

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

**DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI
RISORSE NATURALI E AMBIENTE - DAFNAE**

**CORSO DI LAUREA IN
SCIENZE E TECNOLOGIE PER L'AMBIENTE**

TESI DI LAUREA TRIENNALE

**COMBINAZIONE SERIALE SU MICROSCALA DI TRE SAGGI
BIOCHIMICI PER LA MISURA DELLA FERTILITÀ DEI SUOLI**

Relatore: Prof.re Andrea Squartini

Laureando: Luca Mestriner

1175152

Anno Accademico 2021/2022

ABSTRACT

L'obiettivo di questa tesi è quello di validare nuovi indicatori legati alla fertilità del suolo e caratterizzati da rapidità di esecuzione rispetto ad alternative metodiche preesistenti, e di confrontarne la consistenza dei risultati. I campioni utilizzati sono stati prelevati in parte dalla rotazione agronomica storica dell'università di Padova, operativa dal 1962, prelevando tre repliche da appezzamenti di terreno fertilizzati in maniera diversa, tre dei quali nell'ambito di una monosuccessione di mais, una serie di controllo senza fertilizzante, una serie con il massimo livello di fertilizzante minerale, e una serie con la dose massima di letame, oltre una serie utilizzata come controllo prelevata su prato permanente. Un altro gruppo di campioni provengono da orti urbani in Padova, confrontando due regimi di trattamento: vangatura, con rivoltamento zolle e fertilizzazione minerale, contrapposto a lavorazioni minime con forca verticale senza rivoltamento e assenza di qualsiasi fertilizzazione. A questi sono stati affiancati per confronto camminamenti non coltivati. Il terreno di partenza era comune a tutti e tre i tipi di trattamento e i suoli sono stati raccolti dopo nove anni di conduzione con i regimi suddetti.

I saggi effettuati sono stati basati su un dosaggio fluorimetrico di composti organici solubili, attività enzimatica a carico di fluoresceina diacetato, e quantità

di proteine solubili. Ad essi sono stati comparate le misure di carbonio organico e azoto totale ottenute mediante analizzatore a combustione e il contenuto di DNA estraibile dai suoli. I dati ottenuti evidenziano che il saggio in cui si vanno a ricercare le proteine e la sostanza organica, replicano molto bene i dati ottenuti con metodiche tradizionali. In particolare, il saggio sulle proteine, fornisce dati direttamente correlati alla percentuale di azoto, di carbonio organico e al rapporto degli stessi, i quali variano in maniera direttamente proporzionale, mentre variano in maniera inversamente proporzionale, con una ottima correlazione, la percentuale di carbonio inorganico e il rapporto tra carbonio totale e azoto; tuttavia questo saggio in particolare non risulta efficace nel rappresentare la percentuale di carbonio totale o la quantità di DNA nei terreni.

Il saggio volto alla ricerca della sostanza organica solubile ha prodotto, come atteso, risultati ben correlati con ogni dato riguardante il carbonio, nello specifico, direttamente proporzionali per quanto riguarda il carbonio organico.

Il saggio della fluoresceina diacetato, a differenza delle buone performances degli altri due non è apparso invece particolarmente efficace, poiché riporta sia coefficienti di correlazione non molto alti, che *p-Values* generalmente non significativi, non restituendo risultati in linea con i dati ottenuti con metodi tradizionali.

INDICE

1. INTRODUZIONE	1
1.1 Cenni di spettrofotometria.....	2
1.2 Cosa si intende per suolo	2
1.3 Interazioni tra frazione minerale ed organica nel suolo	4
2. MATERIALI E METODI.....	5
2.1 Rotazione storica.....	5
2.2 Orti urbani	10
2.3 Metodo tradizionale	11
2.4 Metodo sperimentale.....	16
3. RISULTATI E DISCUSSIONE	22
3.1 Fertilità effettiva dei campioni e comparazioni	22
3.2 Caratteristiche rilevate con la nuova metodica	27
3.3 Analisi statistiche e interpretazione dei risultati.....	30
3.4 Valutazione efficacia statistica dei dati	31
4. CONCLUSIONI.....	48
5. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA.....	50

1. INTRODUZIONE

Questo lavoro è nato dalla necessità di sviluppare metodi più efficienti per monitorare e valutare le proprietà biotiche del suolo, così da validare nuovi indicatori legati alla fertilità del suolo e caratterizzati da rapidità di esecuzione. Il metodo oggetto di questo studio è basato sulla combinazione in serie di tre saggi spettrofotometrici.

Parte dei campioni oggetto dello studio provengono dalla rotazione storica iniziata nel 1962 dal Prof. L. Giardini a Legnaro, la quale si qualifica come la rotazione più antica d'Italia. Oltre a questi campioni, per favorire la variabilità e la diversità di campioni, e perciò dare un ulteriore fattore di veridicità ai dati, sono stati prelevati alcuni campioni di suolo da orti urbani di Padova, trattati con diversi metodi gestionali: convenzionali o biologici.

1.1 Cenni di spettrofotometria

La spettroscopia di assorbimento permette, attraverso lo studio delle radiazioni assorbite e dell'intensità dell'assorbimento delle varie sostanze, di effettuare rapide e precise analisi sia qualitative sia quantitative (Fabbri, et al. 2004).

L'assorbanza (A) è legata al logaritmo del rapporto tra l'intensità della luce incidente e quella trasmessa. Data una lunghezza d'onda (λ), la concentrazione di una specie assorbente è determinabile in accordo con la legge di

Lambert-Beer:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon_{\lambda} C l$$

La formula soprastante mette in relazione l'assorbanza con la concentrazione C , la lunghezza del campione l e il coefficiente molare di assorbimento ϵ_{λ} .

1.2 Cosa si intende per suolo

Per suolo si hanno due diverse accezioni. Geograficamente è lo strato superficiale che ricopre la crosta terrestre, derivante dall'alterazione di un substrato roccioso, chiamato roccia madre, per azione chimica, fisica e biologica esercitata da tutti gli agenti superficiali e dagli organismi presenti su di esso. La seconda accezione considera il suolo dal punto di vista pedologico (*Figura 1*) ovvero non solo come una superficie ma come il composto di quella miscela estremamente variabile di sostanza organica e sostanza minerale che permette la vita di piante ed animali, in

manca di queste due componenti non si parla quindi di suolo. Durante la sua evoluzione, il suolo si differenzia lungo il suo profilo (l'insieme degli strati che formano il profilo) in una serie di orizzonti. I più comuni orizzonti identificabili, ad esempio, sono un orizzonte superficiale organico (sovrastato talvolta da uno strato di lettiera indecomposta), in cui il contenuto di sostanza organica insieme alle particelle minerali raggiunge una percentuale notevole (es: 5%-10%), un sottostante orizzonte di eluviazione, in cui il processo di percolazione delle acque meteoriche ha eluviato una parte delle particelle minerali fini lasciando come prevalente la componente limosa o sabbiosa, e al fondo l'orizzonte di illuviazione corrispondente, dove le suddette particelle fini (argillose) si sono accumulate. E infine appena prima della roccia madre si presenta un orizzonte dal quale si sta originando il suolo, sul quale vi sono perciò deboli segni di alterazione rispetto alla roccia madre.

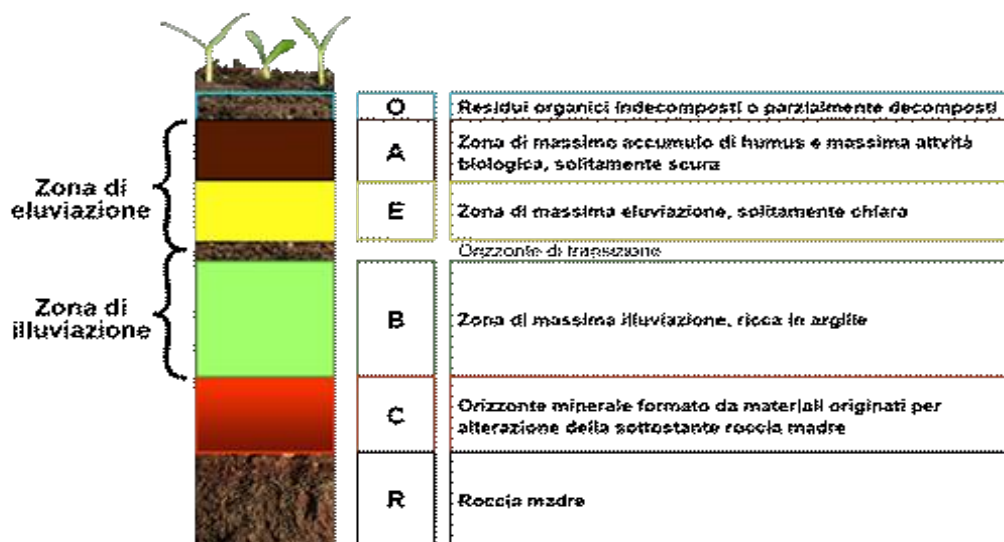


Figura 1. Schema di un suolo generico

1.3 Interazioni tra frazione minerale ed organica nel suolo

La proficuità o l'infruttuosità di una indagine spettrofotometrica applicata al suolo è direttamente proporzionale all'interazione con le componenti minerali del suolo stesso (rappresentanti la quasi totalità del peso secco): la componente organica deve essere portata in soluzione mentre quella inorganica fatta sedimentare. Per fare ciò è necessario tenere a mente che la struttura di un suolo è strettamente correlata alla presenza di particelle colloidali (argille e sostanze umiche) e alla loro flocculazione coordinata da cationi, tenendo a mente che un catione monovalente contribuisce meno alla struttura rispetto ad un bivalente (Bortolami e Giandon, 1990).

In laboratorio, per deflocculare gli aggregati, si usano tipicamente soluzioni contenenti Na^+ . In particolare, il sodio esametafosfato (HMP) $(\text{NaPO}_3)_6$ è un ottimo agente deflocculante, il quale va a disgregare ottimamente le particelle colloidali, favorendo quindi la separazione della frazione minerale e organica. La componente microbica riveste una posizione di prim'ordine per la qualità del suolo. Il numero di microbi è molto elevato, sia per quantità in biomassa che per numerosità di specie, in un grammo di terreno ci possono essere migliaia di specie batteriche distinte i quali contribuiscono alla struttura, partecipano al ciclo degli elementi rendendo disponibili nutrienti e catalizzano la decomposizione della sostanza organica (Bortolami e Giandon, 1990).

2. MATERIALI E METODI

In questo capitolo verrà dapprima illustrata la provenienza dei 21 campioni presi in esame, per poi descrivere lo svolgimento di una analisi del suolo tradizionale, e l'attuazione del metodo oggetto della tesi.

2.1 Rotazione storica

Parte dei campioni presi in esame, provengono dalla rotazione agronomica storica dell'università di Padova, cioè una sperimentazione al quale ha dato inizio il Professor Luigi Giardini nel 1962 e che tutt'ora è in corso e che si trova all'interno dell'Azienda Agraria Sperimentale "Lucio Toniolo" di Legnaro. Il terreno è diviso in parcelle di 38,1 m² (6 m x 6,5 m), le quali possono avere lavorazioni diverse, colture diverse, possono avere monosuccessioni o rotazioni pluriennali, possono avere diversi tipi di fertilizzanti, come anche diverse quantità degli stessi; (*Figura 2*)

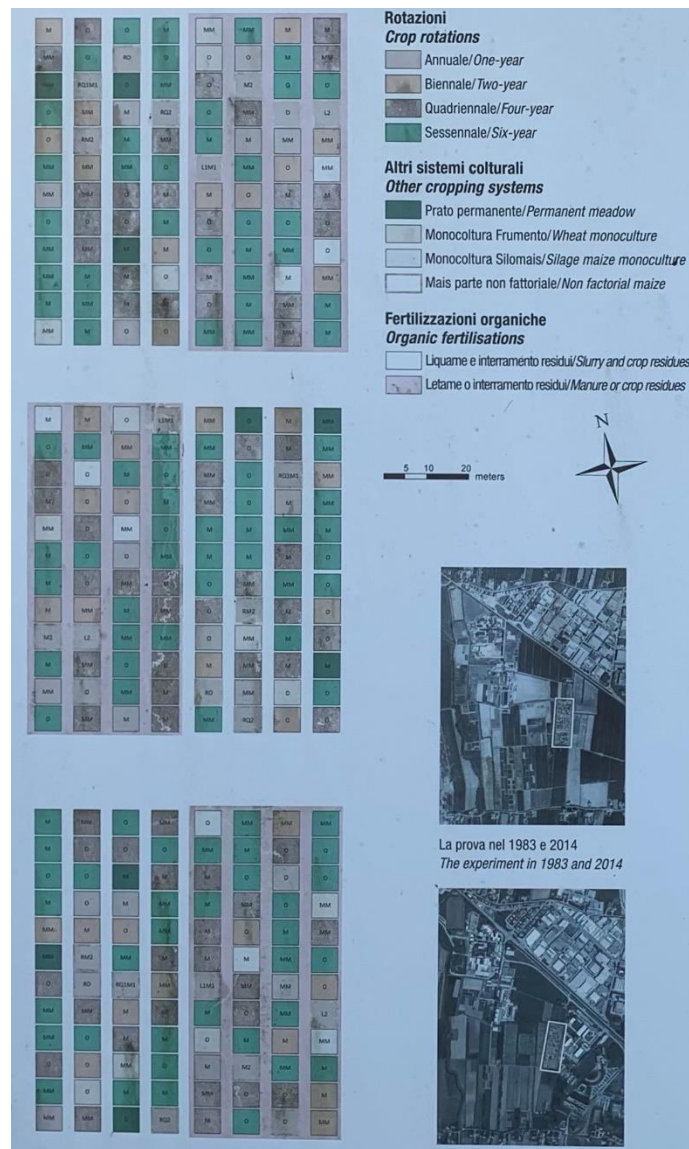


Figura 2. Schema organizzativo delle parcelle della rotazione storica

In particolare, i 12 campioni (*Tabella 1*) sono stati ottenuti prelevando in 3 punti diversi da una stessa parcella, e per le 4 tipologie di parcella sono state riprodotte 3 repliche. Ciò che essenzialmente differenzia tra di loro i campioni sono il tipo e il livello di fertilizzazione, in quanto, salvo una serie prelevata da parcella di prato permanente (*Figura 3*), il quale viene semplicemente falciato e

concimato con liquame (Lq: 60 tonnellate per ettaro per anno), le altre tre prove provengono tutte da una monocoltura di mais, alle quali però viene apportato in un caso la massima quantità di fertilizzante minerale (M2: 300N + 150 P₂O₅ + 420 K₂O chilogrammi per ettaro per anno) (Figura 4), in un caso la massima quantità di letame (L2: 60 tonnellate per ettaro per anno) (Figura 5), e nell'ultimo caso (controllo) non viene fornito fertilizzante (Figura 6). In tutte le parcelle vi è presente una certa variabilità di composizione in percentuale di argilla, limo e sabbia, ma prelevando in tre punti diversi per ogni parcella si è cercato di attenuare questa mutevolezza del terreno.

Tabella 1. Provenienza campioni rotazione storica

Blocco	Parcella	Coltura	Fertilizzazione
1	16	Mais	0
	27	Mais	M2
	4	Mais	L2
	63	Prato	Lq
2	83	Mais	0
	93	Mais	M2
	81	Mais	L2
	25	Prato	Lq
3	24	Mais	0
	34	Mais	M2
	8	Mais	L2
	72	Prato	Lq



Figura 3. Prato permanente, falciato e concimato



Figura 4. M2, Monocoltura di mais con massima fertilizzazione di tipo minerale



Figura 5. 0, Monocoltura di mais senza fertilizzazione.

Si noti la differenza di sviluppo di biomassa rispetto a L2 e M2 (Figura 4 e Figura 6)



Figura 6. L2, Monocoltura di mail con massima fertilizzazione di letame

2.2 Orti urbani

La seconda parte dei campioni, provengono da una serie di orti urbani situati a Padova.

Al contrario dei campioni prelevati dalla rotazione storica, e descritti precedentemente, questi si distinguono tra loro non solo per il livello di fertilizzazione ma anche per la dissimile lavorazione adoperata sul suolo.

Le tre serie nello specifico sono: tre repliche di terreno sul quale viene effettuata una vangatura, un rivoltamento delle zolle e viene fornita della fertilizzazione minerale, che nomineremo come “convenzionali”; tre repliche contrapposte alle precedenti, nelle quali il terreno subisce lavorazioni minime con inserimento verticale di forca-vanga senza rivoltamento delle zolle e al quale non viene fornito alcun tipo di fertilizzazione oltre al semplice reintegro di sfalci delle frequenti colture di copertura; come confronto alle suddette serie, si è ritenuto opportuno affiancare tre repliche dei camminamenti, non coltivati e calpestati che separano le aiuole suddette e che hanno lo stesso suolo di origine, di questi orti urbani, per i quali il terreno di partenza era comune a tutti e tre i tipi di trattamento, e i suoli sono stati raccolti dopo nove anni di conduzione con i regimi sopra citati.

Tutti i terreni sono stati fatti asciugare all’aria per una settimana prima di qualsiasi tipo di analisi.

2.3 Metodo tradizionale

Il metodo tradizionale per l'analisi della fertilità dei suoli è diviso fondamentalmente in tre parti e da effettuare in più giornate. La prima analisi che viene effettuata è una valutazione della quantità percentuale di Carbonio, Azoto e Zolfo. Lo strumento utilizzato è il CNS (Elementar vario MACRO, *Figura 7*), il quale, per effettuare l'analisi, necessita che ciascun campione sia pesato con bilancia analitica, così da avere il peso esatto (fino al decimo di milligrammo) di ogni "pastiglia", poiché per questo strumento è necessario che ogni terreno sia fornito sotto forma di pastiglia di stagnola, della quale però va conosciuto il peso esatto dell'analita e tutta questa preparazione richiede alcune ore.



Figura 7. Elementar vario MACRO utilizzato in laboratorio

La seconda analisi, che avviene subito dopo è l'analisi con lo Skalar (Skalar Primacs^{SNC-100}, *Figura 8*), che, come il CNS, è un analizzatore a combustione. Questo strumento fornisce dati sulla percentuale di carbonio organico all'interno del campione e sulla percentuale totale di carbonio inorganico, così da integrare i dati forniti del CNS. Anche in questo caso, il dosaggio dei campioni, del tutto paragonabile a quello precedente, con l'unica differenza che il terreno va pesato all'interno dei crogioli richiesti dallo strumento, è un'operazione che richiede alcune ore.



Figura 8. Skalar Primacs^{SNC-100} che ha fornito i dati sul carbonio inorganico e organico

Per concludere si effettua l'ultima analisi, il cui scopo è quantificare il DNA presente nel terreno, così da fornire una indicazione sulla vita presente nel suolo. Questa terza parte si divide a sua volta in due frazioni, una più lunga, nella quale lo scopo è l'estrazione del DNA, mentre successivamente si effettua la vera e propria quantificazione.

L'estrazione si sviluppa partendo dal pesare 400mg di ogni replica di suolo, ai quali viene aggiunto 800 μ L di buffer di estrazione, cioè una soluzione ottenuto miscelando in rapporto 1:1 le seguenti soluzioni: soluzione 1 M Na_2HPO_4 e una soluzione 1 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. In questa soluzione eterogenea di suolo e buffer viene aggiunta una biglia di vetro da 3 mm di diametro e una biglia di vetro da 6 mm di diametro; il tutto viene agitato con l'ausilio di un vortex per fare in modo che il buffer imbibisca completamente il suolo. Dopodiché il tutto viene posto nel TissueLyser (Qiagen TissueLyser II, *Figura 9*) a 30Hz per 3'30'' utilizzando il programma 9; al termine del programma si centrifugano i campioni a 15500g per 2'. Per concludere la fase di estrazione si procede col prelevare il surnatante e porlo in una piastra d'estrazione (piastra 1), addizionandolo con 200 μ L di Isopropanolo e 20 μ L di MagAttract (Quiagen MagAttract Suspension G). In altre 4 piastre di estrazione si dispongono in ogni pozzetto 500 μ L di RPW (piastra 2), in due piastre 500 μ L di Etanolo (piastra 3 e 4) e 500 μ L di Tween (piastra 5) ed infine, in una piastra di cosiddetta di eluizione 100 μ L di Acqua autoclavata; queste piastre, strettamente nell'ordine

numerico, con la piastra di eluzione per ultima, vengo poste nel BioSprint96 (Qiagen Model 710 KingFisher Biosprint 96 Purification System, *Figura 10*).

A questo punto si procede con la quantificazione: si trasferisce il prodotto finale in provette adatte all'utilizzo dello strumento (Thermo Fisher Qubit 4 Fluorometer, *Figura 11*), il quale fornirà il risultato in ng/μL di DNA di ogni provetta, e cioè di ogni replica con peso variabile del campione. Ottenuto questo risultato si rapportano tutte le misurazioni in modo tale da ottenere valori la cui unità di misura è sempre ng/mL di DNA a partire da 400 mg di sostanza secca di suolo eluiti in 100 mL di acqua.



Figura 9. Qiagen TissueLyser II utilizzato per lo svolgimento dell'analisi



Figura 10. Qiagen Model 710 KingFisher Biosprint 96 Purification System, il cui compito era la purificazione ed estrazione del DNA



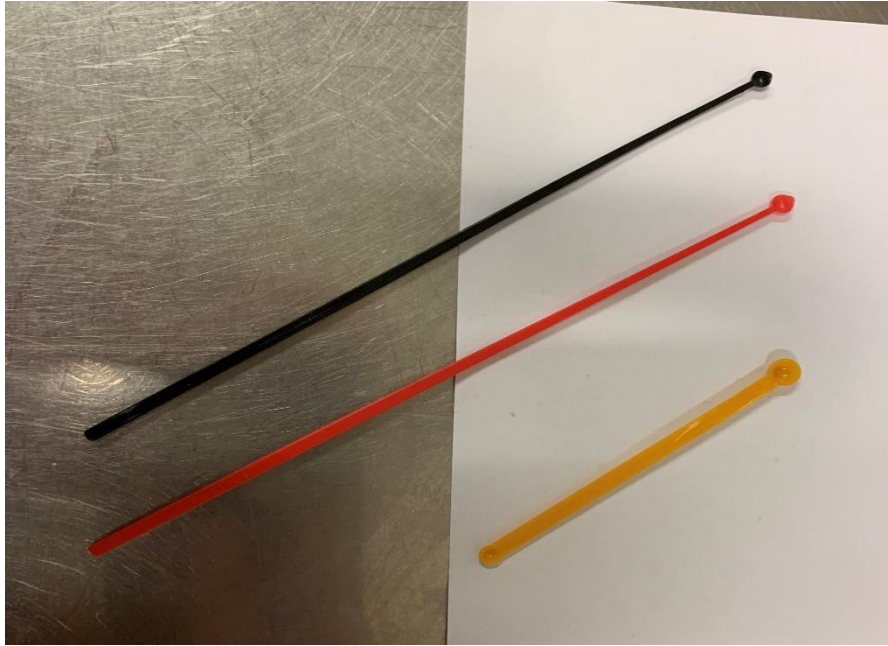
Figura 11. Thermo Fisher Qubit 4 Fluorometer, utilizzato per la quantificazione del DNA

2.4 Metodo sperimentale

La metodica che si cerca di validare, rispetto a quelle descritta precedentemente, ha come punto di forza la velocità d'esecuzione, infatti l'effettuazione di una analisi completa, con un minimo di esperienza, è fattibile in una giornata e mezza, sostanzialmente dimezzando il tempo necessario rispetto al metodo tradizionale.

Per cominciare, si prelevano, utilizzando dei misurini standard (*Figura 12*) la cui misurazione esatta di corrispondenza in peso su una serie di terreni è stata rilevata separatamente in laboratorio, 4 repliche di pesi via via crescenti per ogni campione, le quali saranno poste in piastre microtiter, questo sarà utile sia per valutare il limite di rilevabilità che per valutare la linearità dell'analisi. Successivamente si aggiungono 300 μL di reagente HMP (sodio esametafosfato) che servirà a solubilizzare il carbonio, per poi lasciar incubare per 24h. Al termine dell'incubazione si prelevano 80 μL della soluzione ottenuta, facendo attenzione a non prelevare accidentalmente il corpo di fondo, e si trasferiscono in piastre microtiter UV, che consentiranno la lettura con spettrofluorimetro Tecan (Tecan Spark 10M, *Figura 13*) a lunghezze d'onda più basse rispetto al visibile. Si effettua per l'appunto la prima lettura a 260nm di lunghezza d'onda, la quale fornirà dati relativi ai composti organici solubili; effettuata questa analisi si esegue un'ulteriore lettura a 490nm, che fungerà da bianco per la lettura successiva, nella quale verrà la soluzione verrà addizionata

di 50 μL di una soluzione diluita di FDA (fluoresceina diacetato) ottenuta diluendo 504 μL di soluzione di FDA concentrato (stock da 1 mg/ml in acetone, mantenuta a -20°C) in 22 mL di acqua, per poi lasciar incubare il tutto per 1h a 37°C . Ultimata questa ulteriore incubazione si esegue la lettura sempre con il Tecan a 490nm; i dati forniti dovrebbero essere indicazione dell'attività enzimatica del suolo preso in esame. Di seguito si esegue una nuova lettura a 562nm, la quale fungerà anch'essa da bianco per la successiva analisi, per la quale si aggiungono 130 μL di soluzione BCA mix (EuroClone Quantum Micro Protein Assay Kit-BCA Assay Kit for dilute samples, *figure 12 e 13*), la quale servirà per evidenziare la presenza di proteine solubili. A seguito di un 1h e 30' di incubazione a temperatura ambiente, si esegue l'ultima lettura a 562nm. Dopo aver sottratto opportunamente i bianchi, si ottengono i valori di assorbanza che esprimono le quantità rispettivamente di *solubiles organics*, di attività enzimatica e di proteine solubili.



*Figura 12. Misurini standard: -misurino nero da circa 8 mg
-misurino rosso da circa 14 mg
- misurino giallo piccolo da circa 6,5 mg
- misurino giallo grande da circa 30 mg*



Figura 13. Tecan Spark 10M. lo strumento che ha effettuato tutte le letture della nuova metodica



Figura 14. Le soluzioni di partenza per creare il BCA mix

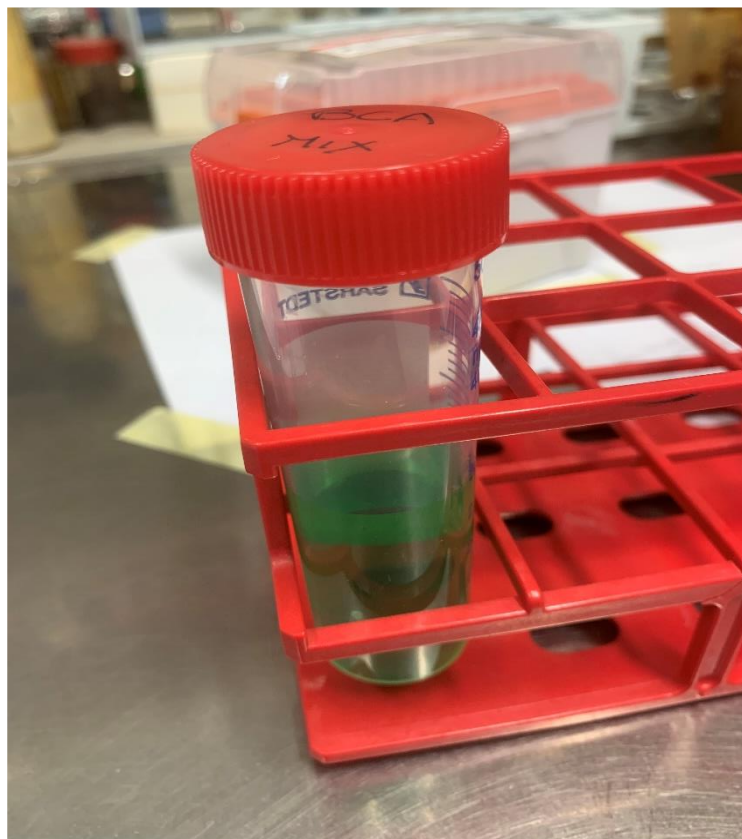


Figura 15. La soluzione di BCA mix

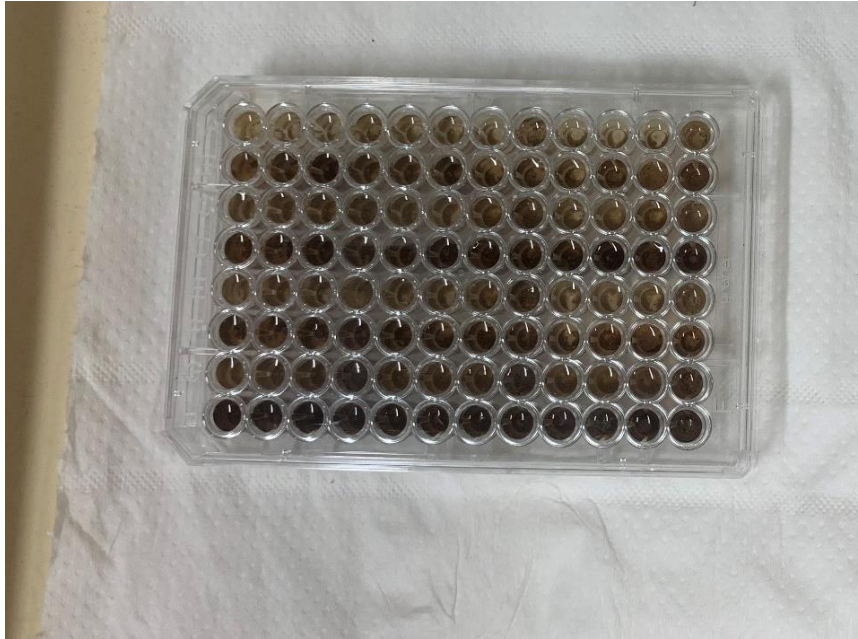


Figura 16. Suolo con aggiunta di HMP

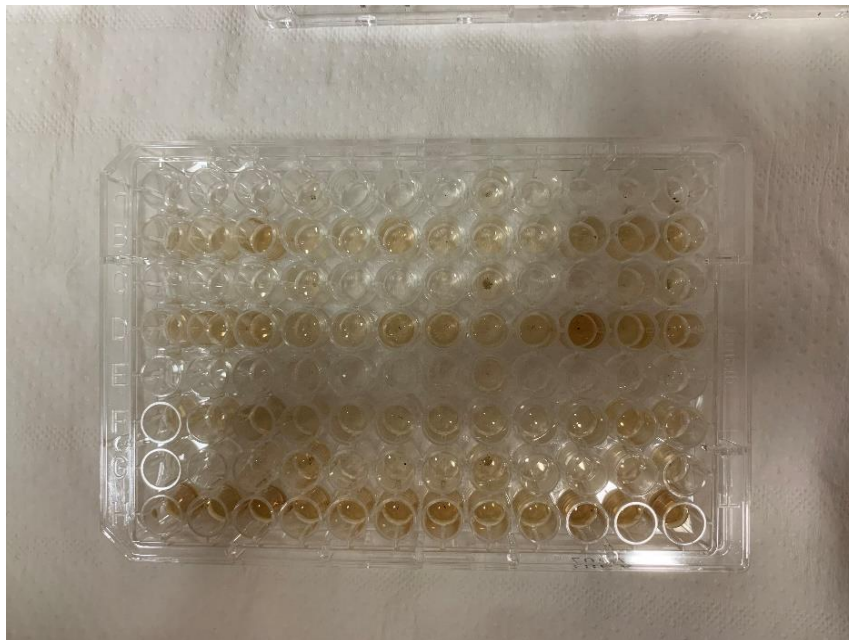


Figura 17. Surnatante ottenuto dopo 24h di incubazione

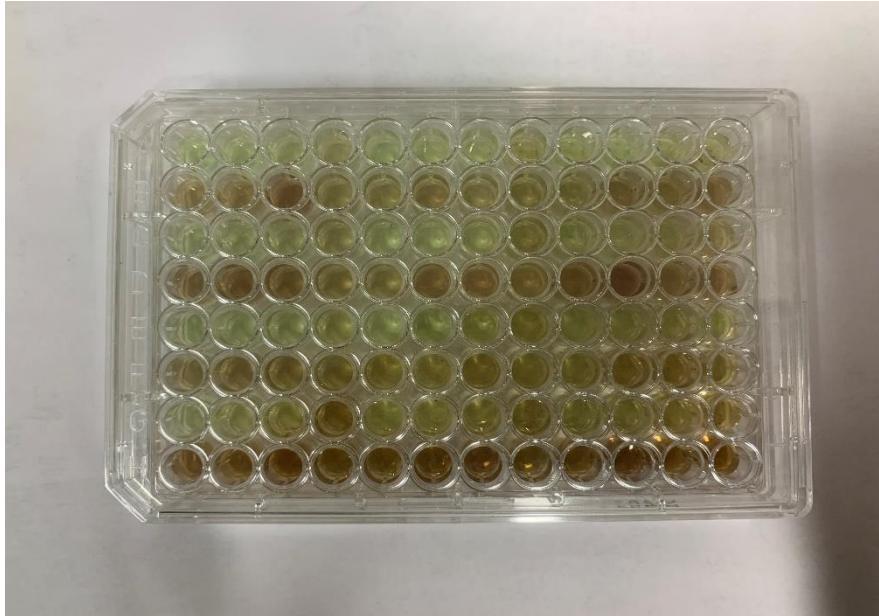


Figura 18. Campioni successivamente all'aggiunta di FDA

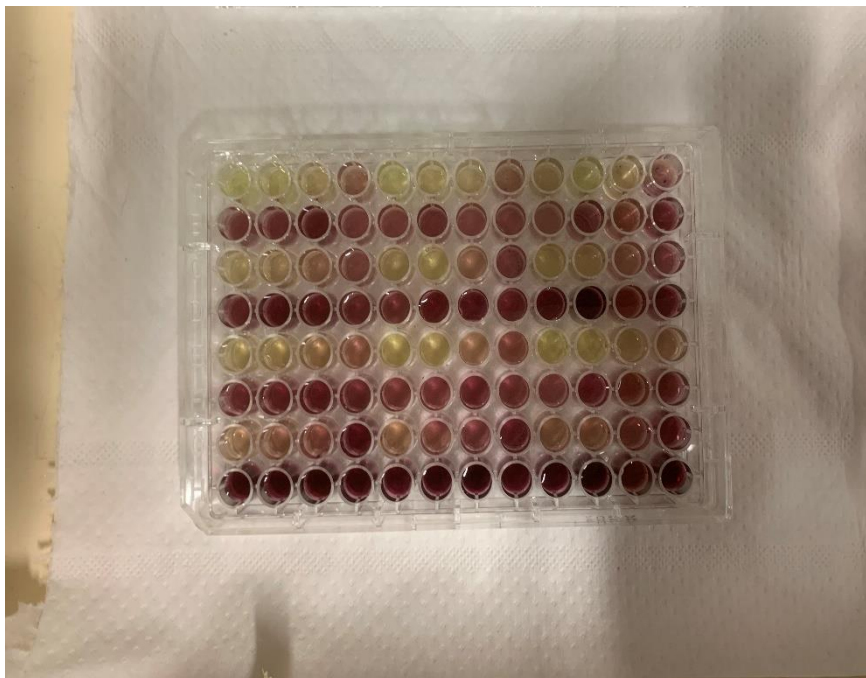


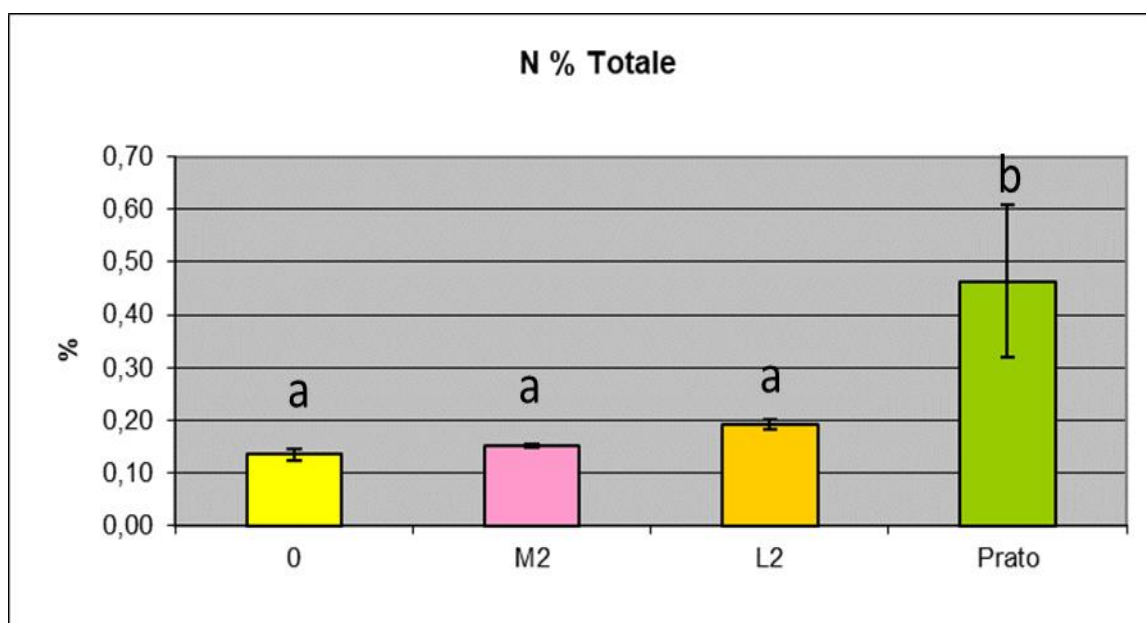
Figura 19. Situazione dei campioni in seguito all'aggiunta del BCA mix e al termine dell'analisi

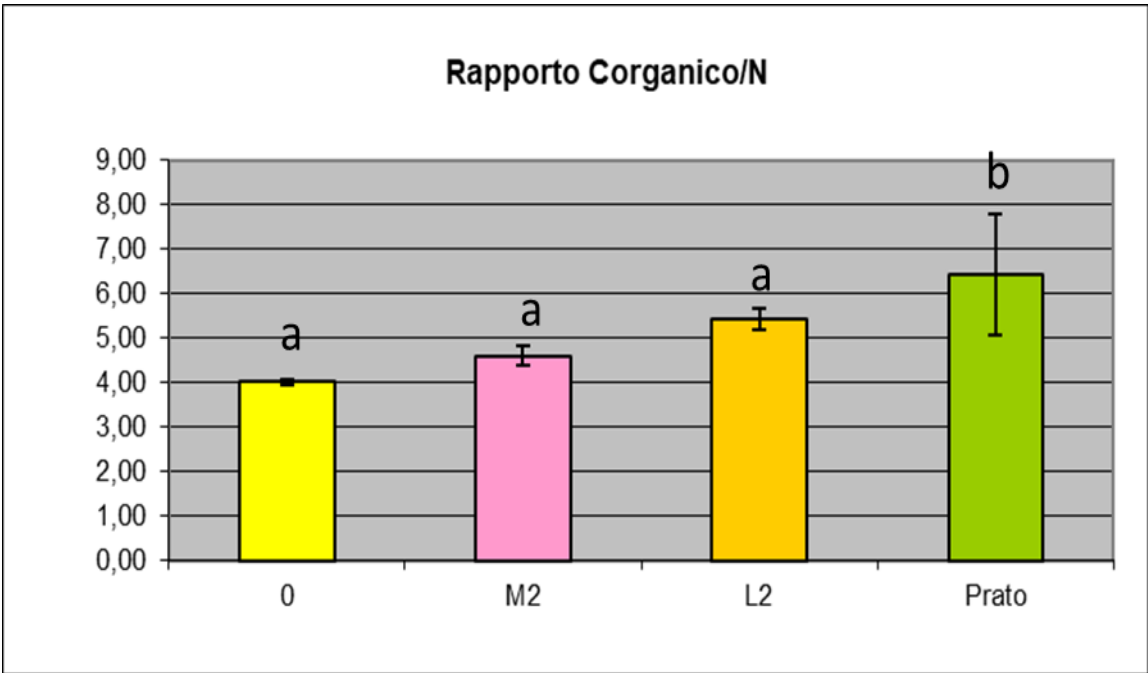
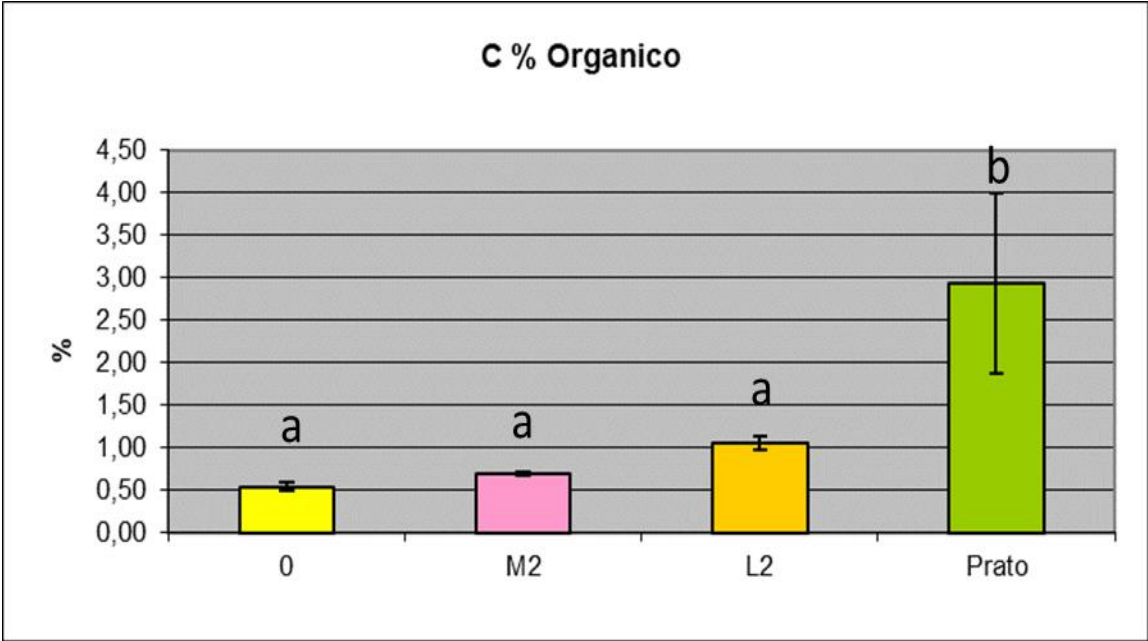
3. RISULTATI E DISCUSSIONE

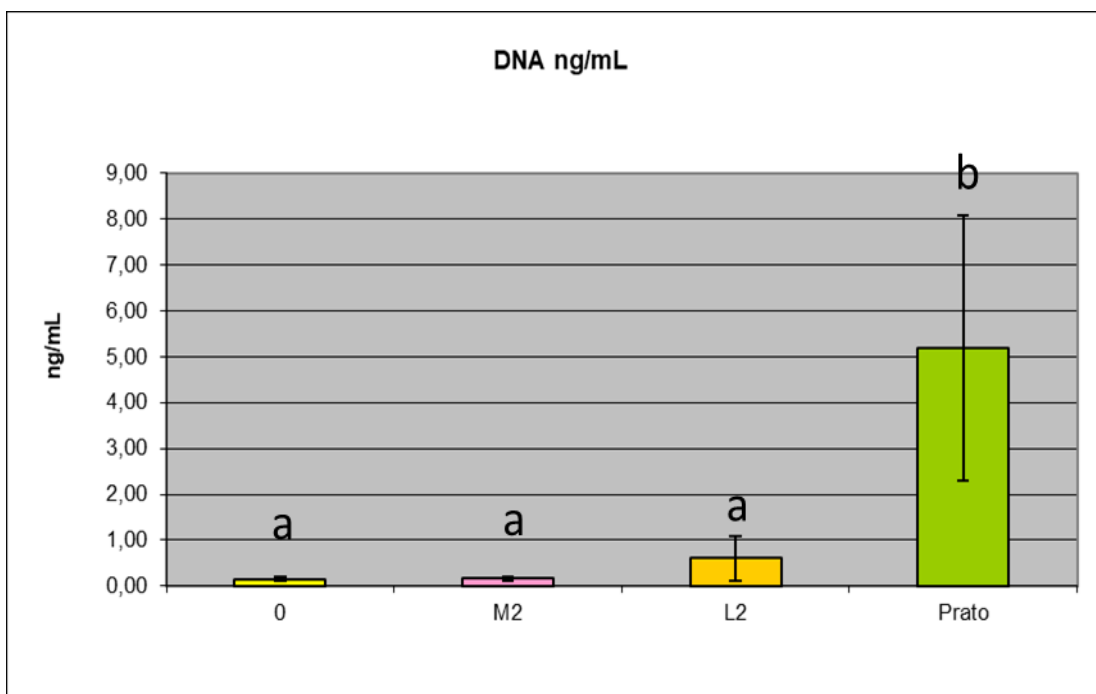
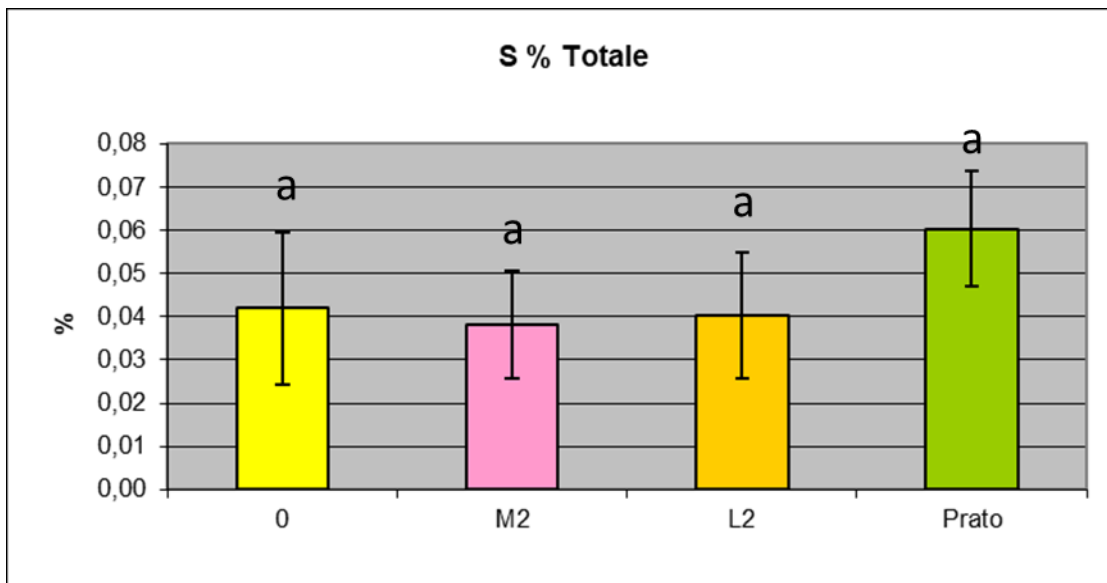
3.1 Fertilità effettiva dei campioni e comparazioni

Per quanto riguarda la rotazione storica si può notare nei grafici che seguono, com'è risaputo, che le monosuccessioni, possono rendere il terreno generalmente meno fertile, confrontato invece con la fertilità dell'appezzamento a prato.

Poiché le parcelle si differenziano solo per la quantità di fertilizzazione apportata, nelle varie colonne dei grafici si fa riferimento alla *Tabella 1* per la nomenclatura.

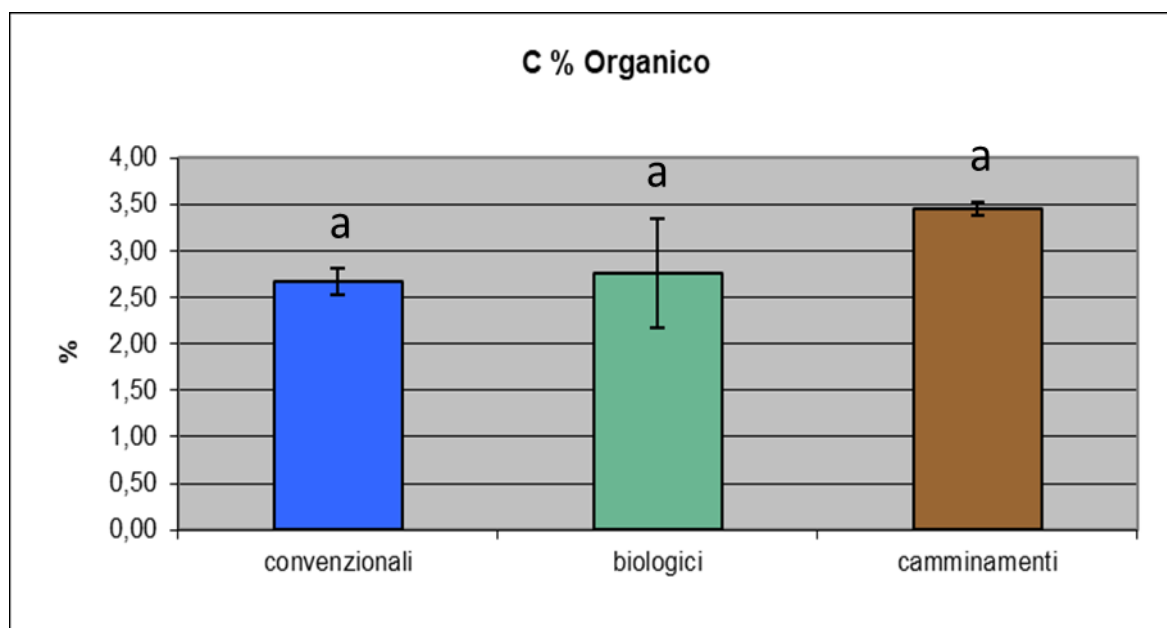
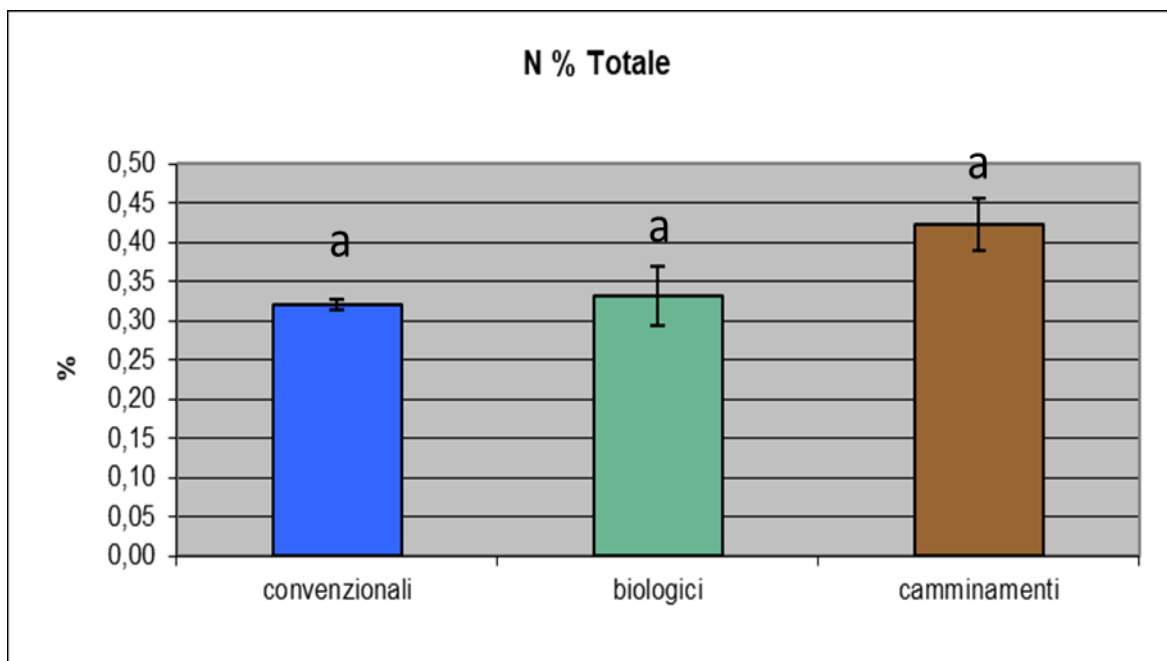


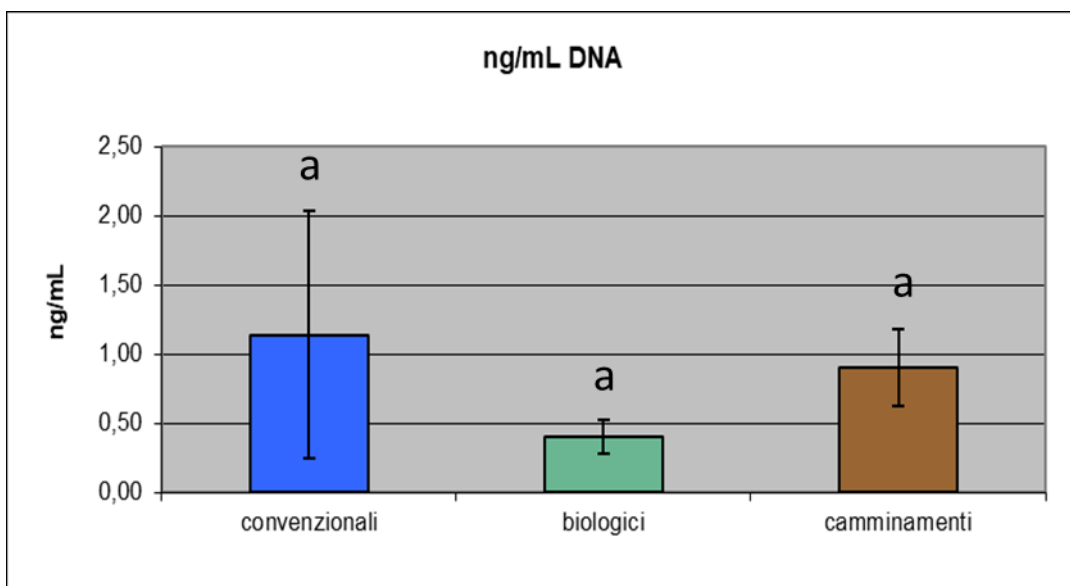
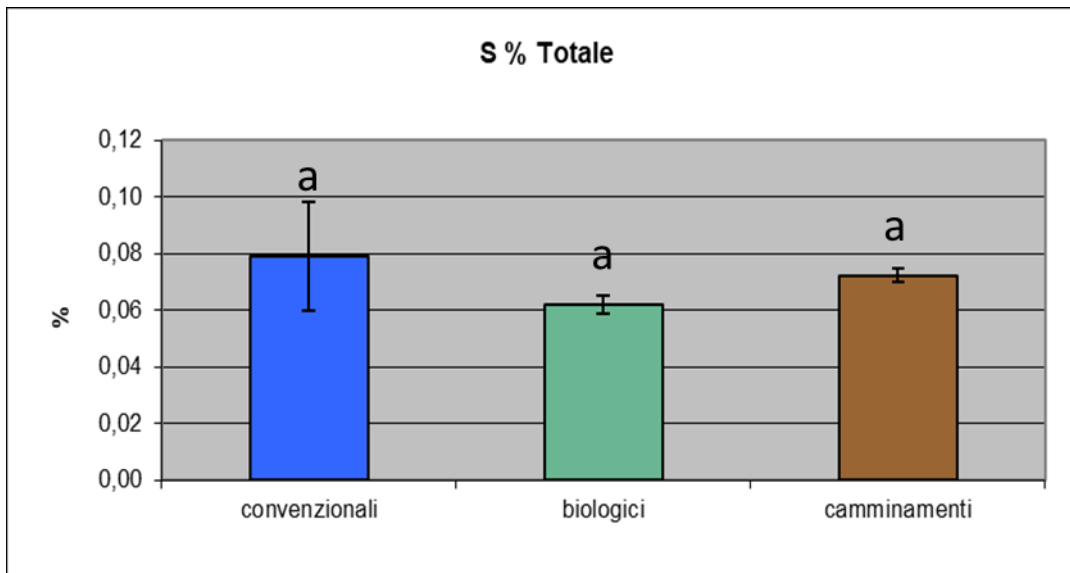
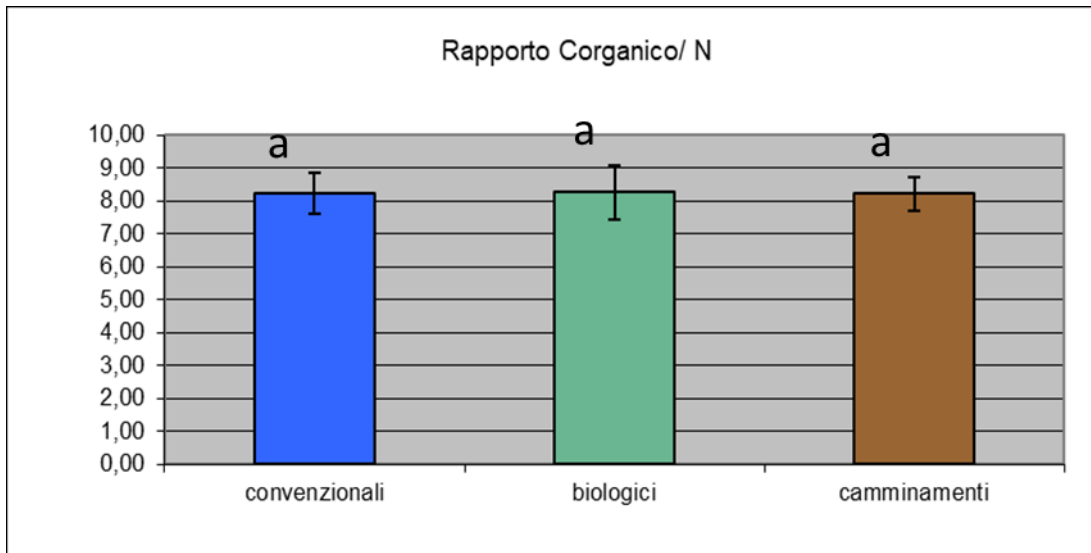




Per gli orti urbani invece è evidente una fertilità più omogenea tra le parcelle definite tradizionali e quelle biologiche, segno che ciò che va a depauperare il suolo è la coltivazione ripetuta della stessa coltura. Gli istogrammi di cui sotto, considerano “convenzionali”, come detto nella sezione a loro dedicata, terreno sul quale viene effettuata una vangatura, un rivoltamento delle zolle e viene

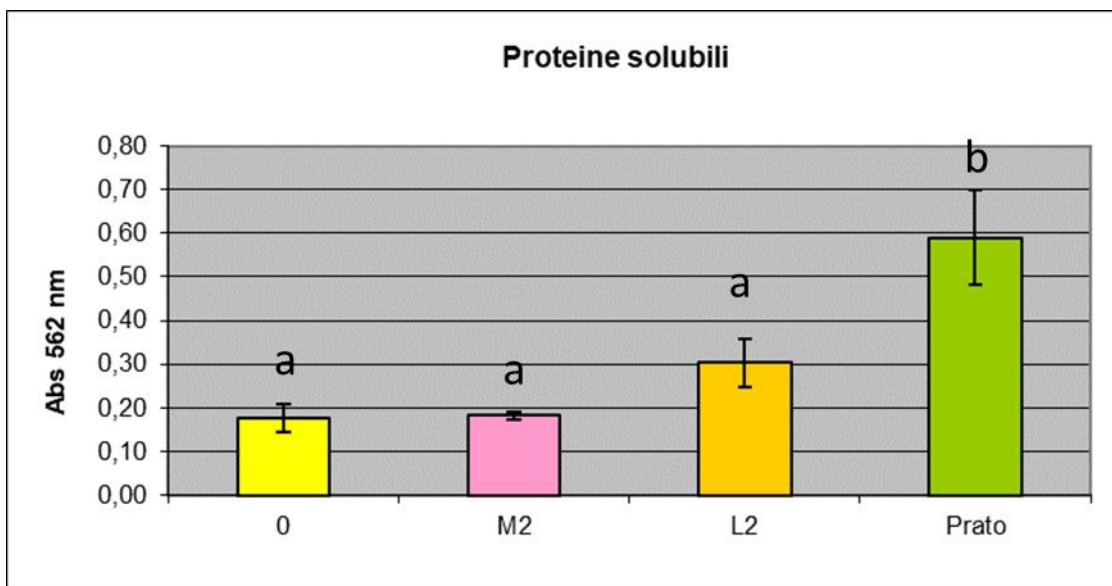
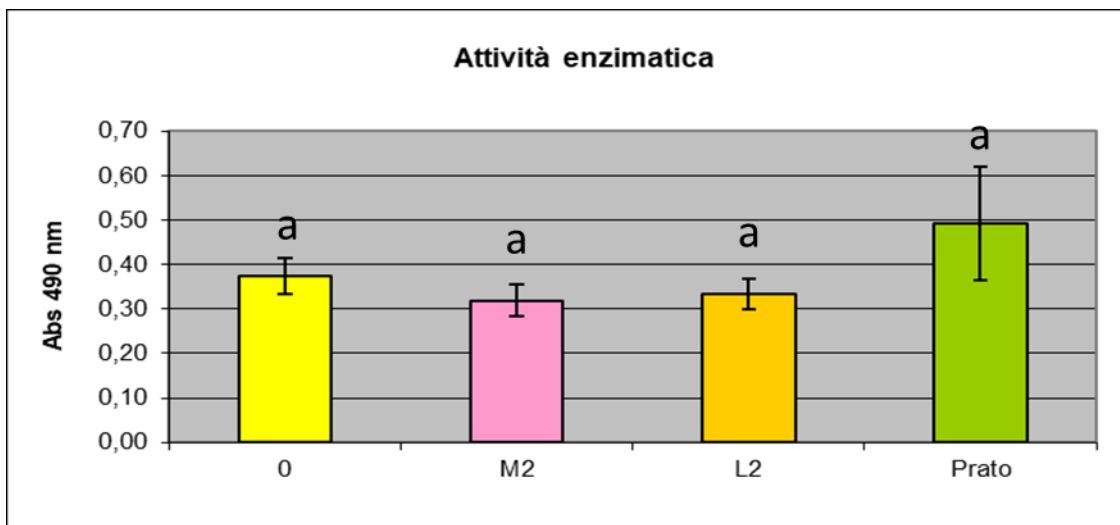
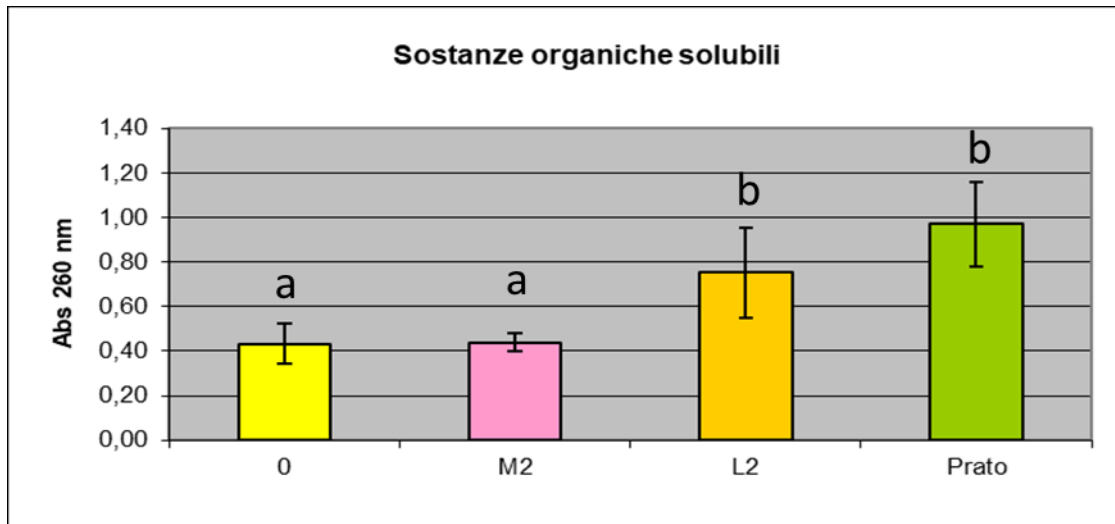
fornita della fertilizzazione minerale; per “biologici” si intendono parcelle il cui terreno subisce lavorazioni minime con forca verticale, senza rivoltamento e al quale non viene fornito alcun tipo di fertilizzazione; ed infine le colonne denominate “camminamenti” fanno riferimento ai vialetti calpestabili che collegano le varie parcelle di orti urbani.

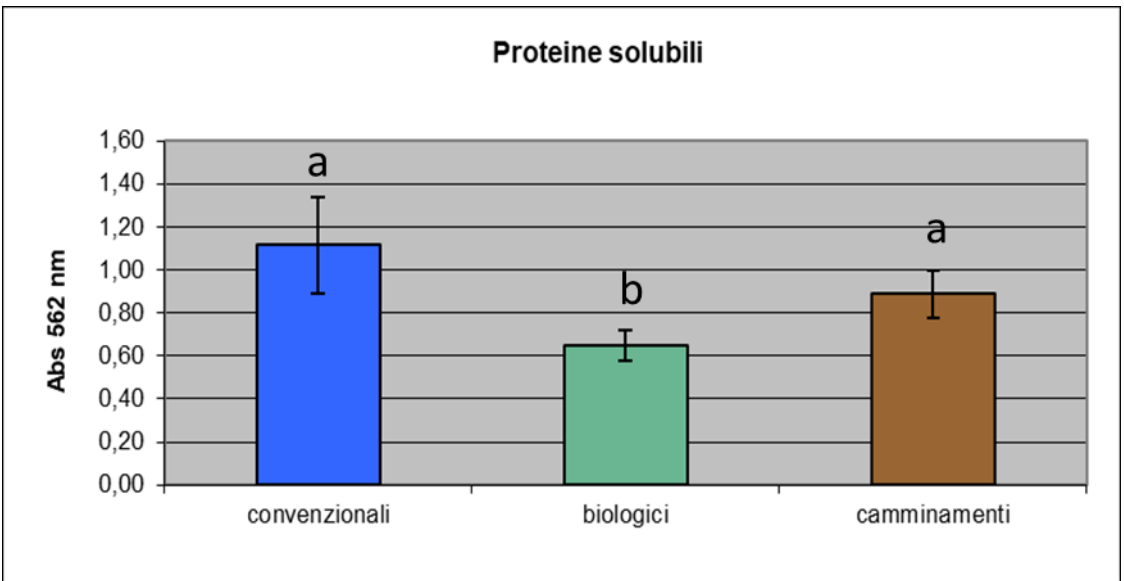
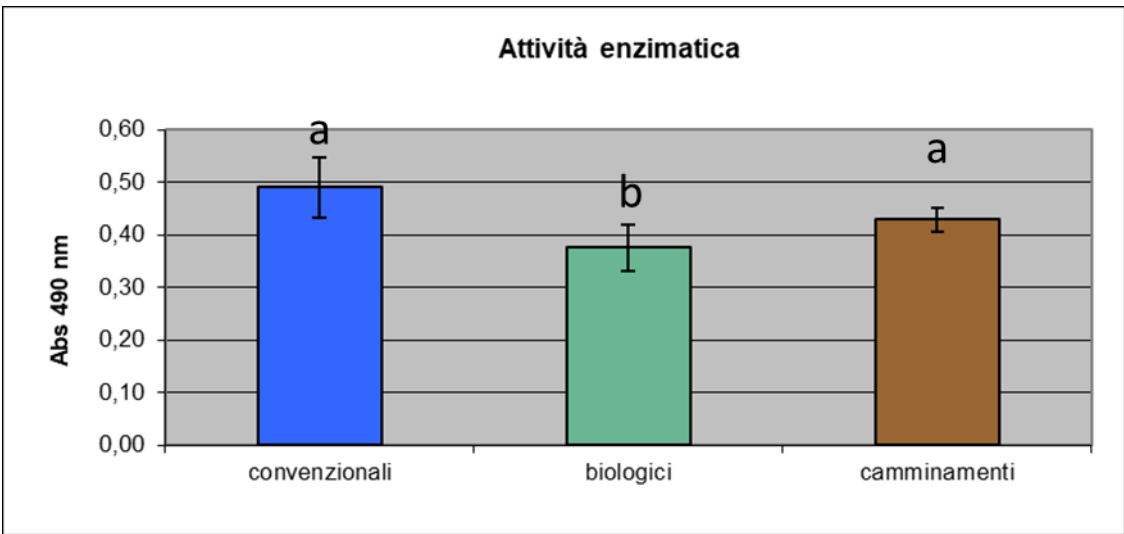
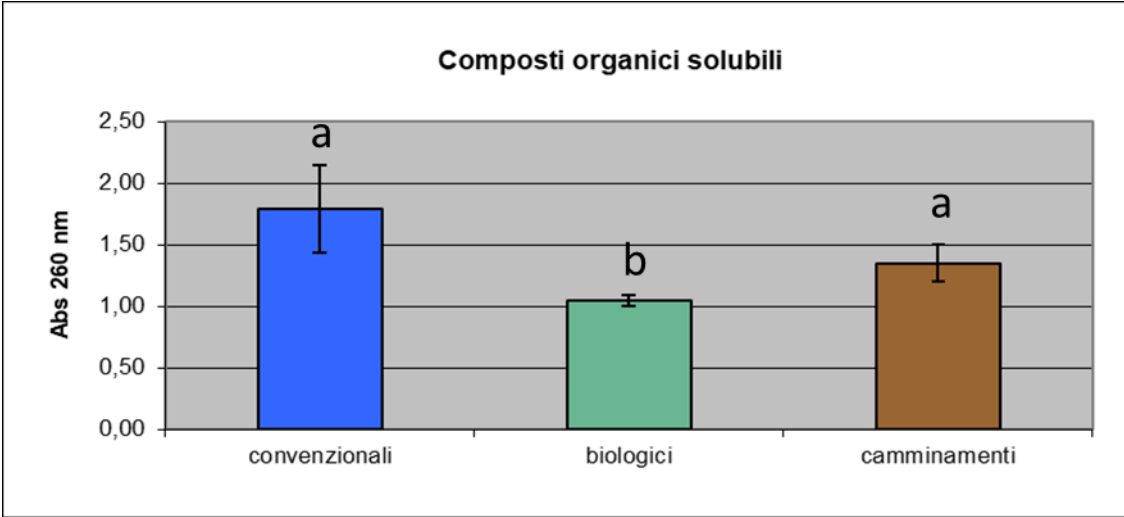




3.2 Caratteristiche rilevate con la nuova metodica

Per quanto concerne l'oggetto della tesi, si possono notare innanzitutto come i grafici ricalchino la situazione messa in evidenza dall'analisi tradizionale, e cioè che il suolo lasciato a prato mostra medie dei valori maggiori rispetto all'altra situazione di monocoltura di mais in riferimento all'analisi effettuata nelle parcelle di rotazione storica, mentre per gli orti urbani, ad una prima analisi visiva dei grafici, in alcuni casi potrebbe far sembrare che la nuova metodologia non rispecchi efficacemente la fertilità rilevata dalla precedente versione, ma le analisi statistiche sui dati, in particolare l'analisi su coefficienti di correlazione e *p-Values* mostra che i dati che ci forniscono il saggio con sodio esametafosfato e con la soluzione di BCA mix, cioè la rilevazione di *soluble organics* e proteine solubili, ricalca molto bene le rilevazioni ottenute con il metodo tradizionale.





3.3 Analisi statistiche e interpretazione dei risultati

	Ntot%	Ctot%	Corg%	TIC Cinorg%	%S	Ctot/N	Corg/N	DNA ng/ml	Sol Org	FDA	Prot.
Ntot%											
Ctot%	0,20222										
Corg%	0,95815	0,12046									
TIC Cinorg%	-0,67524	0,46923	-0,74424								
%S	0,7289	-0,05814	0,71009	-0,66223							
Ctot/N	-0,89693	0,08087	-0,87671	0,84888	-0,74817						
Corg/N	0,63892	-0,36609	0,75277	-0,87802	0,62877	-0,76261					
DNA ng/ml	0,72957	0,32957	0,69624	-0,49533	0,55766	-0,64609	0,53652				
Sol Org	0,69035	-0,26957	0,76321	-0,84236	0,76785	-0,7913	0,8687	0,58957			
FDA	0,56517	0,15786	0,64898	-0,44411	0,53139	-0,44097	0,48271	0,54012	0,65362		
Prot.	0,74047	-0,23478	0,80148	-0,82844	0,77948	-0,80696	0,86	0,58522	0,98174	0,6771	

Tabella 2. Tabella che illustra i vari coefficienti di correlazione dei dati, si può facilmente notare come siano ben correlati i dati dei saggi HMP e BCA, al contrario del saggio con FDA

	Ntot%	Ctot%	Corg%	TIC Cinorg%	%S	Ctot/N	Corg/N	DNA ng/ml	Sol Org	FDA	Prot.
Ntot%		0,34331	1,96E-13	0,00029431	5,35E-05	2,96E-09	0,000778	5,22E-05	0,0001888	0,0040045	3,51E-05
Ctot%			0,57502	0,020712	0,78729	0,70718	0,078514	0,1158	0,20272	0,4613	0,26945
Corg%				3,05E-05	0,000101	1,93E-08	2,19E-05	0,00015764	1,44E-05	0,0006017	2,51E-06
TIC Cinorg%					0,000423	1,58E-07	1,73E-08	0,01385	2,44E-07	0,0297	5,77E-07
%S						2,62E-05	0,000999	0,0046349	1,19E-05	0,0075361	7,15E-06
Ctot/N							1,48E-05	0,00064835	4,14E-06	0,031015	1,90E-06
Corg/N								0,0068745	3,71E-08	0,016887	7,20E-08
DNA ng/ml									0,0024305	0,0064401	0,0026642
Sol Org										0,0005329	2,38E-17
FDA											0,00027901
Prot.											

Tabella 3. La tabella mostra i p-Values dei risultati ottenuti, dimostrando ulteriormente la buona correlazione di risultati ottenuta dai saggi HMP e BCA

Come si può notare dalla tabella 2, nello specifico, il saggio volto alla ricerca della sostanza organica solubile, ha prodotto come atteso, risultati ben correlati

con ogni dato riguardante il carbonio, nello specifico, direttamente proporzionali per quanto riguarda il carbonio organico. Al contempo, il saggio sulle proteine, fornisce dati direttamente correlati alla percentuale di azoto, di carbonio organico e al rapporto degli stessi, i quali variano in maniera direttamente proporzionale, mentre variano in maniera inversamente proporzionale, con una ottima correlazione, la percentuale di carbonio inorganico e il rapporto tra carbonio totale e azoto; tuttavia questo saggio in particolare non risulta efficace nel rappresentare la percentuale di carbonio totale o la quantità di DNA nei terreni. Di contro va sottolineato, come il saggio della fluoresceina diacetato, a differenza delle buone performances degli altri due non è apparso invece particolarmente efficace, poiché riporta sia coefficienti di correlazione non molto alti, che *p-Values* generalmente non significativi, non restituendo risultati in linea con i dati ottenuti con metodi tradizionali.

3.4 Valutazione efficacia statistica dei dati

A completezza dell'indagine statistica effettuata, vengono fornite le analisi sulla normalità e sulle varianze dei risultati ottenuti, da entrambi i metodi. Per ogni dato è stata verificata la normalità con tre test differenti: il test di Shapiro-Wilk, il test di Anderson-Darling e il test di Jarque-Bera. Successivamente, in base alla normalità o meno dei risultati, si sono effettuati altri due test. Nel caso

in cui la distribuzione dei dati fosse normale, si è effettuato il Tukey's Pairwise e il test sulla normalità delle varianze: il Levene test. Nel caso in cui i requisiti di normalità non fossero soddisfatti, si è eseguito prima il test Kruskal-Wallis per l'analisi delle varianze e poi il Post Hoc di Dunn.

Ntot% Rotazione Storica

	Zero	M2	L2	Prato
N	3	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,75		1	0,78
p(normal)	0		1	0,06748
Anderson-Darling	0,4878		0,1895	0,4497
p(normal)	0,05651		0,6307	0,07819
p(Monte Carlo)	0,0001		1	0,0665
Jarque-Bera	0,5312		0,2813	0,5285
p(normal)	0,7667		0,8688	0,7678
p(Monte Carlo)	0,0001		1	0,0633

M2 non fornisce un output poiché i valori sono casualmente uguali.

Kruskal-Wallis test for equal medians		H (chi2):	10,38
		Hc (tie corrected):	10,57
		p (same):	0,0143

<u>Raw p values uncorrected</u>				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		0,3039	0,03977	0,002041
M2	0,3039		0,3039	0,03977
L2	0,03977	0,3039		0,3039
Prato	0,002041	0,03977	0,3039	

Raw p values sequential Bonferroni significance				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		0,3039	0,03977	0,002041
M2	0,3039		0,3039	0,03977
L2	0,03977	0,3039		0,3039
Prato	0,002041	0,03977	0,3039	

Bonferroni corrected p Values				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero			1	0,2386
M2	1			1
L2	0,2386		1	
Prato	0,01224	0,2386	1	

Ntot% Orti Urbani

	convenzionali	biologici	camminamenti
N	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,75	0,9423	1
p(normal)	0	0,5367	1
Anderson-Darling	0,4878	0,2547	0,1895
p(normal)	0,05651	0,399	0,6307
p(Monte Carlo)	0,0001	0,5367	1
Jarque-Bera	0,5313	0,3919	0,2813
p(normal)	0,7667	0,8221	0,8688
p(Monte Carlo)	0,0001	0,5328	1

Kruskal-Wallis test for equal medians		H (chi2):	5,422
		Hc (tie cor	5,609
		p (same):	0,06053

Raw p values uncorrected			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,8795	0,04872
biologici	0,8795		0,03378
camminamenti	0,04872	0,03378	

Raw p values sequential Bonferroni significance			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,8795	0,04872
biologici	0,8795		0,03378
camminamenti	0,04872	0,03378	

Bonferroni corrected p Values			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		1	0,1462
biologici	1		0,1013
camminamenti	0,1462	0,1013	

Corg% Rotazione Storica

	Zero	M2	L2	Prato
N	3	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,9643	0,75	0,7998	0,9616
p(normal)	0,6369	0	0,1139	0,6233
Anderson-Darling	0,2296	0,4878	0,4249	0,2327
p(normal)	0,4867	0,05651	0,0966	0,4752
p(Monte Carlo)	0,634	0,0001	0,1171	0,6198
Jarque-Bera	0,3541	0,5312	0,5233	0,359
p(normal)	0,8377	0,7667	0,7698	0,8357
p(Monte Carlo)	0,6333	0,0001	0,1136	0,6212

Kruskal-Wallis test for equal medians		H (chi2):	10,38
		Hc (tie corrected):	10,42
		p (same):	0,01531

Raw p values uncorrected				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		0,3073	0,04118	0,002195
M2	0,3073		0,3073	0,04118
L2	0,04118	0,3073		0,3073
Prato	0,002195	0,04118	0,3073	

Raw p values sequential Bonferroni significance				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		0,3073	0,04118	0,002195
M2	0,3073		0,3073	0,04118
L2	0,04118	0,3073		0,3073
Prato	0,002195	0,04118	0,3073	

Bonferroni corrected p Values				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero			1	0,2471
M2	1			1
L2	0,2471		1	
Prato	0,01317	0,2471	1	

Corg% Orti Urbani

	convenzionali	biologici	camminamenti
N	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,9542	0,8063	0,9826
p(normal)	0,5882	0,1295	0,747
Anderson-Darling	0,2411	0,4168	0,209
p(normal)	0,4448	0,1035	0,5472
p(Monte Carlo)	0,5929	0,1351	0,7527
Jarque-Bera	0,372	0,521	0,3187
p(normal)	0,8303	0,7706	0,8527
p(Monte Carlo)	0,5833	0,1283	0,7572

Tukey's Pairwise			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,9445	0,07775
biologici	0,4574		0,1173
camminamenti	3,839	3,381	

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	1,09842	2	0,549211	4,397	0,06672
Within groups:	0,749467	6	0,124911	Permutation p (n=99999)	
Total:	1,84789	8	0,1418		
Components of variance (only for random effects):					
Var(group):	0,141433	Var(error)	0,124911	ICC:	0,531017
omega2:	0,4302				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,0138			
Levene's test, from medians	p (same):	0,4908			
Welch F test in the case of unequal variances: F=29,9, df=3,115, p=0,009267					

%S Rotazione Storica

	Zero	M2	L2	Prato
N	3	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,75	1	0,75	1
p(normal)	0	1	0	1
Anderson-Darling	0,4878	0,1895	0,4878	0,1895
p(normal)	0,05651	0,6307	0,05651	0,6307
p(Monte Carlo)	0,0001	0,9999	0,0001	1
Jarque-Bera	0,5312	0,2813	0,5312	0,2813
p(normal)	0,7667	0,8688	0,7667	0,8688
p(Monte Carlo)	0,0001	1	0,0001	1

Kruskal-Wallis test for equal medians	H (chi2):	3,423
	Hc (tie corrected):	3,751
	p (same):	0,2896

<u>Raw p values uncorrected</u>				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		0,9527	1	0,1096
M2	0,9527		0,9527	0,1234
L2	1	0,9527		0,1096
Prato	0,1096	0,1234	0,1096	

<u>Raw p values sequential Bonferroni significance</u>				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		0,9527	1	0,1096
M2	0,9527		0,9527	0,1234
L2	1	0,9527		0,1096
Prato	0,1096	0,1234	0,1096	

<u>Bonferroni corrected p Values</u>				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		1	1	0,6574
M2	1		1	0,7401
L2	1	1		0,6574
Prato	0,6574	0,7401	0,6574	

%S Orti Urbani

	convenzionali	biologici	camminamenti
N	3	3	3
Shapiro-Wilk	1		
p(normal)	1		
Anderson-Darling	0,1895		
p(normal)	0,6307		
p(Monte Carlo)	1		
Jarque-Bera	0,2813		
p(normal)	0,8688		
p(Monte Carlo)	1		

Come per l'azoto della rotazione storica, anche qui i valori di zolfo sono casualmente uguali. Ciò è anche dovuto alla irrisoria presenza di zolfo, che spesso è inferiore al limite di rilevabilità

<u>Kruskal-Wallis test for equal medians</u>	H (chi2):	3,8
	Hc (tie cor	4,302
	p (same):	0,1164

<u>Raw p values uncorrected</u>			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,057	0,8119
biologici	0,057		0,09583
camminamenti	0,8119	0,09583	

<u>Raw p values sequential Bonferroni significance</u>			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,057	0,8119
biologici	0,057		0,09583
camminamenti	0,8119	0,09583	

<u>Bonferroni corrected p Values</u>			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,171	1
biologici	0,171		0,2875
camminamenti	1	0,2875	

Corg/N Rotazione Storica

	Zero	M2	L2	Prato
N	3	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,9231	0,9674	0,9952	0,9447
p(normal)	0,4633	0,653	0,8679	0,5468
Anderson-Darling	0,2769	0,2262	0,1948	0,2519
p(normal)	0,3337	0,5023	0,6056	0,4081
p(Monte Carlo)	0,4565	0,653	0,8651	0,5443
Jarque-Bera	0,4206	0,3484	0,2919	0,3879
p(normal)	0,8103	0,8401	0,8642	0,8237
p(Monte Carlo)	0,4603	0,6499	0,87	0,5495

Tukey's Pairwise				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		0,7418	0,1392	0,01276
M2	1,446		0,5049	0,05174
L2	3,5	2,054		0,3716
Prato	5,94	4,494	2,44	

Test for equal means						
	Sum of sqrs	df	Mean squa	F	p (same)	
Between groups:	9,87583	3	3,29194	6,667	0	
Within groups:	3,95007	8	0,493758	Permutation p (n=99999)		
Total:	13,8259	11	0,01916			
Components of variance (only for random effects):						
Var(group):	0,932728	Var(error):	0,493758	ICC:	0,7	
omega2:	0,5862					
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,01593				
Levene's test, from medians	p (same):	0,2059				
Welch F test in the case of unequal variances: F=27,58, df=3,605, p=0,005822						

Corg/N Orti Urbani

	convenzionali	biologici	camminamenti
N	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,9982	0,8598	0,9979
p(normal)	0,918	0,2671	0,9118
Anderson-Darling	0,1915	0,3515	0,1919
p(normal)	0,6209	0,1787	0,6194
p(Monte Carlo)	0,9211	0,2636	0,9106
Jarque-Bera	0,2854	0,4898	0,286
p(normal)	0,867	0,7828	0,8667
p(Monte Carlo)	0,9213	0,2681	0,9154

<u>Tukey's Pairwise</u>			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,9974	0,999
biologici	0,09656		0,9931
camminamenti	0,06144	0,158	

<u>Test for equal means</u>					
	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	0,00548889	2	0,00274444	0,006344	0,9937
<u>Within groups:</u>	2,59573	6	0,432622	Permutation p (n=99999)	
Total:	2,60122	8	0,9863		
Components of variance (only for random effects):					
Var(group):	-0,143293	Var(error)	0,432622	ICC:	-0,495257
omega2:	0				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,518			
Levene's test, from medians	p (same):	0,9035			
Welch F test in the case of unequal variances: F=0,005066, df=3,863, p=0,995					

DNA ng/ml Rotazione Storica

	Zero	M2	L2	Prato
N	3	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,9586	0,9982	0,8429	0,9633
p(normal)	0,6086	0,9194	0,2217	0,6319
Anderson-Darling	0,2361	0,1915	0,3719	0,2308
p(normal)	0,4626	0,6212	0,1497	0,4825
p(Monte Carlo)	0,6132	0,9231	0,211	0,6336
Jarque-Bera	0,3644	0,2852	0,5021	0,3559
p(normal)	0,8334	0,8671	0,778	0,837
p(Monte Carlo)	0,6	0,9173	0,2273	0,6317

Tukey's Pairwise				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		1	0,9805	0,01284
M2	0,007083		0,9812	0,01293
L2	0,5328	0,5257		0,02128
Prato	5,933	5,926	5,4	

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean squa	F	p (same)
Between groups:	53,843	3	17,9477	8,337	0
Within groups:	17,2219	8	2,15274	Permutation p (n=99999)	
Total:	71,065	11	0,0003		
Components of variance (only for random effects):					
Var(group):	5,26498	Var(error):	2,15274	ICC:	0,7
omega2:	0,6472				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,0137			
Levene's test, from medians	p (same):	0,1295			
Welch F test in the case of unequal variances: F=2,898, df=3,971, p=0,1661					

DNA ng/ml Orti Urbani

	convenzionali	biologici	camminamenti
N	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,9586	0,8785	0,9787
p(normal)	0,6086	0,3201	0,7203
Anderson-Darling	0,2361	0,3292	0,2133
p(normal)	0,4626	0,2162	0,5327
p(Monte Carlo)	0,6073	0,3242	0,7296
Jarque-Bera	0,3644	0,4732	0,3265
p(normal)	0,8334	0,7893	0,8494
p(Monte Carlo)	0,6086	0,324	0,7187

Tukey's Pairwise			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,2935	0,8584
biologici	2,349		0,5333
camminamenti	0,7542	1,595	

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	0,854945	2	0,427472	1,439	0,3087
Within groups:	1,78252	6	0,297086	Permutation p (n=99999)	
Total:	2,63746	8	0,2443		
Components of variance (only for random effects):					
Var(group):	0,0434621	Var(error)	0,297086	ICC:	0,127624
omega2:	0,08886				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,06537			
Levene's test, from medians	p (same):	0,274			
Welch F test in the case of unequal variances: F=4,021, df=3,149, p=0,1358					

Sol Org Rotazione Storica

	Zero	M2	L2	Prato
N	3	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,9154	0,9911	0,8188	0,9732
p(normal)	0,4363	0,8191	0,1603	0,6857
Anderson-Darling	0,2858	0,1995	0,4013	0,2196
p(normal)	0,3102	0,5848	0,1181	0,5155
p(Monte Carlo)	0,4331	0,8141	0,157	0,6852
Jarque-Bera	0,4311	0,3009	0,5157	0,3374
p(normal)	0,8061	0,8603	0,7727	0,8448
p(Monte Carlo)	0,4468	0,8152	0,1585	0,6848

Tukey's Pairwise				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		1	0,1105	0,009256
M2	0,07031		0,1184	0,009869
L2	3,734	3,664		0,3371
Prato	6,288	6,218	2,554	

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean squa	F	p (same)
Between groups:	0,612365	3	0,204122	9,342	0
Within groups:	0,174795	8	0,0218493	Permutation p (n=99999)	
Total:	0,78716	11	0,00712		
Components of variance (only for random effects):					
Var(group):	0,0607575	Var(error):	0,0218493	ICC:	0,7
omega2:	0,6759				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,09643			
Levene's test, from medians	p (same):	0,6622			
Welch F test in the case of unequal variances: F=7,002, df=3,796, p=0,04951					

Sol Org Orti Urbani

	convenzionali	biologici	camminamenti
N	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,9847	0,9423	0,8933
p(normal)	0,763	0,5367	0,3645
Anderson-Darling	0,2066	0,2547	0,3117
p(normal)	0,5559	0,399	0,2505
p(Monte Carlo)	0,7669	0,5467	0,3593
Jarque-Bera	0,3143	0,3919	0,4579
p(normal)	0,8546	0,8221	0,7954
p(Monte Carlo)	0,7653	0,5328	0,3596

Tukey's Pairwise			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,01467	0,1097
biologici	5,826		0,2883
camminamenti	3,455	2,37	

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	0,845181	2	0,42259	8,583	0,01737
Within groups:	0,295413	6	0,0492356	Permutation p (n=99999)	
Total:	1,14059	8	0,00754		
Components of variance (only for random effects):					
Var(group):	0,124452	Var(error)	0,0492356	ICC:	0,716527
omega2:	0,6276				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,1121			
Levene's test, from medians	p (same):	0,2729			
Welch F test in the case of unequal variances: F=9,821, df=2,912, p=0,05075					

FDA Rotazione Storica

	Zero	M2	L2	Prato
N	3	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,8842	0,9968	0,8639	0,8406
p(normal)	0,337	0,8914	0,2783	0,2156
Anderson-Darling	0,3224	0,1931	0,3466	0,3747
p(normal)	0,229	0,6136	0,1864	0,1461
p(Monte Carlo)	0,340	0,8921	0,283	0,2131
Jarque-Bera	0,4675	0,2885	0,4864	0,5036
p(normal)	0,7916	0,8657	0,7841	0,7774
p(Monte Carlo)	0,3443	0,8932	0,2831	0,2205

Tukey's Pairwise				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		0,783	0,8987	0,2537
M2	1,335		0,9936	0,06891
L2	0,9734	0,362		0,09891
Prato	2,872	4,207	3,845	

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean squa	F	p (same)
Between groups:	0,0561403	3	0,0187134	3,633	0,1
Within groups:	0,0412087	8	0,0051511	Permutation p (n=99999)	
Total:	0,097349	11	0,0752		
Components of variance (only for random effects):					
Var(group):	0,00452079	Var(error):	0,0051511	ICC:	0,5
omega2:	0,3969				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,02337			
Levene's test, from medians	p (same):	0,6211			
Welch F test in the case of unequal variances: F=1,912, df=4,307, p=0,261					

FDA Orti Urbani

	convenzionali	biologici	camminamenti
N	3	3	3
Shapiro-Wilk	0,9942	0,769	0,9938
p(normal)	0,8539	0,0424	0,8499
Anderson-Darling	0,196	0,4635	0,1964
p(normal)	0,6002	0,06947	0,5985
p(Monte Carlo)	0,850	0,045	0,8494
Jarque-Bera	0,2942	0,5301	0,2949
p(normal)	0,8632	0,7672	0,8629
p(Monte Carlo)	0,8511	0,0417	0,8505

<u>Kruskal-Wallis test for equal medians</u>	H (chi2):	6,489
	Hc (tie cor	6,489
	p (same):	0,03899

<u>Raw p values uncorrected</u>			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,01127	0,2967
biologici	0,01127		0,136
camminamenti	0,2967	0,136	

<u>Raw p values sequential Bonferroni significance</u>			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,01127	0,2967
biologici	0,01127		0,136
camminamenti	0,2967	0,136	

<u>Bonferroni corrected p Values</u>			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,03381	0,8902
biologici	0,03381		0,4081
camminamenti	0,8902	0,4081	

Proteine Rotazione Storica

	Zero	M2	L2	Prato
N	3	3	3	3
Shapiro-Wilk	0.9363	0.9992	0.9844	0.9851
p(normal)	0.5129	0.9475	0.7607	0.7663
Anderson-Darling	0.2616	0.1903	0.207	0.2061
p(normal)	0.3777	0.6267	0.5546	0.5577
p(Monte Carlo)	0.5072	0.9468	0.7698	0.7648
Jarque-Bera	0.4012	0.2829	0.3149	0.3134
p(normal)	0.8182	0.8681	0.8543	0.8549
p(Monte Carlo)	0.5136	0.948	0.7571	0.761

Tukey's Pairwise				
	Zero	M2	L2	Prato
Zero		0.9993	0.1405	0.000197
M2	0.1732		0.1663	0.0002198
L2	3.491	3.318		0.002395
Prato	11.35	11.17	7.857	

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean squa	F	p (same)
Between groups:	0,339641	3	0,113214	28,22	0
Within groups:	0,0321	8	0,0040125	Permutation p (n=99999)	
Total:	0,371741	11	0,0005		
Components of variance (only for random effects):					
Var(group):	0,0364004	Var(error):	0,0040125	ICC:	0,9
omega2:	0,8719				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,1115			
Levene's test, from medians	p (same):	0,2775			
Welch F test in the case of unequal variances: F=13,52, df=3,62, p=0,01903					

Proteine Orti Urbani

	convenzionali	biologici	camminamenti
N	3	3	3
Shapiro-Wilk	1	0,949	0,9251
p(normal)	0,9878	0,565	0,4704
Anderson-Darling	0,1895	0,247	0,2746
p(normal)	0,6305	0,4243	0,34
p(Monte Carlo)	0,9854	0,5611	0,4639
Jarque-Bera	0,2813	0,3809	0,4178
p(normal)	0,8688	0,8266	0,8115
p(Monte Carlo)	0,9868	0,5661	0,4699

Tukey's Pairwise			
	convenzionali	biologici	camminamenti
convenzionali		0,02129	0,2333
biologici	5,355		0,2086
camminamenti	3	3	

Test for equal means					
	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)
Between groups:	0,325329	2	0,162664	7,17	0,02567
Within groups:	0,136115	6	0,0226859	Permutation p (n=99999)	
Total:	0,461444	8	0,01835		
Components of variance (only for random effects):					
Var(group):	0,0466595	Var(error)	0,0226859	ICC:	0,672856
omega2:	0,5783				
Levene's test for homogeneity of variance, from means	p (same):	0,37			
Levene's test, from medians	p (same):	0,4096			
Welch F test in the case of unequal variances: F=7,818, df=3,507, p=0,05099					

4. CONCLUSIONI

Dalla ricerca condotta è emerso dunque che vi è una sostanziale differenza a favore della nuova metodologia oggetto di questa tesi per quanto concerne la velocità d'esecuzione, consentendo quindi un risparmio di tempo notevole. Gli studi hanno però mostrato come solo due saggi su tre hanno una rimarchevole efficacia nella valutazione delle fertilità del suolo, paragonabile al metodo tradizionale. Mentre il saggio con fluorescina diacetato non ha mostrato risultati significativamente rilevanti. Va sottolineato che in laboratorio sono stati utilizzati, oltre ai campioni su cui sono state fatte tutte le analisi statistiche, anche altri tre terreni, per i quali però, non avendo repliche e controlli, non sono stati presi in considerazione nell'analisi statistica dei dati, nondimeno i dati forniti da questi singoli campioni di suolo, si allineano ai risultati forniti dal nuovo metodo. In conclusione, perciò, il la nuova metodica pare essere valida, sono però necessari altri studi che valutino ulteriormente la sua efficacia, poiché la maggiore velocità d'esecuzione rispetto al metodo tradizionale è innegabile.

5. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- Bortolami, P e Giandon, P., (1990). *L'interpretazione delle analisi del terreno. Strumento per la sostenibilità ambientale. Ristampa (da 1a ed. 1990 ESAV) per ARPAV.*
- ✓ https://www.e-santoni.edu.it/wp-content/uploads/2019/10/qacs_spettrofotometria.pdf
- ✓ <https://it.wikipedia.org/wiki/Suolo>