaro), *Quercus pubescens* (roverella), *Sambucus nigra* (sambuco nero), e da arbusti di *Humulus lupulus* (luppolo) e *Rubus ulmifolius* (rovo).

Questo impianto rappresenta un importante elemento del sistema di gestione delle acque reflue agricole presso l'azienda sperimentale, contribuendo alla ricerca su tecnologie sostenibili per il trattamento delle acque e alla protezione dell'ambiente.



Fig. 3.3 La wetland del campionamento

3.2.2 IL COLTIVO DI MAIS

Il coltivo di mais, situato a margine della *wetland* presso il sito sperimentale, è stato coltivato con *Zea mays*, una delle principali colture cerealicole dell'area, scelta per la sua elevata produttività e la sua capacità di adattarsi alle condizioni climatiche e pedologiche locali (Fig.3.4).

La coltivazione del mais a ridosso della *wetland* potrebbe offrire diversi vantaggi: in primo luogo, la presenza della *wetland* aiuta a mantenere un microclima favorevole per la crescita del mais, grazie all'umidità supplementare e alla moderazione delle temperature locali. Inoltre, la *wetland* funge da barriera naturale che mitiga l'effetto dei venti e riduce l'erosione del suolo, preservando la fertilità del terreno del campo di mais.

Dal punto di vista ecologico, il campo di mais beneficia della vicinanza della *wetland*, la quale ospita una ricca biodiversità, inclusa una varietà di insetti impollinatori e predatori naturali dei parassiti agricoli. Dal punto di vista agronomico il coltivo è stato gestito con pratiche di lavorazione meccanica tradizionale, che prevedono l'utilizzo di aratura ed erpicatura allo scopo di preparare il terreno alla semina.



Fig. 3.4 Il coltivo di mais prima e dopo l'aratura, sito di campionamento della sperimentazione su campo. Si può osservare sulla figura di sinistra la *wetland*, altro sito di campionamento e la capezzagna che divide i due ambienti.

3.2.3 IL COLTIVO ORTICOLO

Nell'ambito dello studio il campo è stato gestito con tecniche di semina su sodo a partire dal 2014 (Fig. 3.5). Questo approccio, noto anche come *no-till*, è caratterizzato dall'assenza di lavorazioni meccaniche profonde, riducendo così il disturbo del suolo e favorendo la conservazione della sua struttura e della materia organica.

Il terreno è stato arato nuovamente il 1° aprile 2020, seguito da due interventi di erpicatura, eseguiti il 20 e il 24 aprile 2020, per preparare adeguatamente il letto di semina prima della coltivazione della soia.

Queste operazioni si sono rese necessarie per garantire condizioni ottimali per la crescita della coltura, dimostrando l'importanza di adattare le pratiche agronomiche alle specifiche condizioni del campo e alle esigenze delle colture.

Il campo gestito con agricoltura conservativa ha una superficie complessiva di 5643,68 m², rappresentando un importante area di studio per valutare gli effetti a lungo termine della semina su sodo rispetto alle tecniche di lavorazione tradizionale dello stesso (Nikolic et al., 2022). Questi confronti forniranno dati cruciali per comprendere l'impatto delle diverse pratiche agronomiche sulla salute del suolo, sulla resa delle colture, sulla sostenibilità ambientale delle operazioni agricole e sui lombrichi.



Fig. 3.5 Il coltivo orticolo del campionamento

3.2.4 LA SIEPE

A margine del coltivo orticolo, è stata realizzata una siepe a doppio filare e polispecifica, che svolge un ruolo cruciale sia per la biodiversità locale sia per la gestione agronomica sostenibile (Fig. 3.6). Questa siepe è composta da due file parallele di specie vegetali differenti, selezionate in modo da massimizzare la biodiversità e creare un habitat eterogeneo capace di supportare una varietà di fauna selvatica, inclusi insetti impollinatori, uccelli e piccoli mammiferi.

Le specie scelte per la siepe includono una combinazione di arbusti, come il *Corylus avellana* (nocciolo), alternati a essenze arboree come il *Quercus robur* (farnia), l'*Acer campestre* (acero campestre), e il *Platanus* (platano).

Questa diversità di specie vegetali non solo contribuisce a creare una struttura stratificata, ma fornisce anche una gamma di risorse alimentari e rifugi per diverse specie animali durante tutto l'anno. La disposizione a doppio filare è stata progettata per ottimizzare lo spazio, favorendo una copertura vegetale densa e continua lungo il margine del campo. Il filare esterno, composto principalmente da arbusti più bassi e densi, agisce come una barriera fisica che protegge il campo di soia dai venti prevalenti, riducendo l'erosione del suolo e minimizzando la dispersione dei semi di soia. Il filare interno, costituito da specie più alte, fornisce un ulteriore strato di protezione e funge da corridoio ecologico per la fauna, facilitando il movimento degli organismi tra le diverse aree naturali circostanti.

Questa siepe polispecifica oltre a migliorare la qualità ecologica del paesaggio agrario, svolge anche una funzione importante nella gestione integrata dei parassiti (IPM), grazie alla presenza di predatori naturali che contribuiscono al controllo delle popolazioni di insetti dannosi.

Inoltre, le radici delle piante della siepe contribuiscono a migliorare la struttura del suolo, aumentando la sua capacità di infiltrazione e riducendo il rischio di ristagni idrici.

Tale siepe rappresenta un esempio di integrazione tra pratiche agricole e di conservazione della biodiversità, fornendo numerosi servizi ecosistemici che contribuiscono alla sostenibilità del sistema agricolo.



Fig. 3.6 La siepe del campionamento

3.3 RILIEVI IN CAMPO

Come descritto precedentemente, il campionamento è stato effettuato in diverse zone dell'Azienda Agraria Sperimentale Lucio Toniolo. Le aree più idonee sono state scelte prima sulla carta e successivamente in loco per vedere l'effettiva presenza delle caratteristiche prese in considerazione. Tale procedura ha infatti facilitato le operazioni di campo e le tempistiche.

Il primo campionamento è stato eseguito il 15 aprile del 2024. Il campionamento della lombrico-fauna è stato condotto utilizzando il metodo di campionamento proposto in Fusaro et al. (2018) e Paoletti et al. (2013) mediante prelievo di una zolla su cui si è condotto il prelievo effettivo degli esemplari mediante *hand-sorting* (setacciamento manuale) (Pelosi et al., 2009). qu

Il campionamento differisce rispetto a quello degli autori solo per la scelta di non utilizzare alcuna soluzione attrattiva. Si è optato il non utilizzo al fine di non alterare la condizione di naturalità al momento del campionamento.

Esso si è svolto effettuando tre repliche in ogni ambiente. Le repliche, allineate e ad una distanza di circa 10 metri l'una dall'altra e prospicienti e parallele alle repliche dell'ambiente contiguo nel medesimo sito, e la zona di campionamento sono state poste con criteri di omogeneità.

Si è provveduto, in seguito alla scelta del punto, di prelevare la zolla di lato 30 cm mediante forca-vanga e, una volta estratta, è stata posta su un telo di colore chiaro al fine di garantire il contrasto con il suolo.

Gli esemplari sono stati estratti manualmente dalla zolla in un orario di tempo standard di 15 minuti. Ogni esemplare è stato conservato in alcol 80% in tubi Falcon, uno per ogni replica, e poi opportunamente siglati. Durante la prova sono stati prelevati i campioni di suolo e lombrichi utilizzando la forca-vanga. Tale strumento è stato scelto per evitare di arrecare danni ai lombrichi e limitare al minimo l'impatto dell'apertura di zolle (*Fig. 3.7*).



Fig. 3.7 Alcuni materiali usati per il campionamento

I lombrichi raccolti sono stati in parte messi sotto alcool (80%) per una prima identificazione in laboratorio ed in parte sono stati tenuti in vita nei terrari allo scopo di analizzarne le deiezioni.

Infine, sono state prelevate le deiezioni dei lombrichi (*Fig. 3.8*). Tali prelievi verranno utilizzati per future analisi relative al contenuto intestinale degli stessi. Esse svolgono infatti un ruolo fondamentale nella rielaborazione della sostanza organica presente nel suolo, uno dei ruoli peculiari degli oligocheti terrestri (vedi introduzione).

La procedura è stata ripetuta in entrambi i siti:

- Coltivo-Siepe
- *Wetland-Mais*



Fig. 3.8 Campionamento dei turricoli

Il giorno 9 maggio 2024 è stato ripetuto il campionamento nei 2 siti.

Durante il campionamento sono stati prelevati gli esemplari di lombrichi presenti, con i guanti, e messi con il suolo della replica all'interno di un contenitore opportunamente identificato dalla replica per la successiva rilevazione della biomassa in laboratorio.

Per rendere il campionamento completo è stato prelevato il suolo con tubi Falcon da 50 ml a 20 cm circa di profondità.

Per i fini dell'esperimento le date dei campionamenti sono state fissate in relazione allo sforzo di ricerca e alle condizioni del suolo ottimali.

Infine, come da protocollo il suolo è stato messo a seccare, per le successive analisi di estrazione del DNA (Maretto, 2023).

3.4 ESPERIMENTO DI LABORATORIO

Durante il primo campionamento sono stati preparati, in laboratorio, 19 contenitori con volume noto pari a 0.008 m^3 ($0.2 \times 0.2 \times 0.2 \text{ m}$) (Fig. 3.9).

Al fine di garantire la rappresentatività statistica per ogni ambiente è stato deciso di allestire tre repliche. I contenitori sono stati riempiti con il suolo proveniente da ogni punto campionato, per un totale di dodici contenitori, più i corrispettivi controlli, uno per ogni ambiente, per un totale di quattro contenitori che rappresentano la situazione iniziale.



Fig. 3.9 Foto dei 19 contenitori con il suolo prelevato dai punti campionati

Al fine di confrontare e correlare meglio i risultati attesi sono state preparate tre repliche che fungono da controllo negativo, in linea con le direttive OECD (2006). In tali contenitori, delle dimensioni già descritte, è stata inserita una miscela di terriccio (10%), argilla-caolinite (20%, di cui 30% caolinite pura), sabbia (70%) (metà $< 2 \text{ mm}$) ed infine carbonato di calcio (1%) (Fig. 3.10).

Il tutto è stato conservato in cella climatizzata ad una temperatura di 20°C e umidità 60% per la durata di 34 giorni.

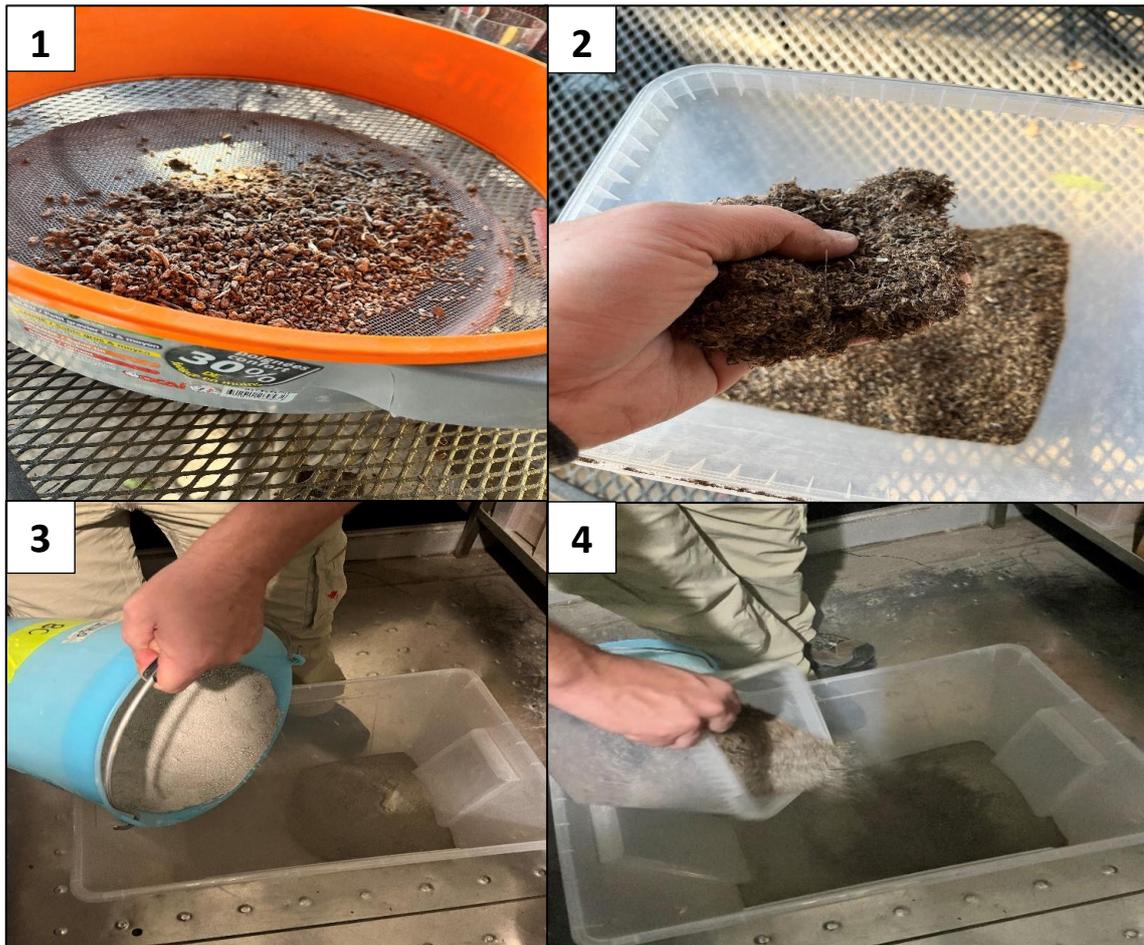


Fig. 3.10 Alcuni passaggi effettuati per la creazione del suolo artificiale

Tali contenitori hanno avuto lo scopo di evidenziare le possibili differenze tra un ambiente soggetto alle condizioni naturali e quelle di laboratorio in un suolo non naturale.

Per ogni contenitore (esclusi i controlli) sono stati aggiunti sei esemplari precedentemente pesati, rispettivamente 4 endogei (*Aporrectodea caliginosa*) e 2 anecici (*Aporrectodea nocturna*) (v. dettagli in Tab. 1 e Tab. S1). L'aggiunta di questi esemplari è stata fondamentale per l'inizio dell'esperimento (Fründ et al., 2010).

Il numero di esemplari è stato determinato facendo una proporzione tra la superficie reale di ogni contenitore (0.2x0.2m) e la stima dalla densità media di lombrichi presenti in un suolo agrario (Paoletti et al., 2013), circa 250 esemplari al metro quadro.

Tabella 1: Media delle biomasse inserite (inizio esperimento). a) valori medi di biomassa per le categorie ecologiche da inserire nei quattro ambienti (siepe, coltivo, wetland e mais) e nell'OECD; b) valori medi di biomassa per ambiente e per l'OECD da inserire (per tabella dettagliata vedi S1).

a)

Ambiente	Repl	Cat.Ecol	Biomassa (g)	ES
SIEPE	1	En	1,265	0,056
		An	2,683	0,003
	2	En	1,17175	0,013
		An	2,0805	0,160
	3	En	1,55975	0,040
		An	1,959	0,003
COLTIVO	1	En	1,41425	0,143
		An	1,976	0,144
	2	En	1,74025	0,062
		An	2,1495	0,033
	3	En	1,33325	0,087
		An	2,499	0,053
WETLAND	1	En	1,175	0,070
		An	1,965	0,035
	2	En	1,0375	0,255
		An	1,955	0,145
	3	En	1,1125	0,092
		An	1,96	0,210
MAIS	1	En	1,3275	0,024
		An	1,89	0,040
	2	En	1,355	0,135
		An	2,07	0,120
	3	En	1,1925	0,098
		An	1,935	0,085
OECD	1	En	1,1025	0,027
		An	1,955	0,425
	2	En	0,97	0,143
		An	1,89	0,030
	3	En	0,6775	0,050
		An	1,655	0,015

b)

Ambiente	Cat. Ecol	Biomassa (g)	ES
SIEPE	En	1,332	0,054
	An	2,241	0,147
COLTIVO	En	1,496	0,076
	An	2,208	0,105
WETLAND	En	1,108	0,086
	An	1,960	0,067
MAIS	En	1,292	0,055
	An	1,965	0,052
OECD	En	0,917	0,071
	An	1,773	0,125

3.5 ESTRAZIONE DEL DNA

Per le estrazioni del DNA da suolo si è seguito il protocollo *DNeasy PowerSoil Pro Kit* (Fig.3.11). In laboratorio sono state preparate le Eppendorf con l'aggiunta di 250 mg di suolo precedentemente seccato e setacciato a 2 mm. Il protocollo consiste nell'aggiungere al suolo pesato delle biglie di silice, per poi diluire tale composto con 800uL di soluzione CD1. Le Eppendorf così preparate sono state messe nel *Tissue-Lyser* per 10 minuti ad una frequenza di scuotimento di 30 Hz.

I campioni sono stati poi centrifugati a 15.000 giri per 1 minuto prelevando la fase liquida. Ad essa sono stati aggiunti 200 µl di soluzione CD2. I campioni sono stati centrifugati a 15000 giri per 1 minuto. In seguito, prestando attenzione a non prelevare i possibili residui di suolo, è stato estratto il surnatante, poi messo in Eppendorf da 2 ml. Sono stati aggiunti 600 µl di soluzione CD3 e si è agitato il tutto sul vortex per 5 secondi. Da tale soluzione sono stati prelevati 650 µl poi messi nella colonnina con il filtro e centrifugati a 15000 giri per 1 minuto. Terminata la centrifuga è stato svuotato il contenuto filtrato. Tale passaggio è stato ripetuto per 2 volte. Il filtro è stato messo dentro una nuova Eppendorf da 2 ml. Sono stati aggiunti 500 µl di soluzione EA alla colonna, il tutto è stato poi centrifugato a 15000 giri per 1 minuto.

In seguito, è stato eliminato il liquido e posizionata nuovamente la colonnina con il filtro nella stessa provetta di raccolta da 2 ml. Sono stati aggiunti 500 µl di soluzione C5 alla colonna, per poi essere centrifugata nuovamente a 15000 giri per 1 minuto. È stato eliminato il liquido e posizionata la colonnina con il filtro in una nuova provetta di raccolta da 2 ml. Successivamente si è centrifugato a secco a 16000 giri per 2 minuti per eliminare i residui ed il filtro è stato posizionato in una provetta di eluizione da 1,5 ml. Sono stati aggiunti 60 µl di acqua nel centro della membrana del filtro bianco ed i due contenitori sono stati messi nella centrifuga a 15000 giri per 1 minuto. Infine, è stata scartata la colonna con il filtro e tenuta solo la provetta con il DNA. Le Eppendorf con la soluzione di eluizione del DNA sono state conservate e ben etichettate in refrigeratore a -80° C.

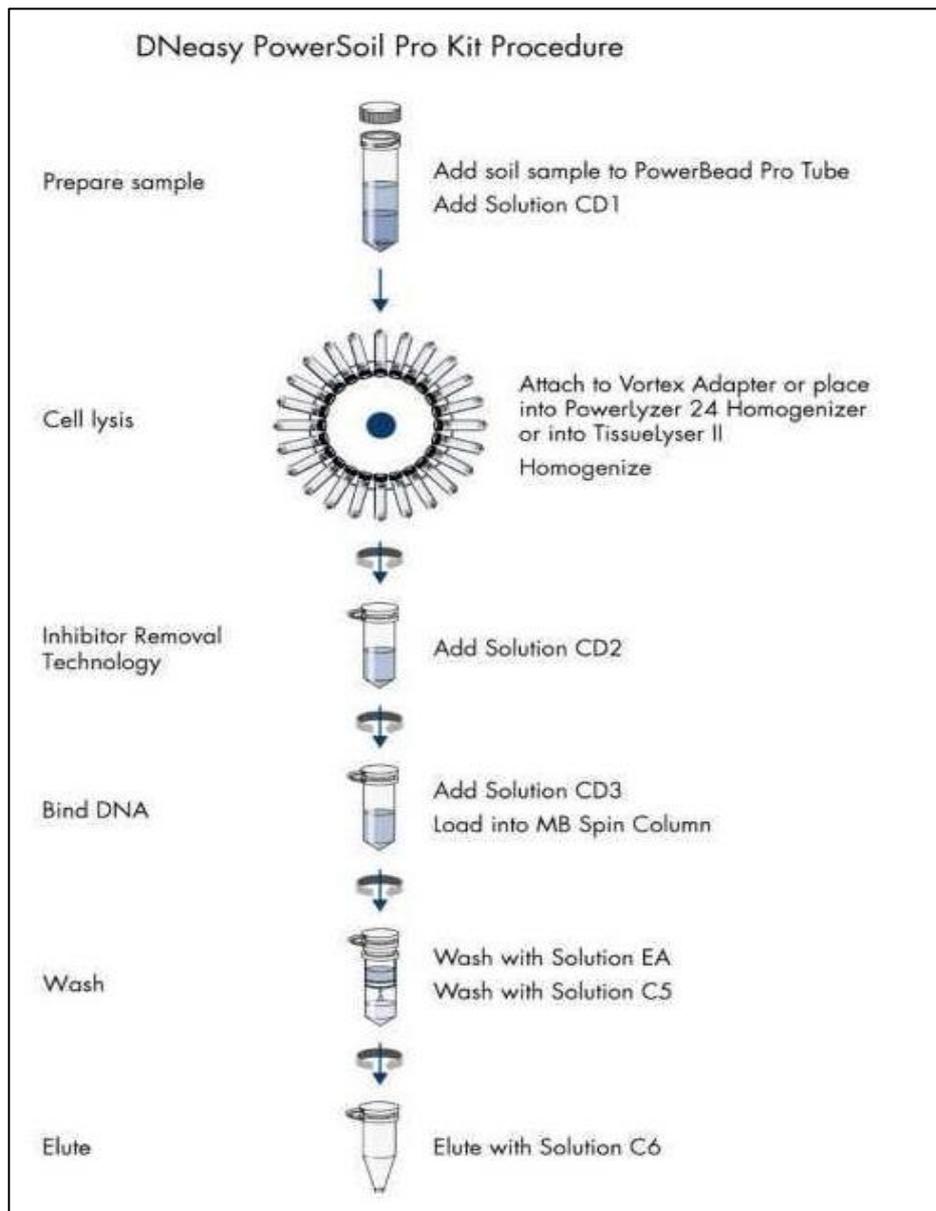


Fig. 3.11 Protocollo DNeasy PowerSoil Pro Kit

3.6 ANALISI DEI DATI

Si è proceduto con l'identificazione degli esemplari raccolti a livello di categoria ecologica e specie. Si sono identificati mediante stereomicroscopio per l'osservazione dei caratteri diagnostici e il supporto all'identificazione tramite l'utilizzo di manuali e il software LOMBRI (Paoletti e Gradenigo, 1996; e successivi aggiornamenti).

Successivamente, i dati derivati dalle osservazioni sono stati riportati su Excel, dove sono stati elaborati per fornire risultati utili alla tesi in oggetto.

Il numero di esemplari riscontrato dopo l'identificazione è stato convertito in valore statistico standard tipico della lombrico-fauna (esemplari a metro quadro). Tale unità di misura descrive la densità su una superficie di suolo nota, che si calcola moltiplicando al numero di esemplari riscontrato un fattore di conversione. Il fattore di conversione a sua volta viene calcolato rapportando la superficie effettiva di campionamento a metro quadro:

$$es/m^2 = n * FC$$

$$FC = \text{metro quadro espresso in cm} / \text{superficie totale di campionamento espressa in cm}$$

Nello specifico considerando una superficie di campionamento di 30 cm di lato, l'FC per ogni singola replica è pari a 11,111, mentre l'FC per ogni ambiente analizzato è pari a 3,704.

I dati relativi all'abbondanza a metro quadro per i diversi ambienti, determinati durante i campionamenti di aprile e maggio sono riportati nel capitolo dei risultati.

L'Indice di Qualità Biologica (QBS-e)

Il QBS-e è il parametro utilizzato per valutare la qualità biologica del suolo attraverso la presenza e l'abbondanza delle comunità di lombrichi. È uno strumento ecologico utilizzato in ambito agronomico ed ecologico per determinare lo stato di salute del suolo, dato che i lombrichi sono considerati bioindicatori importanti a causa del loro ruolo cruciale nel mantenimento della struttura del suolo, della sua aerazione e del ciclo dei nutrienti.

L'indice si basa sull'abbondanza di individui, cioè la quantità di lombrichi per unità di superficie, sulle categorie ecologiche a seconda del loro habitat nel suolo e delle loro funzioni ecologiche e sullo stadio di sviluppo. Tale indice se equilibrato in tutte le sue voci può indicare una buona salute del suolo. Il QBS-e è spesso utilizzato per monitorare l'impatto delle pratiche agricole, come la lavorazione del suolo, l'uso di pesticidi o fertilizzanti, e per valutare la sostenibilità ambientale delle colture.

Un valore alto di QBS-e suggerisce un suolo fertile e ben strutturato, capace di supportare una ricca biodiversità e di mantenere la produttività agricola nel lungo termine, mentre un valore basso può indicare problemi di degrado del suolo, come la compattazione, l'erosione, o la perdita di materia organica.

Il calcolo dell'Indice di Qualità Biologica del Suolo basato sui lombrichi si fonda sull'assegnazione di un determinato punteggio di qualità del suolo di un singolo ecosistema considerato, basato sulla biomassa specifica media delle forme giovanili e adulte delle specie di ogni categoria ecologica e definito Indicatore Eco-morfologico (EMI) (v. Parisi, 2001), agli esemplari di *Lumbricidae*.

Di seguito sono esplicitati i punteggi attribuiti ad ogni categoria ecologica (Paoletti et al., 2013).

Categoria ecologica	Stadio	Punteggio EMI
Idrofilo (IDR)	Giovane (G)	1
Idrofilo (IDR)	Adulto (AD)	1
Coprofago (COP)	Giovane (G)	2
Coprofago (COP)	Adulto (AD)	2
Epigeo (EPI)	Giovane (G)	2,5
Endogeo (END)	Giovane (G)	2,5
Epigeo (EPI)	Adulto (AD)	3
Endogeo (END)	Adulto (AD)	3,2
Anecico (ANE)	Giovane (G)	10
Anecico (ANE)	Adulto (AD)	14,4

I punteggi vengono successivamente moltiplicati al numero di esemplari di lombrichi per le corrispettive forme bioecologiche.

La sommatoria dei prodotti calcolati corrisponde al valore dell'Indice di Qualità Biologica del suolo basato sui lombrichi.

Il valore può essere convertito in classe di qualità per una più semplice individuazione del livello di qualità, di seguito la formula da applicare.

$$\begin{aligned} \text{QBS-e} = & (\text{HYD G, Ad} * \text{N}) + (\text{COP G, Ad} * \text{N}) + (\text{EPI G} * \text{N}) + (\text{END G} * \text{N}) \\ & + (\text{EPI Ad} * \text{N}) + (\text{END Ad} * \text{N}) + (\text{ANE G} * \text{N}) + (\text{ANE Ad} * \text{N}) \end{aligned}$$

Dove N corrisponde al numero di esemplari al m² contati per ogni categoria ecologica.

L'analisi dei dati è avvenuta tramite Excel.

4. RISULTATI

4.1 ATTIVITA' DI CAMPO

Sono stati raccolti un totale di 196 esemplari divisi nei due campionamenti stagionali, durante il campionamento di aprile sono stati raccolti 53 esemplari, mentre durante il campionamento di maggio sono stati raccolti 142 esemplari.

Nel primo campionamento (aprile) sono stati trovati nella siepe 59,2 esemplari/m², nel coltivo orticolo 48,1 es/m², nella *wetland* 37 es/m² e nel coltivo di mais 51,8 es/m².

Nel secondo campionamento (maggio) sono stati trovati nella siepe 125,9 esemplari/m², nel coltivo orticolo 188,9 es/m², nella *wetland* 166,7 es/m² e nel coltivo di mais 44,4 es/m².

Valutazione dell'attività dei lombrichi negli ambienti

Campionamento 1

La tabella fornisce una panoramica della distribuzione delle specie epigee (Ep), endogee (En) e aneciche (An), suddivise tra adulti (ad) e giovani (j) nei quattro ambienti considerati.

Per gli epigei la presenza è minima e limitata al solo coltivo di mais (M), dove gli adulti epigei (Ep ad) registrano un valore di 3,7. I giovani epigei (Ep j) non sono rilevati in alcun ambiente, indicando una scarsa presenza complessiva di queste specie.

Gli endogei mostrano una maggiore distribuzione. Gli adulti sono particolarmente presenti nel coltivo di mais e nella zona umida con un valore di 14,8 in ciascun ambiente. I giovani sono più abbondanti nella siepe con 29,6 e nel coltivo di mais con 22,2, indicando una buona adattabilità a diversi habitat.

Gli anecici adulti (An ad) sono rilevati principalmente nella siepe e nel coltivo di mais con 11,1 per ciascun ambiente, mentre sono assenti nella zona umida. I giovani anecici (An j) mostrano una maggiore presenza nel coltivo orticolo con 22,2 e nella siepe con 18,5, mentre nel coltivo di mais sono completamente assenti.

I giovani prevalgono sugli adulti in tutti gli ambienti, ad eccezione del mais, con la siepe che registra il valore più alto di giovani con 48,2, seguita dal coltivo

orticolo con 40,7. Questo suggerisce che i giovani, in particolare delle specie endogee e aneciche, trovano condizioni favorevoli in questi ambienti, specialmente nella siepe.

Il totale degli esemplari mostra che la siepe ha il valore più alto con 59,3, seguita dal coltivo di mais con 51,9. Questo indica che, nonostante la distribuzione più selettiva delle specie epigee, l'ambiente di mais riesce a supportare una presenza significativa.

Tuttavia, la siepe emerge come l'ambiente con la maggiore biodiversità, rendendola un habitat particolarmente favorevole.

In sintesi, la distribuzione degli esemplari evidenzia come la siepe e il coltivo orticolo siano gli ambienti più favorevoli per la crescita e la presenza delle specie giovani, mentre il coltivo di mais, nonostante la sua densità, riesce a mantenere una presenza equilibrata di diverse categorie.

Campionamento 2

Distribuzione delle Specie nei Diversi Ambienti

Le specie epigee mostrano una distribuzione molto limitata, infatti gli adulti (Ep ad) sono presenti solo nella siepe con 11,1, mentre i giovani (Ep j) sono rilevati nella siepe con 3,7 e nel coltivo orticolo con 7,4. Non si osserva la presenza di specie epigee né nella zona umida né nel coltivo di mais.

Per quanto riguarda le specie endogee, esse presentano una distribuzione molto più ampia e significativa. Gli adulti sono distribuiti in tutti gli ambienti, con valori più alti nel coltivo con 25,9 e nel coltivo di mais con 18,5. I giovani mostrano una prevalenza assoluta in tutti gli ambienti, soprattutto nel coltivo orticolo con 140,8 e nella zona umida con 133,3.

Le specie aneciche sono meno diffuse. Gli adulti sono presenti solo nella siepe con 3,7, mentre i giovani mostrano una presenza più marcata, soprattutto nel coltivo con 14,8 e nella zona umida con 22,2. Tuttavia, non si osservano giovani nel coltivo di mais.

I dati indicano una netta prevalenza di giovani rispetto agli adulti in tutti gli ambienti, anche se non così evidente nel coltivo di mais. Il coltivo orticolo emerge come l'ambiente più favorevole per le giovani specie, con un valore di 162,9, seguito dalla zona umida con 155,6.

Campionamenti congiunti

Come nominato nei materiali e metodi i risultati sono stati riuniti al fine di avere un'interpretazione globale all'interno della stagione di campionamento.

Le specie epigee mostrano una distribuzione limitata nei diversi ambienti analizzati. Gli adulti di queste specie sono principalmente presenti nella siepe, con un valore di 5,55, e nel coltivo di mais, con un valore di 1,9, mentre sono assenti sia nel coltivo orticolo che nella zona umida. I giovani delle specie epigee sono presenti nella siepe con un valore di 1,9 e nel coltivo orticolo con 3,7, ma non sono stati rilevati né nel coltivo di mais né nella zona umida.

Le specie endogee (En), scavando gallerie orizzontali, mostrano una distribuzione più omogenea e abbondante. Gli adulti sono rilevati in tutti e quattro gli ambienti: siepe con 11,1 e coltivo orticolo con 29,6, zona umida con 29,6, e coltivo di mais con 33,3.

I giovani delle specie endogee mostrano una predominanza significativa, con valori elevati in tutti gli ambienti: siepe con 118,5, coltivo orticolo con 159,3, zona umida con 144,5 e coltivo di mais con 48,2.

Le specie aneciche, che scavano gallerie verticali profonde nel suolo, hanno una presenza distribuita in modo più selettivo. Gli adulti sono stati rilevati nella siepe con 14,8, nel coltivo orticolo con 3,7 e nel coltivo di mais con 11,1, mentre sono assenti nella zona umida. I giovani, invece, mostrano una presenza significativa in tutti gli ambienti, tranne nel coltivo di mais, con valori particolarmente alti nel coltivo orticolo con 37,0 e nella zona umida con 33,3.

Il confronto tra adulti e giovani rivela che i giovani sono generalmente più abbondanti in tutti gli ambienti, soprattutto nel coltivo con un totale di 203,7, e nella zona umida con 177,8, dove le specie endogee dominano. Gli adulti, al contrario, hanno una distribuzione più modesta, con la maggiore presenza nel coltivo di mais con 48,2 e valori più bassi negli altri ambienti.

Complessivamente, il coltivo orticolo e la zona umida presentano il numero più alto di specie, con totali rispettivamente di 273,1 e 207,4, indicando una ricca biodiversità in questi ambienti. La siepe ha un totale di 185,2, mentre il coltivo di mais registra il valore più basso, con 96,3, suggerendo una diversità relativamente inferiore in questo habitat.

Tabella 2: Campionamenti congiunti. Dettaglio degli esemplari totali a metro quadrato divisi per categoria ecologica e per ambiente.

	Siepe	Coltivo Orticolo	Wetland	Mais
Ep ad	11,1	0,0	0,0	3,7
Ep j	3,7	7,4	0,0	0,0
En ad	11,1	29,6	29,6	33,3
En j	118,5	159,3	144,5	48,2
An ad	14,8	3,7	0,0	11,1
An j	25,9	37,0	33,3	0,0
<i>adulti</i>	37,0	33,3	29,6	48,2
<i>giovani</i>	148,2	203,7	177,8	48,2
totale	185,2	237,1	207,4	96,3

Tabella 3: Abbondanza delle specie a metro quadro per singola replica: Dettaglio delle categorie ecologiche (Cat. Ecol.), delle specie, lo stadio di sviluppo (SdS) e il numero di esemplari a metro quadro per singola replica. Le specie sottolineate corrispondono a quelle identificate per la prima volta in Veneto.

Cat.Ecol.	Specie	SdS	Siepe			Coltivo Orticolo			Wetland			Mais			
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Ep	<i>Lumbricus castaneus</i>	Ad			33,3									11,1	
	<i>Lumbricus castaneus</i>	juv	11,1				22,2								
En	<i>Allolobophora chlorotica</i>	Ad			11,1		11,1	11,1		11,1	22,2		22,2	22,2	
	<i>Allolobophora sp.</i>	juv		22,2	11,1	22,2	22,2	11,1	44,4	33,3	77,7	33,3		11,1	
	<u><i>Allolobophora cfr terrestris</i></u>	Ad										33,3			
	<i>Aporrectodea caliginosa</i>	juv		22,2	22,2	22,2	33,3		33,3		11,1				
	<u><i>Aporrectodea cfr trapezioides</i></u>	ad					33,3	11,1							
	<i>Aporrectodea rosea</i>	Ad	11,1		11,1		11,1	11,1	11,1		11,1		11,1	44,4	
	<i>Aporrectodea rosea</i>	juv	22,2	44,4	44,4	66,6	33,3	55,5		22,2	33,3	22,2		11,1	
	<i>Aporrectodea sp.</i>	juv	22,2	22,2	55,5	77,7	33,3	99,9		33,3	11,1	88,8	11,1	33,3	22,2
	<i>Microsclex phosphureus</i>	juv								33,3					
	<i>Octodrilus lissaensis</i>	juv		11,1	44,4					0					
	<i>Octolasion lacteum</i>	Ad								11,1					
An	<u><i>Aporrectodea nocturna</i></u>	Ad	11,1	22,2	11,1		11,1								
	<i>Aporrectodea cfr nocturna</i>	juv	22,2	11,1	11,1	22,2	11,1	77,7	22,2	11,1	44,4				
	<i>Aporrectodea nocturna</i>	juv	22,2	11,1	11,1				22,2	33,3					
Totale			122	167	266	211	222	278	211	122	289	99,9	77,7	111	

QBS-e totale

I parametri QBS-e, mostrano una variabilità significativa dell'Indice tra i vari ambienti, riflettendo le differenti capacità di supportare una comunità sana e attiva di lombrichi, che sono indicatori chiave della salute del suolo.

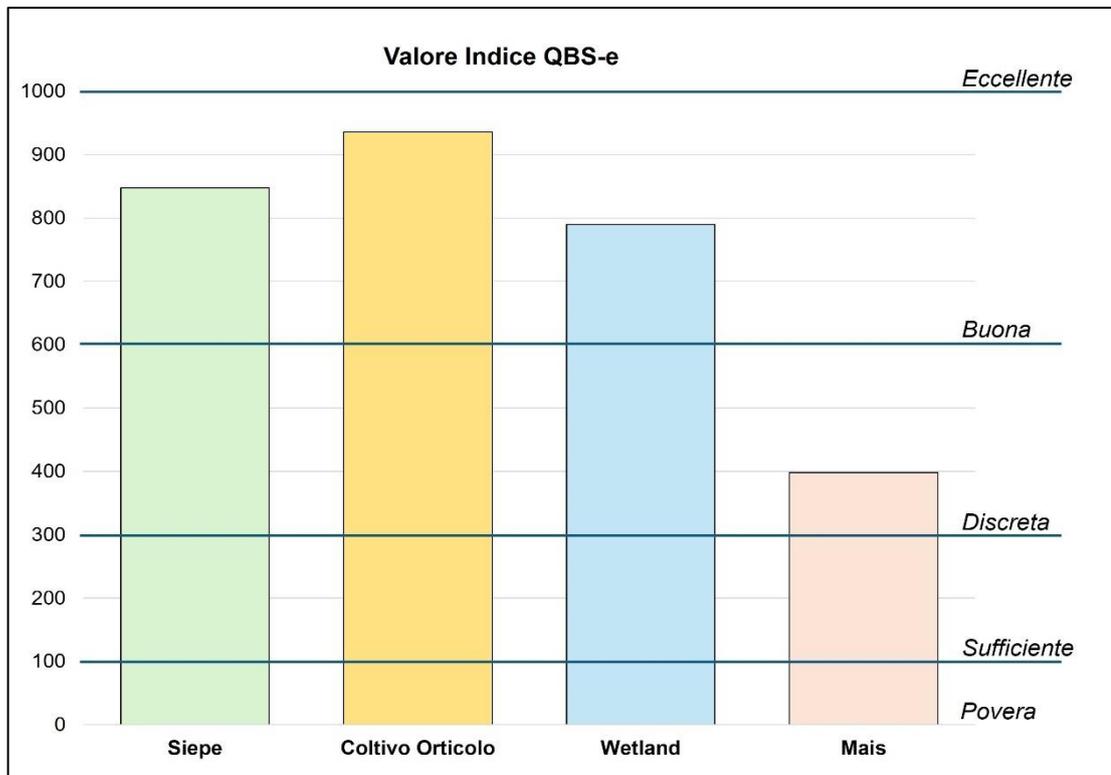
L'ambiente di coltivo registra il valore di QBS-e più alto, pari a 468, suggerendo che questo tipo di coltivo offre condizioni particolarmente favorevoli per i lombrichi. Questo potrebbe essere dovuto a pratiche agricole che mantengono o migliorano la qualità del suolo, come una buona gestione organica o irrigazione adeguata, che contribuiscono a creare un ambiente ricco di nutrienti e con una struttura del suolo ottimale per la vita dei lombrichi.

Segue la siepe con un indice di 424, che conferma come questi ambienti, spesso meno disturbati e con una copertura vegetale più diversificata, possano fornire un habitat stabile e favorevole per i lombrichi. La presenza di una lettiera organica ricca e l'assenza di interventi agricoli intensivi probabilmente contribuiscono a mantenere una buona qualità del suolo in queste aree.

La zona umida ha un valore di QBS-e pari a 395, che seppur inferiore a quelli della siepe e del coltivo orticolo, indica comunque una buona qualità del suolo. Tuttavia, le condizioni idriche particolari di una zona umida possono influenzare la densità e la composizione delle popolazioni di lombrichi, che preferiscono suoli con un buon drenaggio e ossigenazione.

Infine, il coltivo di mais presenta l'indice di QBS-e più basso, pari a 199. Questo dato suggerisce che il suolo di quest'area potrebbe essere meno favorevole per i lombrichi, probabilmente a causa delle pratiche agricole intensive spesso associate alla coltivazione del mais, come l'uso di fertilizzanti chimici, pesticidi o la monocoltura, che possono ridurre la biodiversità e compromettere la qualità del suolo.

Istogramma 1: QBS-e. Valore indice QBS-e dei quattro ambienti relativo alla media dei due campionamenti con corrispettiva classe di Qualità (Paoletti et al., 2013; Fusaro et al., 2018).



4.2 ATTIVITA' DI LABORATORIO

A inizio esperimento sono stati aggiunti sei esemplari di lombrichi descritti nel dettaglio all'interno dei "Materiali e Metodi" (Tabella 1).

Al termine dell'esperimento, da ogni contenitore di laboratorio, è stato rimosso il suolo e posto in un recipiente di dimensioni 60x40 cm, ispezionandone il contenuto.

Successivamente, sono stati raccolti i lombrichi presenti nei contenitori e identificati per categoria ecologica e stadio di sviluppo, per poi essere pesati per la valutazione della biomassa (vedi dettaglio Tabella S2).

Infine, sono state raccolte le deiezioni da spremitura, dei lombrichi stessi, tale procedura è servita al fine di completare le analisi che serviranno per altri studi che non rientrano nello scopo di questa tesi. I campioni delle deiezioni, opportunamente identificati tramite sigla, sono stati conservati a -80°C nei freezer del dipartimento.

Utilizzando i valori ricavati dalla fine dell'esperimento, illustrati nelle tabelle riportate in allegato (Tabella S2), è stato possibile osservare delle variazioni di biomassa nelle diverse condizioni.

Per un confronto più approfondito delle analisi è stata presa prima in considerazione la media della biomassa degli esemplari per categoria ecologica nelle singole repliche e, successivamente, la media totale dell'ambiente stesso.

Tabella 4: Media delle biomasse a fine esperimento. a) Valori medi di biomassa per le categorie ecologiche presenti all'interno dei quattro ambienti (siepe, coltivo, wetland e mais); b) Valori medi di biomassa per ambiente (per tabella dettagliata vedi Tabella S2)

a)

Ambiente	Cat. Ecol	Biomassa (g)	ES
SIEPE	Ep	0,000	0,000
	En	0,349	0,092
	An	1,234	0,137
COLTIVO	Ep	0,000	0,000
	En	0,308	0,060
	An	1,268	0,081
WETLAND	Ep	0,000	0,000
	En	0,305	0,068
	An	1,261	0,089
MAIS	Ep	0,000	0,000
	En	0,720	0,120
	An	1,287	0,066

b)

Ambiente	Biomassa (g)	ES
SIEPE	0,739	0,109
COLTIVO	0,582	0,079
WETLAND	0,608	0,088
MAIS	1,018	0,093

Ai fini dell'esperimento sono risultati molto importanti i dati ottenuti dai quattro contenitori di controllo, i quali sono stati processati come gli altri contenitori (Tabella 5).

Come si può notare dalle tabelle sottostanti si è verificato un calo di biomassa anche nel suolo artificiale, in quanto i valori delle categorie ecologiche e degli ambienti, a fine esperimento, risultano minori rispetto alla condizione di partenza (vedi Tabella 1a; 1b).

Tabella 5: Condizioni di controllo a fine esperimento. a) Valori medi di biomassa per categoria ecologica nei quattro ambienti e per l'OECD; b) valori medi di biomassa per ambiente nei quattro ambienti e per l'OECD (per tabella dettagliata vedi S3 e S4)

a)

Ambiente	Cat.Ecol	Biomassa (g)	ES
SIEPE	Ep	0,174	0,000
	En	0,023	0,000
	An	0,000	0,000
COLTIVO	Ep	0,000	0,000
	En	0,260	0,129
	An	0,000	0,000
WETLAND	Ep	0,000	0,000
	En	0,219	0,058
	An	0,000	0,000
MAIS	Ep	0,000	0,000
	En	0,000	0,000
	An	0,000	0,000
OECD	Ep	0,000	0,000
	En	0,610	0,049
	An	0,686	0,225

b)

Ambiente	Biomassa (g)	ES
SIEPE	0,099	0,076
COLTIVO	0,260	0,129
WETLAND	0,219	0,058
MAIS	0,000	0,000
OECD	0,635	0,078

Per un'analisi più approfondita, sono state eseguite le differenze tra biomasse. Nello specifico, come si può notare nelle tabelle sottostanti, alla biomassa finale (Tabella 4, dettaglio in Tabella S2) è stata prima sottratta la biomassa dei controlli (Tabella 5, dettaglio in Tabella S3 e S4) e successivamente alla restante biomassa è stata sottratta la biomassa inserita (Tabella 1, dettaglio in Tabella S1). Tale procedura è stata necessaria per capire l'effettiva variazione di biomassa avvenuta durante l'esperimento. Come si può notare dalle tabelle, i valori verdi risultano sul mais, dove c'era l'assenza di lombrichi, mentre il valore rosso evidenzia un calo maggiore di biomassa, in particolare da parte degli endogei nel coltivo.

Tabella 6: Confronto tra biomasse per categoria ecologica. Nella seguente tabella sono state calcolate per ogni categoria ecologica la biomassa netta (Biodiv. Net), la resa totale (Resa T) e la resa %.

Ambiente	Cat. Ecol	Biodiv.Net	Resa T	Resa %
SIEPE	Ep	-0,174	-0,174	0,000
	En	0,326	-1,006	-388,593
	An	1,234	-1,007	-181,591
COLTIVO	Ep	0,000	0,000	0,000
	En	0,049	-1,447	-569,571
	An	1,268	-0,941	-174,214
WETLAND	Ep	0,000	0,000	0,000
	En	0,086	-1,022	-434,687
	An	1,261	-0,699	-155,489
MAIS	Ep	0,000	0,000	0,000
	En	0,720	-0,572	-179,398
	An	1,287	-0,678	-152,669

Per una analisi più dettagliata delle biomasse si sono considerati anche i dati degli ambienti, ed utilizzando la stessa procedura per le differenze tra le diverse categorie ecologiche, si sono determinate le tabelle riportate di seguito:

Emerge in maniera più sintetica che nel mais c'è stato un calo di biomassa inferiore rispetto al coltivo.

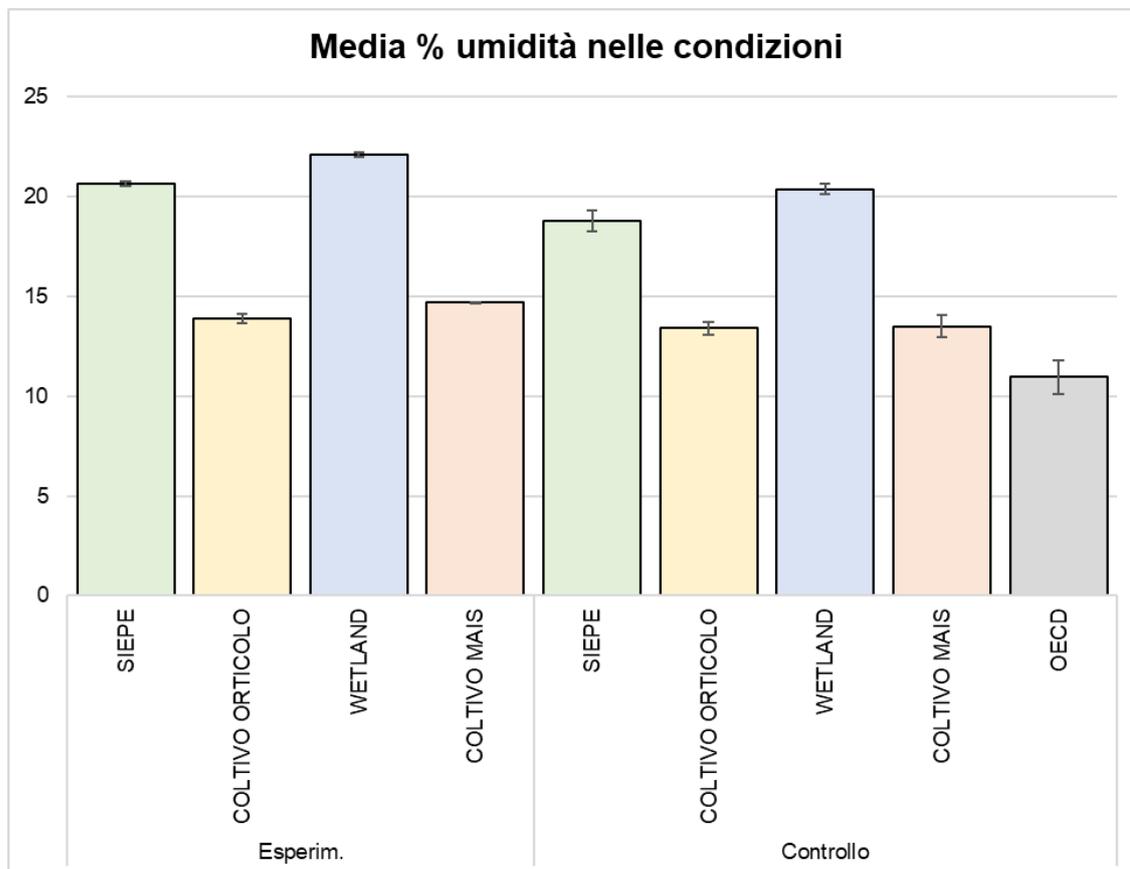
Tabella 7: Confronto tra biomasse per ambiente. Nella seguente tabella sono state calcolate per ogni ambiente la biomassa netta (Biodiv. Net), la resa totale (Resa T) e la resa %.

Ambiente	Biomassa (g)	Biodiv.Net	Resa T	Resa %
SIEPE	0,739	0,641	-0,994	-234
COLTIVO	0,582	0,323	-1,411	-342
WETLAND	0,608	0,389	-1,003	-265
MAIS	1,018	1,018	-0,498	-149

A completamento dell'esperimento è stata presa in considerazione anche l'umidità delle diverse condizioni.

Come si può notare dal grafico sottostante l'umidità risulta maggiore negli ambienti più naturali (siepe e *wetland*), a sottolineare il fatto che la presenza delle piante e la conseguente attività della pedo-fauna contribuiscono al trattenimento dell'acqua all'interno del suolo. Al contrario ambienti come il coltivo orticolo, sebbene abbia subito minime lavorazioni, e il coltivo di mais evidenziano la perdita di umidità, che risulta altrettanto evidente nel suolo artificiale (OECD).

Istogramma 2: Variazione % dell'umidità nelle condizioni. Nel grafico sono riportate le variazioni dell'umidità nei diversi ambienti e nei controlli (per tabella dettagliata vedi Tabella S5).



4.3 CONFRONTI TRA ATTIVITA' E QUANTIFICAZIONE DEL DNA

I risultati del DNA ottenuti dalle attività di campo sono riportati nella tabella sottostante (Tabella 13). È evidente come ci sia stato un incremento eterogeneo del DNA tra il primo e il secondo campionamento.

Tale variazione la si nota nel coltivo orticolo (C), con il primo campionamento pari a 1.80 e il secondo pari a 85.76, mentre nella *wetland* (WL) risulta interessante la variazione minore, a sottolineare il fatto che c'è molta sostanza organica nell'area.

Nell'esperimento in cella, invece, è stato riscontrato che: nei controlli, il coltivo, ha un leggero incremento, in quanto passa da un valore di 0.42 ad un valore di 8.08. Nel suolo OECD, come nel coltivo, la presenza di lombrichi farebbe aumentare il contenuto di DNA del suolo sebbene i valori di partenza siano bassi.

Infine, vi sono le condizioni con l'aggiunta di lombrichi: si può notare come sia aumentata la concentrazione di DNA nella siepe, ma sia diminuita nella WL e nel coltivo orticolo. Al contrario nel mais si osserva un leggero aumento, infatti si passa da un valore di 0.18 ad un valore di 0.42.

Sembrerebbe che la presenza di lombrichi porti ad un mutamento delle condizioni, ma su questo argomento urge più approfondimento in futuro.

Tabella 7. Medie delle concentrazioni di DNA nel suolo. Nella tabella sono indicate le diverse concentrazioni di DNA tra il campionamento di inizio (C1) e il campionamento di fine esperimento (C2), con indicate le % di variazione

		Medie conc DNA (ng/uL)	C1 / Inizio	C2 / Fine	% variazione
Campion	Siepe		58,81	175,22	197,9
	Coltivo		1,80	85,76	4655,4
	Wetland		104,60	164,22	57,0
	Mais		0,46	3,11	571,2
Esperimento Cella	Siepe		63,58	122,89	93,3
	Coltivo		2,57	2,04	-20,5
	Wetland		87,42	6,84	-92,2
	Mais		0,18	0,42	126,9
Esperimento Cella	Controllo	Siepe	171,33	117,33	-31,5
		Coltivo	0,42	8,08	1820,8
		Wetland	172,67	154,00	-10,8
		Mais	0,27	0,21	-19,1
		OECD	0,13	0,16	20,0

5. DISCUSSIONE

Durante le attività di campionamento dei lombrichi sono emerse alcune tendenze relative alle densità, tali da discriminare eventuali ambienti. Queste osservazioni sono fondamentali per comprendere le dinamiche ecologiche e la biodiversità nelle diverse tipologie di habitat studiati.

Dato l'oggetto di questa tesi si è potuto riscontrare che il coltivo orticolo e la zona umida sono identificati come habitat particolarmente ricchi, soprattutto per le specie endogee, manifestando una forte presenza sia di adulti che di giovani.

I dati relativi alle categorie ecologiche e stadio di sviluppo evidenziano come la distribuzione di epigei, endogei e anecici vari considerevolmente tra i diversi ambienti. Le specie epigee, ad esempio, si riscontrano in modo più marcato nella siepe e nel coltivo di mais. Le specie endogee, invece, risultano particolarmente abbondanti, soprattutto tra i giovani, nei contesti del coltivo orticolo e della zona umida, suggerendo un adattamento favorevole a questi ambienti, mentre le specie aneciche mostrano una distribuzione più selettiva.

È interessante sottolineare che tale tesi risulta essere uno dei primi documenti per l'Italia, che riportano l'individuazione delle specie *Aporrectodea nocturna* e *Aporrectodea trapezoides*, e una possibile presenza di *Allolobophora terrestris* ancora da confermare con sicurezza (Tabella 3), avvenuta presso l'Azienda Agraria Sperimentale Lucio Toniolo. Tali specie sono ipoteticamente già presenti sul suolo italiano, in quanto l'areale di distribuzione risulterebbe idoneo rispetto alle rilevazioni in altri Paesi limitrofi. Tuttavia, per una lacuna bibliografica e identificativa nel nostro paese non è stato possibile attribuire tali morfo-specie a questi *taxa*, ma tutto ciò è stato anche possibile grazie ad un aggiornamento recente della sistematica di tale genere (*Aporrectodea complex*, Fernandez-Marchàn, 2023; Pérez-Losana et al., 2009).

Risulta importante notare i risultati espressi dall'indice QBS-e, il quale mette in luce differenze sostanziali nella qualità del suolo tra i diversi ambienti.

In riferimento al sito siepe-coltivo, si può notare come la densità ricavata tramite l'indice QBS-e, risulti pressoché simile. Tali valori evidenziano come questi ambienti siano particolarmente favorevoli alla crescita e sviluppo dei lombrichi, in quanto nel coltivo la possibile gestione conservativa del suolo possa aver permesso tale esito.

Al contrario, per quanto riguarda il sito *wetland*-mais sono emersi dei valori di QBS-e discordanti, in quanto nella *wetland* è stato trovato un indice con valore doppio rispetto a quello del mais.

Tale risultato suggerisce che il suolo del coltivo di mais potrebbe essere meno favorevole per i lombrichi, probabilmente a causa delle pratiche agricole intensive, come ad esempio, l'uso di fertilizzanti chimici, pesticidi o la monocoltura, che possono ridurre la biodiversità e compromettere la qualità del suolo.

I campionamenti evidenziano il fatto che essa è maggiormente sostenuta in ambienti diversificati e meno disturbati come la siepe, la *wetland* e il coltivo orticolo, mentre il coltivo di mais, con un valore sensibilmente inferiore, potrebbe necessitare di pratiche di gestione più sostenibili per migliorare la salute del suolo.

Molto importanti sono stati i risultati ottenuti dalle analisi di laboratorio: è importante notare come la biomassa di fine esperimento risulti inferiore rispetto alla biomassa inserita. Tale risultato potrebbe essere legato alle condizioni probabilmente poco ottimali della cella, riferite all'umidità e temperatura, per lo sviluppo e crescita della biomassa dei lombrichi stessi. Questa tendenza è stata confermata anche dai controlli relativi al suolo artificiale, tale da avvalorare queste osservazioni.

Per quanto riguarda il confronto tra adulti e giovani, si può notare che i giovani endogei sono generalmente più abbondanti in tutti gli ambienti. Gli adulti, al contrario, hanno una distribuzione più modesta, con la maggiore presenza nel coltivo di mais e valori più bassi negli altri ambienti. Complessivamente, il coltivo orticolo e la zona umida presentano il numero più alto di specie indicando una ricca biodiversità in questi ambienti.

I risultati ottenuti dall'esperimento mostrano come la biomassa inserita abbia agito positivamente rispetto alla situazione di controllo e tale risultato è evidente soprattutto nel coltivo di mais, nel quale si ha avuto il calo minore.

L'osservazione dei risultati dell'esperimento in cella può portare ad una interpretazione legata all'utilizzo delle risorse presenti all'interno delle condizioni e di ogni singolo contenitore; si ipotizza, infatti, che le cause della diminuzione

generale della biomassa siano legate ad un consumo dei residui organici, che fungono da alimento.

Per poter dare un'interpretazione ecologica al dato riscontrato nell'esperimento in cella relativo all'ambiente mais si può ipotizzare che la minore perdita media di biomassa per gli esemplari di questo ambiente, rispetto agli altri ambienti presi in considerazione, può essere imputata al motivo esposto in precedenza: l'adattabilità dei lombrichi inseriti in un ambiente sfavorevole e di scarse risorse, quale un coltivo con gestione agronomica intensiva, risulta maggiore rispetto all'adattabilità degli esemplari introdotti in altre condizioni inizialmente più favorevoli.

Tale risposta può essere dovuta alla disponibilità iniziale delle risorse presenti nel suolo raccolto in campo per comporre le repliche, le quali nel periodo di durata dell'esperimento sono state consumate con un tasso maggiore rispetto a quello atteso.

La durata di 34 giorni di esperimento potrebbe quindi essere stata non efficace per lo scopo prefissato. Potrebbe essere perciò consigliabile ridurre i giorni di somministrazione dell'esperimento al fine di poter osservare eventuali tendenze di variazione di biomassa che possano tralasciare possibili distorsioni.

6. CONCLUSIONI

Dal lavoro di tesi è emerso che il QBS-e risulta un indice capace di fotografare lo stato di fertilità e salute di un suolo. Infatti, le analisi riportano che la siepe, il coltivo orticolo e la zona umida sono identificabili come habitat particolarmente ricchi di lombrico-fauna, soprattutto di specie endogee, con una forte presenza sia di individui adulti che di giovani.

Sebbene, come detto in bibliografia e confermato dalla tesi, i lombrichi possano considerarsi dei buoni bioindicatori tali da caratterizzare la qualità dei suoli, non è stato possibile evidenziare l'influenza che essi hanno sul DNA totale estraibile del suolo. Infatti la concentrazione di DNA nel suolo è risultata non correlata con il QBS-e: ad alti valori di QBS-e negli ambienti seminaturali di siepe, di *wetland* e di coltivo orticolo corrispondono alte concentrazioni di DNA solo nei primi due, mentre il coltivo orticolo e quello di mais riportano bassi valori di concentrazioni di DNA.

Per quanto riguarda la biomassa inserita nei contenitori, i risultati mostrano come essa abbia agito positivamente rispetto alla situazione di controllo e tale risultato è evidente soprattutto nel coltivo di mais.

Al fine di confrontare e correlare i risultati ottenuti sono state preparate tre repliche, che fungono da controllo, in linea con le direttive OECD (2006).

Tali tesi hanno avuto lo scopo di evidenziare le possibili differenze di sviluppo della lombrico-fauna in ambiente naturale e in cella climatica, con suoli naturali a confronto con un suolo artificiale.

L'osservazione dei risultati dell'esperimento in cella può portare ad una interpretazione legata all'utilizzo delle risorse presenti all'interno delle tesi; si ipotizza, infatti, che le cause della diminuzione generale della biomassa siano legate a un consumo dei residui organici, che fungono da alimento.

Per poter dare un'interpretazione ecologica al dato riscontrato nell'esperimento in cella relativo all'ambiente mais si può ipotizzare che la minore perdita media di biomassa per gli esemplari di questa tesi, rispetto alle altre tesi prese in considerazione, può essere imputata alla capacità adattativa dei lombrichi inseriti in un ambiente sfavorevole con scarse risorse. Tali individui inseriti in un suolo con gestione agronomica intensiva (coltivo di mais) sono stati indotti a un metabolismo ridotto rispetto agli esemplari introdotti in altre condizioni

inizialmente più favorevoli, nelle quali le risorse erano sicuramente maggiori e avevano indotto un'un'attività metabolica più elevata. Inoltre la durata di 34 giorni dell'esperimento ha sicuramente accentuato tale divario. Potrebbe essere, perciò, consigliabile ridurre i giorni di durata dell'esperimento oppure considerare una somministrazione aggiuntiva di alimenti durante la prova. Occorrerà ampliare questi risultati con nuovi esperimenti e analisi.

RINGRAZIAMENTI

Concludendo questo importante capitolo del mio percorso accademico, desidero esprimere la mia più profonda gratitudine a coloro che mi hanno accompagnato in ogni fase, rendendo possibile il raggiungimento di questo traguardo. Prima di tutto, un ringraziamento speciale va ai miei genitori, mamma Alida e papà Enrico, il cui supporto incondizionato ha rappresentato per me un punto di riferimento fondamentale. La loro pazienza, comprensione e costante fiducia nelle mie capacità mi hanno permesso di affrontare con serenità anche i momenti più difficili. Grazie per avermi sempre incoraggiato a non arrendermi e a guardare con determinazione verso l'obiettivo, nonostante gli ostacoli che si sono presentati lungo il cammino. Senza il vostro sostegno, sia morale che materiale, nulla di questo sarebbe stato possibile. Un pensiero di gratitudine va anche ai miei amici, che sono stati una presenza fondamentale durante questi anni. A loro devo molto, non solo per l'affetto e la compagnia, ma anche per la capacità di offrirmi consigli e punti di vista diversi nei momenti di incertezza. Grazie per aver condiviso con me le fatiche quotidiane, i momenti di studio intenso, così come i piccoli traguardi che abbiamo festeggiato insieme.

Infine, un ringraziamento sincero va a chi, in maniera più discreta ma non meno importante, ha contribuito a rendere possibile questo risultato: familiari e conoscenti che, con una parola di incoraggiamento o un gesto di affetto, hanno saputo infondere in me la forza necessaria per non mollare. A tutti voi va la mia più sentita gratitudine.

BIBLIOGRAFIA

- Ammer S., Weber K., Abs C., Ammer C., Prietzel J., 2006. Factors influencing the distribution and abundance of earthworm communities in pure and converted Scots pine stands, *Applied Soil Ecology* 33, 10-21.
- Arduin M., Sartori A., 2014. La fitodepurazione per il trattamento di acque di origine agricola e di reflui zootecnici. Veneto Agricoltura, Azienda Regionale per i Settori Agricolo, Forestale ed Agroalimentare, Legnaro, Padova.
- Ashwood F., Vanguelova E.I., Benham S., Butt K.R., 2019. Developing a systematic sampling method for earthworms in and around deadwood, *Forest Ecosystems* 6, 33.
- Bertolani R., Sabatini M., 1993. Ciclo evolutivo della sostanza organica in ambiente terrestre. Aspetti ecologici, selvicolturali e agronomici. Il ruolo della pedofauna nell'evoluzione della sostanza organica. Patron Editore, Bologna. pp. 87-111.
- Bottinelli N., Hedde M., Jouquet P., Capowiez Y., 2020. An explicit definition of earthworm ecological categories – Marcel Bouché's triangle revisited, *Geoderma* 372, 114361.
- Bouché M.B., 1977. Strategies lombriciennes, *Ecological Bulletins* 25 – Soil Organisms as Components of Ecosystems, 122-132.
- Darwin, C.R., 1881. *The Formation of Vegetable Mould, Through the Action of Worms, with Observations on Their Habits*. John Murray, London.
- Dell'Agnola G., Nardi S., 1993. Ruolo della sostanza organica nella regolazione della fertilità dei terreni, in Nannipieri P. (a cura di), *Ciclo della sostanza organica nel suolo: aspetti agronomici, chimici, ecologici, selvicolturali*, Patron Editore, Bologna.
- D'Hervilly C., Bertrand I., Berlioz L., Hedde L., Capowiez Y., Dufour L., Marsden C., 2024. Tracking earthworm fluxes at the interface between tree rows and crop habitats in a Mediterranean alley cropping field. *European Journal of Soil Biology*. 120, 103572. Doi: 10.1016/j.ejsobi.2023.103572
- Edwards C.A., Arancon N.Q., 2022. *Biology and Ecology of Earthworms*. 4th edition. Springer New York, NY. pp 567 doi: 10.1007/978-0-387-74943-3
- Fernandez-Marchà D., Martínez Navarro A., Jiménez Pinaredo S., Gerard S., Hedde M., Dominguez J., Decaens T., Novo M., 2023. Understanding the

- diversification and functional radiation of Aporectodea (Crassiclitellata, Lumbricidae) through molecular phylogenetics of its endemic species. *European Journal of Soil Biology*. 119, 103559. doi: 10.1016/j.ejsobi.2023.103559
- Fründ H.-C., Butt K., Capowiez Y., Eisenhauer N., Emmerling C., Ernst G., Potthoff M., Schädler M., Schrader S., 2010. Using earthworms as model organisms in the laboratory: Recommendations for experimental implementations. *Pedobiologia*. 53. 119-125. Doi: 10.1016/j.pedobi.2009.07.002.
- Fusaro S., Gavinelli F., Lazzarini F., Paoletti M.G., 2018. Soil Biological Quality Index based on earthworms (QBS-e). A new way to use earthworms as bioindicators in agroecosystems, *Ecological Indicators* 93, 1276-1292.
- Galvan P., Ponge J.F., Scattolin L., Viola F., Zanella A., 2005. Le forme di humus e la pedofauna: interpretazione delle interrelazioni e chiavi di riconoscimento, *Sherwood* 112, 33-39.
- Galvan P., Solaro S., Chersich S., Zanella A., 2006. Il ruolo della pedofauna nella variabilità spaziale e temporale delle forme di humus: indagini micromorfologiche su sezioni sottili ed osservazioni allo stereoscopio. *Forest@3* (4): 555-561. URL: <http://www.sisef.it/>.
- Gavinelli F., Barcaro T., Csuzdi C., Blakemore R.J., Fernandez Marchan D., De Sosa I., Dorigo L., Lazzarini F., Nicolussi G., Dreon A.L., Toniello V., Pamio A., Squartini A., Concheri G., Moretto E., Paoletti M.G., 2018. Importance of large, deep-burrowing and anecic earthworms in forested and cultivated areas (vineyards) of northeastern Italy. *Applied Soil Ecology* 123, 751-774.
- Giardini L., 2012. L'agronomia per conservare il futuro. *Scienza e tecniche delle produzioni Vegetali*. Pàtron Editore. Bologna. pp. 704. ISBN.9788855531689
- Hartmann F., 1970. *Diagnosi degli humus forestali su basi biomorfologiche*, CEDAM, Padova.
- Hoeffner K., Santonja K., Monard C., Barbe L., Moning M., Cluzeau D., 2021. Soil properties, grassland management, and landscape diversity drive the assembly of earthworm communities in temperate grasslands. *Pedosphere*. 31(2),375-383. doi: 10.1016/S1002-0160(20)60020-0

- Hofman J., Hovorková I., Machát J. 2009. Comparison and Characterization of OECD Artificial Soils. In: Moser, H., Römbke, J. (eds) Ecotoxicological Characterization of Waste. Springer, New York, NY. doi: 10.1007/978-0-387-88959-7_24.
- Latella L., Gobbi M., 2015, La fauna del suolo. Tassonomia, ecologia e metodi di studio dei principali gruppi di invertebrati terrestri italiani. Quaderni del museo delle scienze MUSE-Museo delle Scienze. pp 205. ISBN.8853100354
- Lavelle, P., Spain, A., 2007. Soil Ecology. Springer Science & Business Media 654 pp.
- Lemtiri A., Colinet G., Alabi T., Cluzeau D., Zirbes L., Haubruge E., Francis F., 2014. Impacts of earthworms on soil components and dynamics. A review. 18. Biotechnology, Agronomy and Society and Environment
- Marcuzzi G., 1967-68. Osseraazioni ecologiche sulla fauna del suolo di alcune regioni forestali italiane. Ann. Centro Econ. Mont. Univ. padova, Vol. 7, pp. 209-211.
- Marcuzzi G., Di Castni F., Lonrenzoni A.M., 1970b - La fauna del suolo di una regione delle Prealpi Venete (M. Spiz. Recoaro) Aspetti Autoecologici. Atti Ist. Ven. Sc. Lett. Arti, Vol. 128, pp. 411-567.
- Maretto L., Deb S., Ravi S., Della Lucia M.C., Borella M., Campagna G., Squartini A., Concheri G., Nardi S., Stevanato P., 2023. 16S metabarcoding, total soil DNA content, and functional bacterial genes quantification to characterize soils under long-term organic and conventional farming systems. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 10. doi: 10.1186/s40538-023-00450-3
- Maucieri C., Florio G., Borin M., 2018. Ligneous-cellulosic, nitrophilous and wetland plants for biomass production and watertable protection against nutrient leaching. European Journal of Agronomy. 96(77), 86. doi: 10.1016/j.eja.2018.01.018
- Menta C., Leoni A., Bardini M., Gardi C., Gatti F., 2008. Nematode and microarthropod communities: comparative use of soil quality bioindicators in covered dump and natural soils. Environmental Bioindicators, 3 (1), 35-46.
- Millennium Ecosystem Assessment, 2005. Ecosystems and Human Well-Being: Wetlands and Water Synthesis. World Resources Institute, Washington, DC. ISBN.1-56973-597-2

- Nikolić N., Mattivi P., Pappalardo S., Miele C., De Marchi M., Masin R., 2022. Opportunities from Unmanned Aerial Vehicles to Identify Differences in Weed Spatial Distribution between Conventional and Conservation Agriculture. 5:14, Sustainability. Doi: 10.3390/su14106324
- Pagliai M., 2008. La prevenzione della degradazione del suolo per una gestione sostenibile. In: Proceedings of the Congress "Conservazione e fertilità del suolo, cambiamenti climatici e protezione del paesaggio". Roma, Dicembre, 2008.
- Paoletti M.G., 1999. The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators.
- Paoletti M.G., Gradenigo C., 1996. Lombri CD-ROM, Lapis, Padova.
- Paoletti M.G., Sommaggio D., Fusaro S. (2013), Proposta di Indice di Qualità Biologica del Suolo (QBS-e) basato sui lombrichi e applicato agli Agroecosistemi, *Biologia Ambientale* 27(2), 25-43.
- Paoletti M.G., 1999. The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. *Agric. Ecosyst. Environ.* 74 (1–3), 137–155.
- Parisi V., 2001. La qualità biologica del suolo. Un metodo basato sui microartropodi. 3/4. In: *Acta Naturalia de "L'Ateneo Parmense"*, pp. 105–114.
- Pelosi C., Bertrand M., Thénard J., Mougin C., 2015. Earthworms in a 15 years agricultural trial. *Appl. Soil Ecol.* Doi: 10.1016/j.apsoil.2014.12.004.
- Pelosi C., Bertrand M., Capowiez Y., Boizard H., Roger-Estrade J., 2009. Earthworm collection from agricultural fields: Comparisons of selected expellants in presence/absence of hand sorting, *European Journal of Soil Biology* 45, 176-183.
- Perel T.S., 1977. Differences in lumbricid organization connected with ecological properties, *Ecological Bulletins* 25 – Soil Organisms as Components of Ecosystems, 56-63.
- Pérez-Losada M., Ricoy M., Marshall J.C., Domínguez J., 2009. Phylogenetic assessment of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* species complex (Oligochaeta: Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 52(2), 293-302. doi: 10.1016/j.ympev.2009.04.003

- Pietrasiak N., 2015. Field Guide to Classify Biological Soil Crusts for Ecological Site Evaluation. Biology Department John Carroll University, USA.
- Pizzeghello D., Zanella, A., Carletti, P., Nardi, S., 2006. Chemical and biological characterization of dissolved organic matter from silver fir and beech forest soils. *Chemosphere* 65, 190–200. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.03.001.
- Ponge J.F., Chevalier R., Loussot P., 2002. Humus Index: An Integrated Tool for the Assessment of Forest Floor and Topsoil Properties, *Soil Science Society of America Journal* 66, 1996-2001.
- Ponge J.F., 2013. Plant-soil feedbacks mediated by humus forms: a review. *Soil Biol. Biochem.* Doi: 10.1016/j.soilbio.2012.07.019.
- Ponge J.F., Sartori G., Garlato A., Ungaro F., Zanella, A., Jabiol B., Obber S., 2014. The impact of parent material, climate, soil type and vegetation on Venetian Forest humus forms: a direct gradient approach. *Geoderma* 226–227, 290–299. Doi: 10.1016/j.geoderma.2014.02.022.
- Ponge J.F., Zanella A., Sartori G., Jabiol B., 2010. Terrestrial Humus Forms: Ecological Relevance and Classification. In: Jeffery, S., Gardi, C., Jones, A., Montanarella, L., Marmo, L., Miko, L., Ritz, K., Peres, G., Roembke, J., Putten van, W. (Eds.), *European Atlas of Soil Biodiversity*, EUR 24375 EN. Publication Office of the European Union, pp. 14–15. Doi: 10.2788/94222.
- Rallo G., Pandolfi M., 1988. Le zone umide del Veneto. *Scienze naturali* 24, 2a edizione. p. 396. Franco Muzzio Editore, Padova. ISBN-10:8870214192.
- Sommaggio D., Paoletti M.G., 2018. Gli invertebrati come bioindicatori di un paesaggio sostenibile, libreriauniversitaria.it, Padova.
- Veneto Agricoltura, 2008. Depliant per la progettazione e impianto siepi.
- Zaccone C., Sequi P., 2017. *Fondamenti di chimica del suolo*. Pàtron Editore, Bologna. pp. 296. ISBN.9788855533621
- Zanella A., Ponge J.F., de Waal R., Ferronato C., De Nobili M., Juilleret J., 2018. *Humusica* 1, article 3: Essential bases – Quick look at the classification, *Applied Soil Ecology* 122, 42-55.

SITOGRAFIA

- Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione Ambientale del Veneto (ARPAV), 2022. IL SUOLO - Formazione, proprietà e funzioni. <https://www.arpa.veneto.it/temi-ambientali/suolo/il-suolo-formazione-proprieta-e-funzioni>
- Gruppo Mineralogico Paleontologico Euganeo (G.M.P.E.), 2024. Le caratteristiche dei suoli maturi <https://www.gmpe.it/geomorfologia/suolo>
- Touch the Soil, 2024. Sequestering 1Trillion Tons of Carbon into the Soils. www.kelp4less.com <https://www.kelp4less.com/sequestering-1-trillion-tons-of-carbon-into-the-soils>
- Repubblica e Cantone Ticino, 2024. Siepi, boschetti e alberi singoli: Biodiversità, natura e paesaggio www4.ti.ch <https://www4.ti.ch/dt/dstm/sst/unp/biodiversita-natura-e-paesaggio/biodiversita-natura-e-paesaggio/natura/biotopi/siepi-boschetti-e-alberi-singoli>
- Gentili G., 2012. Il paesaggio agricolo storico marchigiano. Un futuro negato? www.architettogentili.it <https://www.architettogentili.it/commenti.php?id=12>
- Istockphoto, 2016. Trattore coltivare campo di primavera. www.istockphoto.com <https://www.istockphoto.com/it/immagine/campo-arato>
- Prairie gardens, 2023. Why Fall Is a Great Time to Plant Fruit Trees in the Prairies? prairiegardens.org <https://prairiegardens.org/blog/why-fall-is-a-great-time-to-plant-fruit-trees-in-the-prairies/>
- Atlas for, 2024. Terrazzamento nel canale del Brenta (Vicenza). atlas.landscapefor.eu <https://atlas.landscapefor.eu/category/natura/poi/12350-terrazzamento-nel-canale-del-brenta-vicenza/8489-sezione-indicativa-di-terrazzamento/>
- Arcovio V., 2024. Sanità informazione. Malaria: Iss, nessun allarme dopo il ritrovamento della zanzara Anopheles sacharovi in Salento. www.sanitainformazione.it <https://www.sanitainformazione.it/salute/malaria-iss-nessun-allarme-dopo-il-ritrovamento-della-zanzara-anopheles-sacharovi-in-salento/>
- Millennium Ecosystem Assessment, 2005. www.isprambiente.gov.it <https://www.isprambiente.gov.it/it/attivita/biodiversita/documenti/millennium-ecosystem-assessment>

Flaccavento G., Romano N., 2007. Osservare e sperimentare. Fabbri Editori
<http://forum.indire.it/>
http://forum.indire.it/repository_cms/working/export/4695/stuff/allegati/caratteristiche_anatomiche.pdf

Vianale P., Mastracci T., Ponziani P.R.V., Martella A., Di Campi L., 2003. Dispense del Corso di Zoologia II. <http://www.luciopesce.net/>
<http://www.luciopesce.net/zoologia/anellidi/oligo.htm>

Gruppo Micologico Naturalistico Colli Euganei di Teolo.
<http://www.gmncolliuganei.it>

Bonioni L., 2018. La riproduzione del lombrico. www.animalpedia.it
<https://www.animalpedia.it/la-riproduzione-del-lombrico-2413.html>

Cittadino agricoltura, 2024. Che fare per i lombrichi sul prato dopo le piogge primaverili www.cittadinoagricoltura.it
<https://www.cittadinoagricoltura.it/agrimagazine/che-fare-per-i-lombrichi-dopo-le-piogge-primaverili/>

Il mondo nascosto, 2024. www.ilmondonascosto.com
<https://www.ilmondonascosto.com/invertebrati/altro.html>

Sahanowaz A., 2024. it.vecteezy.com <https://it.vecteezy.com/foto/5930976-lombrico-terreno-in-verde-natura-buco-di-lombrico-fatto-da-suoi-escrementi-verde-muschio-nel-terreno>

Google, versione 2024. <https://earth.google.it/>

Radoczy A. 2024. [It.dreamstime.com](http://it.dreamstime.com). <https://it.dreamstime.com/fotografia-stock-lombrico-lumbricus-terrestris-image42103975>

Pesce L., 2024. www.luciopesce.net
<http://www.luciopesce.net/zoologia/anellidi/oligo.htm>

Calvino, 2024. www.digilander.libero.it
<https://digilander.libero.it/emcalvino/funghi/simbiosi.html>

MATERIALE SUPPLEMENTARE

TABELLE

Tabella S1: Esempari utilizzati per l'esperimento con rispettive biomasse per replica.

Sono riportati tutti i pesi in grammi dei lombrichi aggiunti per iniziare l'esperimento

Esempari aggiunti alle condizioni				Cat.Ecol		RepTotale		Totale Amb			
Ambiente	Repl	Cat.Ecol	Biomassa (g)	Medie	ES	Medie	ES	Medie	ES		
SIEPE	1	En	1,289	1,265	0,056	1,738	0,301				
	1	En	1,359								
	1	En	1,308								
	1	En	1,104	2,683	0,003	1,475	0,196	1,635	0,119		
	1	An	2,68								
	1	An	2,686								
	2	En	1,189	1,17175	0,013						
	2	En	1,16								
	2	En	1,196								
	2	En	1,142	2,0805	0,160						
	2	An	2,24								
	2	An	1,921								
	3	En	1,65	1,55975	0,040					1,693	0,088
	3	En	1,508								
	3	En	1,604								
3	En	1,477	1,959	0,003							
3	An	1,956									
3	An	1,962									
COLTIVO	1	En	1,76	1,41425	0,143	1,602	0,154				
	1	En	1,261								
	1	En	1,524								
	1	En	1,112	1,976	0,144						
	1	An	2,12								
	1	An	1,832								
	2	En	1,882	1,74025	0,062	1,877	0,095				
	2	En	1,798								
	2	En	1,599								
	2	En	1,682	2,1495	0,033						
	2	An	2,117								
	2	An	2,182								
	3	En	1,542	1,33325	0,087	1,722	0,252				
	3	En	1,254								
	3	En	1,397								
3	En	1,14	2,499	0,053							
3	An	2,552									
3	An	2,446									
WETLAND	1	En	1,17	1,175	0,070	1,438	0,173				
	1	En	1,02								
	1	En	1,36								

	1	En	1,15				
	1	An	2				
	1	An	1,93	1,965	0,035		
	2	En	1,63				
	2	En	1,14	1,0375	0,255		
	2	En	0,99			1,343	0,255
	2	En	0,39				
	2	An	1,81	1,955	0,145		
	2	An	2,1				
	3	En	1,32				
	3	En	1,14	1,1125	0,092		
	3	En	0,87			1,395	0,196
	3	En	1,12				
	3	An	2,17	1,96	0,210		
	3	An	1,75				
	1	En	1,39				
	1	En	1,34	1,3275	0,024		
	1	En	1,3			1,515	0,120
	1	En	1,28				
	1	An	1,85	1,89	0,040		
	1	An	1,93				
	2	En	1,34				
	2	En	0,99	1,355	0,135		
	2	En	1,46			1,593	0,176
	2	En	1,63				1,516 0,087
	2	An	2,19	2,07	0,120		
	2	An	1,95				
	3	En	1,19				
	3	En	1,42	1,1925	0,098		
	3	En	0,94			1,440	0,170
	3	En	1,22				
	3	An	1,85	1,935	0,085		
	3	An	2,02				
	1	En	1,04				
	1	En	1,09	1,1025	0,027		
	1	En	1,17			1,387	0,211
	1	En	1,11				
	1	An	1,53	1,955	0,425		
	1	An	2,38				
	2	En	0,6				
	2	En	1,23	0,97	0,143		
	2	En	1,16			1,217	0,181
	2	En	0,89				1,202 0,115
	2	An	1,68	1,71	0,030		
	2	An	1,74				
	3	En	0,82				
	3	En	0,6	0,6775	0,050		
	3	En	0,62			1,003	0,208
	3	En	0,67				
	3	An	1,64	1,655	0,015		
	3	An	1,67				
MAIS							
OECD							

Tabella S2: Dati di fine esperimento

Ambiente	Rep.	Cat. Ecol	St. di Svil	Biomassa (g)	Totale Cat.Ecol		Totale Repl		Totale		Esempl. Sprem.
					Media	ES	Media	ES	Media	ES	
SIEPE	1	En	ad	0,865	0,465	0,193	0,779	0,280	0,739	0,109	S 1.1
		En	ad	1,000							
		En	ad	0,811							
		En	juv	0,046							
		En	juv	0,037							
		En	juv	0,030							
		An	ad	2,393							
		An	ad	1,050							
	2	En	juv	0,041	0,368	0,230	0,746	0,201	0,739	0,109	S 2.1
		En	juv	0,037							
		En	juv	0,036							
		En	ad	0,934							
		En	ad	0,964							
		En	juv	0,037							
		En	juv	0,027							
		En	juv	0,866							
		An	ad	1,397							
		An	ad	1,807							
		An	ad	1,800							
		An	juv	1,006							
	3	Ep	ad	0,210	0,210	0,000	0,711	0,141	0,739	0,109	S 3.2
		En	ad	0,033							
		En	juv	0,362							
		En	juv	0,120							
En		juv	0,170								
An		ad	1,410								
An		ad	1,371								
An		ad	1,081								
An		ad	0,960								
An		ad	1,078								
An		juv	0,600								
An		juv	1,144								
An		juv	1,302								
An		juv	0,111								
COLTIVO	1	En	ad	0,930	0,262	0,073	0,441	0,104	0,582	0,079	
		En	ad	0,774							
		En	ad	0,634							
		En	juv	0,099							
		En	juv	0,272							

		En juv	0,387					
		En juv	0,363					
		En juv	0,329					
		En juv	0,172					
		En juv	0,070					
		En juv	0,024					
		En juv	0,023					
		En juv	0,051					
		En juv	0,032					
		En juv	0,016					
		En juv	0,012					
		An ad	1,546					C 1.1
		An ad	1,087	1,160	0,135			
		An juv	0,913					
		An juv	1,095					
	2	En ad	0,114					
		En juv	0,383	0,385	0,163			
		En juv	0,976					
		En juv	0,402					
		En juv	0,051					
		An ad	1,451			0,876	0,133	C 2.1
		An ad	1,189					
		An ad	1,120					
		An ad	1,197	1,183	0,069			
		An ad	1,478					
		An ad	1,000					
		An ad	0,935					
		An ad	1,094					
	3	En ad	1,010					C 3.1
		En ad	0,900					C 3.2
		En ad	1,094					C 3.3
		En ad	0,060					
		En ad	0,836					
		En juv	0,016					
		En juv	0,009	0,334	0,161			
		En juv	0,010			0,520	0,161	
		En juv	0,006					
		En juv	0,005					
		En juv	0,093					
		En juv	0,155					
		En juv	0,085					
		En juv	0,394					
		An ad	1,765	1,820	0,055			
		An ad	1,875					
WETLAND	1	Ep ad	0,049					WL 4
		En ad	1,014					
		En ad	0,824					
		En ad	0,089	0,372	0,119	0,584	0,147	0,603 0,087
		En ad	0,123					
		En ad	0,107					
		En juv	1,025					

		En juv	0,484	1,361	0,117			WL 1 WL 2 WL 3
		En juv	0,137					
		En juv	0,204					
		En juv	0,034					
		An ad	1,181					
		An ad	1,321					
		An ad	1,581					
	2	En ad	1,144	0,251	0,110	0,551	0,161	WL 2.1 WL2.2
		En ad	0,910					
		En ad	0,394					
		En juv	0,123					
		En juv	0,131					
		En juv	0,066					
		En juv	0,090					
		En juv	0,024					
		En juv	0,020					
		En juv	0,034					
		En juv	0,034					
		En juv	0,040					
		An ad	1,633					
		An ad	1,396					
3	An ad	1,746	0,308	0,114	0,696	0,142	WL 3.1 WL 3.2	
	An ad	1,028						
	En ad	0,167						
	En ad	0,854						
	En juv	0,286						
	En juv	0,199						
	En juv	0,266						
	En juv	0,074						
	An ad	1,578						
	An ad	1,030						
MAIS	1	An ad	1,178	1,084	0,126			
		An ad	1,140					
		An ad	0,932					
		An ad	0,643					
		En ad	0,643					
	2	En ad	1,000	0,942	0,058	1,296	0,580	M 1.4 M1.1 M 1.2 M 1.3
		En ad	0,884					
		An ad	1,720					
		An ad	1,490					
		An ad	1,388					
		En ad	0,796					
		En ad	0,853					
		En ad	0,210					
	3	En juv	0,035	0,474	0,206	0,831	0,166	M 2.1 M 2.2
		An ad	1,244					
An ad		1,266						
An ad		1,161						
An ad		1,080						
	3	En ad	1,083	0,901	0,118	1,037	0,092	M 3.2
		En juv	0,939					

		En	juv	0,680				
		An	ad	1,250				
		An	ad	1,290	1,174	0,097		
		An	juv	0,982				M 3.1

Tabella S3: Condizioni di controllo escluse le OECD a fine esperimento. Si evince la distinzione dei diversi ambienti con l'identificazione delle categorie ecologiche, lo stadio di sviluppo, la biomassa, la media in grammi per categoria ecologica, l'errore standard (ES) e gli esemplari spremuti.

Condizioni di Controllo				Totale Cat.Ecol		Esempl. Sprem.
Ambiente	Cat.Ecol.	St. di Svil.	Biomassa (g)	Media	ES	
Siepe	Ep	ad	0,174	0,174	0,000	C SI 1
	Ep	juv	0,000			
	En	ad	0,000			
	En	juv	0,023	0,023	0,000	
	An	ad	0,000			
	An	juv	0,000			
Coltivo	Ep	ad	0,000			
	Ep	juv	0,000			
	En	ad	0,539			
	En	juv	0,419	0,260	0,126	
	En	juv	0,064			
	En	juv	0,016			
	An	ad	0,000			
	An	juv	0,000			
Wetland	Ep	ad	0,000			C WL 1 C WL 2 C WL 3 C WL 4
	Ep	juv	0,000			
	En	ad	0,000			
	En	juv	0,183			
	En	juv	0,211	0,219	0,058	
	En	juv	0,434			
	En	juv	0,187			
	En	juv	0,082			
	An	ad	0,000			
	An	juv	0,000			
Mais	Ep	ad	0,000			
	Ep	juv	0,000			
	En	ad	0,000	0,000	0,000	
	En	juv	0,000			
	An	ad	0,000			
	An	juv	0,000			

Tabella S4: Condizioni di controllo (OECD) a fine esperimento. Si evince la distinzione nelle diverse repliche con l'identificazione delle categorie ecologiche, lo stadio di sviluppo, la biomassa, la media in grammi per categoria ecologica, l'errore standard (ES) e gli esemplari spremuti.

Condizioni di Controllo					Totale Cat.Ecol		Replica		Totale Esempl		Esempl. Spremi.
Ambiente	Rep.	Cat.Ecol.	St. di Svil.	Biomassa (g)	Media	ES	Media	ES	Media	ES	
OECD	1	Ep	ad	0,000							OECD 1.1
		Ep	juv	0,000							
		En	ad	0,683	▶	▶					
		En	ad	0,610							
		En	ad	0,666			0,643	0,018	0,774	0,094	
		En	ad	0,614							
		En	juv	0,000							
		An	ad	1,206	▶						
		An	ad	0,867			1,037	0,1695			
	An	juv	0,000								
	2	Ep	ad	0,000							OECD 2.2
		Ep	juv	0,000							
		En	ad	0,532	▶	▶					
		En	ad	0,680							
		En	ad	0,778			0,621	0,066	0,754	0,103	
		En	ad	0,495							
		En	juv	0,000							
		An	ad	1,181	▶						
		An	juv	0,860			1,021	0,161			
	An	juv	0,000								
	3	Ep	ad	0,000							OECD 3.1 OECD 3.2
		Ep	juv	0,000							
		En	ad	0,979	▶	▶					
		En	ad	0,438							
		En	ad	0,506			0,565	0,142	0,565	0,116	
		En	ad	0,336							
		En	juv	0,000							
An		ad	0,000								
An		juv	0,000			0,000	0,000				

Tabella S5. Determinazione dell'umidità espressa in percentuale per singola replica

	Ambiente	Vaschette	Suolo fresco	Suolo secco	Umidità %	Media	DS
Esperimento	SIEPE 1	3,764	69,019	54,718	20,7	20,627	0,117
	SIEPE 2	3,753	70,908	56,375	20,5		
	SIEPE 3	3,736	58,513	46,421	20,7		
	COLTIVO 1	3,754	71,886	61,95	13,8	13,852	0,233
	COLTIVO 2	3,744	60,125	51,926	13,6		
	COLTIVO 3	3,73	57,799	49,65	14,1		
	WETLAND 1	3,76	99,867	77,716	22,2	22,051	0,113
	WETLAND 2	3,748	86,069	67,159	22,0		
	WETLAND 3	3,725	84,244	65,709	22,0		
	MAIS 1	3,735	88,825	75,791	14,7	14,670	0,014
MAIS 2	3,755	81,351	69,407	14,7			
MAIS 3	3,73	87,455	74,639	14,7			
Controllo	SIEPE 1	3,738	117,445	95,712	18,5	18,744	0,512
	SIEPE 2	3,774	107,265	87,533	18,4		
	SIEPE 3	3,738	112,131	90,453	19,3		
	COLTIVO 1	3,742	119,62	104	13,1	13,381	0,304
	COLTIVO 2	3,755	120,223	103,799	13,7		
	COLTIVO 3	3,728	109,917	95,163	13,4		
	WETLAND 1	3,723	117,968	93,925	20,4	20,348	0,264
	WETLAND 2	3,756	91,883	73,443	20,1		
	WETLAND 3	3,755	119,818	95,144	20,6		
	MAIS 1	3,728	108,122	94,243	12,8	13,487	0,569
	MAIS 2	3,749	113,301	97,564	13,9		
	MAIS 3	3,746	121,199	104,552	13,7		
	OECD 1.1	3,709	92,693	82,873	10,6	10,941	0,843
	OECD 1.2	3,763	88,405	79,895	9,6		
	OECD 1.3	3,751	100,514	90,46	10,0		
OECD 2.1	3,744	101,863	89,906	11,7			
OECD 2.2	3,761	106,754	93,813	12,1			
OECD 2.3	3,724	91,368	80,57	11,8			
OECD 3.1	3,644	86,366	77,229	10,6			
OECD 3.2	3,762	103,285	92,013	10,9			
OECD 3.3	3,728	109,068	96,99	11,1			

METODO DELL'OCTET

Un altro metodo innovativo per la ricerca dei lombrichi è l'utilizzo dell'Octet (Figura). Esso è un nuovo strumento, in dotazione dell'unità EMMAH Sol, dell'INRAE di Avignone.



Figura Octec

Tale dispositivo applica un impulso elettrico nel suolo che permette di poter estrarre gli esemplari. Con questa strumentazione si riduce al minimo l'impatto ambientale, eliminando completamente l'apertura di zolle nel suolo. L'Octet è, attualmente, formato da 16 sonde corrispondenti agli elettrodi positivi disposti in cerchio ad interdistanza regolare di 20 cm circa e tali da formare un'area pari ad 1 metro quadro, con al centro un elettrodo negativo. Le sonde sono collegate al dispositivo centrale alimentato da una batteria a 12 volt che distribuisce l'impulso elettrico alle sonde. Una volta avviato il dispositivo l'impulso si propaga dal polo positivo al polo negativo secondo un flusso circolare, dato dalla disposizione delle sonde. Ad intervalli prestabiliti partendo da un voltaggio di 50, si aumenterà il voltaggio stesso, fino ad arrivare a 200 volt distribuiti nel suolo per una durata complessiva di 40 minuti.

- 5 minuti a 50 Volt;
- 10 minuti a 100 Volt;
- 10 minuti a 150 Volt;
- 15 minuti a 200 Volt;