

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA
Dottorato di ricerca in BIOLOGIA VEGETALE
Ciclo XXIV

COMPARAZIONE DELLE RELAZIONI ESISTENTI NEL
SISTEMA PIANTA – TARTUFO – COMUNITÀ EDAFICA IN
LOCALITÀ ITALIANE E SPAGNOLE

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. M. TOMASELLI

Tutor:

Chiar.mo Prof. A. FABBRI

Co - Tutor:

Dott. ssa C. MENTA

Prof. L. G. GARCIA MONTERO

Dottorando: KATIA TARASCONI

INDICE

CAPITOLO 1: Premessa	4
CAPITOLO 2: Introduzione	7
2.1 Il Suolo	7
2.1.1 Struttura e proprietà fisiche	7
2.1.2 Sostanza organica	9
2.2 La fauna edafica	11
2.2.1 Ecologia e habitat	14
2.2.2 Microartropodi edafici	16
2.3 La simbiosi micorrizica	18
2.3.1 La componente fungina ectomicorrizica	23
2.3.2 La componente vegetale ectomicorrizica	26
2.3.3 Aspetti nutrizionali	27
2.3.4 Le difese chimiche e fisiche dei funghi ECM	28
2.3.5 Cenni sui ruoli delle micorrize nell'ecosistema	30
2.3.6 Rapporti fra micorrize e componente vegetale	32
2.3.7 Rapporti fra micorrize e componente microbiologica del suolo	34
2.3.8 Rapporti fra micorrize, fauna del suolo e mammiferi	36
2.3.9 Genere Tuber. Cenni sull'ecologia del tartufo	39
2.3.10 Il pianello	52
2.3.11 I composti emessi dal tartufo	55
CAPITOLO 3: Materiali e metodi	58
3.1 L'area di studio	58
3.1.1 Descrizione geografica e dei suoli	58
3.1.2 Fitocenosi forestali	62
3.2 Rilievi floristici	67
3.3 Campionamento ed identificazione dei microartropodi edafici	70
3.4 Indice QBS-ar	72

3.5 Analisi statistiche	75
CAPITOLO 4: Risultati e discussione	76
4.1 Rilievi floristici	76
4.1.1 Analisi delle FORME BIOLOGICHE	80
4.2.2 Analisi dei COROTIPI	83
4.2.3 Valori di bioindicazione	86
4.2 Fauna edafica	87
4.2.1 Analisi delle forme biologiche	87
4.2.2 Analisi della densità totale media dei gruppi di microartropodi	90
4.2.3 Indagine sulla densità dei gruppi di microartropodi ritenuti maggiormente significativi per il confronto tra l'ambiente esterno e interno al pianello	113
4.2.4 Indice QBS-ar	119
CAPITOLO 5: Conclusioni	121
Riassunto	124
Ringraziamenti	125
Bibliografia	126

Capitolo 1. Premessa

Le ricerche svolte nel corso di questo progetto di dottorato si inseriscono in uno studio multidisciplinare volto ad indagare alcuni aspetti delle relazioni esistenti nelle comunità composte da tartufo, pianta ospite e microartropodi del suolo. Le due specie di tartufo oggetto della ricerca (*Tuber melanosporum* Vittad. e *Tuber aestivum* Vittad.) presentano fra loro discrete differenze nella struttura del micelio e nelle fasi del ciclo biologico. Come tutti i funghi appartenenti al genere *Tuber*, sono ascomiceti che producono un corpo fruttifero sotterraneo solo dopo avere contratto relazioni simbiotiche con una o più piante ospiti diverse. Le piante ospiti possono essere a portamento arbustivo o arboreo, in genere rappresentanti caratteristiche della vegetazione di foresta boreale temperata. L'associazione composta da ife fungine e apici radicali della pianta è denominata "micorriza". Si tratta spesso di un mutualismo in cui i prodotti della fotosintesi della pianta sono scambiati per le risorse minerali acquisite dal fungo nel suolo. È stimato che circa il 90% delle piante terrestri formano micorrize con funghi e che addirittura l'instaurarsi della micorrizzazione sia stato un fattore cruciale nel permettere l'insediamento delle piante nell'ambiente terrestre. In questa associazione, le ife del fungo si avvolgono "a manicotto" attorno alla radice della pianta. Le due specie di tartufo prese in considerazione sono in grado di formare ectomicorrize. Queste sono capaci di "collegare" fra di loro alberi vicini, anche appartenenti a specie diverse, creando delle vere e proprie reti, grazie alle quali è possibile un flusso di nutrienti e prodotti della fotosintesi da una pianta all'altra. Il ruolo ecologico di queste reti è sicuramente fondamentale in natura e si stanno indagando ancora diversi aspetti. Le caratteristiche del rapporto simbiotico fra tartufo e pianta ospite sono ancora in buona parte sconosciute, anche se numerosi studi sull'argomento sono stati effettuati nell'ultimo decennio (Selosse et al., 2006). Il ciclo vitale del tartufo è molto complesso e composto da tre principali fasi: la fase saprofitica, la fase di simbiosi e la fruttificazione. La maggior parte dei processi che avvengono durante i diversi stadi è ancora sconosciuta e riguarda principalmente modificazioni morfologiche, genetiche e metaboliche registrate anche per la pianta ospite, in presenza di simbiosi. Come enunciato in precedenza, data la notevole valenza economica delle associazioni fra tartufo e pianta ospite, numerosi studi sono stati effettuati su aspetti fisiologici, biochimici ed ecologici da un lato sulle risposte della pianta ospite, dall'altro, sui vantaggi e le risposte ottenute dalla componente fungina (Garcia Montero et al., 2007). Scarse invece

risultano le conoscenze sulle relazioni fra il sistema tartufo-pianta ospite e la fauna edafica, essendo quelle esistenti per la maggior parte riferite alle simbiosi con micorrize arbuscolari. Il suolo è il luogo di interazione tra la vegetazione, la fauna edafica e il micelio, essendo il substrato che sostiene la vita di questi organismi. Come per le specie vegetali, la maggior parte dei taxa edafici è strettamente legata alle caratteristiche del suolo in cui abita, data la mobilità estremamente ridotta che li caratterizza e che non permette loro rapide migrazioni in altre aree in cerca di condizioni maggiormente favorevoli. È noto che alcune caratteristiche del suolo (pH, tessitura, struttura, contenuto in nutrienti, umidità) influenzino sia il tipo di vegetazione, sia le comunità edafiche e il ciclo vitale del tartufo. Come noto dalla letteratura, la composizione della pedofauna è influenzata dalle caratteristiche ambientali e del suolo quali l'umidità (in particolare per la distribuzione della collembolofauna), la presenza di sostanza organica, il pH ed il tipo di humus (Hagvar 1982, Kuznetsova 2002). Si deve osservare come tutti i fattori sopraelencati siano generalmente correlati con il tipo di vegetazione presente nell'area. Le piante modificano attivamente le caratteristiche fisico-chimiche del suolo (Materna, 2004) influenzando quindi indirettamente la composizione della fauna edafica. Infatti, mediante l'apparato radicale esse cambiano la distribuzione dell'acqua e dei nutrienti nel suolo, oltre a variare la porosità dello stesso tramite l'azione di scavo delle radici sottili. Le stesse radici e i loro essudati costituiscono una risorsa trofica importante per molti organismi edafici ed influenzano la distribuzione della microflora (Wallwork, 1970). In presenza dei corpi fruttiferi di tartufi appartenenti alle due specie oggetto di studio, inoltre, l'emissione comprovata di sostanze allelopatiche da parte delle ife fungine, allo scopo di sfavorire la crescita di vegetali competitori dell'ospite, contribuisce a creare un ambiente particolarmente ostile alla vegetazione e caratterizzato da ulteriore aridità del terreno. Questo dà origine ad un'area più o meno estesa e visibile, denominata pianello, che presenta scarsissima o nulla copertura vegetale.

Lo scopo del presente lavoro di tesi è stato quello di indagare alcune delle possibili interazioni esistenti fra le tre principali componenti descritte in questa comunità ecologica. In particolare, il progetto di ricerca si propone di effettuare un confronto fra l'ambiente esterno e l'ambiente interno al pianello, con riferimento alla componente vegetale e animale, per valutare se la presenza del tartufo ha effetti diretti e/o indiretti sulla vegetazione e sulla comunità edafica. Lo studio effettuato si può riassumere mediante i seguenti punti principali:

- rilevamento in campo di dati floristici e raccolta di dati di inventario forestale, per ottenere un inquadramento descrittivo delle aree di studio e mettere in evidenza le differenze vegetazionali esistenti nei due diversi ambienti, esterno e interno al pianello;
- applicazione di indici autoecologici per l'analisi dei dati vegetazionali;
- analisi della fauna edafica mediante raccolta e osservazione di campioni di microartropodi del suolo, al fine di rilevare differenze significative nel confronto fra le due diverse condizioni;
- applicazione di indici di diversità biologica e qualità del suolo per l'analisi della pedofauna;
- elaborazione statistica dei risultati ottenuti.

La ricerca è stata effettuata nel territorio compreso tra Cagli (43°32'N; 12°38'E) e Frontone (43°31'N; 12°44'E), nell'entroterra marchigiano. Al fine di confrontare i risultati dei dati dell'area di studio italiana, la raccolta di campioni è stata inoltre effettuata nell'anno 2010 in Spagna, in un'area che copre un raggio di 10 km fra la provincia di Peralejos de las Truchas (Guadalajara) e Belvalle (Beteta, Cuenca) (40°35'N; 1°54'W).

Capitolo 2. Introduzione

2.1 Il suolo

2.1.1 struttura e proprietà fisiche

Il suolo non può essere considerato un ecosistema distinto, ma è lo strato basale di tutti gli ecosistemi terrestri. In esso avviene infatti la chiusura dei cicli biogeochimici di molti elementi (C, N, S, P) che sono ritrasformati in forme nuovamente assimilabili dalle piante. Il suolo è strettamente dipendente dall'ambiente sovrastante, da cui riceve la materia organica che sostiene il popolamento biologico, in quanto la mancanza di luce (che si ferma alla superficie) rende minimo l'apporto della produzione primaria per fotosintesi. I fattori che determinano il tipo di suolo sono principalmente tre:

1. La vegetazione
2. Il macroclima regionale (latitudine, altitudine, temperatura)
3. Il tipo di roccia madre

L'acqua e le sostanze nutritive che permeano il suolo danno origine a processi di pedogenesi che si concretizzano nella formazione di strati con caratteristiche chimiche e fisiche differenti, detti *orizzonti*. In modo schematico, osservando il profilo del suolo dalla superficie e scendendo in profondità possiamo incontrare:

- La lettiera (orizzonti O1 e O2) cioè la parte superficiale dove si depositano i prodotti di caduta delle piante.
- Lo strato eluviale, orizzonte A, dove avviene l'asportazione del materiale solubile.
- Lo strato illuviale, orizzonte B, in cui si depositano i materiali asportati dall'orizzonte eluviale.
- La roccia madre, orizzonti C e D

Negli orizzonti appena descritti si possono poi avere ulteriori separazioni, per esempio la lettiera può essere suddivisa a seconda del grado di decomposizione dei materiali vegetali e della possibilità di riconoscerne le componenti originali. Invece nella roccia madre si possono riconoscere diversi orizzonti legati agli stati di alterazione del substrato. Lo schema sopra descritto è quello tipico di un suolo non rimaneggiato, come può essere quello di una foresta matura. Nelle aree sottoposte ad attività antropiche, come la pratica agricola dell'aratura, viene modificato il profilo del suolo, rimescolando gli strati.

Considerando gli orizzonti A e B, la loro composizione relativa è in linea generale la seguente: 45% minerali, 25% soluzione acquosa, 5% sostanza organica, 25% gas dell'atmosfera ipogea. In realtà le proporzioni di acqua e gas sono complementari, in quanto entrambe occupano gli stessi interstizi del suolo e quindi all'aumentare di una parte, l'altra diminuisce di conseguenza. Di seguito vengono analizzate singolarmente le quattro componenti.

Soluzione acquosa: l'acqua presente nel suolo può essere ascritta a quattro differenti categorie a seconda del legame con cui è trattenuta nel terreno:

1. Acqua gravitazionale: riempie le cavità con un diametro minimo di 8 μm e tende a scendere in profondità per effetto della gravità.
2. Acqua capillare: riempie le cavità sufficientemente piccole perché sia trattenuta grazie all'effetto della capillarità.
3. Acqua igroscopica: è legata chimicamente alle sostanze presenti nel suolo e la sua percentuale varia a seconda del tipo di substrato dal 3% dei suoli sabbiosi al 23% di quelli argillosi.
4. Acqua di cristallizzazione: è legata alla struttura molecolare delle componenti del suolo. (Parisi 1974).

L'energia con cui l'acqua è legata al terreno limita la capacità degli organismi di utilizzarla. Infatti mentre l'acqua gravitazionale è facilmente disponibile in quanto non legata chimicamente al substrato, l'acqua di cristallizzazione fa parte della struttura dei minerali e non può esserne separata.

Minerali: La componente minerale del suolo è molto varia a seconda del tipo di suolo e della roccia madre da cui deriva, però in generale si possono osservare (anche se in diverse proporzioni): carbonato di calcio, quarzo, vari solfati e silicati. Data la loro importanza nel determinare le proprietà fisiche del suolo (ad esempio le capacità di rigonfiarsi e trattenere l'acqua) vanno ricordati i minerali argillosi come: la Caolinite, la Montmorillonite e l'Illite.

Componente organica: la parte organica del suolo (escludendo gli organismi viventi) è formata da una vasta gamma di composti, derivati principalmente dalla demolizione del detrito vegetale della lettiera. In varie proporzioni sono presenti: polisaccaridi (cellulose, emicellulose, lignina), lipidi, proteine, terpeni, tannini e altre sostanze tra cui le più caratteristiche sono gli acidi umici. Questi acidi derivano dalla decomposizione di materiali vegetali, ad opera dei batteri presenti nel suolo, e

sono importanti non solo perché funzionano nel suolo come soluzioni tampone bilanciando le variazioni di pH, ma anche perché precursori dell'humus.

Tra le principali proprietà fisiche di un suolo vi sono la compattezza e la capacità di trattenere l'acqua. Queste caratteristiche a loro volta dipendono dalla struttura e dalla tessitura.

La tessitura del suolo è data dalle proporzioni relative con cui sono presenti le quattro classi granulometriche, infatti, a seconda delle dimensioni le particelle possono essere suddivise in:

- Scheletro, le particelle di diametro superiore a 2 mm
- Sabbia, le particelle di diametro compreso tra 2 e 0,05 mm
- Limo, le particelle di diametro compreso tra 0,05 e 0,002 mm
- Argilla, le particelle con diametro inferiore a 0,002 mm

La struttura invece caratterizza il modo in cui le particelle sono disposte tra loro, influenzando le dimensioni delle cavità.

Gli altri fattori fisici che caratterizzano l'ambiente ipogeo sono: luce, pH e temperatura. La luce si ferma in superficie, perché assorbita dalle particelle terrose. Questo impedisce la fotosintesi e limita la produzione primaria all'interno del suolo. Il pH pur presentando variazioni elevate nelle aree di intensa attività di decomposizione, resta generalmente costante all'interno di uno stesso suolo grazie anche all'effetto tampone degli acidi umici. Le variazioni diurne e stagionali di temperatura si attenuano con l'aumentare della profondità dell'orizzonte considerato. Questa omogeneità climatica evita agli organismi ipogei il bisogno di particolari adattamenti fisiologici e morfologici per difendersi dalle temperature estreme e da brusche variazioni termiche (Parisi 1974).

2.1.2 Sostanza organica

La sostanza organica è composta da tutti i residui della decomposizione, i prodotti dell'attività microbica, le sostanze di resintesi nel plasma batterico e dalle sostanze non specifiche del suolo (grassi, proteine, cellulose, terpeni, ecc.). La presenza di sostanza organica è influenzata principalmente dalle caratteristiche climatiche, dalla copertura vegetale, dall'attività della pedofauna e dal dilavamento. La differente quantità di composti estranei al suolo influenza la decomposizione e di conseguenza la quantità di sostanza organica. Infatti alcune sostanze idrosolubili presenti nei detriti vegetali sono tossiche o repellenti, e per questo la lettiera (orizzonti O1 e O2) deve essere sottoposta ad un periodo di "lavaggio" prima di poter essere attaccata da detritivori e decompositori. Oltre alla presenza di sostanze tossiche, anche la stessa composizione

dei detriti è importante nel determinare la velocità di degradazione, infatti lettiera ricche di lignina, fenoli e acidi organici sono decomposte molto lentamente, in periodi che possono arrivare fino a cinque anni, mentre lettiera ricche di azoto e cellulosa hanno tempi di decomposizione estremamente rapidi che possono essere di soli sei mesi. In tutti i tipi di lettiera le sostanze sono degradate sempre nello stesso ordine: le prime ad essere attaccate sono le sostanze idrosolubili, seguite da quelle solubili in alcool, dalle emicellulose, successivamente la cellulosa ed infine la lignina.

In generale la sostanza organica può essere suddivisa in tre diverse frazioni in base al grado di degradazione e complessità molecolare: sostanza organica fresca (costituita da residui inalterati di origine vegetale e animale ben riconoscibili), sostanza organica ereditata (materiali costituiti da molecole più o meno complesse di glucidi, lipidi, protidi, lignina, derivati dall'alterazione dei residui) e sostanze umiche (costituite dall'humus vero e proprio).

La sostanza organica fresca può essere legata a diverse fonti, ma un contributo particolarmente importante è costituito dai residui prodotti dalla porzione epigea della vegetazione che costituiscono la quasi totalità della lettiera. Di importanza non secondaria è anche il contributo dovuto alle radici morte, infatti ogni anno gli alberi rinnovano il loro apparato radicale sostituendo dal 60% al 90% delle radici fini (Zanella *et al.* 2001). A questo si deve aggiungere l'apporto di sostanza organica legato al rilascio di essudati radicali (composti organici solubili come zuccheri e acidi organici), ormoni, mucillagini (sostanze di consistenza gelatinosa e di natura polisaccaridica) e lisati (sostanze derivanti dalla lisi delle cellule dei tessuti radicali). L'humus è una parte della sostanza organica e rappresenta la fase conclusiva di una serie di complesse trasformazioni a carico dei residui vegetali e animali. A sua volta l'humus si decompone in sostanze minerali che vengono poi riassorbite dalle piante. Si possono distinguere tre tipologie di umine sulla base della sua genesi: 1) umina residuale nel terreno, 2) umina di neosintesi batterica 3) umina di policondensazione.

Nell'ultimo caso la sostanza organica attraversa una serie di stadi in cui si ha la formazione di: acidi crenici, acidi fulvici e acidi umici.

L'azione delle umine si manifesta anche sulle caratteristiche fisiche del suolo aumentandone la compattezza, con la formazione di composti umo-argillosi.

La degradazione della sostanza organica è il processo che fornisce l'energia necessaria per sostenere i viventi del suolo, infatti come già ricordato, l'assenza di luce impedisce la fotosintesi e di conseguenza tutti i rapporti trofici che normalmente avvengono in superficie. La catena del detrito

oltre a sostenere la vita della pedofauna rende anche nuovamente disponibili alle piante elementi fondamentali come N, P, S, C.

2.2 La fauna edafica

La fauna del suolo, che in molti casi è considerata quasi come un'entità a se stante, è parte integrante dell'ecosistema in cui è inserita e che modifica agendo sul ciclo del detrito e sulla pedogenesi. Allo stesso modo le caratteristiche dell'ambiente subaereo (clima, vegetazione, attività antropiche) influiscono sulla composizione della comunità edafica modificando le proprietà del suolo e la disponibilità di risorse trofiche.

La pedofauna è definita come il complesso degli organismi animali che vivono nel suolo (*edaphon*). È possibile ipotizzare una duplice origine dell'edaphon (Parisi, 1974), un primo contingente, detto *atmobios* (artropodi oligocheti e piccoli invertebrati), originatosi in ambiente epigeo e solo secondariamente adattato al suolo e quindi legato all'atmosfera ipogea. Mentre il secondo contingente, l'*hydrobios* (nematodi, ciliati, rotiferi e tardigradi), originatosi nelle acque interstiziali, si sarebbe poi adattato a vivere nella sottile pellicola di soluzione acquosa che circonda le particelle di suolo e nell'acqua contenuta nei pori tra le stesse. Per alcuni gruppi, quali collemboli, proturi e dipluri, che non hanno rappresentanti né nell'ambiente epigeo (se non per alcune eccezioni nel caso dei collemboli) né nell'ambiente acquatico, l'origine potrebbe essere fatta risalire direttamente nel suolo (Parisi, 1974). Le interazioni della pedofauna con il suolo sono molto differenti in funzione delle abitudini di vita dei vari taxa e della porzione di ciclo vitale che essi compiono all'interno del suolo stesso. In particolare quest'ultimo parametro è in stretta correlazione con gli adattamenti morfologici e le funzioni ecologiche degli organismi, permettendoci di suddividere i gruppi edafici in quattro grandi categorie (prive di valore tassonomico): geofili inattivi temporanei, geofili attivi temporanei, geofili periodici e geobionti.

Geofili inattivi temporanei: sono organismi che abitano il suolo solo per alcuni periodi della loro vita, ad esempio per svernare o durante la metamorfosi, quando la stabilità climatica e la protezione fornita dall'ambiente ipogeo sono più necessari (Zanella *et al.* 2001). A causa della loro relativa inattività, gli appartenenti a questo gruppo hanno un impatto modesto sulle funzioni ecologiche dell'ambiente ipogeo, anche se possono rientrare nella rete trofica del suolo come prede.

Geofili attivi temporanei (o edafofeni): abitano nel suolo in modo stabile per buona parte del loro ciclo vitale, attraversando uno o più stadi di sviluppo, ed emergendo in genere come adulto alato. Oltre alle cicale e ad alcune specie di neurotteri, gli insetti di questo gruppo appartengono per la maggior parte a tre ordini: ditteri, coleotteri e lepidotteri. La relativa inattività della pupa rende, come nel caso dei geofili inattivi temporanei, il suo contributo alle funzioni del suolo molto basso, mentre le larve hanno un'importanza considerevole sia come detritivori sia come predatori. Nella comunità del suolo le larve degli insetti occupano una posizione molto particolare, in quanto, se da un lato la forma del corpo, le modalità di locomozione, e l'attività trofica mostrano un elevato adattamento alla vita ipogea, dall'altro esse vivono nel suolo solo in modo transitorio ed emergono nella fase adulta con adattamenti di tipo estremamente differente (Wallwork 1970).

Geofili periodici: Conducono una fase del ciclo biologico nel suolo e, nel corso dell'intera vita, pur potendolo abbandonare, continuano a mantenere rapporti con l'ambiente ipogeo entrando periodicamente per cacciare, per deporre le uova, o per sfuggire a condizioni climatiche sfavorevoli. Molti coleotteri (carabidi, cicindelidi), ad esempio, conducono lo stadio larvale nella lettiera o nei primi orizzonti del suolo mentre, nello stadio adulto utilizzano il suolo come fonte trofica, rifugio e altro.

Geobionti (o edafobi): sono organismi estremamente adattati alla vita nel suolo e non sono in grado di abbandonarlo nemmeno temporaneamente, in quanto le caratteristiche anatomiche, sia della fase giovanile sia di quella adulta, non consentono loro di sopravvivere negli ambienti epigei. A questo gruppo appartengono molte specie di miriapodi, isopodi, acari, e molluschi, oltre alla maggior parte dei collemboli, i dipluri, ed i proturi. Pur avendo origini filogenetiche differenti, i taxa animali che vivono nel suolo mostrano caratteri morfologici comuni legati all'adattamento all'ambiente ipogeo.

Alcuni di questi caratteri, quali: la riduzione delle dimensioni del corpo (miniaturizzazione), la riduzione della lunghezza delle appendici (zampe, antenne ecc.) e la perdita di funzionalità degli occhi, che in alcuni casi comporta la completa scomparsa degli stessi (anoftalmia); sono diretta conseguenza dei processi di riduzione di strutture che rivestono un'importanza determinante nell'ambiente epigeo ma che nel suolo perdono la loro funzione (falsi adattamenti). Accanto a questi caratteri, negli organismi edafobi è possibile individuarne altri che sono stati sviluppati per consentire la sopravvivenza all'interno dell'ambiente ipogeo (veri adattamenti), tra cui lo sviluppo di idrorecettori e chemorecettori. Queste strutture, che sostituiscono gli occhi, in alcuni casi sono

presenti non soltanto nella regione preorale e orale, ma anche su tutto il corpo, consentendo agli organismi edafici di muoversi agevolmente nel suolo e per cercare cibo e condizioni più adatte per la sopravvivenza.

Un altro metodo di classificazione molto utilizzato per distinguere le componenti della pedofauna si basa sulla lunghezza del corpo degli organismi e prevede quattro categorie dimensionali (Wallwork, 1970, Dindal 1990):

Microfauna: organismi la cui taglia del corpo è compresa tra 20 μm e 200 μm . Solo il gruppo dei protozoi è compreso completamente all'interno di questa categoria. Si possono inoltre osservare piccoli acari, nematodi, rotiferi, tardigradi e crostacei copepodi.

Mesofauna: Organismi la cui taglia del corpo è compresa tra 200 μm e 2 mm. I microartropodi, come acari e collemboli, sono i maggiori rappresentanti di questo gruppo, che include anche nematodi, rotiferi, tardigradi, piccoli araneidi, pseudoscorpioni, opilioni, enchitreidi, larve di insetto, piccoli isopodi e miriapodi.

Macrofauna: Organismi di dimensioni comprese tra 2 mm e 20 mm. In questa categoria vengono inclusi alcuni lombrichi, gasteropodi, isopodi, miriapodi, alcuni araneidi e la maggior parte degli insetti.

Megafauna: Organismi di dimensioni maggiori di 20 mm. A questa categoria appartengono gli invertebrati di dimensioni maggiori (lombrichi, gasteropodi, miriapodi) ed i vertebrati (insettivori, piccoli roditori, rettili e anfibi).

I limiti delle varie categorie sono definiti in modo arbitrario ed in letteratura vengono proposte altre classi dimensionali (Wallwork, 1970). Come esempi si possono riportare la classificazione anglosassone e quella francese. La prima divide la fauna ipogea in:

microfauna (con lunghezza inferiore a 0,2 mm), mesofauna (tra 0,2 e 10 mm), macrofauna (maggiori di 10 mm). La classificazione francese, invece, prevede come limiti: microfauna (inferiore a 0,2 mm), mesofauna (tra 0,2 e 4 mm), macrofauna (tra 4 e 80 mm) e megafauna (maggiori di 80 mm). Altre differenze si possono riscontrare sul termine "mesofauna", a cui alcuni autori preferiscono "meiofauna".

In questo progetto di ricerca saranno analizzati artropodi edafici ascrivibili alle classi di meso e macrofauna; tali organismi sono generalmente identificati come *microartropodi*.

È possibile evidenziare anche una distribuzione verticale degli organismi edafici. Gli ecologi, infatti, riconoscono all'interno del suolo due insiemi di organismi: l'euèdaphon, che comprende gli

organismi che abitano la fascia del suolo minerale, e l'emièdaphon, nella fascia di suolo organico. A questi si aggiungono l'epièdaphon (o epigeon), costituito dagli organismi che vivono sulla superficie del suolo, e hiperèdaphon che si estende allo strato erbaceo. Il contenuto in umidità e il pH del suolo sono i maggiori responsabili della distribuzione della fauna emi- ed euedafica, anche se le caratteristiche della lettiera, la porosità del suolo, e numerosi altri fattori sono comunque importanti nel determinare la distribuzione verticale dell'edaphon. Questo tipo di classificazione "stratigrafica" è in realtà di difficile applicazione in quanto gli organismi del suolo compiono migrazioni verticali sia giornaliere, sia stagionali. Infatti molte specie, come ad esempio gli acari, i collemboli, e gli isopodi, possono spostarsi verso la superficie per tratti compresi tra alcuni millimetri e qualche centimetro. Un caso emblematico è quello dei sinfili, che possono spingersi a profondità di 40-50 cm.

2.2.1 Ecologia e habitat

Una delle principali funzioni svolte dalla pedofauna è quella di chiudere il ciclo biogenetico di molti elementi rendendoli nuovamente disponibili per i produttori primari, tanto che alcuni autori definiscono la fauna edafica come un "super organismo" che agisce sui processi fisico-chimici che si svolgono nel suolo. I vari organismi non sono in grado, agendo singolarmente, di rendere nuovamente disponibili per le piante elementi come l'azoto, il fosforo e lo zolfo, però ogni taxa esercita un'azione meccanica e chimica chiave in una parte del ciclo biogenetico di questi elementi. Nel suolo i nutrienti spesso sono presenti in forme non direttamente utilizzabili dalle piante (es. l'azoto può essere assorbito solo sotto forma di nitrati e sali d'ammonio) inoltre parte di queste sostanze viene asportata dall'acqua che percolando tende ad impoverire il substrato. Se tali perdite non fossero compensate da un continuo rinnovamento di nutrienti si osserverebbe una rapida riduzione della fertilità del terreno. Detritivori e decompositori agendo sui resti organici (foglie e rami caduti, residui animali), oltre ad ottenere nutrimento per sé, mantengono il suolo fertile e ricco di nutrienti. Il detrito organico quindi non è solo una riserva di nutrienti per le piante, ma la base di una rete trofica composta da organismi che agiscono sulle caratteristiche fisico-chimiche del suolo e sulla sua fertilità, quindi sullo sviluppo della componente vegetale. L'azione della fauna edafica nella catena del detrito permette la formazione dell'humus, la cui importanza è già stata ricordata in relazione alla capacità tampone delle variazioni del pH e per la positiva influenza sugli aggregati del

suolo (composti umo-argillosi). L'humus svolge inoltre un ruolo fondamentale nello sviluppo della comunità vegetale.

Gli organismi della meso- e macrofauna svolgono nel ciclo del detrito un'azione principalmente meccanica (frammentazione), mentre l'attività di tipo biochimico è meno evidente perché in gran parte dovuta ai batteri simbiotici presenti nel loro intestino. Ciò nonostante la frammentazione dei detriti organici aumenta il rapporto superficie/volume delle particelle, facilitando l'aggressione di queste da parte di batteri e funghi, ed accelerando di conseguenza la decomposizione e il ricircolo dei nutrienti. L'azione della pedofauna sul detrito vegetale può essere così schematizzata:

* La macrofauna, composta da diplopodi, isopodi, molluschi, lombrichi e larve di dittero, agisce negli orizzonti organici superficiali trasformando i frammenti in residui di dimensioni minori.

* La mesofauna, formata da acari, collemboli e nematodi, agisce sia sui residui di altri organismi sia direttamente su materiali di maggiori dimensioni, ad esempio perforando le foglie.

* La microfauna, costituita da acari e protozoi, svolge un'azione disgregatrice di minore entità rispetto ai gruppi precedenti, ma agisce in modo indiretto sulla decomposizione incidendo con la predazione sulle popolazioni di batteri e funghi (Zanella *et al.* 2001).

Oltre alla frammentazione, un'altra funzione di primaria importanza della pedofauna è la regolazione delle popolazioni microbiche e fungine. Infatti, gli organismi della macro e mesofauna nutrendosi ingeriscono anche una grande quantità di funghi, batteri e spore, che in parte è distrutta dagli enzimi digestivi, ma una consistente frazione riesce ad essere espulsa con le feci ancora vitale. In tal modo molti rappresentanti della macro e mesofauna, attraverso la predazione e l'ingestione, controllano la densità e l'attività della microflora, ma contemporaneamente ne favoriscono la dispersione nell'ambiente.

L'azione di scavo (bioturbazione) che alcuni taxa edafici compiono per spostarsi nel substrato favorisce la creazione di spazi all'interno del suolo incrementando la porosità dello stesso. L'aumento dei pori tra le particelle a sua volta favorisce l'attività batterica aerobia e di conseguenza la velocità di degradazione della sostanza organica. La bioturbazione ha anche effetti positivi sulla ritenzione idrica, i processi di percolazione e lo sviluppo della rizosfera. L'azione di scavo permette inoltre il rimescolamento del suolo e l'incorporazione della sostanza organica degli strati più superficiali in quelli più profondi, mentre la sostanza minerale viene portata in superficie. Questo processo è particolarmente evidente per i lombrichi anecici, che si spostano in senso verticale nel suolo raggiungendo profondità anche di alcuni metri.

Le secrezioni mucose, le feci (in particolare quelle dei lombrichi) e il corpo stesso dell'animale (al momento della morte) influenzano la concentrazione di gran parte dei nutrienti presenti nel suolo e soprattutto quelle di potassio, fosforo e azoto, riducendo il rapporto C/N della lettiera e facilitandone la decomposizione.

2.2.2 Microartropodi edafici

I microartropodi edafici, gruppo analizzato in questa tesi, includono gli artropodi che appartengono alla classe dimensionale della mesofauna. Si tratta di un insieme molto diversificato, sia ecologicamente sia morfologicamente, che non presenta alcun valore filogenetico. Tracciare le caratteristiche generali delle comunità di microartropodi edafici risulta particolarmente complesso sia per le differenze che possono osservarsi tra le specie di uno stesso gruppo sia per le conoscenze ridotte sulla ecologia di diversi taxa, quali ad esempio pauropodi e palpigradi. Di seguito sono stati citati solo alcuni gruppi noti per la loro particolare importanza nel suolo.

Come ricordato in precedenza, gli adattamenti alla vita ipogea osservabili in questi organismi (anoftalmia, tegumenti sottili, depigmentazione) li rendono particolarmente sensibili alle variazioni dei parametri ambientali, per tale motivo alcuni gruppi sono generalmente correlati a suoli stabili e protetti dagli *stress* ambientali. Tra questi taxa si devono ricordare sinfili, pauropodi e proturi, in cui tutte le specie mostrano un elevato adattamento alla vita edafica, permettendo un loro impiego come indicatori della stabilità e della qualità del suolo (Bedano *et al.* 2006, Wallwork 1970) senza la necessità di approfondire il dettaglio tassonomico.

Sebbene in alcuni casi siano state osservate elevate densità dei tre taxa sopraccitati, i microartropodi numericamente dominanti nel suolo sono acari e collemboli. Gli acari costituiscono un ordine, probabilmente polifiletico, che attualmente comprende più di 20000 specie, le quali si ipotizza rappresentino solo una parte estremamente esigua del numero reale (Dindal 1990). Gli acari utilizzano un'elevata varietà di risorse trofiche e nel suolo sono importanti sia come predatori (es. Gamasidi) sia come detritivori (es. Oribatei).

I collemboli sono insetti apterigoti di piccole dimensioni 0,5 – 5 mm, la cui densità nel suolo può raggiungere in condizioni favorevoli anche valori di 50000 individui/mq. Sono principalmente fungivori o detritivori (ma sono note anche specie batteriofaghe e predatrici) e presentano una

notevole adattabilità alle diverse risorse alimentari sia come gruppo sia a livello di singole specie. La sensibilità dei collemboli ai parametri ambientali (pH, temperatura e umidità) è molto variabile a seconda delle diverse specie. Anche all'interno dei collemboli è possibile evidenziare alcuni gruppi particolarmente sensibili agli *stress* ambientali (disseccamento, compattazione del suolo, ridotta disponibilità di nutrienti), tra cui le specie appartenenti alle famiglie Onychiuridae (*Onychiurus*, *Protaphorura*) e Tullbergiidae (*Mesaphorura*, *Paratullbergia*) (Parisi 2001). Queste mostrano evidenti adattamenti morfologici alla vita edafica (cuticola sottile, depigmentazione, anoftalmia, riduzione delle appendici) che li rendono facilmente identificabili a livello di famiglie. La presenza di tali specie indica suoli stabili e tendenzialmente con buona disponibilità di nutrienti.

La fauna del suolo è estremamente diversificata e le specie, anche all'interno di uno stesso taxon, mostrano diverse risposte alle condizioni ambientali e alla disponibilità di nutrienti (come nel caso dei coleotteri); si preferisce quindi rinviare a testi specifici per una dettagliata analisi di tali caratteristiche in relazione alla specie o al taxa osservato.

2.3 La simbiosi micorrizica

Probabilmente la colonizzazione delle terre emerse da parte delle piante non sarebbe mai avvenuta senza i funghi. Quando gli organismi vegetali iniziarono a spostarsi dagli habitat acquatici verso quelli terrestri incontrarono una serie di difficoltà, come il rifornimento di acqua limitato e la scarsità di minerali solubili, in particolare il fosforo. La selezione naturale andò a favorire quegli organismi autotrofi e fotosintetizzatori capaci di superare una serie di difficoltà tramite un processo evolutivo in grado di formare un'associazione mutualistica con i funghi, chiamato *micorrizzazione*. Sono stati trovati resti fossili che confermano l'esistenza delle micorrize già 400 milioni di anni fa, al limite tra il Siluriano e il Devoniano, quando le prime piante tentavano di affrancarsi dall'ambiente acquatico per intraprendere la via terrestre. È infatti opinione comune tra gli Autori che si occupano di studiare le micorrize, che gli antenati dei funghi micorrizici moderni abbiano contribuito sostanzialmente al processo di colonizzazione dei continenti da parte delle piante, aiutandole ad "estrarre" dal suolo poco evoluto di quei periodi geologici, i nutrienti indispensabili alla loro sopravvivenza. Le micorrize si sono evolute indipendentemente numerose volte a partire dall'invasione dei sistemi terrestri da parte delle piante.

I due simbionti mostrano adattamenti complementari alla vita terrestre: il micelio fungino è ben adattato all'esplorazione tridimensionale del substrato e alcune specie hanno un potenziale di alterazione tale da consentire alle piante l'accesso agli elementi minerali non solubili (Lapeyrie et al., 1991; Hoffland et al., 2004). I fototrofi sono ben adattati allo scambio dei gas e all'assimilazione dei fotoni della radiazione solare che consentono lo sfruttamento delle risorse atmosferiche necessarie alla sintesi dei composti di carbonio utilizzati anche dai funghi.

L'etimologia della parola micorriza deriva dal greco *mykes* = fungo e *rhiza* = radice e descrive un'associazione strutturale e funzionale fra il micelio di un fungo e la radice di una pianta, paragonabile per certi aspetti a un lichene; micorriza è anche l'organo complesso che ne risulta, ossia la radice infungata. È, perciò, localizzata nell'ambito dell'apparato radicale del simbionte vegetale (fitobionte) e si estende per mezzo delle ife (filamenti funginei) nella rizosfera e nel terreno circostante. La micorriza è interpretata come una forma di simbiosi principalmente mutualistica, per cui i due organismi portano avanti il loro ciclo vitale vivendo a stretto contatto e traendo benefici reciproci.

Alcuni esempi più conosciuti di simbiosi micorriziche si hanno fra i tartufi e le querce, i porcini e i castagni, oppure tra le orchidee e diverse specie fungine come *Rhizoctonia* spp.

Le micorrize rappresentano però il tipo di simbiosi (non solo mutualistica) di gran lunga più diffuso in natura: si stima infatti che circa il 90% degli alberi che crescono in foreste temperate partecipi a questo tipo di associazioni. Sono comunque diffuse praticamente in qualsiasi ecosistema terrestre. Ci sono solo cinque famiglie di Angiosperme che sono per la maggior parte non micorrizzate: Cruciferae (87%), Cyperaceae (74%), Juncaceae (56%), Chenopodiaceae (61%) e Caryophyllaceae (50%). Le caratteristiche del rapporto simbiotico fra fungo e pianta ospite sono ancora per diversi aspetti sconosciute, anche se numerosi studi sull'argomento sono stati effettuati negli ultimi decenni (Selosse et al., 2006).

La scoperta delle micorrize risale al 1883 ad opera del Prof. Gibelli dell'Orto Botanico di Torino, ma fu Albert Bernhard Frank, patologo forestale tedesco, che l'anno successivo coniò per la prima volta il termine *mykorrhiza* e ne descrisse la struttura ed il funzionamento essenziale del rapporto simbiotico pianta-fungo.

Il principale carattere strutturale che Frank riuscì ad osservare, fu la costante presenza di una sorta di rivestimento, o mantello, costituito da un intreccio di ife, sugli apici radicali. Frank notò inoltre che queste strutture sono sempre presenti nei sistemi radicali delle piante di ambienti naturali. In seguito furono individuati alcuni tipi di micorrize:

* Le **ectomicorrize**, in cui l'ifa fungina si intrude all'interno della radice fra una cellula e l'altra. Le ectomicorrize sono distribuite nelle regioni temperate dei due emisferi e in quelle sub-artiche. Secondo Meyer, solo circa il 3% delle fanerogame sono ectomicorriziche e sono interessate in maniera preponderante le Gimnosperme (Pinaceae principalmente) e alcune Angiosperme (Fagaceae, Betulaceae, Salicaceae). I funghi che formano ectomicorrize sono rappresentati da molti Basidiomiceti e diversi Ascomiceti. Lo sviluppo del micelio fungino avviene su piccole radici laterali che non sono soggette ad accrescimento secondario. Tale micelio cresce attorno alla radice della pianta ospite finché questa non risulti completamente avvolta da uno pseudoparenchima fungino chiamato micoclena. All'interno della radice, il micelio penetra negli spazi intercellulari del tessuto corticale e vi forma una struttura caratteristica che prende il nome di "reticolo di Hartig". Le ife rimangono comunque intercellulari senza penetrare mai all'interno delle cellule viventi ed è a livello del reticolo di Hartig che avvengono gli scambi nutrizionali tra il fungo e la pianta. Essendo la simbiosi ectomicorrizica tra tartufo e piante ospite di cruciale interesse per il lavoro di questa tesi, verrà trattata più ampiamente nel paragrafo successivo.

*Le **endomicorrize**, in cui invece l'ifa penetra all'interno della cellula radicale. Nelle endomicorrize è molto meno consistente lo sviluppo del micelio sulla superficie della radice, mentre è presente una massiccia colonizzazione dei tessuti interni di quest'ultima, con penetrazione e proliferazione del fungo simbiote all'interno delle cellule corticali. Al contrario delle ectomicorrize, esse non sono ben visibili ad occhio nudo e la loro presenza non può essere evidenziata se non con una adeguata colorazione delle radici.

Altre tipologie di micorizzazioni sono:

*Le **ectoendomicorrize**. Rappresentano un tipo di micorriza ancora assai poco conosciuto ed indagato e costituiscono una forma intermedia tra le ectomicorrize e le endomicorrize, in quanto presentano il mantello fungino esterno, il reticolo di Hartig e una frequente penetrazione intracellulare con formazione di "coils" o avvolgimenti ifali. Molti autori hanno descritto tale associazione durante i loro studi su giovani piantine di *Pinus*, *Picea* e *Larix*. Lo stesso si può dire per le ectoendomicorrize di tipo arbutoide (che interessano piante dei generi *Arbutus* e *Arctostaphylos*) e monotropoide (che interessano piante del genere *Monotropa*) dove i funghi interessati sono rappresentati dagli stessi basidiomiceti che, su altre piante, danno comunemente luogo alla ectomicorriza classica.

*Le **micorrize delle orchidee**. Si formano fra le *Orchidaceae* (piante parzialmente o interamente prive di clorofilla durante le prime fasi dello sviluppo) e vari basidiomiceti, alcuni dei quali saprofiti o parassiti altamente efficaci di altre piante, che forniscono il carbonio organico necessario allo sviluppo delle giovani piante. In molti casi però il rapporto pianta-fungo non appare propriamente mutualistico, ed è caratterizzato da una certa instabilità.

*Le **micorrize ericoidi**. Si formano tra molti membri autotrofi dell'ordine Ericales e funghi in prevalenza ascomiceti; sono caratterizzate da un'estesa colonizzazione intracellulare delle cellule epidermiche delle radici, e dall'assenza del reticolo di Hartig. Le piante di quest'ordine si sviluppano tipicamente su terreni di brughiera poveri ed acidi, nei quali la maggior parte delle sostanze nutritive si presentano in forma organica, per cui risulta evidente l'importante ruolo che assumono i simbionti fungini nel renderle disponibili alle piante.

*Le **micorrize arbutoidi**. Interessano alcune specie di piante dei generi *Arbutus* e *Arctostaphylos* (Ericaceae), ed alcune rappresentanti dell'ordine Ericales, e funghi che normalmente differenziano ectomicorrize su piante legnose di altri ordini. Il reticolo di Hartig è quasi sempre ben sviluppato e le ife intracellulari formano dense matasse.

*Le **micorrize monotropoidi**. Si formano tra le piante prive di clorofilla appartenenti alla famiglia delle Monotropaceae (ordine Ericales) e funghi che, come nel caso precedente, normalmente differenziano ectomicorrize; presentano il reticolo di Hartig e le ife intracellulari formano strutture altamente specializzate, simili ad austori, ma aventi forma a cuneo, che penetrano le cellule epidermiche e passano poi attraverso un complesso modello di sviluppo mentre la pianta si sviluppa e fiorisce. Il fungo forma ectomicorrize sulle piante autotrofe vicine, e si suppone che vi sia un trasferimento di carbonio organico da queste ultime alla monotropa per mezzo del fungo stesso. Per quanto riguarda la classificazione, una prima distinzione, che ricalca quella ormai superata tra endomicorrize ed ectomicorrize, può essere fatta fra le micorrize che coinvolgono funghi endofiti con ife non settate e le micorrize formate da funghi con ife settate appartenenti a diversi ordini di ascomiceti e basidiomiceti.

Tra i vari tipi di simbiosi micorriziche, i funghi primitivi non settati che formano le endomicorrize arbuscolari (AMs) sono largamente dominanti e sono coinvolti con circa l'80-90% dei fototrofi. La simbiosi AM è talmente diffusa che è stata suggerita come ancestrale nel regno *Plantae* (Pirozinski and Malloch, 1975; Selosse and Le Tacon, 1998; Heckman et al., 2001; Wang and Qiu, 2006).

Sono conosciute anche come micorrize vescicolari-arbuscolari (VAM) e sono caratteristiche dei membri del phylum Glomeromycota. Il principale carattere distintivo di questo gruppo risiede nella capacità, da parte dei funghi, di produrre particolari strutture, chiamate arbuscoli, all'interno delle cellule di piante compatibili. Oltre agli arbuscoli, spesso il fungo forma intracellularmente anche delle vescicole contenenti grassi e sali minerali. Dato, però, che le vescicole non sono sempre presenti, recentemente è stato proposto di indicare questo gruppo più semplicemente come micorrize arbuscolari.

Più recentemente, in alcuni gruppi di Gymnospermae e Angiospermae, sorse una simbiosi differente: l'associazione ectomicorrizica con funghi septati (ECM funghi). In questa associazione il fungo forma una guaina attorno alla radice, formando quello che è detto "reticolo di Hartig". I basidiomiceti e gli ascomiceti hanno in parte sostituito la primitiva associazione AM in numerosi alberi e alcune specie arbustive. L'evoluzione dei funghi ECM non è facilmente databile (Alexander, 2006), ma può essere ipotizzato che abbia avuto origine tra 220 e 150 milioni di anni (Selosse and Le Tacon, 1998; Alexander, 2006).

Le piante simbiotiche sono così numerose e diversificate dal punto di vista tassonomico che la classificazione spesso è difficoltosa. Bisogna inoltre considerare che il tipo di micorrizza formato può

essere influenzato dall'identità sia della pianta sia del fungo, per cui, ad esempio, uno stesso fungo può formare diversi tipi di micorrizza a seconda della pianta coinvolta. L'attuale sistematica, perciò, è basata su informazioni di tipo binomiale "specie fungina + specie vegetale", es. "*Cenococcum geophilum* + *Picea abies*" o, nel caso in cui la specie fungina non sia nota, con una nuova denominazione che ricordi la specie vegetale, es. "*Quercirhiza squamosa*" nel caso il simbionte vegetale afferisca al genere *Quercus*.

Ogni specie di albero può formare associazioni simbiotiche con diverse centinaia di specie di fungo. Mentre alcuni funghi ECM sono associati con tutti gli ospiti in grado di formare associazioni ECM, altri si limitano ad alberi di un solo genere o poche specie. Eventi di evoluzione molteplici e una lunga storia evolutiva significano che le diverse piante e funghi hanno portato e portano caratteristiche indipendenti, nella simbiosi. Questa varietà risulta in grandi varianti e differenziazioni fisiologiche. Le associazioni micorriziche sono cruciali sia per i sistemi agricoli che per le risorse naturali e per il loro mantenimento. Una singola pianta può micorrizzare con più funghi diversi e anche un singolo fungo con più piante diverse. Quindi, la complessità delle possibili combinazioni dalla simbiosi è enorme.

Alcuni Autori propongono che un aumento di ricchezza di specie fungine potrebbe migliorare il funzionamento dell'ecosistema. Altri valutano le risposte della micorizzazione come una sequenza di cambiamenti in successione, con pattern prevedibili nella sequenza dello sviluppo della comunità. Gli esperimenti condotti negli ultimi 20 anni indicano che ci sono molte relazioni e risultati alternativi, persino fra esperimenti considerati analoghi.

In natura, i funghi ECM sono essenziali alla salute e alla crescita del bosco. Essi possono dare benefici al bosco in diversi modi, anche se il più importante è il miglioramento della captazione dei nutrienti minerali, in particolare per gli elementi con una bassa mobilità nel suolo come il fosforo e i micronutrienti (Smith and Read, 2008) e anche per l'azoto (Martin, 1985; Chalot and Bran, 1998). Questi sono ricambiati dall'allocatione dei carboidrati dall'albero ai funghi attraverso l'interfaccia radicale, rendendo il rapporto un'associazione mutualistica.

2.3.1 La componente fungina ectomicorrizica

Si ritiene che i funghi capaci di formare associazioni ectomicorriziche si siano originati in occasioni diverse da una vasta gamma di funghi saprotrofici (Hibbett et al., 2000). La grande maggioranza, circa il 95%, delle specie di funghi ECM sono omobasidiomiceti; le rimanenti specie sono ascomiceti (4,8%) e qualche zigomicete, all'interno del genere *Endogone* (Molina et al., 1992). Tuttavia, uno studio di Weiss et al. (2004) dimostra che l'importanza degli etero basidiomiceti nelle Sebacinaceae come forme micorriziche è stata sottostimata. I membri di questa famiglia sono intensamente coinvolti come micobionti in ECM (Urban et al., 2003), nelle orchidee (Taylor et al., 2005) e nelle micorrize ericoidi (Allen et al., 2003). Gli studi molecolari sui simbionti micorrizici permettono di identificare una sempre più vasta gamma tassonomica di micobionti.

CARATTERI DISTINTIVI DEI FUNGHI MICORRIZICI

- Si estendono sempre all'interno di una radice e nel suolo circostante
- Come biotrofi, devono assorbire C dall'ospite
- Per mutualismo, devono fornire risorse del suolo alla pianta (infatti, dato che il suolo si impoverisce o diventa altamente organico, l'abilità delle ife esterne di assorbire e condurre acqua e nutrienti solubili, diventa estremamente importante.

La sfida interessante è riuscire a collegare la storia evolutiva e la struttura funzionale della micorriza. Se consideriamo la grande variabilità genetica e funzionale con la grande eterogeneità ambientale e la stessa connessione pianta-fungo, emerge una complessa gamma di modi in cui la micorriza può funzionare. Essa infatti diventa una rete altamente complessa di piante e funghi interagenti in mezzo ad un ambiente eterogeneo.

Quando N e P del suolo limitano la fotosintesi, C è in eccesso. Le ife del fungo esplorano (meglio della radichetta più fine) il volume di suolo più esterno alla ricerca di P e N, in cambio del C in eccesso dalla pianta. Fin quando P e N sono limitanti, le piante supporteranno i funghi micorrizici. Il C viene scambiato all'interfaccia fra radice e fungo (ifa) sottoforma di zuccheri e aminoacidi. Le micorrize, aumentando l'apporto di P e N, creano una diminuzione relativa di C e quindi inducono un aumento del processo fotosintetico. Questo è ulteriormente accresciuto dall'aumento di apporto di acqua, che favorisce l'apertura degli stomi. In campo, questo aumento di fissazione di CO₂ è associato con un cambiamento climatico, o come funzione di particolari combinazioni di specie di piante e di funghi. I funghi scambiano i nutrienti elaborati dal suolo con i carboidrati forniti dalla

pianta ospite. L'assorbimento degli elementi nutritivi nell'ospite è rafforzato sia come conseguenza della geometria fisica del micelio sia dall'abilità dei funghi di smobilizzare azoto e fosforo dai substrati organici attraverso l'azione di secreti enzimatici (Leake & Read, 1997). Nella radice, il fungo si ramifica esternamente fra le cellule formando una complessa struttura chiamata rete (o reticolo) di Hartig, che fornisce una grande superficie di contatto fra il fungo e l'ospite, permettendo un trasferimento efficiente dei metaboliti. Esternamente alla radice si viene così a formare una struttura ifale chiamata mantello oppure guaina di sviluppo.

Agerer (1987-2002) ha riconosciuto due tipi di sviluppo ifale dei mantelli ECM:

- pseudo parenchimatico, denso, con elementi ifali altamente differenziati
- plectenchimatico, con ife blandamente intrecciate tanto da risultare ancora evidente la natura lineare della struttura base.

L'organizzazione delle ife nel mantello, in particolare se osservata in pianta, viene utilizzata per caratterizzare i mantelli formati da singole specie come aiuto per l'identificazione (Agerer 1987-2002; Agerer et al., 1996-2004).

Molti funghi ECM formano mantelli idrofobici, implicando uno scambio diretto minimo di soluti (captazione o essudazione) con la soluzione del suolo.

Sembra che anche nei mantelli idrofilici (es. molte specie di *Lactarius*), vi sia uno stretto controllo sul movimento di materiale attraverso il mantello (Ashford et al., 1988). Queste caratteristiche del mantello, unitamente al fatto che la percentuale degli apici radicali colonizzati di solito è vicina al 100% (Taylor et al., 2000) significano che l'ospite è effettivamente isolato dall'ambiente del suolo.

L'isolamento ha importanti implicazioni: qualsiasi nutriente o acqua in entrata nella radice deve passare prima attraverso il mantello, così come il materiale in uscita dalla radice. I funghi micorrizici quindi occupano, e molto probabilmente controllano, l'interfaccia tra l'ambiente del suolo e la pianta ospite. Mentre i mantelli possono controllare i flussi in entrata e in uscita della radice, il micelio si estende fuori dalla superficie del mantello (il micelio extraradicale o extramatriciale) e si ritiene che esso sia il sito primario per la captazione dei nutrienti e dell'acqua. Il micelio extramatriciale prodotto dai funghi ECM varia da un piccolo numero di ife che crescono esternamente per pochi mm, ad ampi sistemi miceliari che occupano estesi volumi del suolo circostante il sito degli apici radicali.

L'importanza critica del micelio extramatriciale nella captazione dei nutrienti è stata riconsiderata negli ultimi anni (Read & Perez-Moreno, 2003) e diversi studi recenti hanno utilizzato dei marcatori

molecolari per localizzare il micelio delle specie di funghi ECM in differenti strati e substrati del suolo (Dickie et al., 2003; Guidot et al., 2003; Landeweert et al., 2003; Koide et al., 2004).

All'interno degli omobasidiomiceti la tipologia ECM è molto diffusa, con 7 dei 12 cladi recentemente riconosciuti da Larsson et al. (2004) in cui sono presenti taxa ECM. I basidiomiceti che danno luogo a funghi ECM sono molto diversi e comprendono strutture sottili come "coralli" (clavaroide), a mo' di crosta (resupinata), cantarelloide, agaricoide e boletoide. La maggior parte delle specie ECM sono euagariche, e molti dei più frequenti e famigliari sporocarpi (es *Amanita* spp.) che compaiono in foresta durante l'autunno sono sempre formati da taxa ECM. Non è strano per i generi di basidiomiceti avere uno stato trofico misto; comunemente tutte le specie con un genere "micorrizico" formano micorrize. Tuttavia, quando un genere è micorrizico non significa che i funghi possano formare solo ectomicorrize. Una singola specie di fungo può essere in grado di formare ectomicorrize e micorrize arbutoidi (Smith & Read, 1997) in differenti specie ospiti (Horton et al., 1999). Comunemente i funghi ECM possono formare anche micorrize delle orchidee e micorrize monotropoidi (*Ericaceae*). In passato il genere *Paxillus* era considerato essere un'eccezione poiché si riteneva che avesse entrambe, sia le forme ECM (*P. involutus* e *P. rubicundulus*) che le specie saprotrofiche (*P. atromentarius* e *P. panuoides*).

Con l'eccezione di alcune specie del genere *Tuber* (Murat et al., 2004) la conoscenza sull'ecologia degli ascomiceti ECM è molto limitata. Gli ultimi studi (Vralstad et al., 2000, 2002) suggeriscono che la presenza e l'importanza degli *Helotiales* come funghi ECM potrebbe essere stata sottostimata. Villareal et al. (2004) hanno dimostrato che *Hymenoscyphus ericae* era in grado di formare simultaneamente ECM con *Pinus sylvestris* e micorrize ericoidi con *Vaccinium myrtillus*. Kennedy et al. (2003) hanno da tempo realizzato che le ectomicorrize degli alberi a baldacchino e del sottobosco potrebbero essere legate da una rete micorrizica comune. Villareal et al. (2004) estendono questo concetto alle micorrize ericoidi nel sottobosco nelle foreste boreali. Alcuni gruppi o generi di funghi ECM sembrano essersi specializzati solo verso particolari tipi di vegetazione. *Cortinarius*, il genere più ricco di specie ECM, nella regione boreale è prolifico sia in termini di ricchezza in specie che di produzione di sporocarpi (Branduard, 1995), ma è generalmente assente nella regione tropicale (Peinter et al., 2003). Al contrario, i membri delle *Russulaceae* (molte specie di *Russula* e *Lactaria*), non rari nelle regioni temperate e boreali, presentano una grande e sottostimata diversità nelle regioni tropicali, dove si verificano simbiosi di tipo ECM con le piante ospiti (Sud America – Henkel et al., 2002; Africa – Buyck et al., 1996; Asia – Lee et al., 2003). Non è

chiaro perché esistano questi pattern di distribuzione, la distribuzione può riflettere la biogeografia storica dell'ospite, o dipendere dalle caratteristiche idrofobiche (*Cortinarius*) e idrofile (*Russulaceae*) del mantello in differenti condizioni edafiche (es. forma e periodicità dei flussi di nutrienti, disturbo e intensità di pascolo da parte degli erbivori). Il numero totale di funghi in grado di compiere la simbiosi ectomicorrizica non è chiaro. Una stima recente (Molina et al., 1992) suggerisce che si ci siano circa 5.500 specie. È considerata, comunque, una sottostima del numero totale di funghi ECM. Negli ultimi anni, molte esplorazioni micologiche nelle foreste tropicali (Haug et al., 2005; Buyck et al., 1996) e lo studio dei funghi ipogei associati alla vegetazione ad eucalipto in Australia (Claridge, 2002) hanno rilevato molti funghi ECM ancora non descritti. Dall'inizio degli anni '90, l'uso di marcatori molecolari, in grado di identificare i micobionti direttamente dalle ectomicorrize, ha notevolmente aumentato il numero dei taxa noti (Weiss et al., 2004). In sintesi, non è possibile ancora avere una stima accurata sulla ricchezza in specie della comunità globale dei funghi ectomicorrizici, ma si stima che ne esistano 7.000 – 10.000 specie.

2.3.2 La componente vegetale ectomicorrizica

Rispetto alla grande diversità di piante in grado di formare micorrizzazioni di tipo arbuscolare, il numero di specie ospiti che formano simbiosi ectomicorriziche è relativamente piccolo. Si stima che 8.000 specie, circa il 3%, delle piante da seme formano ectomicorrize (Meyer, 1973), pur tuttavia questa bassa percentuale di specie ospiti è di enorme importanza sia ecologica che economica, perché si tratta di componenti dominanti degli ecosistemi boschivi e forestali in gran parte della superficie terrestre. La maggior parte di piante ECM sono legnose e perenni (Fitter & Moyersoen, 1996), comunque anche alcuni carici (es. *Kobresia*) e alcune piante erbacee (es. diverse specie di *Polygonum*) sono in grado di sviluppare ectomicorrizzazioni (Massicotte et al., 1999). Si ritiene comunemente che le associazioni ectomicorriziche siano particolarmente caratteristiche di foreste boreali e di clima temperato e che la loro presenza altrove è irregolare e di poco interesse ecologico. È certamente vero che le foreste dominanti delle zone temperate e boreali sono normalmente micorriziche in condizioni naturali e che le condizioni di simbiosi ECM mostrano adattamenti particolari per l'utilizzo di nutrienti in foreste boreali e temperate (Read & Perez-Moreno, 2003), comunque anche il resto della superficie terrestre presenta una vegetazione con una forte componente ECM. Gli habitat artici e alpini dell'emisfero settentrionale sono caratterizzati

da comunità di arbusti nani di specie appartenenti ai generi *Dryas* e *Salix*: queste sono piante ECM che sostengono una ricca comunità di micobionti.

Allo stesso modo, gli ecosistemi della regione Mediterranea e della California, specialmente negli inverni umidi, hanno una forte componente di piante ospiti in grado di formare sia la micorrizzazione arbuscolare che la ECM (*Pinus*, *Cistus*, *Arbutus*, *Arctostaphylos*).

Tuttavia, è ai tropici che il caso e l'importanza delle specie ospiti ECM è stato molto sottostimato.

2.3.3 Aspetti nutrizionali

Gli scambi nutrizionali consistono sostanzialmente nel movimento di carbonio organico dalla pianta verso il fungo e, nel senso opposto, di sostanze nutritive (come P, N, Zn e Cu), in forma organica ed inorganica, verso la pianta.

La funzionalità dei sistemi micorrizici dipende dunque:

- dal trasferimento di C organico derivato dalla fotosintesi dalla pianta alle varie strutture fungine (micelio, spore e corpi fruttiferi in via di sviluppo);
- dalla capacità dei simbionti fungini di captare le sostanze nutrienti disponibili in forma inorganica e/o organica nel terreno e di cederle alla pianta attraverso una o più interfacce simbiotiche.

Il micelio che si diparte dalle radici colonizzate svolge un ruolo chiave nell'assorbimento dell'acqua e delle sostanze nutrienti da parte delle piante, proliferando in particolare nelle zone più ricche di sostanze e competendo efficacemente con altri microrganismi del terreno. La continua ricerca dei nutrienti da parte del fungo porta sostanzialmente ad un aumento della superficie complessiva del sistema radicale della pianta e del volume di suolo esplorato, fatto che porta ad un generale aumento della competitività di queste piante nei sistemi naturali.

Le ectomicorrize sono in grado di "collegare" fra di loro alberi vicini, anche appartenenti a specie diverse, creando delle vere e proprie reti, grazie alle quali è possibile un flusso di nutrienti e prodotti della fotosintesi da una pianta all'altra. Il ruolo ecologico di queste reti è sicuramente fondamentale e si stanno indagando ancora diversi aspetti. Oltre al trasporto di nutrienti ed acqua da un vegetale all'altro (a volte a favore di uno solo dei due) sono dimostrati effetti positivi per le piante, soprattutto per quanto riguarda la colonizzazione di terreni e il grado di evoluzione delle foreste (Domínguez Nùñez J. A. et al., 2006).

Tuttavia per le piante vi è un costo, rappresentato dalla sottrazione di una certa quantità di carbonio fotosintetizzato. Le piante micorriziche avranno dunque, dal punto di vista selettivo, un

vantaggio nei confronti delle piante non micorriziche, se il costo (in termini di C) per unità di nutriente minerale acquisito non è troppo elevato. C'è da considerare che in natura viene quasi sempre raggiunto in modo spontaneo un punto di equilibrio atto a garantire un vantaggio selettivo per entrambi i simbionti, in caso contrario non si potrebbe parlare di simbiosi mutualistica.

È da rilevare, infine, che in certe situazioni le piante non rispondono alla colonizzazione tramite aumento dello sviluppo o miglioramento dello stato nutrizionale (come avviene nella maggior parte dei casi), ma con la variazione di altri parametri legati più in generale alla fitness. In questi casi vi possono quindi essere altre, meno evidenti, basi per il beneficio, quali ad esempio il controllo degli agenti patogeni e la sottrazione di metalli tossici dal suolo.

2.3.4 Le difese chimiche e fisiche dei funghi ECM

La testimonianza fossile più antica di strutture ECM risale a circa 50 milioni di anni fa (Le Page et al., 1997), ma i dati molecolari indicano che l'origine possa essere avvenuta molto prima: a circa 180 milioni di anni fa (Berbee & Taylor, 2001). Nonostante siano così antiche, le strutture ectomicorriziche si evolsero in suoli dove erano già presenti diverse comunità di acari del suolo (Walter & Proctor, 1999); almeno 11 specie di acari sono presenti nel deposito di Rhynie Chert, che risale a 380-400 milioni di anni fa (Shear & Kukalova-Peck, 1990). Alcuni moderni discendenti di questi acari primitivi sono fungivori e sembra possibile che i fungivori siano stati la maggiore pressione selettiva che abbia portato all'evoluzione di ECM. A differenza delle micorrize arbuscolari, dove le strutture essenziali del fungo sono protette all'interno della radice, ed è comune e diffusa la rimarginazione in seguito a danni riportati alla struttura ifale (Giovannetti et al., 1999), nella simbiosi ECM il mantello è esposto fuori dalla superficie radicale e la rimarginazione ifale non è mai stata riscontrata. Il mantello, che può avere uno spessore di 20-60 μm , è un sito di immagazzinamento per i nutrienti del fungo acquisiti dal suolo (Smith & Read, 1997). Le concentrazioni di N e P nei tessuti fungini sono da 4 a 5 volte più alti rispetto alle riserve delle piante (Vogt et al., 1981). Dato il carattere diffuso della maggior parte dei miceli nel suolo, il mantello rappresenta, per un fungivoro, una piccola patch di risorse di alta qualità. Inoltre, in relazione al resto del micelio, il mantello è una struttura relativamente longeva. È stato stimato che le singole estremità delle micorrize possono vivere per un tempo che va da pochi mesi a due anni (Downes et al., 1992). Non ci sono dati statisticamente significativi per il turnover dei miceli ECM, ma viene

generalmente considerato essere più veloce di quello che riguarda i tempi di rinnovo delle estremità micorriziche.

Queste sono le cellule differenziate del mantello ifale che, particolarmente quando le micorrize si sono formate da poco tempo, possono coprire l'intera superficie del mantello. È possibile distinguere due tipi di cellule in base al modo in cui possono agire per la difesa. Pareti spesse, strutture a punta (come spine), possono formare una barriera fisica contro i fungivori. Non vi è valutazione diretta dei potenziali effetti sul "pascolo" dovuti alle pareti spesse e alle altre strutture che molti funghi ECM producono sui loro mantelli, ma si è tentati a pensare che essi hanno un ruolo da svolgere nella difesa del mantello.

Sono disponibili, invece, più informazioni in merito alle pareti sottili e alle cellule "gonfie" chiamate cistidi, che formano anch'esse la superficie del mantello. Sono cellule specializzate che fungono da riserve di deterrenti chimici. Quest'ultimo gruppo di cellule è particolarmente presente nei mantelli che formano i membri delle *Russulaceae* (Agerer, 1987-2002; Eberhardt, 2002). Anche in assenza di cellule specializzate, i deterrenti chimici sono ancora presenti all'interno di alcune cellule superficiali del mantello o di canali ifali conduttori di sostanze che si ramificano lungo tutto il tessuto dello stesso.

Le cellule, che siano specializzate o meno, contengono un precursore biologico (in letteratura anglosassone è chiamato "stearoylvelutinal") il quale, se le cellule vengono lesionate, è convertito in pochi secondi in un forte antibiotico sesquiterpenoide dialdeide (Mier et al., 1996). È stato dimostrato che queste sostanze sono attive inibendo l'attività alimentare degli artropodi (Mier et al., 1996; Stadler and Sterner, 1998). Il rilascio di questi composti si può vedere a larga scala quando gli sporocarpi di *Lactarius* rilasciano il cosiddetto "latte" come risposta difensiva agli attacchi degli artropodi. Infatti, la stessa reazione di rilascio della sostanza può essere vista nei mantelli e nelle rizomorfe delle micorrize di *Lactarius*.

La presenza e la morfologia dei cistidi e delle sete sulla superficie dello sporocarpo è stata ampiamente utilizzata nella tassonomia dei funghi (Largent et al., 1977).

Mentre può essere conferito a queste strutture un ruolo di difesa per l'imenoforo in via di sviluppo, la rada presenza nel cappuccio cuticolare è più complicata da spiegare. Le piccole strutture di un fungo ECM (mantelli, rizomorfe, ife e primordi degli sporocarpi) sono tutte soggette alla pressione alimentare esercitata dai microartropodi del suolo. Tuttavia, una volta che gli sporocarpi si sono espansi, i gasteropodi (Richter, 1980) e alcuni vertebrati (Avila et al., 1999) diventano i maggiori

consumatori. È improbabile che i meccanismi fisici di difesa possano avere effetti su questi grandi fungivori. La presenza di cistidi su grandi sporocarpi può essere una conseguenza della necessità di protezione a piccola scala.

Molte specie ECM producono anche ife ornamentali rivestite da cristalli di ossalato di calcio o altri composti cristallini, che possono costituire una difesa dagli erbivori (Brand, 1991). Il fungo ECM *Piloderma fallax (croceum)* produce tappeti di micelio di un colore giallo brillante nelle foreste boreali. Ci sono due fattori che contribuiscono all'abbondanza di questo fungo. Primo, il colore giallo brillante rende evidente il micelio e secondo, il micelio sembra persistere anche dopo che è morto. Una spiegazione per questa persistenza anche dopo morto è che le ife di *P. fallax* sono rivestite con numerosi cristalli. Sembra che alcuni organismi del suolo trovino il micelio di *P. fallax* appetibile. È anche comune trovare estremità micorriziche formate da *P. fallax* che superficialmente sembrano vitali ma dopo un'ispezione rivelano che la radice avvolta dal mantello è morente e in via di decomposizione. Questa è una caratteristica comune anche ad un altro fungo ECM, *Cenococcum geophilum*, che forma mantelli scuri, fortemente melanici, tanto da risultare inappetibili ai fungivori.

2.3.5 Cenni sui ruoli delle micorrize nell'ecosistema

L'importanza delle micorrize non si riduce soltanto all'assorbimento di acqua e nutrienti dal terreno. Come detto in precedenza, le ectomicorrize sono in grado di "collegare" fra di loro alberi vicini, anche appartenenti a specie diverse, creando delle vere e proprie reti, grazie alle quali è possibile un flusso di nutrienti e prodotti della fotosintesi da una pianta all'altra.

Inoltre, le piante micorrizzate si presentano spesso più competitive e più tolleranti nei confronti degli stress ambientali rispetto alle piante non micorrizzate, anche per ragioni legate a:

- acquisizione di nutrienti presenti in forme normalmente non disponibili per le piante (ad esempio N nei composti organici);
- capacità di abbattere la presenza di composti fenolici e metalli pesanti nel suolo;
- protezione dagli stress idrici;
- protezione nei confronti di funghi parassiti e nematodi;
- benefici non nutrizionali dovuti, per esempio, alla produzione di fitormoni;
- accumulo di nutrienti;

- costituzione di reti nutrizionali;
- supporto per i semenzali fornito dalle reti di ife nel terreno;
- trasferimento di nutrienti dalle piante ormai morte a quelle vive.

A livello di ecosistema, tutto questo si traduce in un'importante influenza:

- sui cicli dei nutrienti;
- sulle popolazioni microbiche della rizosfera, tramite modifiche qualitative e quantitative degli essudati radicali;
- su un miglioramento generale della struttura del suolo;
- sulle successioni primarie e secondarie della vegetazione

Allo stato attuale delle conoscenze, è noto che la simbiosi micorrizica è diffusa in molti ecosistemi. Si conosce anche molto circa la tassonomia e la biologia generale degli organismi coinvolti; mentre la diversità dei funghi ECM è impressionante, è importante saper collocare questa ricchezza di specie in un contesto più ampio e in relazione all'incredibile numero di altri organismi che popolano il suolo.

Molti di questi influenzano i funghi ECM direttamente (es. pressione alimentare esercitata dai microartropodi o altri fungivori) o indirettamente (es. competizione per i nutrienti con altri organismi). Ancora molto rimane da indagare sulle interazioni tra i funghi ECM e gli altri organismi del suolo, specialmente sugli effetti primari e secondari (includendo anche gli effetti a cascata) che vanno poi a definire i percorsi della materia e i flussi energetici delle reti trofiche e che, infine, per chiudere il cerchio, determinano il successo dei funghi ECM e delle piante ospiti.

Una caratteristica impressionante delle comunità ECM è la loro diversità tassonomica e funzionale. La ragione principale per cui viene mantenuta una tale diversità sta nel fatto che il suolo è un habitat molto eterogeneo, composto di piccole differenti nicchie ecologiche che si modificano continuamente. Quindi, le interazioni competitive in una singola nicchia non durano mai abbastanza per escludere drasticamente alcuni competitori dalla possibilità di instaurare una simbiosi. La principale conseguenza funzionale di questa diversità è positiva in termini di stabilità dell'ecosistema. Dato che ogni singolo albero in una foresta è associato con molti differenti funghi che costituiscono la comunità ECM, la complementarità funzionale dei simbionti è la chiave per spiegare la flessibilità e la resilienza dei sistemi forestali nell'adattarsi a condizioni avverse. La sfida delle successive ricerche nel settore sarà quella di descrivere e capire in che modo la diversità

funzionale delle comunità ECM sia influenzata dalle condizioni ambientali locali, a come risponde ai disturbi ambientali di breve periodo e a quelli antropici (Courty et al., 2010).

2.3.6 Rapporti fra micorrize e componente vegetale

La simbiosi micorrizica ha effetti sulla componente vegetale dell'ecosistema di cui fa parte, sia per quanto riguarda la pianta ospite che per le altre piante arbustive ed erbacee. Centinaia di milioni di anni di coevoluzione hanno portato pianta ospite e componente fungina ad evolversi a tal punto da adattare reciprocamente il loro metabolismo per sopravvivere nell'ecosistema. L'estensione di tutte le possibili implicazioni di questa coevoluzione è ancora una questione aperta, da indagare per diversi aspetti. Futuri studi sono necessari per confermare pienamente la natura e l'estensione degli effetti reciproci della simbiosi fra piante ospiti e micorrize (Smith, 2009).

Le principali interazioni fra la pianta e la componente fungina possono essere schematizzate nei seguenti punti:

- * Il complesso radice-fungo (la radice micorrizzata) consente un'amplificazione della superficie radicale di circa 600 volte superiore a quella della singola radice; di conseguenza, la superficie di scambio suolo-radice risulta enormemente aumentata (1000 metri di micelio per ogni metro di radice) (Plassard et al., 2000). Le micorrize offrono dunque un aumento della capacità di esplorazione del suolo circostante arrivando anche in zone altrimenti inaccessibili alle radici delle piante non micorrizzate (Garbaye et al., 1994).

- * Come diretta conseguenza dell'amplificazione della superficie radicale, le micorrize garantiscono un'elevata capacità di resistenza agli stress idrici. Le ife fungine permettono di mantenere il contatto suolo-radice anche in condizioni di estrema siccità e, grazie alle micorrize, le piante possono estrarre acqua dal suolo anche in condizioni di basso gradiente, altrimenti proibitive per la singola radice (Brown, 1990).

- * I funghi micorrizati agiscono da intermediari sulla nutrizione minerale delle piante, secernendo nel terreno protoni ed enzimi con proprietà destrutturanti, ossia capaci di convertire gli elementi minerali dalla forma insolubile a quella solubile. Di conseguenza, le micorrize sono strutture privilegiate per l'assorbimento e l'accumulo del fosforo. Negli ecosistemi mediterranei, i suoli forestali sono generalmente poveri in fosforo, di conseguenza la micorrizzazione delle piante ospiti, può portare un significativo miglioramento nell'adattamento della pianta durante il primo anno di

messa a dimora (Dominguez Nùñez et al., 2006). I funghi micorrizati permettono inoltre alla pianta di utilizzare l'azoto inorganico (principalmente sottoforma di ione ammonio) e l'azoto organico (Dominguez Nùñez et al., 2006) risorse altrimenti non utilizzabili dai vegetali superiori. Questi autori hanno inoltre dimostrato un aumento di capacità di assorbimento di magnesio nelle piante ospiti sottoposte a stress idrici. Di conseguenza, la pianta che ha ottenuto un miglioramento nello stato di nutrizione regolerà l'entità della micorrizzazione, diminuendola in questo caso, con un meccanismo di feed-back (Smith, 2009). Queste nuove possibilità di utilizzazione degli elementi minerali garantiscono alle piante micorrizzate nuove capacità di adattamento alle situazioni ecologiche più varie.

*L'efficienza e la capacità fotosintetica sono l'elemento determinante per la crescita vegetale e quindi, in ultima analisi, per la produzione. A sua volta l'efficienza fotosintetica dipende da molti fattori tra i quali rilevanti sono la disponibilità di nutrienti nel suolo, oltre ovviamente alle condizioni climatiche e alla presenza di patogeni. Le micorrize di per sé non hanno un ruolo diretto sull'efficienza fotosintetica ma, essendo in grado di influenzare positivamente lo stato nutrizionale della pianta, sono in grado di agire sulla capacità fotosintetica. Dominguez Nùñez et al. (2006) hanno inoltre dimostrato che le piante micorrizzate mostrano maggiori dimensioni riferite al diametro basale del tronco e alla crescita in altezza dell'intero individuo.

*La letteratura scientifica afferma che i funghi micorrizici possono ridurre gli effetti e le malattie causati da patogeni fungini, alterando la fisiologia dell'ospite e rendendo le radici più resistenti ai patogeni stessi.

Nonostante la comprensione delle interazioni esistenti tra i funghi micorrizici e i funghi fitopatogeni sia ancora incompleta (è ancora oggetto di discussione, infatti, come i funghi micorrizici possano interagire con i funghi patogeni per riuscire a ridurre la malattia della pianta ospite), il risultato è comunque di notevole rilevanza: le piante micorrizzate paiono essere meno sensibili alle malattie fungine.

La componente arbustiva facente parte degli ecosistemi di bosco misto (es. *Cornus* sp., *Sambucus nigra*, *Juniperus* sp., *Crataegus monogyna*, *Rubus caesius*, *Rosa canina*), anche se spesso non contrae simbiosi ectomicorrizica, partecipa attivamente al mantenimento delle condizioni migliori per il sostegno dei delicati equilibri di simbiosi. L'attività coadiuvante nei confronti della pianta ospite si esplica principalmente a livello del suolo. Queste piante sono indicate con l'appellativo di "comari" e svolgono essenzialmente funzioni di difesa dell'apparato radicale periferico delle piante

simbionti e del corpo del micelio fungino, mantenendo più a lungo l'umidità dello strato superficiale del terreno e riparandolo dagli sbalzi termici. La componente arbustiva dell'ecosistema supporta le piante simbionti soprattutto nel favorirne lo sviluppo delle radici e del micelio, a volte creando spazi ed anfratti nel sottosuolo dove anche il carpoforo del fungo riesce meglio a svilupparsi e a maturare. Come menzionato nel precedente capitolo, poche piante a portamento erbaceo contraggono associazioni simbiotiche di tipo ectomicorrizico. In alcuni casi, come nella simbiosi ectomicorrizica di piante arboree con ascomiceti del genere *Tuber*, le piante erbacee vengono contrastate dal fungo in quanto competitori della pianta ospite per le risorse nutritive. L'effetto deterrente del fungo sulla componente erbacea in questo caso si esplica nella formazione del pianello, una struttura circolare quasi completamente priva di copertura erbacea che si origina nell'area attorno alla pianta ospite, a causa dell'azione del micelio fungino. Data l'importanza che questo fenomeno riveste nella presente ricerca, è dedicato un paragrafo a parte sull'argomento.

2.3.7 Rapporti fra micorrize e componente microbiologica del suolo

Il particolare habitat degli ascomiceti che formano micorrize, il suolo, costituisce una riserva naturale per importanti comunità microbiche. La componente microbiologica del suolo potrebbe avere un sostanziale impatto nella colonizzazione delle radici delle piante da parte dei funghi micorrizici e può altresì alterare gli effetti che hanno i funghi sulla crescita della pianta stessa (Piculell, 2008). Possono essere presenti batteri nel suolo che favoriscono l'instaurarsi della micorrizzazione e che sono importanti per il successo dell'interazione fra fungo e pianta. Alternativamente, i batteri presenti nella rizosfera possono agire per diminuire i benefici del fungo sulla crescita della pianta ospite. Piculell et al. (2008) hanno dimostrato sperimentalmente che la presenza/assenza di una comunità microbica aggiunta come filtrato al suolo di coltura sembra non alterare il comportamento del fungo micorrizico. Questo risultato è in contraddizione con quanto rilevato da tutti gli studi precedenti, dai quali risulta che la comunità microbica è il fondamentale terzo membro della simbiosi micorrizica. La discordanza di risultati può essere dovuta ai diversi tipi di simbiosi considerati nell'esperimento, fra i tanti esistenti in natura, e ulteriori indagini devono essere effettuate in futuro per chiarire la natura degli effetti delle interazioni fra comunità microbica e fungo simbiote (Piculell, 2008). Nello studio condotto, inoltre, l'inoculo del filtrato microbico provoca un cospicuo allungamento delle radici delle piante non micorrizzate di controllo,

rispetto al contingente di piante micorrizzate. Questo risultato potrebbe indicare che, in aggiunta di filtrato, le piante generalmente subiscono un ridotto accesso ai nutrienti presenti nel suolo e in assenza di micorrizzazione rispondono quindi con un aumento di estensione delle radici.

I risultati ottenuti da una ricerca che riguarda le micorrize arbuscolari, condotto da Hodge et al. (2000), mostrano che la comunità microbiologica del suolo è in grado di influenzare la crescita del fungo e lo stabilirsi del rapporto simbiotico con la pianta ospite in maniera positiva, negativa e neutra, confermando la complessità dell'ambiente suolo nel suo insieme. In particolare, gli effetti negativi sul fungo comprendono la riduzione del numero di spore germinanti, della lunghezza delle ife, dell'estensione di colonizzazione della radice della pianta ospite e una sensibile diminuzione dell'attività metabolica dell'intero micelio. Gli effetti positivi indotti dalla componente microbica (in particolar modo nel caso di presenza di rizobatteri promotori, es. *Rhizobium* sp.) si esplicano in una maggior crescita del micelio fungino e un aumento della capacità iniziale del fungo di colonizzare le radici della pianta, contribuendo quindi a migliorare lo sviluppo e il funzionamento della simbiosi micorrizica. I recenti progressi nelle tecniche di indagine biochimica e microbiologica potrebbero fornire utili strumenti per chiarire la natura delle interazioni fra funghi micorrizici e microrganismi del suolo. Una volta instaurata l'associazione micorrizica, il rilascio di essudati radicali della pianta può essere modificato dalla presenza del fungo, che agisce principalmente come considerevole assimilatore di carbonio dalla fotoassimilazione e dalla stessa essudazione radicale. Questo comportamento può modificare la qualità e la quantità degli essudati rilasciati nella micorrizosfera, che si traduce generalmente in una diminuzione dei composti emessi, anche se con una consistenza non rilevante. Analogamente risulta inconsistente l'effetto sulla comunità micorrizosferica, a livello di densità. I gruppi funzionali e tassonomici degli individui componenti la comunità microbiologica variano sensibilmente in base al tipo di fungo considerato nella simbiosi micorrizica. Questo risultato implicherebbe che l'iposfera (porzione di suolo occupata dal micelio) delle differenti specie fungine influenzi alcuni gruppi di microrganismi. L'entità dell'estensione del micelio sembra non influenzare la conta totale di gruppi microbici, la quale risulta maggiormente risentire della percentuale di fosforo presente nel suolo.

I diversi effetti riscontrati nell'interazione fra micorrizza e comunità microbiologica del suolo sono dovuti a molteplici fattori, tra cui il tipo di fungo coinvolto e alcuni parametri caratterizzanti il suolo, come la quantità di micronutrienti disponibili (Hodge, 2000).

2.3.8 Rapporti fra micorrize, fauna del suolo e mammiferi

I miceli e i corpi fruttiferi dei funghi ipogei, così come le loro spore, sono fonte di cibo per la fauna edafica (es. collemboli e anellidi) e per i mammiferi. La fauna edafica contribuisce a creare una struttura del suolo adatta allo sviluppo del micelio fungino ipogeo. In particolare, l'azione degli animali è essenziale per l'aerazione del terreno, costituendo pori e cavità mediante fenomeni di bioturbazione e per il controllo della densità microbica. Cromack et al. (1988) indagarono la componente a microartropodi in prossimità dei tappeti di ife fungine costituiti da basidiomiceti ectomicorrizici della specie *Hysterangium setchellii*, rilevando un aumento significativo delle densità di collemboli, acari e nematodi in prossimità delle ife fungine, anche se non è stata osservata l'esistenza di particolari associazioni fra gruppi di ife fungine e gruppi di microartropodi, i quali possono migrare liberamente dalle zone a maggior presenza di ife verso quelle a minore presenza. Invertebrati come miriapodi e anellidi possono altresì utilizzare le ife fungine come risorse alimentari (Cromack et al., 1988). Acari e collemboli, i gruppi maggiormente rappresentati nella mesofauna edafica si cibano frequentemente di ife. Nel contenuto intestinale di collemboli appartenenti alla specie *Folsomia candida* è stata documentata la presenza di spore e di ife miceliari appartenenti soprattutto a funghi che contraggono simbiosi micorrizica arbuscolare (es. *Acaulospora spinosa*, *Scutellospora calospora* e *Gigaspora gigantea*), sebbene non siano le risorse trofiche che questi animali preferiscono. Hodge (2000) ha dimostrato che, in condizioni controllate e in presenza di altre fonti di cibo (ife conidiofore di diverse specie fungine), gli individui di *Folsomia candida* si alimentano preferenzialmente di queste ultime. L'effetto del consumo del micelio da parte di organismi della pedofauna come collemboli e anellidi porta conseguenze positive, quali la dispersione delle spore indigerite (Hodge, 2000). L'azione dei collemboli potrebbe comunque ridurre l'efficienza della simbiosi micorrizica in modo indiretto, per esempio troncando e lacerando le ife micorriziche della radice della pianta, durante il consumo di altre specie fungine. La ricerca effettuata da Schreiner et al. (2003) dimostrò che i collemboli del genere *Isotoma* in condizioni sperimentali controllate preferiscono nutrirsi su un substrato di radici micorrizzate rispetto a quello fornito da radici non micorrizzate. Comunque, quando in aggiunta vengono loro somministrati residui vegetali come ulteriore fonte di cibo, i collemboli preferiscono questi ultimi (Klironomos et al., 1998). Risulta quindi un effetto inibente da parte dei collemboli sulla crescita della pianta micorrizzata solo quando le altre fonti alimentari fungine e vegetali diverse dal micelio micorrizico sono limitate. La densità dei collemboli può agire come regolatore dell'efficienza della simbiosi, in

quanto basse densità di individui possono favorire la formazione di micorrize e di conseguenza un aumento di uptake di nutrienti per la pianta, oppure rilasciando sostanze nutritive derivate dalle loro attività alimentari. Alte densità di collemboli possono ridurre gli effetti positivi della micorrizzazione sulla pianta ospite attraverso il consumo del micelio fungino. Una proliferazione di collemboli nel suolo può quindi inficiare la crescita della pianta ospite principalmente riducendo l'uptake di micronutrienti, a causa del consumo di ife fungine, in assenza o in condizioni di limitazione di altre fonti alimentari alternative (Schreiner et al., 2003). Diverse specie di funghi ipogei micorrizici hanno evoluto sistemi difensivi, come la presenza di cristalli minerali sulla superficie ifale e la produzione di sostanze tossiche o inappetibili, derivate dal metabolismo secondario. La presenza di queste difese meccaniche e chimiche potrebbe contribuire a spiegare la preferenza alimentare dei collemboli verso altre specie fungine. In condizioni sperimentali gli individui di *Folsomia candida* hanno dimostrato una netta preferenza per funghi senza sistemi difensivi, successivamente per funghi contenenti cristalli ifali e solo per ultimi quelli contenenti metaboliti tossici o inappetibili, confermando l'efficienza della natura difensiva delle strategie meccaniche e chimiche (Bollmann et al., 2010).

La complessità ecologica della simbiosi micorrizica ha portato a supporre l'esistenza di effetti coinvolgenti diversi livelli trofici all'interno della comunità. Hempel et al. (2009) effettuarono uno studio sperimentale da cui risulta che l'influenza della simbiosi si estende nella catena trofica dal grado occupato dalla pianta ospite a quello dell'afide parassita delle piante *Rhopalosiphum padi*, estendendo gli effetti fino al livello della vespa *Aphidius rhopalosiphi*. I risultati di questo studio mostrano che tre livelli trofici interagenti sono significativamente influenzati dalla presenza di simbiosi micorrizica. Effetti a cascata della micorriza influenzano pianta, afidi e vespe parassite degli afidi con effetti positivi sulla pianta ospite e sulle vespe, negativi sugli afidi. Ulteriori studi dovranno essere effettuati per fornire spiegazioni sui differenti effetti riscontrati (Hempel et al., 2009).

Molti funghi ectomicorrizici producono corpi fruttiferi sotterranei (es, gen. *Tuber*) e si affidano agli animali per la dispersione delle spore. I mammiferi possono giocare un ruolo importante nel mantenimento delle simbiosi micorriziche e nel garantire un buon grado di biodiversità fungina all'interno degli ecosistemi forestali. Dato il ruolo fondamentale della componente simbiotica fungina nel garantire un adeguato livello di nutrizione della pianta ospite e indirettamente nel contribuire a determinare la struttura della comunità vegetale, il significato ecologico dei mammiferi micofagi può essere esteso alla produttività e alla diversificazione di queste comunità.

Questi animali disperdono le spore dei funghi ipogei essenzialmente in due modi: le spore possono essere liberate nell'aria quando i corpi fruttiferi sono dissotterrati e aperti dall'animale, oppure le spore ingerite quando gli ascocarpi vengono mangiati possono tornare al suolo come contenuto fecale. Le spore fungine sono in grado di germinare comunque anche senza subire ingestione da parte di mammiferi, ma quelle contenute nelle feci sembrano essere maggiormente favorite nello sviluppo in micelio.

2.3.9 Genere *Tuber*. Cenni sull'ecologia del tartufo

Al genere *Tuber* appartengono diverse specie di funghi ipogei comunemente chiamati tartufi.

Classificazione tassonomica:

Dominio: *Eukaryota*

Regno: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Classe: *Ascomycetes*

Sottoclasse: *Pezizomycetidae*

Ordine: *Pezizales*

Famiglia: *Tuberaceae*

Genere: *Tuber*

Quelli che nel linguaggio corrente vengono chiamati tartufi sono i corpi fruttiferi di funghi ipogei che vivono e si sviluppano sottoterra in simbiosi mutualistica con l'apparato radicale di alcune piante arboree.

I tartufi sono noti soprattutto per le loro ottime qualità organolettiche, tra le quali la più importante è sicuramente il profumo, che è diverso per intensità e fragranza nelle varie specie. Le caratteristiche del corpo fruttifero variano a seconda delle specie di tartufo, del tipo di pianta simbionte e dell'ambiente nel quale si accresce.

Il corpo fruttifero, detto carpoforo, a piena maturità ha un aspetto globoso, spesso sferoidale, con dimensioni variabili da quelle di una nocciola a quelle di un'arancia. Lo strato esterno è costituito da un rivestimento chiamato peridio che può essere bianco, giallo, rossastro, bruno o nero. La sua superficie è liscia (tartufo bianco pregiato o *Tuber magnatum* Pico), o più o meno verrucosa (tartufo nero pregiato o *Tuber melanosporum* Vitt. e scorzone o *Tuber aestivum* Vitt.).

Le caratteristiche del peridio sono variabili anche all'interno della stessa specie, per esempio il tartufo bianco cresciuto in ambienti acquitrinosi presenta un peridio con maculature esterne di colore ruggine, se cresce negli incolti assolati con folta copertura erbacea il suo colore è giallastro.

L'interno del tartufo, detto gleba, ha il caratteristico aspetto marmorizzato dovuto a venature chiare che racchiudono aree più scure: le prime rappresentano la parte sterile, mentre le seconde quella fertile.

Il colore della gleba è variabile in relazione alle diverse specie ed al grado di maturazione e costituisce così un carattere diagnostico solo nel caso di corpi fruttiferi maturi. Spesso il suo colore cambia anche all'interno della stessa specie e questo può dipendere dal tipo di pianta con cui il fungo vive in simbiosi e dai sali minerali contenuti nel terreno. Per esempio, la gleba del tartufo bianco pregiato è quasi bianca, se questo vive in simbiosi con il salice bianco o il pioppo, è di colore nocciola scuro se vive in simbiosi con la quercia ed è maculata di rosso se vive in simbiosi con il tiglio. A questa gamma di colori si contrappone la tonalità unica del tartufo nero pregiato, la cui gleba, nella fase di piena maturazione, assume il caratteristico colore nero-violaceo.

All'interno delle zone scure della gleba si trovano gli aschi, strutture microscopiche di forma globosa, dove si formano le spore, più propriamente chiamate ascospore, che sono gli organi per la riproduzione sessuata del fungo. Queste hanno dimensioni misurabili in millesimi di millimetro e forma variabile a seconda della specie. Sono rivestite da un involucro molto resistente, munito di aculei (tartufo nero pregiato) o di alveoli più o meno regolari (tartufo bianco pregiato), di aspetto traslucido oppure bruno più o meno intenso. La lunghezza degli aculei, la loro forma, la geometria degli alveoli e la loro disposizione più o meno regolare, nonché le dimensioni, la forma e il colore delle spore sono caratteri diagnostici di sicuro affidamento, anche se sono presenti solo a piena maturazione.

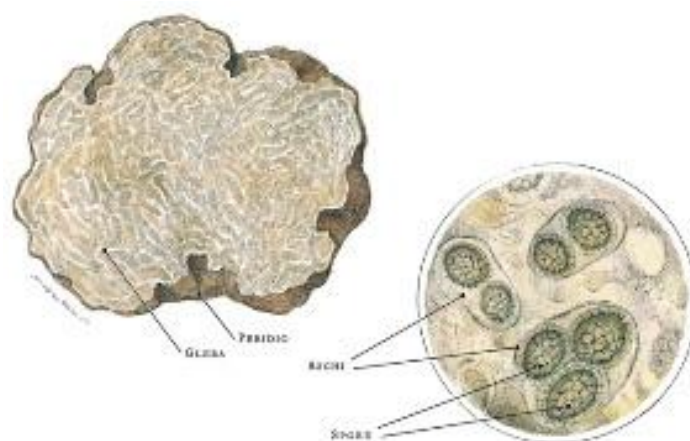


Fig. 1 - Corpo fruttifero di tartufo in sezione, www.tuber.it

Il ciclo biologico del tartufo

Il ciclo biologico del tartufo non è ancora del tutto conosciuto. Lo sviluppo sotterraneo non consente, infatti, di seguire con sicurezza le varie fasi di sviluppo. Gli unici studi in questo senso sono stati realizzati per il tartufo nero pregiato (*Tuber melanosporum* Vitt.) e da essi si può desumere uno schema generale valido anche per le altre specie.

Durante il ciclo biologico del *Tuber* si possono distinguere tre fasi principali:

1. fase vegetativa;
2. fase simbiotica;
3. fase di fruttificazione.

Per la descrizione della fase vegetativa si ritiene opportuno partire dal carpoforo, che come si è già detto rappresenta il corpo riproduttivo del fungo in quanto contiene le ascospore, cioè gli organi preposti alla diffusione della specie. Il carpoforo maturo, contenente un elevatissimo numero di spore, se non viene raccolto, rimane nel terreno e si decompone naturalmente per fenomeni di marcescenza o viene mangiato dagli animali (roditori, insetti, vermi, molluschi, nematodi, ecc.). Le spore contenute dentro il carpoforo vengono così liberate nel terreno nel luogo dove il carpoforo è marcito o dove sono state trasportate dagli animali attraverso gli escrementi. In primavera, se le condizioni di clima e di terreno sono favorevoli, alcune ascospore riescono a germinare.

L'induzione di questo fenomeno sembra dipendere anche dalle radici delle piante che, alla ripresa vegetativa, producono una maggiore quantità di essudati radicali.

La germinazione dell'ascospora dà luogo ad un'ifa che accrescendosi via via apicalmente e ramificandosi produce il micelio primario: un micelio uninucleato (costituito da cellule con un unico nucleo) geneticamente identico alla spora che l'ha prodotto. Il micelio primario si accresce insinuandosi nelle particelle del terreno e, se incontra un altro micelio primario derivante da un'ascospora diversa, si fonde originando un micelio (micelio secondario) caratterizzato da cellule che contengono ciascuna due nuclei geneticamente diversi tra di loro. Il micelio secondario è in grado di contrarre la simbiosi micorrizica (fase simbiotica). Se il micelio secondario del tartufo incontra un apice radicale di una pianta simbionte "disponibile", cioè libero da altri funghi micorrizici, lo avvolge progressivamente con le sue ife fino a formare la micorriza (in particolare una ectomicorriza). Le radici interessate dalle ectomicorrize sono generalmente le radici secondarie, ricche di capillizio e specializzate nell'assorbimento delle sostanze nutritive dal terreno.

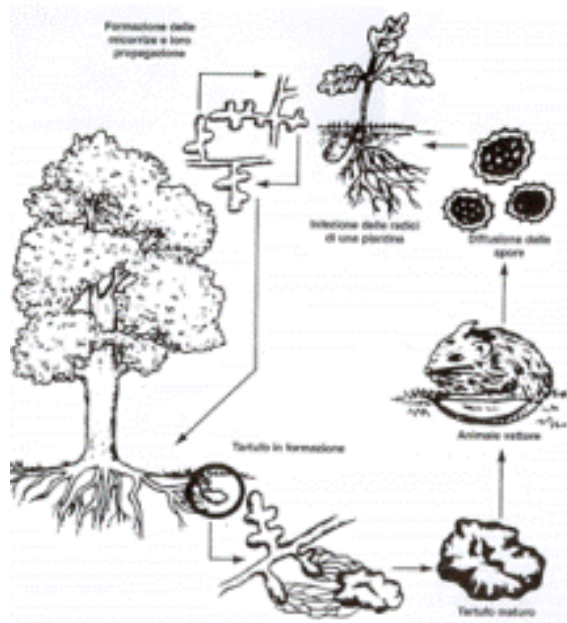


Fig. 2 - Ciclo biologico del tartufo (disegno a cura di A. Montanari e A. Zambonelli, tratto dalla rivista "Il divulgatore", periodico della provincia di Bologna).

Per formare la micorrizza il fungo avvolge l'apice radicale fino a formare una sorta di guaina di alcuni strati di cellule (la micoclona); da questo mantello alcune ife penetrano negli spazi intercellulari dello strato più esterno della radichetta formando il reticolo di Hartig.

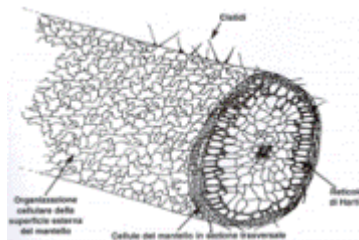


Fig. 3 - Sezione di un apice radicale micorrizzato con il tartufo, www.trufflesitaly.com.

Dalla micoclona si originano alcune particolari ife che si dirigono verso l'esterno, i cosiddetti cistidi, caratterizzati da un accrescimento definito e da una parete abbastanza spessa. Questi operano,

insieme ad altre ife, l'assorbimento dell'acqua e dei sali minerali presenti nel terreno e, attraverso le ife del reticolo di Hartig, li trasferiscono alla pianta ospite. Contemporaneamente, attraverso le ife del reticolo di Hartig, il tartufo trae dalla pianta tutte le sostanze organiche necessarie per la propria sopravvivenza. L'apice radicale micorrizzato cambia il suo aspetto, assume una forma clavata, perde i peli e spesso si ramifica: il fungo infatti stimola l'apice a produrre nuovi abbozzi di radichette laterali, che vengono inglobati dal mantello fungino. In seguito al continuo accrescimento di radichette micorrizzate si formano dei veri e propri "glomeruli" di micorrize, come accade di frequente, per esempio, nei pini. Dalle micorrize si sviluppano poi nuove ife che vanno a colonizzare il terreno circostante ed anche le nuove radichette emesse dalla pianta o quelle di altre piante vicine. In condizioni pedoclimatiche poco favorevoli al tartufo, invece, possono prendere il sopravvento altri funghi micorrizici, con la conseguente diminuzione o scomparsa delle micorrize di tartufo. Il ciclo di attività delle micorrize segue quello della pianta: in primavera, con la ripresa vegetativa, le micorrize riprendono a crescere e continuano per tutta l'estate se le condizioni del terreno si mantengono favorevoli. All'arrivo dell'inverno le micorrize riducono l'attività metabolica per affrontare la stagione avversa e, quelle che riescono a superarla, alla primavera successiva riprenderanno il loro sviluppo.

La fase di fruttificazione, ossia la formazione dei corpi fruttiferi nel terreno, si realizza quando si verificano alcune condizioni:

- la pianta simbiote ha raggiunto la maturità fisiologica;
- nel terreno c'è una sufficiente carica di micorrize;
- le condizioni ecologiche sono favorevoli.

Solo allora le ife bloccano il loro accrescimento ed iniziano a formare il carpoforo. Le primissime fasi di formazione del carpoforo sono poco note, ma si ipotizza che inizialmente questo sia costituito da un intreccio globoso di ife (primordio o abbozzo del carpoforo) che si sono sviluppate a partire dalle micorrize. In questa fase, quindi, il tartufo è ancora collegato alla pianta simbiote (fase simbiotica).

Da recenti studi condotti in Francia su *Tuber melanosporum*, emerge che questa specie di tartufo differenzia l'abbozzo del carpoforo già nel mese di maggio. Quando però l'ascocarpo raggiunge le dimensioni di diametro idonee (circa 3 milligrammi di peso) presenta già la sua struttura caratteristica: peridio esterno e gleba costituita da vene sterili e vene fertili. A questo stadio, probabilmente, il tartufo si stacca dalla pianta, e inizia a vivere in maniera autonoma (fase saprofitica) assorbendo i nutrienti attraverso dei ciuffi di ife che partono dal peridio. Man mano che

si accresce, aumentando di peso e di dimensioni, il tartufo si modifica: le vene sterili, all'inizio molto evidenti ed ampie, finiscono per diventare via via più sottili all'aumentare delle ascospore che si sviluppano nel tessuto fertile, più scuro. Quando la maturazione delle spore è completa il tartufo si decompone, e con la liberazione delle ascospore nel terreno, ricomincia il suo ciclo.

Caratterizzazione degli ecosistemi naturali

La produzione spontanea di tartufi negli ultimi anni è diminuita in maniera consistente per il graduale esaurimento delle tartufaie naturali. Tale fenomeno è stato causato in parte da eventi spontanei, come i cambiamenti climatici, e in parte dall'intervento dell'uomo, che ha agito con pratiche agricole intensive, con la raccolta indiscriminata dei tartufi e con l'abbandono delle zone marginali. La ricerca del ripristino delle migliori condizioni per la produzione spontanea di tartufi porta quindi alla necessità di disporre di nuove conoscenze.

I principali aspetti da considerare sono la natura del terreno, il clima, l'esposizione, la vegetazione e le specie legnose con le quali i tartufi vivono in simbiosi. L'indagine dovrà portare a capire quali, tra questi, siano i caratteri ecologici distintivi dei siti a vocazione tartufigena, quali concorrono a promuovere lo sviluppo del ciclo biologico del fungo, quali possono essere quelli che inducono la fruttificazione.

Per ben caratterizzare un tale ecosistema, è necessaria un'indagine a largo spettro, che coinvolga diverse competenze:

- microbiologica;
- geologica;
- chimico-fisica;
- botanica;
- ecologico-forestale;
- biochimica;
- biologico molecolare;

ecc.

Solo agendo sinergicamente queste discipline permetteranno di ottenere un quadro d'insieme su un argomento così vasto e complesso. Infatti, mentre il settore geopedologico fornisce indicazioni circa l'importanza e le caratteristiche pedoclimatiche e chimico-fisiche del suolo, quello

microbiologico riferisce sull'attività dei microrganismi presenti nel suolo, nella micorrizosfera ed all'interno dei carpofori del genere *Tuber*, in relazione alla loro influenza nelle varie fasi di vita del fungo. Infine, mentre da un lato la biochimica spiega con quali meccanismi le specie di *Tuber* interagiscono con l'ambiente e si sviluppano, il settore biomolecolare riconosce e certifica il tartufo in ogni fase del suo ciclo biologico (carpoforo, micelio e micorriza).

Come esempio di approfondimento verranno ora riportati alcuni aspetti ambientali e biologici che caratterizzano la produzione del tartufo:

Aspetti ecologico-forestali

Nelle tartufaie naturali, talvolta, per fatti accidentali o per occasionali interventi dell'uomo, volti generalmente a tutt'altro fine, è possibile notare la comparsa o scomparsa di nuovi gruppi di piante tartufigene. Questo fa pensare che le piante ove si è determinata la nuova produzione, fossero già in simbiosi con il tartufo e che nuovi stimoli introdotti accidentalmente abbiano determinato la fruttificazione del tartufo.

Sono state studiate le relazioni fra produzione dei tartufi e fattori climatici e vegetazionali delle tartufaie naturali. A questo scopo sono state prese in esame tartufaie naturali rappresentative delle differenti tipologie forestali raccogliendo valide indicazioni sulle possibili operazioni agrocolturali e forestali volte ad incrementare la produzione di tartufi.

Dalle diverse analisi è stato possibile ricavare alcune significative indicazioni. Per il tartufo bianco pregiato, risultano fondamentali le operazioni di diradamento, decespugliamento e potatura, che incidono, sulla copertura forestale e quindi sul grado di ombreggiamento del terreno e sulla stessa composizione floristica. L'irrigazione ha fornito risultati contrastanti a seconda delle aree sulle quali è stata effettuata, mentre la pacciamatura ha influenzato positivamente la produzione solo se associata ad altri interventi come l'irrigazione.

Per il nero pregiato la pratica della sarchiatura ha dato buoni risultati, perché rimuovendo il terreno superficiale, impedisce l'eccessiva compattazione e l'infeltrimento ad opera del manto erboso. Controverse e sconsigliate sono le concimazioni e in generale il condizionamento chimico del suolo.

Aspetti geopedologici

Il ciclo biologico del tartufo si compie interamente nel terreno, dal quale riceve parte del nutrimento e nel quale trova le condizioni necessarie per svilupparsi e propagarsi. Lo studio

geopedologico riguarda gli aspetti geomorfologici del territorio e fisico-chimici del suolo. Viene intrapreso in quanto il suolo, che potrebbe sembrare un qualcosa di omogeneo, risulta in realtà diversificato da luogo a luogo. Infatti dipende dal tipo di substrato roccioso, dai suoi costituenti, dal clima e dalla morfologia, nonché dalla durata e tipologia dei processi di formazione. Ogni specie di tartufo è fortemente dipendente, oltre che da queste caratteristiche, anche dall'andamento annuale e stagionale delle condizioni microambientali, specie quelle pedoclimatiche.

Lo scopo degli studi geopedologici è quindi quello di chiarire quali siano le caratteristiche di un suolo tartufigeno evidenziando i caratteri fisico-strutturali, che più di altri, sembrano influire sulla sua attitudine a produrre tartufi.

In tartufaie controllate naturali, dove si ha produzione certa di tartufi, sono state effettuate analisi sia per valutare il tipo di rocce presenti e la loro disposizione nello spazio, sia analisi fisico-chimiche tradizionali, che nuove indagini volte a descrivere meglio i processi necessari perché si formino e si mantengano le condizioni utili alla produzione di tartufi.

Inoltre sono stati rilevati dati relativi all'andamento dell'umidità e della temperatura del suolo per metterli in relazione con le altre variabili e con le produzioni di tartufo, così da poter stabilire gli effettivi rapporti che legano queste componenti fondamentali durante le fasi più significative del ciclo biologico.

Aspetti botanici

Il tartufo, necessita di un contorno vegetazionale appropriato, poiché le specie arboree, arbustive ed erbacee assumono un ruolo chiave nel processo di sintesi micorrizica.

Il confronto vegetazionale delle aree ad attiva produzione con quelle limitrofe, ma non produttive, permette di individuare le piante che in qualche modo intervengono nel processo di micorrizzazione ed il contributo di ciascun individuo vegetale alla formazione del carpoforo.

Un aspetto interessante è legato alla presenza nella maggioranza delle tartufaie produttive, di specie vegetali principalmente arbustive, sempre ricorrenti ma che non formano ectomicorrize.

Queste possono essere considerate delle piante indicatrici o “comari” in quanto necessitano di condizioni pedologiche e microambientali sovrapponibili a quelle del tartufo. Le più comuni comari del tartufo nero pregiato ed estivo sono arbustive ed annoverano frequentemente esemplari dei delle specie *Cornus mas* e *C. sanguinea*, *Rosa canina*, *Rubus caesius*, *Crataegus monogyna*.

Dai dati raccolti si può dedurre che il tartufo bianco pregiato vive in simbiosi prevalentemente con *Salix alba* (salice bianco), *Populus alba* (pioppo bianco), *Populus nigra* (pioppo nero), *Tilia* ssp. (tiglio) e *Ostrya carpinifolia* (carpino nero). Oltre alle piante arboree sono presenti specie erbacee non simbiotiche che favoriscono una copertura totale del terreno ed evidenziano come le tartufaie più produttive siano generalmente localizzate in zone di fondovalle e lungo i corsi d’acqua. La vegetazione tipica delle aree di produzione è quindi caratterizzata da specie indicatrici di ambienti freschi ed ombreggiati. Il tartufo nero pregiato, invece vive in simbiosi prevalentemente con *Quercus pubescens* (roverella). Altri simbiotici sono *Corylus avellana* (nocciolo), *Ostrya carpinifolia* (carpino nero), *Quercus ilex* (leccio) e *Quercus cerris* (cerro). Il terreno sul quale viene raccolto mostra una copertura più limitata e un ombreggiamento meno intenso rispetto al tartufo bianco. Per il suo sviluppo richiede quindi terreni non troppo ricchi di vegetazione e le piante simbiotiche mostrano, sotto la loro chioma, un’area caratteristica, chiamata “pianello”, pressoché priva di vegetazione erbacea.

Aspetti microbiologici

L’interazione simbiotica non coinvolge solo la pianta e il fungo, ma anche i batteri, i quali sembrano svolgere un ruolo attivo nella formazione della micorriza. Lo scopo degli studi microbiologici è stato quello di chiarire quali siano le specie batteriche coinvolte nella simbiosi al fine di comprenderne il ruolo nel ciclo vitale dei tartufi. Sono state quindi effettuate ricerche volte ad identificare i batteri

presenti nel corpo fruttifero, nelle radici micorrizzate e nel suolo adiacente al sito dov'è stato raccolto il tartufo.

carpoforo sono state identificate specie batteriche che normalmente si trovano nel terreno, ma un dato importante è che due generi, *Pseudomonas* e *Bacillus*, prendono il sopravvento sugli altri facendo pensare a un loro ruolo ben preciso nello sviluppo del tartufo. Sono stati ritrovati numerosi esemplari rappresentanti della famiglia Enterobacteriaceae, raggruppati in cinque diversi generi: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Rahnella*, *Raoultella* e *Serratia*.

Studi volti a chiarire l'attività di questi batteri hanno rivelato la loro capacità di decomporre chitina e cellulosa, i principali costituenti della parete delle cellule fungine. Le analisi al microscopio elettronico hanno evidenziato come questi batteri erodano la parete dell'asco fino ad arrivare alla sua completa rottura ed alla colonizzazione dello spazio interno. È stato evidenziato inoltre che interagiscono con la superficie delle spore. Questo ha fatto ipotizzare un loro ruolo attivo nella rottura della parete dell'asco e nella liberazione delle spore. Diversi microrganismi sono stati ritrovati anche nelle radici micorrizzate, gli stessi ceppi batterici sono stati isolati sia da piante prodotte in vitro che da micorrize raccolte in natura.

Questo ha suggerito una specificità d'azione di questi batteri che potrebbero rivestire un ruolo nell'instaurarsi e nel mantenimento dell'ectomicorriza stessa. La possibilità di capire i meccanismi biologici che il tartufo attua in relazione all'ambiente darà indicazioni per coltivare razionalmente il tartufo. Inoltre, in un'ottica di valorizzazione territoriale, cui è molto sensibile la Comunità Europea, la coltivazione del tartufo risulta essere anche una valida strategia di recupero ambientale per rivitalizzare e rimodellare vaste aree, soprattutto quelle interne collinari e svantaggiate. Attraverso la tartuficoltura si possono rimboschire aree del territorio con specie di piante tartufigene autoctone che, essendo micorrizzate, hanno una maggiore velocità di accrescimento. Queste possono essere utilizzate su terreni marginali, non remunerativi con le tradizionali coltivazioni e destinati altrimenti all'abbandono, oppure su terreni sfruttati che hanno bisogno di riposo per ricostruirsi nella loro fertilità.

Questo settore permette di pensare a prospettive di sviluppo, contribuendo da un lato all'azione di riequilibrio territoriale e dall'altro a dare nuove impulso all'economia di molteplici attività locali.

Le specie del genere *Tuber* indagate nello studio

I funghi ipogei del genere *Tuber* rinvenuti nel mondo sono diversi, oltre duecento specie diverse, di cui circa una trentina vegetano in Italia; tra queste, nove possono essere raccolte e hanno valore commerciale nel nostro Paese.

Il tartufo bianco è presente esclusivamente in Italia e in parte dell'Istria; quello nero invece presenta un'area di diffusione più vasta che comprende diverse nazioni europee, tra il 40° ed il 46° parallelo di latitudine nord, anche se le più importanti per produzione sono l'Italia, la Francia e la Spagna.

Tra le specie più importanti a livello conservazionistico ed economico troviamo:

- *Tuber magnatum* Pico, 1788. Dal latino "magnatum" ossia dei magnati, dei ricchi signori. Il nome volgare è tartufo bianco pregiato
- *Tuber albidum* Pico, 1788 o *Tuber borchii* Vitt., 1831. Dal latino "albidum", dal colore chiaro, o dal cognome del conte De Borch a cui Vittadini (1831) dedicò questa specie, per averla per primo descritta.
- *Tuber macrosporum* Vitt., 1831. Dal latino "macros" "sporum" ossia a grandi spore. Il nome volgare è tartufo nero liscio.
- *Tuber aestivum* Vitt., 1831.
- *Tuber uncinatum* Chatin, 1887. Dal latino "uncinatum" per le creste membranose delle spore che appaiono conformate ad uncino. Ha diversi nomi volgari: tartufo uncinato, scorzone invernale, tartufo nero di Fragno.
- *Tuber mesentericum* Vitt., 1831. Dal latino "mesentericum", simile all'intestino, per il caratteristico andamento circonvoluto delle venature della gleba.
- *Tuber melanosporum* Vitt., 1831.
- *Tuber brumale* Vitt., 1831. Dal latino "brumalis", è conosciuto come tartufo nero invernale.

Le specie del genere *Tuber* indagate in questo studio sono *Tuber melanosporum* Vitt., 1831 e *Tuber aestivum* Vitt., 1831. Entrambe si rinvergono comunemente negli ecosistemi forestali dell'Europa meridionale.

***Tuber melanosporum* Vitt.**

È comunemente conosciuto come tartufo nero pregiato o tartufo nero di Norcia/Acqualagna. Dal greco *mélas* = nero, e *sporà* = semi, spore, il *T.melanosporum* ha un ascoma di forma più o meno globosa, a volte un po' ellittico, allungato, tuberiforme, con cavità basale non presente, in media 3÷5 cm di diametro, eccezionalmente più grande sino 8÷9 cm, colore bruno nerastro, verrucoso.

Peridio molto sottile, non coriaceo, costituito da verruche irregolarmente poligonali di 2÷3 mm di diametro, piatte o poco in rilievo. Se scalfito o leggermente grattato mostra al di sotto un colore bruno-rugginoso.

Gleba tipicamente mazzata, con aspetto marmorizzato, percorsa da venature sterili sottili di color biancastro, ben delineate, spesso anastomizzate, parte fertile presto bruno-scura con riflessi porporini. Odore forte, gradevole, caratteristico.

Al microscopio è possibile riconoscere gli aschi sacciformi con o senza breve peduncolo e dimensione massima sino a 70 µm, numero sporale (1)2÷5, spore bruno-nerastre (da cui il nome specifico), ellissoidali, fittamente aculeate, aculei distinti, alti 2÷4 µm a volte con apice ricurvo. La enunciazione della dimensione sporale deve tener conto, come spesso accade nei *Tuber*, che le spore degli aschi che ne contengono da 1 a 2 sono in media molto più grandi, quindi può essere utile definirla in due intervalli: aschi con 1-2 spore 39÷42 x 24÷26 µm, aschi con 3-6 spore 25÷30 x 17÷22 µm.

Riguardo all'habitat di *T. melanosporum*, si può dire che raramente affiora dal suolo, magari a causa del terreno smosso dai mammiferi quali i cinghiali, abbastanza comune in natura o coltivato sotto vari tipi di latifolia, raggiunge la maturità nel periodo autunnale-invernale.



Fig. 4 - *Tuber melanosporum* (foto Luis G. García-Montero)

***Tuber aestivum* Vitt.**

Noto come tartufo estivo o scorzone; l'etimologia del nome *aestivum* = estivo è dovuta per il suo tipico periodo di crescita. L'ascoma è di forma più o meno globosa, a volte con piccola cavità basale, in media tra i 3÷7 cm di diametro, eccezionalmente più grande, di colore bruno nerastro, nettamente verrucoso.

Il peridio è duro, coriaceo, costituito da verruche in rilievo di forma tronco-piramidale e tronco poligonale con fessurazioni o creste sui lati di 3÷7(10) mm di larghezza, 2÷4 mm di altezza.

Gleba tipicamente mazzata, con aspetto marmorizzato, percorsa da venature sterili di color bianco-crema chiaro, parte fertile inizialmente bruno-chiaro sino a bruno-nocciola, bruno-scuro a maturazione. Odore lieve, fungino nei giovani esemplari, poi più forte, penetrante, come di fermentazione, tipico. Dalle osservazioni a microscopio gli aschi appaiono sacciformi con breve peduncolo e dimensione massima sino a 100 µm, numero sporale (1)2÷5(6), spore giallo-brunastre, da ellissoidali a subglobose, reticolate, alveolate con maglie irregolarmente poligonali larghe 8÷10 µm, alte 3÷5 µm in numero di (2)3÷4(5) lungo la dimensione maggiore. La enunciazione della dimensione sporale deve tener conto, come spesso accade nei *Tuber*, che le spore degli aschi che ne contengono da 1 a 2 sono in media molto più grandi, quindi può essere utile definirla in due intervalli: aschi con 1-2 spore 30÷40 x 20÷27 µm, aschi con 3-6 spore 20÷26 x 13÷19 µm. L'habitat è quello di un fungo ipogeo, raramente affiorante magari a causa del terreno smosso dai mammiferi quali i cinghiali, comune, ad ampia diffusione ecologica, sotto vari tipi di latifolia, raggiunge la maturità nel periodo estivo.



Fig. 5 - *Tuber aestivum*, www.funghiitaliani.it

2.3.10 Il pianello

La crescita e lo sviluppo di alcuni funghi ipogei, fra i quali *Tuber melanosporum* Vitt. e *T. aestivum* Vitt., producono una zona quasi completamente priva di vegetazione o scarsamente inerbita attorno alla pianta ospite, denominata pianello (*brûlé*, o area bruciata), all'interno della quale si sviluppa in estensione il micelio vegetativo e si forma il corpo fruttifero. Quest'area, di aspetto di norma circolare, può avere estensione superficiale molto variabile. La durata di uno stesso pianello di *Tuber* può non essere sempre pluriennale, essendo influenzata da diversi fattori tra cui il clima (principalmente in termini di piovosità) e il periodo dell'anno considerato. L'area occupata si estende all'accrescersi delle dimensioni della pianta ospite e dell'estensione del micelio. Inoltre, la produzione di corpi fruttiferi fungini aumenta all'aumentare dell'area del pianello.

I meccanismi della sua formazione, che avviene quando le radici micorrizate della pianta ospite si avvicinano alla superficie (10 – 15 cm sotto il livello della superficie), non sono ancora completamente conosciuti. Le ipotesi formulate sulle cause dell'origine di questo fenomeno riguardano innanzitutto l'azione delle sostanze volatili fitotossiche ad effetto allelopatico, emesse dalle ife miceliari vegetative e dal corpo fruttifero del tartufo nero. Composti come il 2-metilpropanale, 2-metilbutanale, 2-metil-1-butanol e altri emessi da *T. melanosporum* inibiscono o impediscono completamente la germinazione e la crescita delle piante competitori dell'ospite. La vegetazione caratteristica delle tartufaie naturali è quella tipica di ambienti aperti, secchi e soleggiati e annovera per la maggior parte forme biologiche tipiche di ambiente disturbato, quali terofite ed emicriptofite. Questi aspetti vegetazionali sono ulteriormente accentuati all'interno del pianello. L'effetto di disturbo delle sostanze allelopatiche è comprovato dalle seguenti osservazioni:

- le piante legnose che riescono a germinare nell'area interna al pianello non riescono però a fiorire e di conseguenza a fruttificare, non portando a termine il loro ciclo biologico (González Armada et al., 2008).
- Le specie annuali terofite che invece riescono a completare il loro ciclo biologico all'interno del pianello mostrano fenomeni morfologici di sofferenza (Martegoute et al., 2002), quali il nanismo (es. *Geranium molle*, *Calendula arvensis*, *Lamium purpureum*, *Helianthemum* sp.).

Inoltre sono stati osservati attacchi da parte delle ife di *T. melanosporum* verso le radici di alcune specie erbacee competitori dell'ospite. Queste infezioni provocano seri danni al tessuto corticale della radice delle piante, suggerendo per il tartufo un comportamento da patogeno.

La composizione di microfauna e microflora riscontrata all'interno del pianello è abbastanza differente da quella rinvenuta all'esterno; non è stato ancora determinato se questa diversità sia una causa o un effetto della presenza del pianello.

Partendo dall'ipotesi che l'area bruciata presentasse modificazioni delle proprietà fisico-chimiche del suolo, Castrignanò et al. (2000) effettuarono uno studio i cui risultati confermarono che la presenza di copertura erbacea nell'area esterna al pianello stabilizza la struttura del suolo permettendo l'esistenza di aggregati di dimensioni maggiori rispetto a quelli dell'area interna, il cui suolo risulta essere molto più suscettibile agli effetti disgreganti degli agenti meteorici, molto più incoerente, poroso e aerato. Queste sembrano essere le caratteristiche fisiche migliori per la crescita del corpo fruttifero del tartufo. La scarsa presenza di copertura erbacea fa sì che il pianello risulti essere un ambiente meno ricco in sostanza organica, così come minori risultano le concentrazioni di Fe e Mn. Il pH dell'area interna al pianello è debolmente basico, attestandosi attorno a valori tra 7.5 e 8.2, e non presenta sensibili differenze rispetto a quello dell'ambiente esterno.

Garcia-Montero et al. (2009) effettuarono studi per indagare ulteriormente la natura delle interazioni esistenti fra produzione di corpi fruttiferi di *Tuber*, estensione della superficie del pianello e parametri fisico-chimici del suolo. I risultati confermarono che la produzione degli ascocarpi aumenta con l'aumento di estensione dell'area bruciata. Le analisi statistiche confermarono che la dimensione dell'area del pianello è correlata con la percentuale di carbonato attivo presente negli orizzonti superficiali del suolo (la concentrazione di carbonato attivo spiega il 51% della variazione di estensione dell'area bruciata). È considerata carbonato attivo quella frazione di particelle di carbonato di calcio con dimensioni inferiori ai 50 μ , suscettibile di rapida mobilizzazione e chimicamente molto attiva. La disponibilità di carbonato attivo nel suolo dipende da fattori pedologici, climatici e biologici complessi. Il micelio fungino è in grado di acidificare la porzione di suolo strettamente collegata alla zona di micorrizzazione sulla radice della pianta ospite, emettendo ioni H⁺ per acquisire, tramite un meccanismo di scambio, ioni K⁺ dal terreno. L'acidificazione indotta provoca lo scioglimento di carbonato di calcio e quindi un aumento di carbonato attivo. L'abbondanza di carbonato attivo provoca a sua volta un aumento di valore del pH che causa un aumento di ioni HCO₃⁻ e Ca²⁺, ciò porta all'insolubilizzazione di elementi quali P, B, Fe e Mn. L'aumento del valore di pH inoltre riduce l'assimilabilità di elementi come Al, Co, Cu, Fe, Zn e Mn. La maggiore concentrazione di carbonato attivo nel suolo del pianello, ad opera delle ife

fungine, induce quindi uno stato di denutrizione, stato di clorosi, delle piante presenti nell'area compresa la pianta ospite. La clorosi indotta nelle piante competitori si esplica nell'effetto inibente la crescita e la germinazione, quella provocata alla pianta ospite induce un aumento del bisogno di risorse trofiche derivate dalla simbiosi micorrizica contratta con il micelio fungino e quindi un aumento della crescita di quest'ultimo, che incrementerà ulteriormente la concentrazione di carbonato attivo nel suolo. Si innesca in questo modo un meccanismo di feed back vantaggioso per il micelio e l'aumento di produzione di corpi fruttiferi (García –Montero et al., 2009).



Fig. 6 – Esempio di pianello all'interno di un querceto misto (foto Katia Tarasconi).

2.3.11 I composti emessi dal tartufo

Le diverse specie del genere *Tuber* rilasciano un complesso cocktail di composti che contribuiscono a creare i caratteristici odori e sapori tipici delle differenti specie. Queste sostanze prendono il nome di composti organici volatili (VOCs) e ne sono stati identificati più di 200 tipi nei corpi fruttiferi dei tartufi. Molte di queste sostanze (es. il dimetilsolfuro, il dimetiltrisolfuro, il 2-metil-1-propanolo) sono state rinvenute in diverse specie di tartufo, ma ognuna di esse presenta una composizione relativa specifica. In *T. melanosporum* in particolare le combinazioni caratteristiche di 2-metilbutanale e dimetilsolfuro determinano il tipico profumo di base del corpo fruttifero, alla formazione del quale contribuiscono diversi altri VOCs specifici (Splivallo et al., 2010).

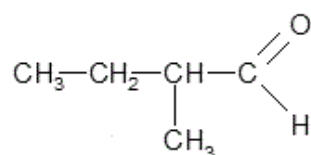


Fig. 7 – struttura molecolare del 2-metilbutanale, www.pianetachimica.it.

La sintesi e il rilascio degli aromi sono influenzati dallo stadio di maturazione del corpo fruttifero, dalla variabilità genetica intraspecifica e dalle diverse origini geografiche. Un altro fattore che influenza la composizione in VOCs è la presenza di flora microbica che abita i tessuti dell'ascocarpo. Fino all'ultimo decennio le sostanze emesse dal tartufo sono state scarsamente studiate, ad esclusione dei composti propri delle specie commercialmente più pregiate. Negli ultimi anni il numero di VOCs descritti è notevolmente aumentato per quasi tutte le specie del genere *Tuber* grazie ad ulteriori studi effettuati su diversi fronti (Splivallo et al., 2011).

I corpi fruttiferi di questi ascomiceti emettono specifici composti organici durante i differenti stadi di sviluppo allo scopo di interagire con diversi organismi che compongono l'habitat del suolo. Sono stati identificati numerosi VOCs emessi dal micelio tartufigeno allo stadio presimbiontico (Splivallo et al., 2007), durante lo stadio di instaurazione della micorrizza e durante la produzione del corpo

fruttifero. Splivallo et al. (2009) hanno dimostrato che alcuni di questi volatili, etilene e IAA (acido 3-indolacetico), agiscono in sinergia per indurre modificazioni nelle radici delle piante, comprese quelle della pianta ospite.

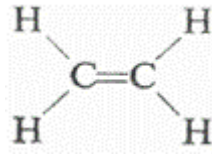


Fig. 8 – molecola di etilene, www.chimicaorganica.net.

Le alterazioni prodotte consistono nella riduzione dell'accrescimento delle radici primarie, nell'aumento di sviluppo di radici secondarie ramificate e nell'allungamento dei peli radicali. Sulla pianta ospite queste modificazioni portano alla preparazione delle migliori condizioni perché si instauri simbiosi micorrizica con il fungo. Sulla rimanente componente vegetale, i due fitormoni considerati possono fungere da potenti erbicidi se prodotti dal micelio in concentrazioni elevate, favorendo la formazione del pianello.

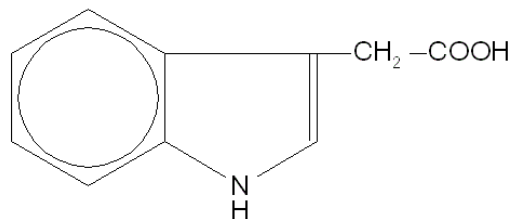


Fig. 9 – molecola di IAA, www.aquagarden.it.

In natura i corpi fruttiferi del tartufo attraggono animali, a partire dai mammiferi come il cinghiale e lo scoiattolo, che se ne cibano, allo scopo di disperdere le spore. Il composto che agisce maggiormente come attrattore è il DMS (dimetilsolfuro), presente nei tartufi neri.

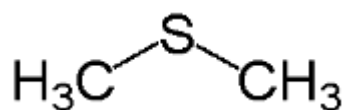


Fig. 10 – struttura molecolare del dimetilsolfuro, www.wikimedia.org.

Due noti insetti infestanti il tartufo sono il coleottero *Leiodes cinnamomea* e il dittero *Suillia pallida*, che si nutrono del corpo fruttifero sia allo stadio larvale che allo stadio adulto e probabilmente anche in questo caso è il DMS ad agire come molecola attrattrice.

Nella rizosfera il tartufo interagisce con la componente microbica, inclusi altri funghi e batteri, probabilmente producendo specifici VOCs per regolare le popolazioni batteriche e fungine intrappolate all'interno del corpo fruttifero o nel suolo all'interno del pianello. Data la complessità di composizione delle comunità microbiche e le numerose relazioni presenti al loro interno, ulteriori studi sono necessari per indagarne i meccanismi.

La natura chimica dei numerosi composti emessi dai tartufi è ascrivibile al gruppo degli idrocarburi con un'elevata pressione di vapore, che generalmente includono gruppi funzionali di alcoli, aldeidi e chetoni e che spesso contengono atomi di zolfo. Alcuni composti sono comuni a diverse specie, altri sono specie-specifici e contribuiscono sensibilmente alla creazione dei particolari aromi. L'aroma è inoltre determinato dalle condizioni climatiche in cui è cresciuto il corpo fruttifero, dal background genetico, dalla regione geografica di provenienza e probabilmente dalla comunità microbica associata al micelio.

I composti emessi annoverano anche la presenza di terpenoidi e di acidi grassi, quali l'acido linoleico.

Capitolo 3. Materiali e metodi

3.1 L'area di studio

3.1.1 Descrizione geografica e dei suoli

ITALIA

L'area individuata per la ricerca è situata nell'entroterra marchigiano, nel territorio compreso tra Cagli (43°32'N; 12°38'E) e Frontone (43°31'N; 12°44'E), in provincia di Pesaro-Urbino.

L'area è situata in una zona collinare di altitudine compresa fra i 400 m s.l.m. e i 600 m s.l.m. La media annuale delle precipitazioni è di 1.158 mm, con temperature annuali medie di 12.5 °C.

La geologia della zona è caratterizzata da formazioni appartenenti alla successione calcareo/marnosa cretacico-miocenica dei litotipi Bisciario bianco (Aquitano – Burdigaliano), costituito da marne e calcari marnosi grigi e grigio-verdi con selce grigio-nera e intercalazioni di cineriti, tufiti e bentoniti vulcaniche, con spessore variabile da 15 a 70-80 m e Scaglia rossa (Turoniano Inf. – Luteziano), formazione di calcari micritici regolarmente stratificati (10-15 cm) con intercalazioni marnose e selciferi rossastre per uno spessore di 200-400 m. (CARTA GEOLOGICA REGIONALE EDIZIONE CTR SCALA 1:10.000, 1996-2003).

I suoli presenti nell'area sono ascrivibili alla categoria dei Mollisuoli (Pachic Hapludolls), che si ritrovano prevalentemente sotto praterie o in aree originariamente boscate. Le caratteristiche principali di questi tipi di suolo sono la colorazione scura, la ricchezza di basi di scambio e sostanza organica, la natura fortemente calcarea del materiale parentale (Calcare Totale compreso tra 9.6% e 14.3%, Calcare Attivo tra 2% e 14%), il pH debolmente basico (tra 7.2 e 8.3, misurato in H₂O) e un'elevata pietrosità superficiale. La classe tessiturale di appartenenza è quella scheletrico franca (argilla <35%, sabbia <70%, scheletro >35%). Si tratta nel complesso di suoli porosi e aerati. (Chiuchiarelli et al., 2008.).

All'interno dell'area sono state individuate tre sottoaree dove sono stati effettuati rilievi floristici e campionamenti di suolo per l'estrazione dei microartropodi:

Sottoarea 1 - CAGLI (Foce del fiume Burano), 400 m slm, lecceta mesoxerofila a carpino nero, a bordo carreggiata stradale.

Sottoarea 2 - CASTELLO/FRONTONE, 550 m slm, querceto mesoxerofilo di roverella.

Sottoarea 3 - FRONTONE/CA' GENTILE, 600 m slm, ostrieto mesoxerofilo.

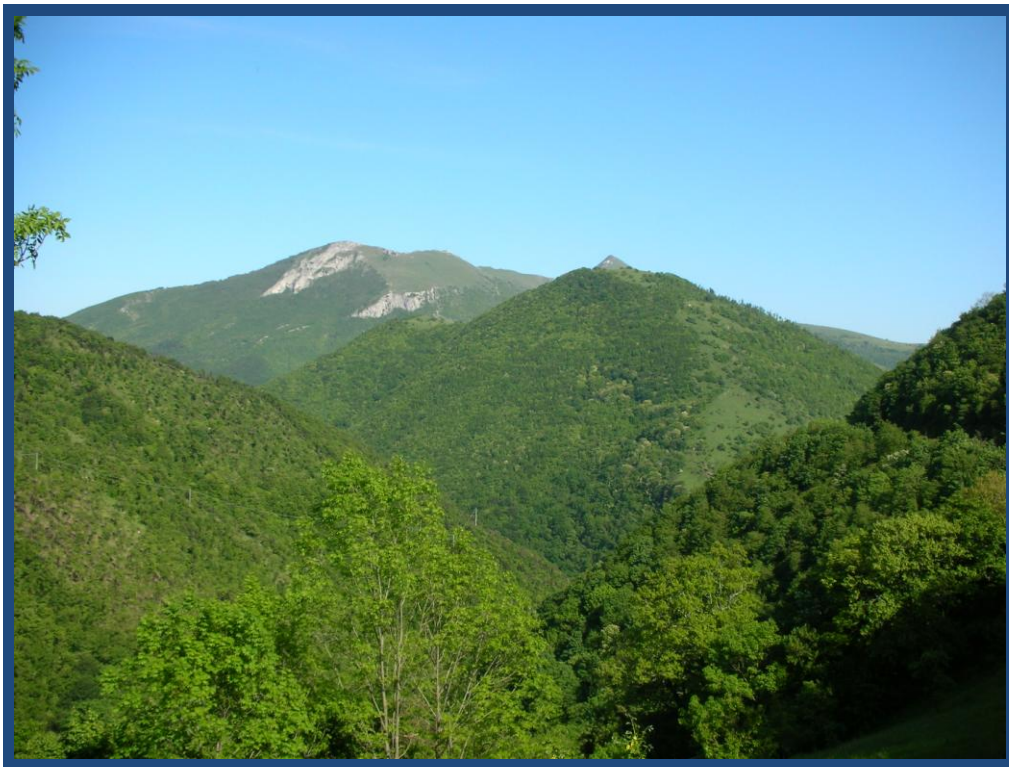


Fig. 11 – Panoramica dell'area di studio marchigiana (foto Katia Tarasconi).

SPAGNA

Per effettuare un confronto dei dati raccolti nell'area di studio marchigiana, nell'anno 2010 è stata effettuata un'analogia raccolta di dati in un'area spagnola, compresa fra la provincia di Peralejos de las Truchas (Guadalajara) e Belvalle (Beteta, Cuenca) (40°35'N; 1°54'W). Questa area è situata in una zona montuosa ad un'altitudine superiore ai 1000 m. La media annuale delle precipitazioni è di 797 mm, con temperature annuali medie abbastanza basse (9.7 °C) e inverni molto freddi.

La geologia della zona è dominata da argille e dolomie giurassico-cretaciche. I suoli presenti nell'area sono ascrivibili alla categoria dei Lithic e Rendzic leptosols, presenti principalmente in aree boscate aperte (limiti esterni del bosco), le cui caratteristiche principali sono il colore bruno, la ricchezza in basi di scambio, la presenza di sostanza organica compresa tra 3% e 7%. Il materiale parentale è fortemente calcareo (Calcare Totale compreso tra 7% e 8%, Calcare Attivo tra 3% e 7%). Il pH risulta debolmente basico (tra 7.2 e 8.3 in H₂O). La classe tessiturale di appartenenza è quella scheletrico sabbioso argillosa (argilla 13%, sabbia 30%, limo 59%). Sono suoli porosi e aerati, con elevata pietrosità superficiale. (Garcia-Montero et al., 2007).

All'interno dell'area sono state individuate tre sottoaree (tutte situate nel comune di Peralejos de las truchas) dove sono stati effettuati campionamenti di suolo per l'estrazione dei microartropodi:

Sottoarea 1 – CABEZERA SANTO, 1220 m slm, ambiente di prato arido in formazioni boschive di querceto a *Quercus faginea*.

Sottoarea 2 – TRUFERO VIEJO FUENTE DE EL CANAL, 1200 m slm, ambiente di prato arido in formazioni boschive a *Quercus faginea* con presenza di *Genista* sp.

Sottoarea 3 – TERZAGA EL MUNICIPIO, 1240 m slm, ambiente di prato arido in formazioni boschive a *Quercus ilex*.



Fig. 12 – Panoramica dell'area di studio spagnola (*foto Luis Gonzaga Garçia-Montero*).

3.1.2 Fitocenosi forestali

Allo scopo di descrivere l'ambiente in cui sono situate, per le due diverse aree di studio sono stati raccolti dati di rilievo forestale. Le formazioni boschive risultano essere quelle tipiche delle zone vocate alla crescita spontanea dei tartufi, caratterizzate dalla presenza quasi costante di alcune specie arboree ed arbustive.

ITALIA

Le formazioni boschive rinvenute nell'area sono essenzialmente querceti misti e ostrieti, appartenenti a tre diverse tipologie (Inventario e Carta Forestale della Regione Le Marche, 2000):

QUERCETI MESOXEROFILI DI ROVERELLA

La roverella (*Quercus pubescens* Willd.) è la specie quercina più comune sui rilievi collinari e appenninici delle Marche, costituendo circa il 13% della composizione specifica ed il 24% del volume totale inventariato a livello regionale. Costituisce popolamenti in purezza, ma più spesso in mescolanza con altre latifoglie. Il clima è caratterizzato da temperature medie annue di 9-11 (14) °C, precipitazioni medie annue comprese fra 800 e 1200 mm, con minimo estivo nel mese di agosto e parte di settembre. I querceti mesoxerofili (Fig. 13) costituiscono formazioni frammentarie su marne e calcari-marnosi nella fascia collinare di bordo delle dorsali appenniniche principali.

La categoria comprende popolamenti a prevalenza di roverella e cerro subordinato, generalmente in mescolanza con diverse altre latifoglie; sono inoltre presenti, sui versanti con esposizioni calde, specie sempreverdi mediterranee e conifere naturalizzate da impianti artificiali.

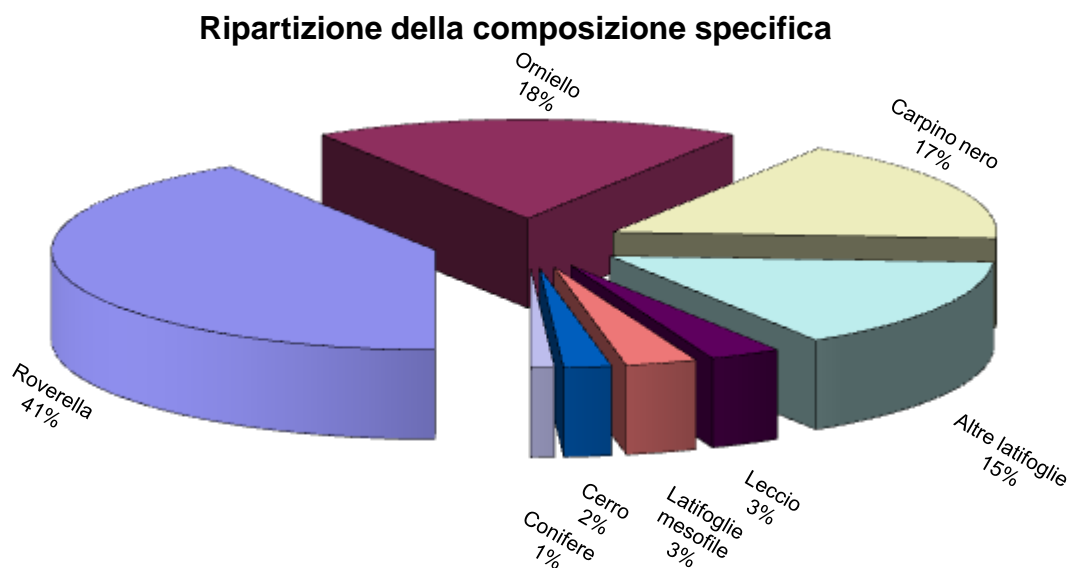


Fig. 13 - Ripartizione della composizione specifica nei querceti mesoxerofili di roverella.

LECCETE MESOXEROFILE A CARPINO NERO

Nelle Marche sono presenti poco meno del 2% delle leccete a livello nazionale.

Il leccio, infatti, rappresenta la terza specie quercina in ordine di importanza e costituisce circa il 4% (circa 42.646.708 alberi) della composizione specifica e il 2% del volume complessivo.

La sua diffusione comprende i popolamenti di leccio presenti sulle due dorsali appenniniche (Marchigiana e Umbro-marchigiana), dove il leccio costituisce popolamenti in purezza sui versanti caldi ed in posizione rupicola (*Lecceta xerofila* e *xerofila rupestre*).

I nuclei più estesi si trovano in tutte le gole calcaree, dalla provincia di Pesaro (Gole del Furlo e del Burano, del Chienti, sul gruppo del Catria e Nerone ecc.), all'Ascolano. Le leccete più frequenti sui rilievi appenninici sono riferibili alla *Lecceta mesoxerofila a carpino nero*.

Fra le categorie a prevalenza di specie quercine (*Querceti di roverella e di rovere, Cerrete*) le Leccete costituiscono popolamenti caratterizzati dalla maggiore purezza (Fig. 14); il leccio, infatti, costituisce il 62% e 66%, rispettivamente della composizione specifica e volumetrica, mentre fra le altre specie sono presenti arbusti sempreverdi e diverse latifoglie quali l'orniello (16%), carpino nero (12%), , roverella (4%) ed acero a foglie ottuse; pressoché assente sono cerro e latifoglie mesofile. Il leccio è generalmente arboreo, ma può anche crescere come cespuglio.

Ripartizione della composizione specifica

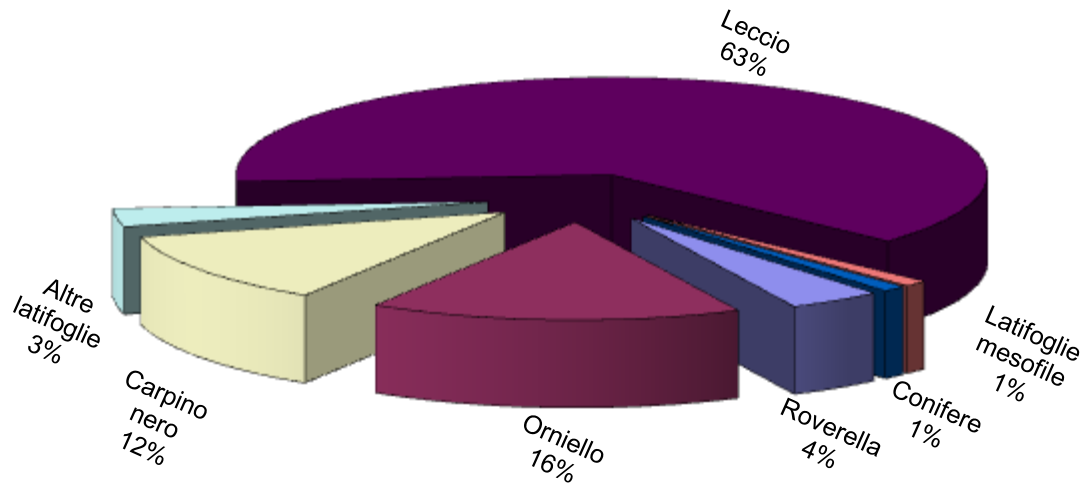
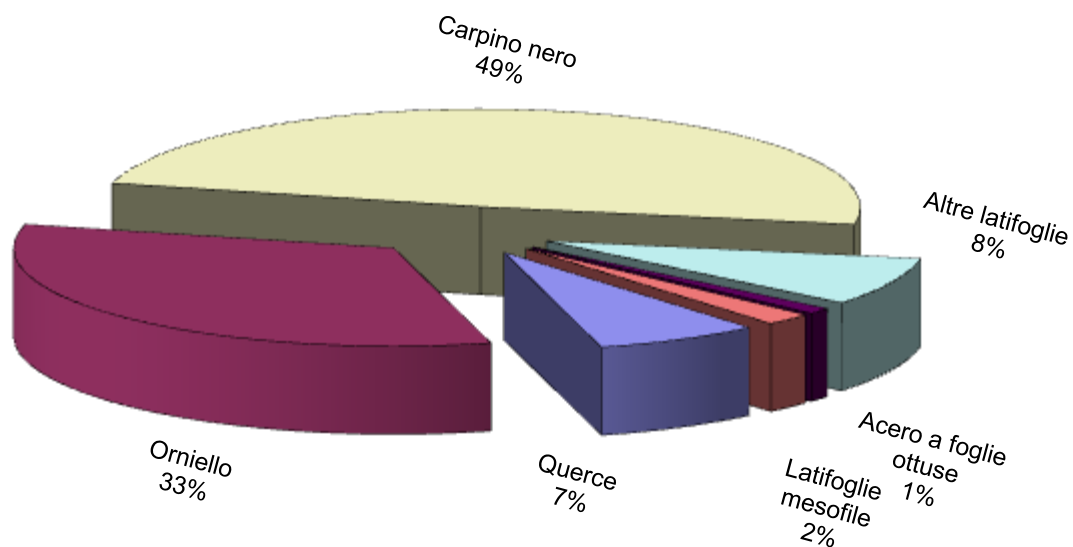


Fig. 14 - Ripartizione della composizione specifica nelle leccete mesoxerofile a carpino nero.

OSTRIETI MESOXEROFILI (SOTTOTIPO SU SUBSTRATI CARBONATICI)

Nelle Marche i boschi a prevalenza di carpino nero (*Ostrya carpinifolia* Scop.) occupano una superficie pari al 24,1% della superficie forestale regionale; carpino nero ed orniello sono le specie più comuni sui rilievi collinari e appenninici delle Marche. I boschi a prevalenza di carpino nero ed orniello (Fig. 15) sono diffusi soprattutto in ambito montano ove costituiscono estese superfici sia in purezza sia in mescolanza con roverella, cerro e faggio. Gli Orno-ostrieti sono situati prevalentemente lungo le dorsali appenniniche, in modo particolare sui substrati calcarei e calcareo-marnosi, dal massiccio del Catria-Nerone alle parti più interne dei Monti Sibillini, con una progressiva frammentazione procedendo da nord verso sud. Secondo i dati dell'Inventario forestale regionale gli Orno-Ostrieti sono popolamenti a prevalenza di carpino nero ed orniello pressoché in purezza; la roverella, il cerro ed il faggio vi partecipano in modo sporadico, solitamente come matricine, mentre sono pressoché assenti il leccio, il castagno e le conifere.

Ripartizione della composizione specifica



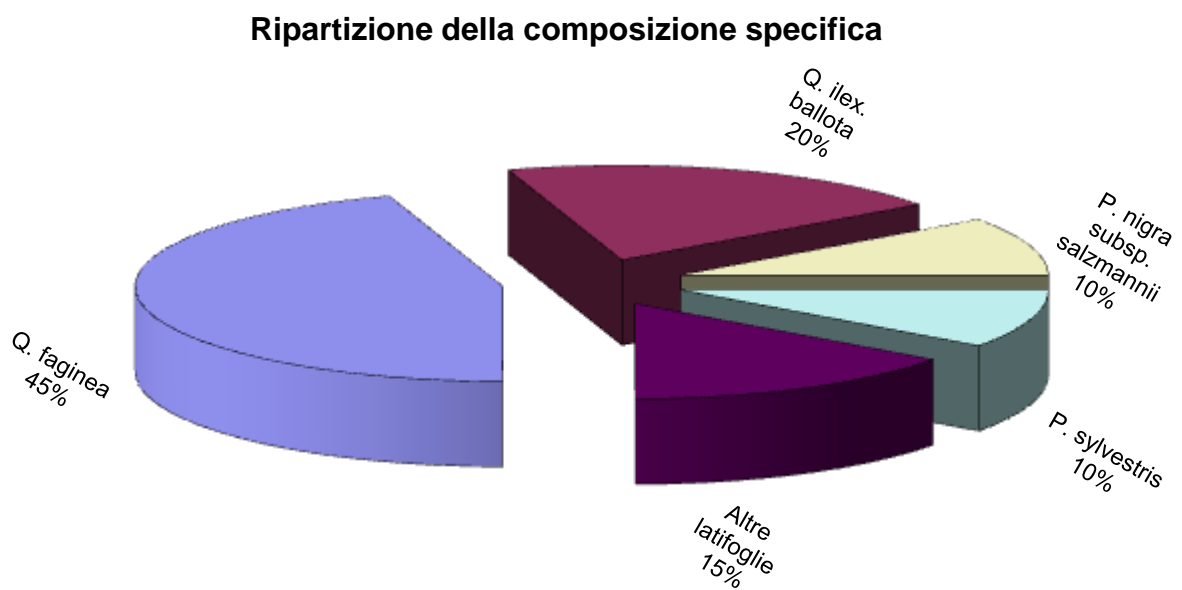
F

ig. 15 - Ripartizione della composizione specifica negli ostrieti mesoxerofili a carpino nero.

La componente arbustiva è caratterizzata dai ginepri (*Juniperus communis*, *Juniperus oxycedrus*), la ginestra (*Spartium junceum*), il prugnolo (*Prunus spinosa*), il biancospino (*Crataegus monogyna*, *Crataegus oxyacantha*), il corniolo (*Cornus mas*) ed alcuni suffrutti come la fumana (*Fumana procumbens*) ed i cisti (*Cistus albidus*, *Cistus incanus*, *Cistus salvifolius*, *Cistus monspeliensis*).

SPAGNA

Le tipologie boschive rinvenute nell'area sono essenzialmente boschi di formazioni monospecifiche di *Quercus faginea* della serie geobotanica vegetazionale *Cephalanthero longifoliae-Querceto fagineae* S. (Fig. 16). La componente arbustiva include diverse piante della associazione *Genisto Scorpii-Cistetum laurifolii* (Rivas-Martínez) dominata da *Cistus laurifolius* e *Genista scorpius* (L.) (Garcia-Montero et al., 2007;).



ig. 16 - Ripartizione della composizione specifica nelle quercete a *Quercus faginea*

F

3.2 Rilievi floristici

Nell'area di campionamento italiana è stato effettuato un rilievo floristico nel mese di maggio 2011. Il rilievo, effettuato a titolo descrittivo, è stato attuato nell'ottica di un confronto fra l'area esterna e l'area interna al pianello, considerando separatamente le tre diverse sottoaree. Si è proceduto alla identificazione in campo delle specie arboree, arbustive ed erbacee presenti, le quali sono state successivamente raggruppate nelle famiglie di appartenenza. Per tutte le specie presenti sono stati indicati i valori di bioindicazione, basati sul metodo di bioindicazione (Zeigerwerte), proposto da ELLENBERG (1974, rivisto ed ampliato nel 1979 e 1993). Vengono scelti i 6 fattori ecologici cruciali per comprendere le condizioni nelle quali si svolge la vita delle piante (luce, temperatura, continentalità del clima, acqua, pH, nutrienti) ed il peso di questi fattori viene indicato per tutte le specie della flora germanica (esteso alle specie della flora italiana da Pignatti, 1993). Ogni volta che una pianta, per cause naturali, si trova a vegetare in un determinato sito, questo è una prova che il sito è compatibile con le sue esigenze ecologiche: dalla sua presenza si possono dunque ricavare informazioni sulle caratteristiche ecologiche del sito stesso. La vegetazione si può pertanto interpretare come un segnale, che fornisce informazioni sulle condizioni ecologiche dell'ambiente (PIGNATTI, 1980). I valori di bioindicazione costituiscono la valutazione numerica del segnale che ciascuna specie fornisce, sull'incidenza dei principali fattori ecologici nel determinare le caratteristiche del sito: si tratta di una valutazione soggettiva, ma che tiene conto di una grande quantità di fatti oggettivi: distribuzione geografica e topografica della specie, misure sperimentali in campo, paragoni con altre specie. Per motivi pratici, questi fatti non potrebbero venire dettagliati di volta in volta, quindi essi sono sintetizzati con un numero. La presenza delle specie vegetali viene utilizzata come indicatore dello stato del sistema. Per tutte le specie della flora, il comportamento rispetto ai sei fattori ecologici viene sintetizzato mediante una scala numerica:

- L – radiazione luminosa (1-9)
- T – calore (1-9)
- C – continentalità del clima (1-9)
- U – umidità o disponibilità di acqua (1-12)
- R – reazione del suolo (1-9)
- N – nutrienti (1-9)

Le scale utilizzate hanno in generale 9 valori, ma in un caso se ne usano 12. I valori di bioindicazione si possono applicare a specie, flore, comunità, complessi di vegetazione, possono venire trattati con metodi statistici e rappresentati graficamente. Nella pubblicazione originale, oltre ai valori numerici da 1 a 9 (12 e 3 per umidità e salinità) si hanno altre indicazioni: × (specie indifferenti) e 0 (comportamento non precisato).

I dati del rilievo sono presentati in forma tabellare (Fig. 17). Le colonne nell'ordine riportano:

- Numero d'ordine in PIGNATTI (1982)
- Codice a 7 cifre da PIGNATTI (1982)
- Denominazione scientifica delle specie
- Forma biologica
- Corotipo
- Luce
- Temperatura
- Continentalità
- Umidità o disponibilità di acqua
- Reazione del substrato
- Nutrienti

I fattori ecologici sono stati scelti in maniera ragionata: sono risorse essenziali per la vita delle piante e non è pensabile che essa possa svolgersi in mancanza di essi: si tratta di 3 fattori fisici che interessano il clima (vedi sopra: L, T, C) e di 3 fattori che riguardano la chimica del suolo (U, R, N). I valori per questi 6 fattori vengono forniti per tutte le specie. La novità introdotta dalla metodologia di Ellenberg consiste nel fatto che in questo modo viene creato un iperspazio a sei dimensioni, nel quale ogni specie può essere inserita in una posizione determinata: un primo esempio di spazio ecologico inteso non soltanto come concetto astratto, ma come unità operativa, applicabile a tutte le piante vascolari, che sono il componente essenziale dell'ecosistema. In questo modo viene

offerto uno strumento interamente nuovo per analizzare e spiegare i rapporti tra la pianta e l'ambiente. L'analisi è eseguita in base ai Zeigerwerte, un concetto che oggi si può esprimere come bioindicazione, e fornisce risultati numerici facilmente comprensibili, che possono essere utilizzati anche a scopo applicativo. Il metodo si fonda su criteri rigorosi, però immediatamente comprensibile e di facile applicazione. La costruzione della metodologia è utile per effettuare confronti fra comunità ecologiche. Oltre ai valori di bioindicazione, viene indicata per ciascuna specie la forma biologica ed il corotipo, secondo gli standard di PIGNATTI (1982). Per quanto riguarda la nomenclatura, ci si è riferiti strettamente a PIGNATTI (1982), in quanto si tratta della più recente opera pubblicata, e comprendente tutta la flora d'Italia.

numero progressivo	codice (Pignatti, 1982)	nome scientifico	forma biologica	corotipo	L	T	C	U	R	N
3975	9332029	ACHILLEA COLLINA BECKER	H SCAP	580 SE-EUROP.	9	6	6	2	7	2
3955	9330010	ANTHEMIS TINCTORIA L.	H BIENNE	560 CENTRO-EUROP.	8	6	5	2	6	4
3836	8879002	BELLIS PERENNIS L.	H ROS	540 EUROP.-CAUCAS.	9	5	4	X	X	5
5032	0393007	BRACHYPODIUM RUPESTRE (HOST) R. ET S.	H CAESP	620 SUBATLANT.	8	6	4	5	8	4
5010	0389003	BROMUS STERILIS L.	T SCAP	310 EURIMEDIT.	7	7	5	4	X	5
2984	7109801	BUGLOSSOIDES PURPUROCAERULEA (L.) JOHNSTON	H SCAP	542 PONTICA	5	7	6	4	8	4
5441	0525072	CAREX FLACCA SCHREBER	G RHIZ	550 EUROP.	7	5	5	6	8	X
1937	3774001	CORONILLA EMERUS L.	NP	560 CENTRO-EUROP.	7	6	4	3	9	2
1554	3345914	CRATAEGUS MONOGYNA JACQ.	P CAESP	510 PALEOTEMP.	6	7	5	4	6	3
4863	0372001	DACTYLIS GLOMERATA L.	H CAESP	510 PALEOTEMP.	7	6	5	4	5	6
2889	8486038	GALIUM MOLLUGO L.	H SCAP	310 EURIMEDIT.	6	5	5	5	5	4
1999	3924038	GERANIUM PURPUREUM VILL.	T SCAP	310 EURIMEDIT.	7	8	5	3	6	3
2400	5855001	HEDERA HELIX L.	P LIAN (SV)	310 EURIMEDIT.	4	5	4	5	X	X
1746	3854039	LATHYRUS SPHAERICUS RETZ.	T SCAP	310 EURIMEDIT.	11	9	5	2	5	2
2779	6436001	LIGUSTRUM VULGARE L.	NP	540 EUROP.-CAUCAS.	7	6	4	X	8	X
3621	8523008	LONICERA XYLOSTEUM L.	P CAESP	540 EUROP.-CAUCAS.	5	5	4	5	7	X
0189	1885001	OSTRYA CARPINIFOLIA SCOP.	P CAESP	810 CIRCUMBOR.	4	8	4	4	X	X
3600	8116020	PLANTAGO LANCEOLATA L.	H ROS	520 EURASIAT.	6	7	5	X	X	X

Fig. 17 - esempio di tabella di raccolta dei dati di rilievo floristico.

3.3 Campionamento ed identificazione dei microartropodi edafici

Nelle due aree di campionamento sono stati prelevati campioni di suolo per procedere all'analisi della fauna edafica.

Nell'area italiana è stata effettuata una sessione di campionamento per l'anno 2010 e una per l'anno 2011. Per l'area spagnola è stato possibile effettuare un solo campionamento, nell'anno 2010, a causa di prolungata assenza di pioggia che ha reso impossibile un attendibile campionamento nell'anno successivo.

Nelle due aree di studio, suddivise in tre sottoaree, sono stati individuati tre pianelli per ogni sottoarea e si è proceduto alla raccolta di campioni di suolo di 10 cm di lato ed una profondità di 10 cm, per l'estrazione della fauna edafica all'interno dei pianelli e all'esterno degli stessi. Complessivamente sono stati prelevati 18 campioni di suolo nell'area italiana, nel mese di giugno 2010, 18 in quella spagnola, nel mese di luglio 2010 e successivi 18 campioni nell'area italiana nel mese di maggio 2011.

I campioni prelevati in ciascuna area sono stati posti in sacchetti di materiale plastico e posti nei selettori per l'estrazione dei microartropodi entro 24 ore. Per l'estrazione è stato impiegato il selettore Berlese-Tullgren (Wallwork 1970, Bachelier 1973) a tuttora uno dei metodi più utilizzati per l'estrazione della fauna edafica data la facilità di utilizzo e la elevata resa nell'estrazione. Il selettore di Berlese-Tullgren (Fig. 18) è un metodo di estrazione di tipo dinamico che utilizza la tendenza dei microartropodi edafici a migrare evitando le condizioni di disseccamento; con tale metodologia non è però possibile estrarre organismi che siano in stadi di vita non attiva. Il selettore è costituito da un imbuto in materiale plastico del diametro di 25 cm e da un setaccio con maglie di 2 mm su cui è posto il campione di suolo. Per mezzo di una lampada da 60 W posta a 25 cm di altezza sopra il setaccio si provoca il graduale disseccamento del campione costringendo i microartropodi a migrare verso il fondo dell'imbuto fino a precipitare in un apposito barattolo di raccolta. Gli organismi estratti sono conservati in una soluzione in volume di 2/3 alcool etilico e 1/3 glicerina. Il tempo di estrazione è influenzato dalle condizioni di umidità del campione di suolo e si aggira sui 7-10 giorni.

Con l'ausilio di uno stereomicroscopio (20 – 40 X) gli organismi estratti sono stati conteggiati e classificati a diversi livelli tassonomici: classe per i miriapodi (Diplopoda, Chilopoda, Symphyla, Pauropoda), ordine per i chelicerati e gli insetti. I dati di numerosità ottenuti sono quindi stati convertiti in densità (numero di individui su 1 m² di superficie).



Fig. 18 - Selettori di Berlese-Tullgren (foto Maurizio Vicari).

3.4 Indice QBS-ar

Negli organismi che abitano il suolo in modo continuativo si può riscontrare un fenomeno di convergenza evolutiva collegato alle particolari condizioni dell'ambiente ipogeo, quali: l'assenza di luce, le ridotte dimensioni dei cunicoli, la riduzione delle variazioni di temperatura e umidità sia giornaliera sia annua. Nei microartropodi edafici tale fenomeno di convergenza risulta particolarmente evidente a livello morfologico. Infatti in questi organismi si riscontrano generalmente la riduzione dei fotorecettori o la completa anoftalmia, la riduzione delle dimensioni corporee e della lunghezza delle appendici, condizioni di atterismo o di microatterismo, presenza di tegumenti sottili e depigmentazione. Tali caratteristiche morfologiche dovute all'adattamento alla vita nel suolo hanno come conseguenza la maggiore vulnerabilità di questi organismi agli *stress* ambientali, in quanto li rendono incapaci di abbandonare il suolo all'insorgere di condizioni sfavorevoli. L'indice sintetico QBS-ar è basato sul principio che un maggiore adattamento porta come conseguenza a una elevata vulnerabilità ai cambiamenti ambientali, per tale motivo la presenza (o l'assenza) di gruppi euedafici può essere utilizzata come strumento di valutazione della stabilità e della qualità di un suolo (Parisi 2001, Parisi *et al.* 2005).

Tale approccio legato solo alla morfologia degli organismi permette di utilizzare il concetto di *forma biologica* (Sacchi & Testard 1971), evitando i tipici problemi legati alla identificazione degli organismi a livello di genere o di specie, quali la necessità di operatori con elevate conoscenze sistematiche e specializzazione in uno o pochi gruppi tassonomici. Con il termine forma biologica si identifica in questo caso un gruppo di organismi omogeneo per morfologia e caratteristiche di adattamento alla vita nel suolo.

Ad ogni forma biologica (FB) è possibile associare, mediante tabelle basate sia sulle caratteristiche tassonomiche sia sul livello di adattamento all'ambiente ipogeo, un valore numerico denominato Indice Ecomorfologico (EMI). Il valore dell'indice QBS-ar corrisponde alla somma dei valori EMI associati alle forme biologiche estratte dai campioni di suolo.

Il QBS-ar valuta la qualità del suolo sulla base dell'intera comunità di microartropodi edafici. Ad ogni FB è associato un EMI (Fig. 19) compreso tra 1 e 20, per alcuni gruppi è previsto un unico valore EMI, in quanto tutti gli organismi che lo compongono mostrano il medesimo livello di adattamento alla vita ipogea (es. proturi, dipluri e sinfili), mentre all'interno di altri gruppi si riscontrano livelli di adattamento, e di conseguenza EMI, diversi (es. collemboli e coleotteri). La metodologia di

campionamento prevede il prelievo in ogni area di zolle di terreno e l'estrazione con selettore Berlese-Tullgren come precedentemente descritto. Con l'ausilio di uno stereomicroscopio a basso ingrandimento (20 - 40 X) si procede quindi all'identificazione delle FB ed all'assegnazione degli EMI. Il valore del QBS-ar è calcolato considerando tutti i gruppi rilevati in almeno uno dei tre campioni di terreno, se in un gruppo sono presenti più forme biologiche si utilizza per la sommatoria il valore EMI più elevato tra quelli riscontrati. Tale metodo per il calcolo del QBS-ar permette di valutare la qualità biologica potenziale dell'area esaminata, riducendo i problemi connessi alla diversità con cui sono distribuiti i microartropodi del suolo in quanto non viene considerata la numerosità degli organismi e non vi è la necessità di una loro presenza costante in tutti e tre i campioni.

GRUPPI		EMI
Pseudoscorpioni		20
Scorpioni	<i>Forme giovanili</i>	10
Palpigradi		20
Opilioni		10
Araneidi	<i>Forme superiori a 5mm</i>	1
	<i>Forme piccole e poco pigmentate</i>	5
Acari		20
Isopodi		10
Diplopodi	<i>Forme superiori a 5mm</i>	10
	<i>Forme inferiori a 5mm</i>	20
Paupodi		20
Sinfili		20
Chilopodi	<i>Forme superiori ai 5 mm, ma con zampe ben sviluppate</i>	10
	<i>Altre forme (Geofilomorfi)</i>	20
Proturi		20
Dipluri		20
Collemboli	<i>Forme epigee: appendici allungate, ben sviluppate. Apparato visivo (macchia ocellare e occhi) ben sviluppato. Dimensioni medie/grandi, presenza di livrea complessa.</i>	1
	<i>Forme epigee non legate alla vegetazione arborea con buon sviluppo delle appendici con forte sviluppo di setole o squame. Apparato visivo ben sviluppato.</i>	2
	<i>Forme di piccola dimensione con medio sviluppo delle appendici, apparato visivo ben sviluppato, livrea modesta, forme limitate alla lettiera</i>	4
	<i>Forme emiedafiche con riduzione del numero di ocelli, appendici poco sviluppate, con furca ridotta o assente presenza di pigmentazione</i>	8
	<i>Forme euedafiche depigmentate, prive di furca, appendici tozze, presenza di pseudoculi, organo postantennale sviluppato (ma non necessariamente presente), strutture sensoriali apomorfiche</i>	20
Microcorifi		10
Zigentomi		10
Dermatteri		1
Ortotteri	<i>In generale</i>	1
	<i>Famiglia Grillidae</i>	20
Embiotteri		10
Fasmodei		1
Mantodei		1
Mecotteri		1
Isotteri		10
Blattari		5
Psocotteri		1
Emitteri	<i>Forme epigee</i>	1
	<i>Larve cicale</i>	10
Rafidiotteri		1
Tisanotteri		1
Coleotteri	<i>Forme epigee</i>	1
	<i>Dimensioni < 2mm</i>	+ 4
	<i>Tegumenti sottili, con colori testacei</i>	+ 5
	<i>Microatterismo o atterismo</i>	+ 5
	<i>Microftalmia o anoftalmia</i>	+ 5
	<i>Nel caso di forme edafobie</i>	20
Imenotteri	<i>In generale</i>	1
	<i>Formicidi</i>	5
Ditteri	<i>adulti</i>	1
Rafidiotteri (larve)		10
Planipenni (larve)		1
Mecotteri (larve)		10
Coleotteri (larve)		10
Ditteri (larve)		10
Imenotteri (larve)		10
Lepidotteri (larve)		10
Altri olometaboli	<i>adulti</i>	1

Fig. 19 - Schema per l'assegnazione degli EMI per l'indice QBS-ar.

3.5 Analisi statistiche

Al fine di confrontare le differenze esistenti fra le comunità ecologiche vegetali presenti nelle aree interne ed esterne ai pianelli, l'analisi dei dati di rilievo floristico è stata effettuata applicando il test Mann-Whitney per confrontando a coppie ogni valore di bioindicazione considerato. I confronti fra le densità medie (individui per m²) dei microartropodi edafici delle singole aree sono stati effettuati mediante il test a due campioni dipendenti di Wilcoxon e il test t di Student. Per l'ulteriore indagine sui gruppi di microartropodi che mostrano andamenti particolari nelle presenze relative alle aree interne ed esterne ai pianelli sono stati effettuati test a due campioni dipendenti di Wilcoxon e t di Student. Gli stessi test sono stati utilizzati per analizzare i valori dell'indice QBS-ar, nell'ottica di evidenziare differenze fra gli ambienti interni e quelli esterni ai pianelli. Tutti i dati sono stati elaborati utilizzando il software SPSS 14.0.

Capitolo 4. Risultati e discussione

4.1 Rilievi floristici

I risultati dei rilievi floristici effettuati nel territorio italiano mostrano una comunità tipica degli ambienti di crescita naturali di tartufo nero, caratterizzata da una vegetazione dinamica di ambiente secco, aperto e soleggiato e con una bassa copertura vegetale (Bencivenga et al., 1995). Si tratta infatti per lo più di boschi aperti, con roverella e carpino nero come piante simbionti del tartufo per eccellenza. In tutte e tre le sottoaree, le superfici occupate dai pianelli presentano una copertura erbacea minore rispetto a quella tipica delle aree esterne. Il risultato dell'analisi dei dati a livello specifico mostra che nelle aree esterne ai pianelli è presente un maggior numero di specie, pari a un totale di 116, rispetto alle aree interne ai pianelli, che presentano un totale di 85 specie censite (Fig. 20). La differenza nel numero di specie riscontrata a favore degli ambienti non interessati dalla presenza del corpo fruttifero del tartufo è un segnale che può confermare l'effetto di disturbo del fungo sulla vegetazione competitiva della pianta ospite, in particolar modo sulla componente erbacea (González Armada et al., 2008). Non sono state rilevate specie esclusivamente presenti all'interno dei pianelli: anche quelle in genere tipiche dell'ambiente bruciato, come *Catapodium rigidum*, sono state infatti ritrovate anche nelle zone non interessate dalla presenza degli ascocarpi del tartufo. Oltre al ritrovamento ubiquitario di esemplari delle due più comuni piante ospiti (*Q. pubescens* e *O. carpinifolia*) è stata rilevata la presenza delle due specie erbacee *Dactylis glomerata* e *Lathyrus sphaericus* in tutti gli ambienti delle tre sottoaree censite.

Fig. 20 – elenco specie vegetali delle tre sottoaree.

	sottoarea 1		sottoarea 2		sottoarea 3	
	esterno pianello	interno pianello	esterno pianello	interno pianello	esterno pianello	interno pianello
ACER CAMPESTRE L.	+	-	-	-	-	-
ACER MONSIESSULANUM L.	+	-	-	-	-	-
ACERAS ANTHROPOPHORUM (L.) R. BR.	+	-	-	-	+	+
ACHILLEA COLLINA BECKER	-	-	-	-	+	+
ACINOS ALPINUS (L.) MOENCH	-	+	+	+	+	+
ANEMONE HORTENSIS L.	+	+	-	-	-	-
ANTHEMIS TINCTORIA L.	-	-	-	-	+	+
ARABIS SAGITTATA (BERTOL.) DC.	-	+	+	+	+	+
ARENARIA SERPYLLIFOLIA L.	+	-	-	-	-	-
ARTEMISIA ALBA TURRA	-	-	-	-	+	+
ASPARGUS ACUTIFOLIUS L.	+	+	+	+	-	-
ASPERULA PURPUREA (L.) EHREND.	+	+	+	-	-	-
AVENA BARBATA POTTER	-	-	-	-	-	-
BELLS PERENNIS L.	-	-	-	-	-	-
BRACHYPODIUM RUPESTRE (HOST) R. ET S.	-	-	+	+	+	+
BROMUS ERECTUS HUDSON	-	+	-	-	+	+
BROMUS GUSSONII PARL.	+	-	-	-	-	-
BROMUS STERILIS L.	-	-	-	-	-	+
BUGLOSSOIDES PURPUREOCARULEA (L.) JOHNSTON	-	-	-	-	+	+
BULFURUM PRAEALTUM L.	+	-	-	-	-	-
CAMPANULA RAPUNCULUS L.	+	+	+	-	-	-
CARDAMINE HIRSLUTA L.	-	-	-	+	-	-
CARDIUS PYNOCEPHALUS L.	-	-	+	-	-	-
CAREX FLACCA SCHREBER	-	-	-	-	+	+
CAREX HALLERANA ASSO	-	-	+	+	-	-
CATAPODUM RIGIDUM (L.) HUBBARD	+	-	-	-	-	-
CERASTIUM ARVENSE L.	+	+	-	-	-	-
CERASTIUM BRACHYPETALUM DESPORTES ET HERS.	+	+	-	-	-	-
CLEMATIS VITALBA L.	+	+	-	-	+	+
COLUTEA ARBORESCENS L.	+	+	+	-	-	-
CORNUS SANGUINEA L. (subsp. hungarica)	+	+	-	-	-	-
CORONILLA EMERUS L.	+	+	-	-	+	+
CORONILLA SCORPIOIDES (L.) KOCH	-	-	+	+	+	+
CRATAEGUS MONOGYNA JACQ.	-	-	-	+	+	+
CREPIS VESICARIA L.	+	-	+	-	-	-
CYCLAMEN REPANDUM S. ET S.	-	-	-	-	-	-
CYTISUS SESSLIFOLIUS L.	+	-	-	-	-	-
DACTYLUS GLOMERATA L.	+	-	+	-	+	+
DALICUS CAROTA L.	+	+	-	-	-	-
DRABA MURALIS L.	-	-	-	-	-	-
ERYSIMUM PSEUDORHAETICUM POLATSCHKE	-	-	+	+	-	-
ELPHORBIA HELIOSCOPA L.	-	-	-	-	-	-
FERULAGO CAMPESTRIS (BESSER) GREC.	-	-	-	-	+	+
FESTUCA CIRCUMMEDITERRANEA PATZKE	+	-	-	-	-	-
FRAZINUS ORNIS L.	+	+	+	-	+	+
GALIUM APARINE L.	-	-	-	-	+	+
GALIUM CORRIFOLIUM VILL.	+	-	-	-	-	-
GALIUM LUCIDUM ALL.	-	-	-	-	+	+
GALIUM MOLLUGO L.	-	-	-	-	-	-
GERANIUM PURPUREUM VILL.	+	+	-	-	+	+
GEUM URBANUM L.	+	+	-	-	-	-
GLOBULARIA PUNCTATA LAPEYR.	-	-	-	-	+	+
HEBERA HELIX L.	-	-	-	-	-	+
HELIANTHEMUM NUMMULARIUM (L.) MILLER	+	+	+	+	-	-
HERACLUM PILOSELLA L.	+	+	+	-	-	-
HIERACIUM PILOSELLOIDES VILL.	-	-	-	-	+	+
HIPPOCREPIS COMOSAL.	-	-	+	+	-	-
HYPERICUM PERFORATUM L.	+	+	-	-	-	-
HYPOCHOERIS ACHYRORRHIZUS L.	-	-	-	-	+	+
MAIA COMITZA DC.	+	+	-	-	-	-
LATHYRUS SPHAERICUS RETZ.	-	-	+	-	-	-
LEGOSIA HYBRIDA (L.) DELABRE	-	-	-	-	-	-
LEONTODON CICHORACEUS (TEN.) SANGUIN.	+	-	-	-	-	-
LIGUSTRUM VULGARE L.	-	+	-	-	+	+
LINARIA VULGARIS MILLER	+	-	-	-	-	-
LINUM BIENNE MILLER	-	-	-	-	+	+
LONICERA ETRUSCA SANTI	-	-	+	+	-	-
LONICERA XYLOSTELUM L.	+	-	-	-	+	+
LOTUS CORNICULATUS L.	+	+	+	+	+	+
MEDICAGO LUPULINA L.	+	+	-	-	-	-
MILLOTIS OFFICINALIS (L.) PALLAS	-	-	+	+	-	-
OPHYS FLORIDA (DRAKE) MOENCH	-	-	-	-	-	-
OPHYS SPHEGODES MILLER	+	+	-	-	-	-
ORCHIS MORIO L.	-	-	-	-	+	+
ORCHIS TRIDENTATA SCOP.	-	-	+	+	-	-
OSTRYA CARPINIFOLIA SCOP.	-	+	+	+	+	+
OSYRIS ALBA L.	+	+	-	-	-	-
PASTINACA SATIVA L.	+	+	-	-	-	-
PCRIS HIERACIODES L.	+	+	-	-	-	-
PLANTAGO LANCEOLATA L.	+	+	-	-	+	+
PLANTAGO MAJOR L.	+	-	-	-	-	-
POA ANNUA L.	+	-	-	-	-	-
POA BUURDII L.	-	-	-	-	-	+
POA VINCULA GUS.	-	-	-	-	-	-
PRUNUS SPINOSA L.	-	-	+	+	-	-
QUERCUS PUBESCENS WILLD.	-	+	+	+	+	+
RANUNCULUS BULBOSUS L.	+	+	-	-	+	+
RECHADIA PICROIDES (L.) ROTH	+	+	-	-	+	+
RHAGADIOLUS STELLATUS (L.) WILLD.	-	-	-	-	+	+
ROSA CANINA L.	-	-	-	-	-	+
RUBIA PEREGRINA L.	+	+	-	-	-	-
RUBUS ULMFOLIUS SCHOTT	-	-	+	+	-	-
SANGUISORBA MINOR SCOP.	+	-	+	+	+	+
SCABIOSA INSETA SAVI	-	+	-	-	-	-
SCORPIRUS MURICATUS L.	+	+	-	-	-	-
SEDUM ALBUM L.	+	+	-	-	-	-
SEDUM RUPESTRE L.	-	-	+	+	-	-
SHERADIA ARVENENSIS L.	+	+	-	-	+	+
SILENE ITALICA (L.) PERS.	-	+	+	+	-	-
SILENE VULGARIS (MOENCH) GARCKE	+	+	+	+	-	-
SONCHUS ASPER (L.) HILL	-	-	+	+	-	-
SPARTIUM JUNCUM L.	-	-	-	-	+	+
STACHYS RECTA L.	-	-	+	+	-	-
TAMUS COMMUNIS L.	-	-	-	-	+	+
TARAXACUM OFFICINALE WEBER	-	+	+	+	-	-
TEUCRIUM CRANHEBERGII L.	-	+	-	-	+	+
THYMUS LONGICALLIS PRESL.	-	-	+	+	-	-
TRIFOLIUM CAMPESTRE SCHREBER	+	+	-	-	-	-
TRIFOLIUM FRAITENSE L.	+	+	-	-	+	+
TRIFOLIUM STELLATUM L.	+	+	-	-	+	+
ULMUS MINOR MILLER	-	-	-	-	+	+
VIOSPERMIUM DALECHAMPII (L.) SCHMIDT	-	-	-	-	+	+
VERBASCUM THAPSUS L.	+	+	-	-	-	-
VERONICA PERSICA POIRET	-	-	-	-	+	+
VICIA PEREGRINA L.	+	+	-	-	-	-
VICIA SATIVA L.	+	+	-	-	+	+
VICIA SATIVA L. (subsp. nigra)	-	-	+	+	-	-
VICIA ALBA BESSER (subsp. delrhardii)	+	+	-	-	-	-

Le specie censite sono state successivamente raggruppate nelle rispettive famiglie di appartenenza ed è stato effettuato un confronto fra la composizione in famiglie delle aree esterne ai pianelli e di quelle interne. La vegetazione degli ambienti delle aree esterne ai pianelli (Fig. 21) è composta da 38 famiglie totali, rappresentate prevalentemente da Asteraceae (13%) e Leguminosae (13%), Poaceae (11%), Rosaceae (7%) e Rubiaceae (7%). Lo spettro della composizione a livello di famiglie rappresenta quello tipico di ambiente abbastanza secco e aperto, al margine di aree boscate collinari tipiche della zona. Le aree all'interno dei pianelli (Fig. 22) presentano un numero totale di famiglie pari a 33, rappresentate prevalentemente da Leguminosae (17%), seguite da Rosaceae (11%), Asteraceae (11%) e Poaceae (8%). La diminuzione di biodiversità che si presenta all'interno dei pianelli rispetto all'ambiente esterno, messa in evidenza a livello specifico, è confermata dalla differenza a livello del numero di famiglie. Nel confronto fra i due diversi ambienti è emersa inoltre una variazione nella composizione percentuale dello spettro delle famiglie, si registra infatti un aumento relativo di Leguminosae (dal 13% al 17%) e Rosaceae (dal 7% al 11%) nelle aree di pianello, e una diminuzione di Asteraceae (dal 13% al 11%), Poaceae (dal 11% al 8%) e Rubiaceae (dal 7% al 3%). I risultati del rilievo effettuato mostrano la scomparsa totale di piante rappresentanti di cinque famiglie: Euphorbiaceae, Globulariaceae, Linaceae, Primulaceae e Ulmaceae. La diminuzione documentata nel numero di famiglie, e probabilmente ancor più la scomparsa di altre, potrebbe confermare la caratteristica di ambiente sottoposto a disturbo del pianello.

elenco famiglie FUORI PIANELLI

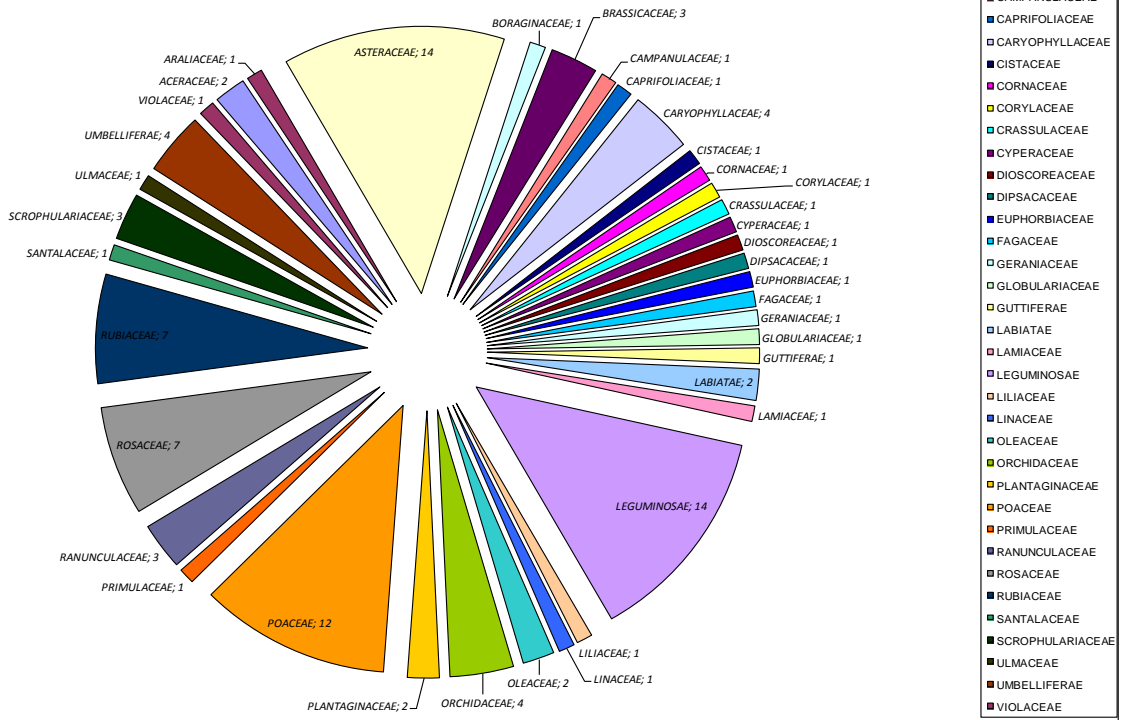


Fig. 21 – composizione % delle famiglie all'esterno dei pianelli.

elenco famiglie nei PIANELLI

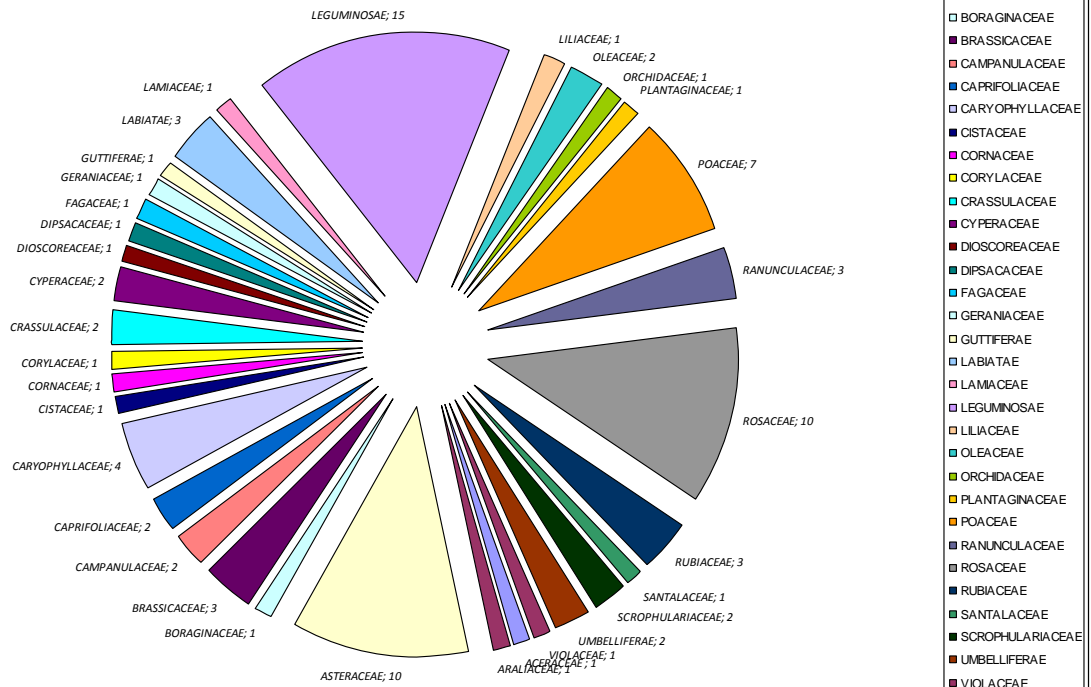


Fig. 22 – composizione % delle famiglie all'interno dei pianelli.

4.1.1 Analisi delle FORME BIOLOGICHE

Sottoarea 1

La composizione percentuale delle forme biologiche presenti in questa sottoarea ne sottolinea il carattere di zona particolarmente disturbata, in quanto situata su margine di scarpata posto a bordo strada. La maggior percentuale di emicriptofite, e soprattutto di terofite, infatti è indice di presenza di elementi di disturbo. Le componenti di quest'ultimo raggruppamento infatti sono tutte piante con ciclo vitale annuale, che producono numerosi semi per adattarsi agli ambienti sottoposti a fattori di stress e a variazioni. Il loro breve ciclo vitale e la grande quantità di semi prodotti consentono a questi vegetali di adattarsi in modo migliore ad ambienti poco stabili. Nell'area esterna al pianello (Fig. 23) la percentuale di emicriptofite risulta minore rispetto a quella dell'area interna al pianello (Fig. 24), dato questo che conferma ulteriormente la presenza di effetti di disturbo all'interno del pianello. Il mancato aumento dei valori percentuali di terofite all'interno del pianello rispetto all'ambiente esterno può essere in questo contesto dovuto alla suddetta natura della sottoarea considerata.

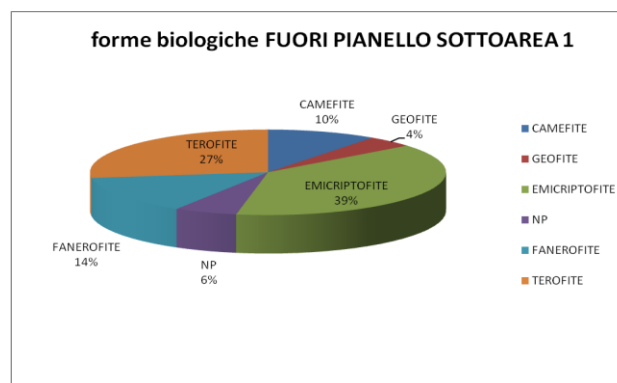


Fig. 23 – Composizione % delle forme biologiche nelle aree esterne ai pianelli

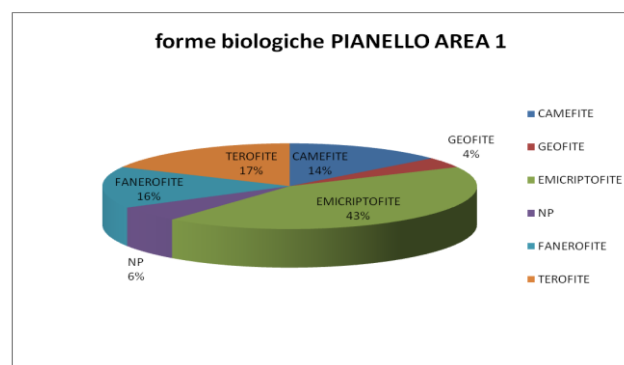


Fig. 24 - Composizione % delle forme biologiche nei pianelli

Sottoarea 2

La sottoarea 2 è situata in un bosco di roverella, in ambiente più stabile e protetto da elementi di disturbo rispetto alla sottoarea precedente. La composizione percentuale delle forme biologiche presenti in questa zona mostra un aumento in percentuale di presenza di emicriptofite e terofite nelle aree di pianello (Fig. 25) rispetto alle aree esterne (Fig. 26), confermando nuovamente la natura disturbata dell'ambiente caratterizzato dalla presenza di ascocarpi di tartufo nero.

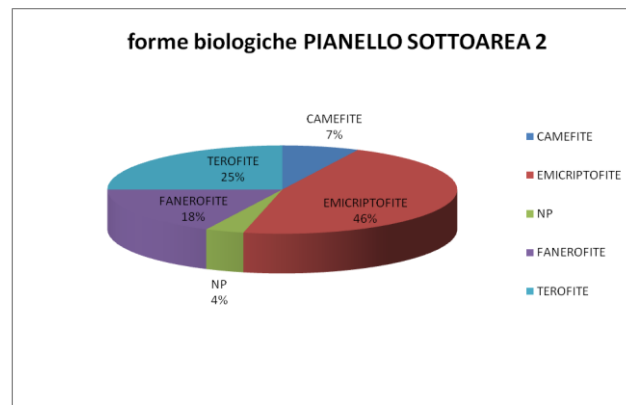


Fig. 25 - Composizione % delle forme biologiche nei pianelli

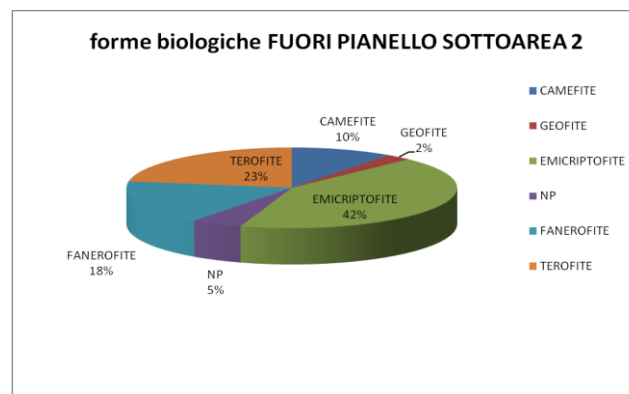


Fig. 26 - Composizione % delle forme biologiche nelle aree esterne ai pianelli

Sottoarea 3

La sottoarea 3 risulta essere quella a maggior grado di naturalità e conseguentemente minor grado di disturbo fra le tre, essendo situata in un bosco misto di roverella e carpino nero, isolato da fonti di disturbo antropico e ambientale. La composizione percentuale delle forme biologiche presenti in questa zona mostra anche in questo caso una maggior composizione di terofite ed emicriptofite, seguite dalle fanerofite, con un aumento relativo di terofite nella zona interna al pianello (Fig. 27), che conferma gli effetti di presenza di disturbo.

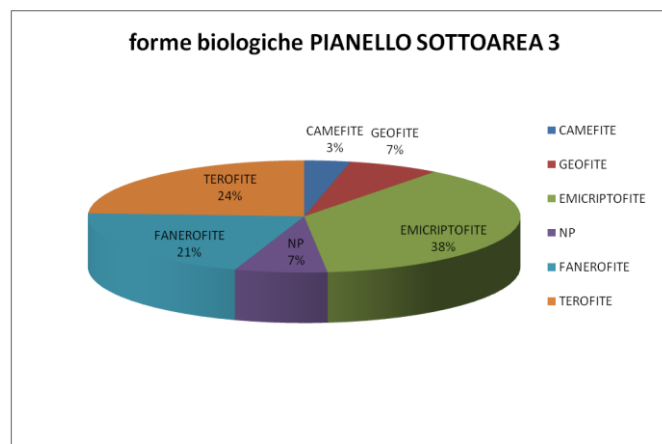


Fig. 27 - Composizione % delle forme biologiche nei pianelli

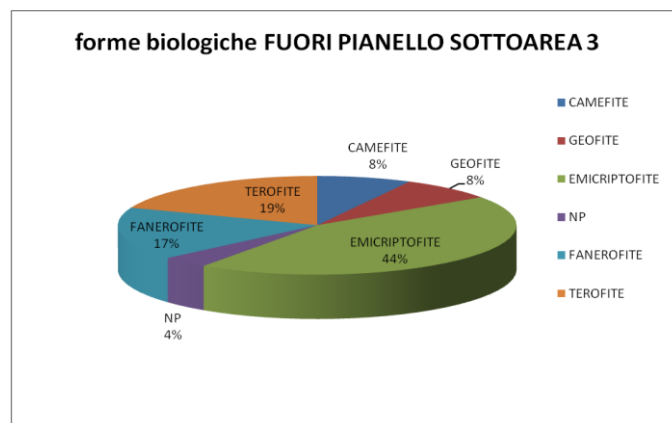


Fig. 28 - Composizione % delle forme biologiche nelle aree esterne ai pianelli

4.2.2 Analisi dei COROTIPI

Sottoarea 1

La composizione in corotipi mostra che sia la vegetazione interna alle aree dei pianelli (Fig. 29) sia la vegetazione nelle aree esterne (Fig. 30) è composta in massima parte da specie mediterranee ed eurasiatiche, dato che riflette la composizione tipica degli ambienti naturali di crescita del tartufo nero. Inoltre per questa sottoarea si può osservare un aumento delle specie boreali all'interno delle aree caratterizzate da presenza del corpo fruttifero del tartufo nero.

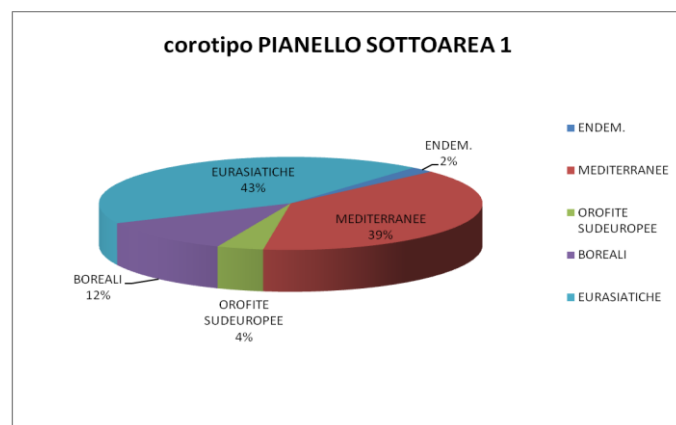


Fig. 29 - Composizione % dei corotipi nelle aree interne ai pianelli

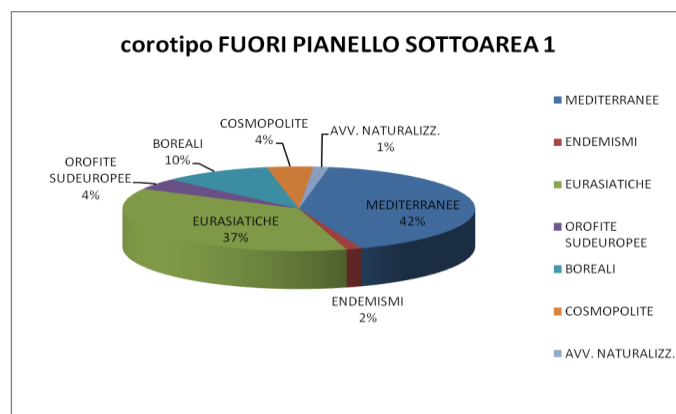


Fig. 30 - Composizione % dei corotipi nelle aree esterne ai pianelli

Sottoarea 2

In questa sottoarea si registra ancora una maggior composizione in specie mediterranee ed eurasiatiche, con una diminuzione di entrambi i gruppi nelle aree interne al pianello (Fig. 31) rispetto alle aree esterne (Fig. 32).

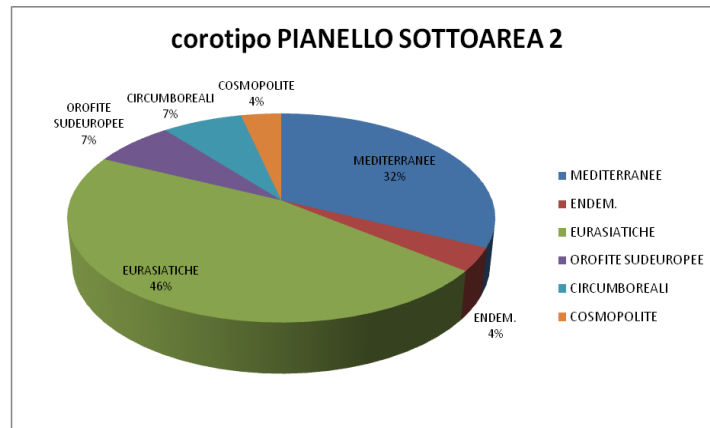


Fig. 31 - Composizione % dei corotipi nelle aree interne ai pianelli

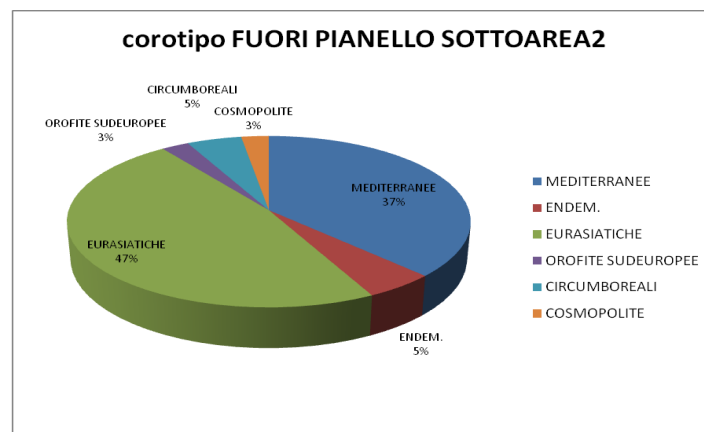


Fig. 32 - Composizione % dei corotipi nelle aree esterne ai pianelli

Sottoarea 3

La composizione percentuale di corotipi in questa sottoarea risulta essere dominata ancora da specie eurasiatiche e mediterranee, sia nelle zone interne (Fig. 33) che in quelle esterne ai pianelli (Fig. 34). Un dato rilevante risulta essere l'aumento di avventizie all'interno delle aree occupate dai corpi fruttiferi di tartufo, a probabile riprova della presenza di effetti di disturbo rispetto alle aree con assenza di corpo fruttifero.

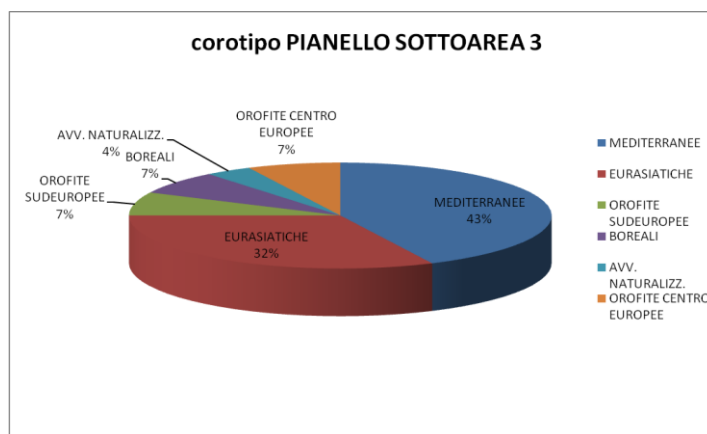


Fig. 33 - Composizione % dei corotipi nelle aree interne ai pianelli

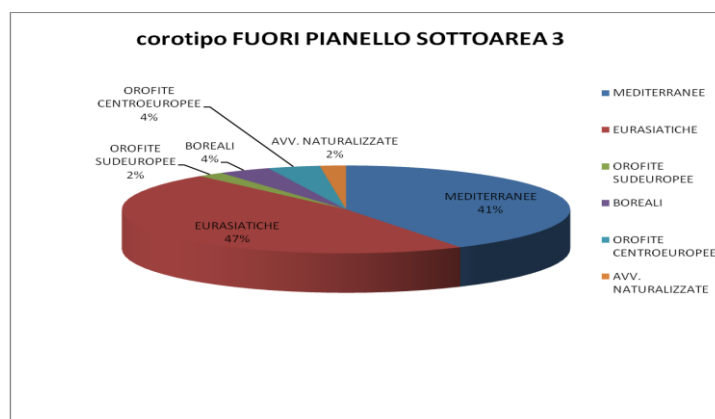


Fig. 34 - Composizione % dei corotipi nelle aree esterne ai pianelli

4.2.3 Valori di bioindicazione

L'analisi dei valori medi dei parametri di bioindicazione risultanti dall'applicazione del metodo di Ellenberg ha mostrato una comunità vegetale tipica di ambiente aperto e soleggiato, con valori di luminosità superiori a 7 e abbastanza secco, come dimostrato dai valori medi di umidità che si attestano attorno al 3.5 (Fig. 35). La reazione del pH risulta debolmente alcalina. I risultati di tutti i parametri sono in accordo con quelli tipici degli ambienti naturali a vocazione tartufigena. I confronti statistici effettuati tra i valori medi dei parametri ecologici delle comunità interne ai pianelli e quelli delle comunità esterne non hanno mostrato differenze significative.

SOTTOAREA 1	L	T	C	U	R	N
F	7,37	6,94	4,82	3,62	6,48	3,65
P	7,28	6,93	4,96	3,57	6,70	3,43
F - P	0,09	0,01	-0,14	0,05	-0,23	0,23
SOTTOAREA 2						
F	7,27	6,76	5,03	3,29	6,50	3,42
P	7,28	6,63	5,00	3,23	6,39	3,42
F - P	-0,01	0,14	0,03	0,06	0,11	0,00
SOTTOAREA 3						
F	7,20	6,79	5,07	3,55	6,90	3,20
P	6,90	6,59	4,93	3,72	6,57	3,71
F - P	0,30	0,20	0,14	-0,17	0,33	-0,51

Fig. 35 - valori medi dei parametri di bioindicazione risultanti dall'applicazione del metodo di Ellenberg, 1974

(L = luminosità, T = temperatura, C = continentalità, U = umidità, R = reazione del pH, N = nutrienti)

4.2 Fauna edafica

4.2.1 Analisi delle forme biologiche

ITALIA

Campioni anno 2010

Nelle tre sottoaree dell'area italiana sono stati osservati complessivamente 12 gruppi tassonomici alcuni dei quali tipici di ambienti boschivi: pseudoscorpioni, araneidi, acari, isopodi, diplopodi, sinfili, pauropodi, collemboli, emitteri, imenotteri, coleotteri (adulti e larve), e ditteri (adulti e larve). Nella sottoarea 1, caratterizzata da una minore naturalità rispetto alla 2 e alla 3, è stato osservato un numero di gruppi inferiore (da 2 a 7) rispetto alle altre due sottoaree, con l'assenza di gruppi ben adattati al suolo come pauropodi o gruppi tipici di ambienti boschivi come gli pseudoscorpioni. Il confronto tra la comunità edafica a microartropodi osservata fuori e dentro il pianello interessato dalla presenza del tartufo ha rilevato differenze evidenti solo nella sottoarea 3, dove la comunità edafica è risultata maggiormente diversificata nelle zone fuori dal pianello.

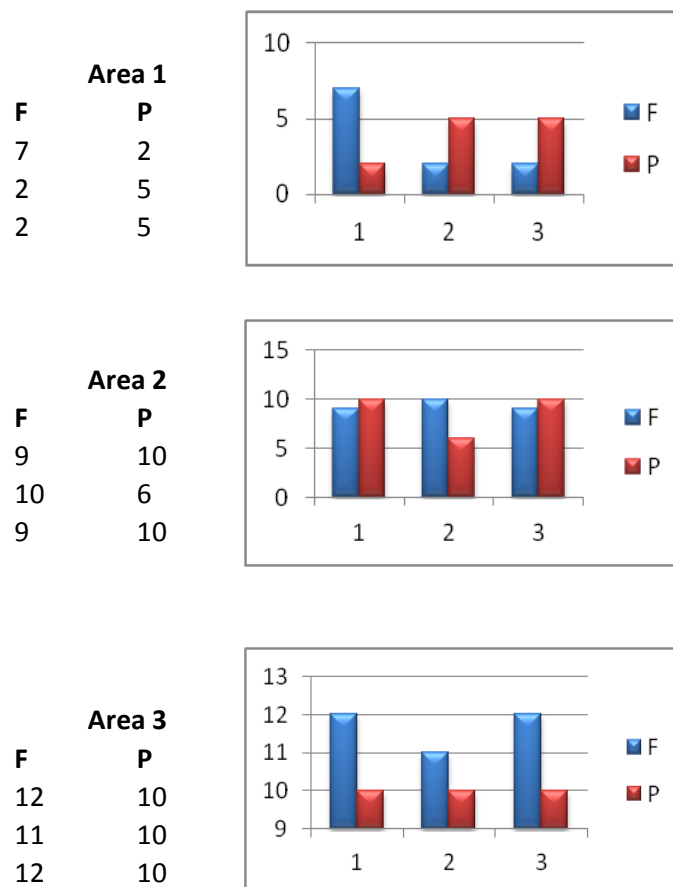


Fig. 36 – FB nei campioni italiani anno 2010 e confronto tra dentro (P) e fuori (F) il pianello interessato dalla presenza di tartufo

Campioni anno 2011

Nelle tre sottoaree sono stati osservati complessivamente 11 gruppi tassonomici alcuni dei quali tipici di ambienti boschivi: araneidi, acari, isopodi, diplopodi, sinfili, pauropodi, collemboli, emitteri, imenotteri (adulti e larve), coleotteri (adulti e larve), e ditteri (adulti e larve). Nella sottoarea 1, caratterizzata da una minore naturalità rispetto alla 2 e alla 3, è stato nuovamente osservato un numero di gruppi inferiore (da 3 a 10) rispetto alle altre due sottoaree, con l'assenza di gruppi tipici di ambienti boschivi come gli pseudoscorpioni, ma con presenza di alcuni gruppi ben adattati al suolo, come i pauropodi. Il confronto tra la comunità edafica a microartropodi osservata fuori e dentro il pianello ha rilevato differenze evidenti nelle sottoaree 2 e 3, dove la comunità edafica è risultata maggiormente diversificata nelle zone fuori dal pianello.

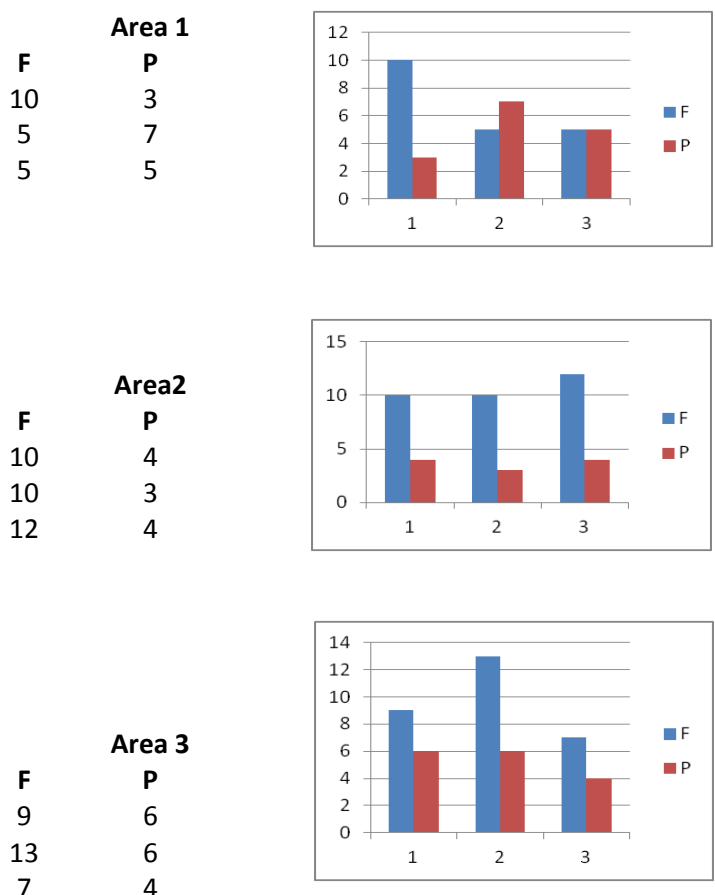


Fig. 37 – FB nei campioni italiani anno 2011 e confronto tra dentro (P) e fuori (F) il pianello interessato dalla presenza di tartufo

SPAGNA

Nell'area spagnola il numero di gruppi osservato è stato inferiore rispetto a quello italiano. Complessivamente sono stati osservati 10 gruppi tassonomici: araneidi, acari, diplopodi, sinfili, collemboli, emitteri, dermatteri, imenotteri, coleotteri (adulti e larve), e ditteri (adulti e larve). In tutte tre le sottoaree il numero di forme biologiche è risultato maggiore fuori dal pianello, dimostrando una chiara preferenza verso la condizione di assenza di corpo fruttifero.

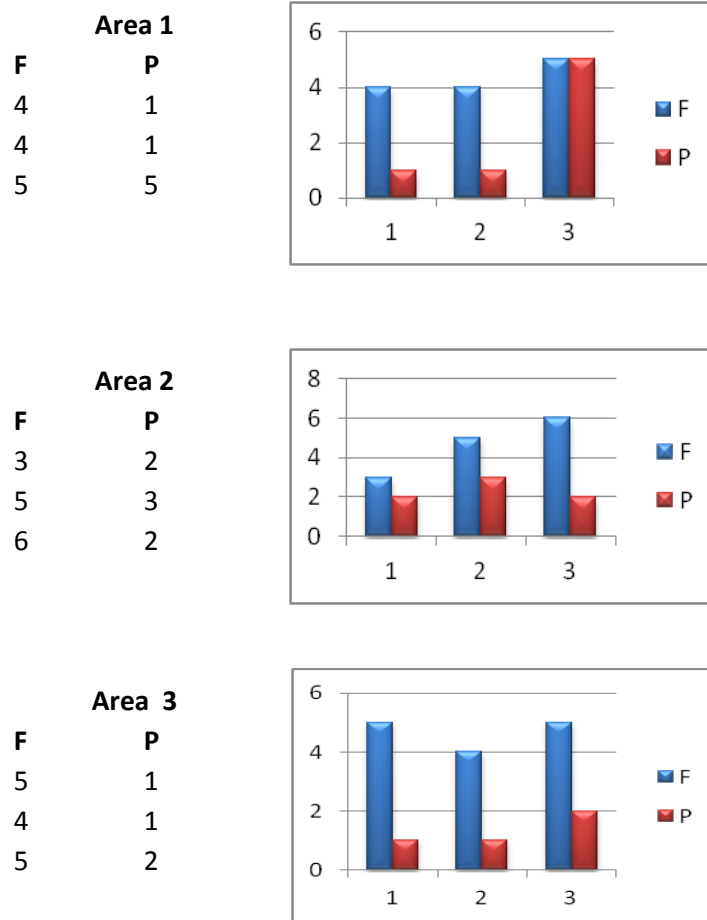


Fig. 38 – FB nei campioni spagnoli e confronto tra dentro (P) e fuori (F) il pianello interessato dalla presenza di tartufo

4.2.2 Analisi della densità totale media dei gruppi di microartropodi

La determinazione delle forme biologiche ha permesso di dare una stima qualitativa sulla presenza/assenza dei gruppi sistematici in una determinata area; per una valutazione di tipo quantitativo si è proceduto, invece, alla conta degli individui appartenenti ad ogni gruppo sistematico e ad un confronto quantitativo tra la zona interessata dal pianello e la zona posta appena fuori al di fuori.

ITALIA

Campioni anno 2010

Sottoarea 1

La sottoarea 1 dell'area italiana è quella che presenta la minor naturalità rispetto alle altre sottoaree e questo fattore va ad influire sulla varietà della comunità edafica che risulta essere meno diversificata rispetto alle sottoaree 2 e 3. Il disturbo antropico di conseguenza rende più difficoltosa la possibilità di apprezzare le differenze esistenti tra dentro e fuori il pianello, tuttavia anche con una minore e meno diversificata comunità di microartropodi si possono osservare gli andamenti relativi alle densità calcolate, per ogni singolo gruppo, sulla media ottenuta sommando le densità di ogni stazione (3 stazioni per ogni sottoarea) ed elaborare informazioni utili per caratterizzare l'area di studio e soprattutto per comprendere le distribuzioni dei microartropodi fuori e dentro i pianelli interessati dalla presenza del tartufo.

Dalle osservazioni che si possono trarre dall'ambiente posto immediatamente fuori dai pianelli per la sottoarea 1 (Fig. 39) risulta che i collemboli e gli imenotteri sono i gruppi più abbondanti, in particolare solo i collemboli occupano più della metà della densità totale (cioè dell'intera comunità di microartropodi) dell'area fuori dai pianelli.

Oltre ai collemboli e agli imenotteri gli altri gruppi presenti con minore densità sono gli acari, i chilopodi, i sinfili, gli emitteri, i coleotteri e i ditteri (adulti e larve).

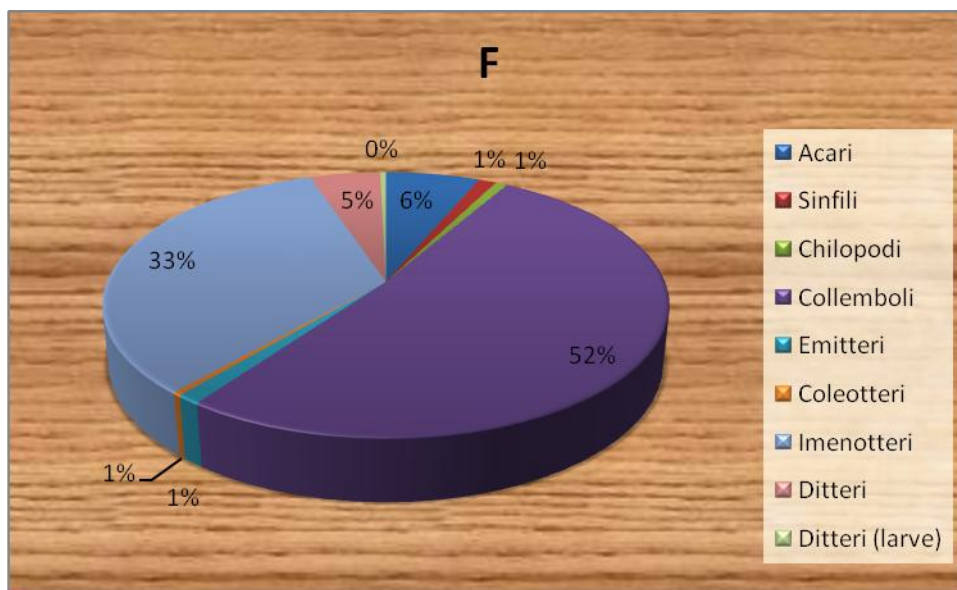


Fig. 39 – Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi fuori dal pannello nella sottoarea 1

Nei pannelli della sottoarea 1 (Fig. 40) la comunità edafica è meno diversificata; sono presenti 6 gruppi e mancano forme ben adattate al suolo come i sinfili e i chilopodi, osservati invece fuori dai pannelli. I collemboli sono ancora il gruppo più abbondante (42%), seguono i ditteri (19%) e gli altri gruppi a densità più basse ma tra loro paritarie: acari, imenotteri e coleotteri (larve e adulti).

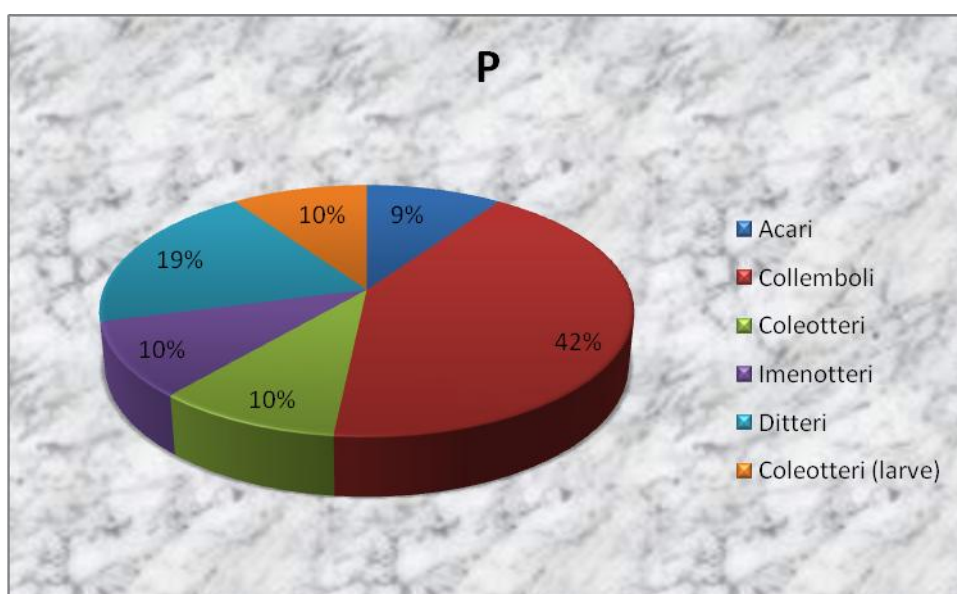


Fig. 40 - Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi all'interno del pannello nella sottoarea 1

Fuori dai pianelli, oltre ad una maggiore diversificazione della comunità edafica, c'è anche una maggior abbondanza generale dei gruppi osservati (Fig. 41).

Gli acari, i ditteri ed in particolare gli imenotteri e i collemboli sono i gruppi che hanno la maggior tendenza a prediligere l'ambiente esterno ai pianelli.

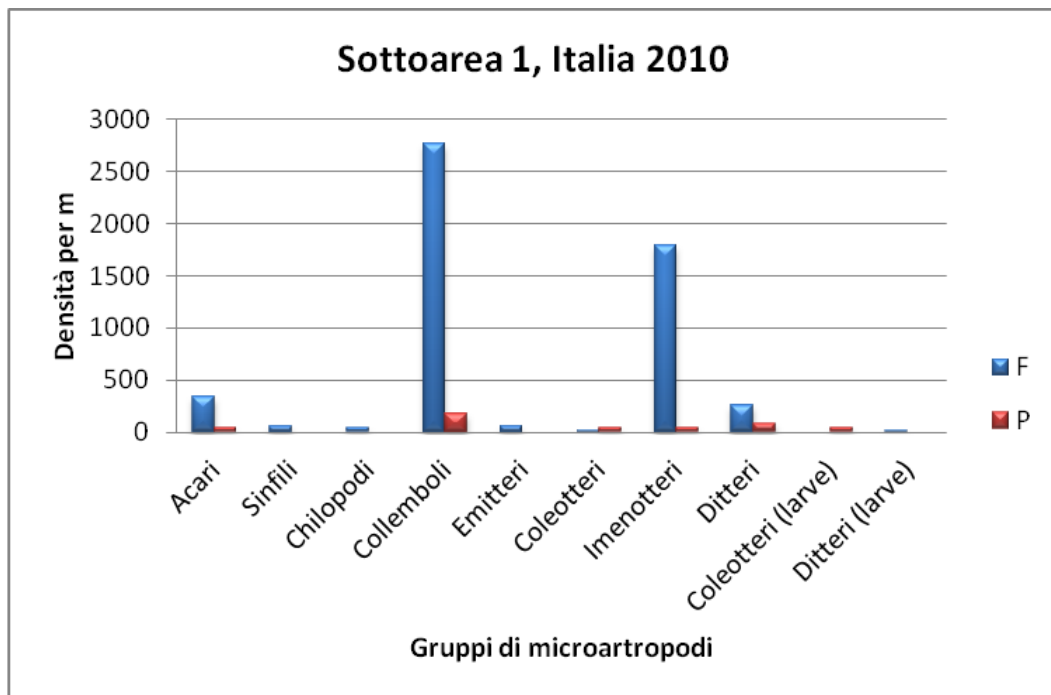


Fig. 41 – Confronto delle densità per mq per ogni gruppo sistematico rinvenuto fuori e dentro il pannello della sottoarea 1

Sottoarea 2

La sottoarea 2, più diversificata rispetto alla precedente, mostra una comunità edafica con densità distribuite relativamente in modo omogeneo tra i vari gruppi. Fuori dal pianello (Fig. 42) i collemboli sono i più abbondanti (27%) ma anche i ditteri (25%) sono ben rappresentati; con uno scarto non troppo elevato risultano ancora abbondanti gli acari (19%) e gli imenotteri (14%). Si attestano a densità più basse, invece, i diplopodi, i sinfili, gli araneidi, gli emitteri e le larve di dittero e di coleottero.

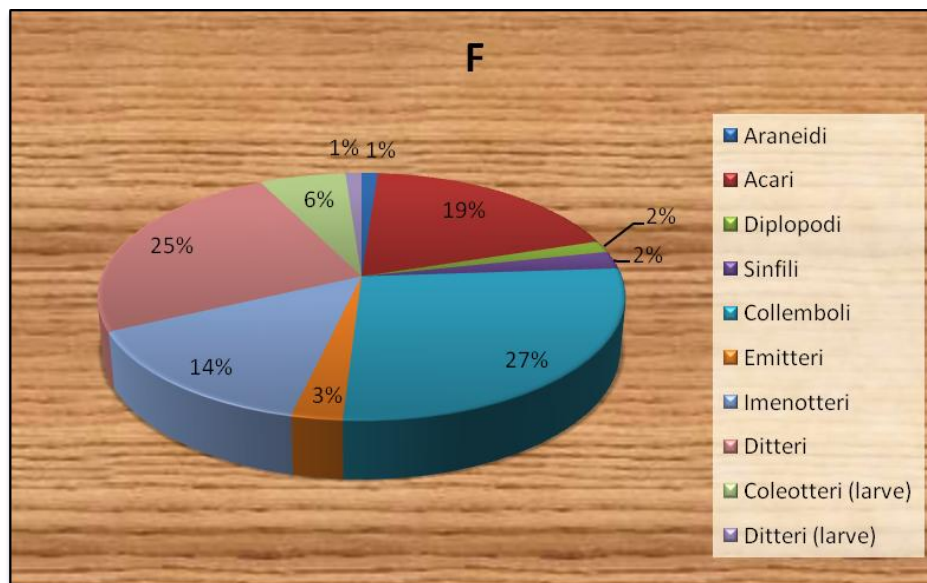


Fig. 42 - Rapporti percentuali densità per mq dei gruppi di microartropodi fuori dal pianello nella sottoarea 2

Nei pianelli (Fig. 43) si inverte l'andamento presentato fuori dai pianelli, cioè i ditteri risultano il gruppo più abbondante (32%) e i collemboli invece il secondo (18%).

Relativamente alte rimangono le percentuali di densità degli acari (13%) e degli imenotteri (12%), mentre a valori più bassi si attestano gli altri gruppi. Confrontando le aree esterne ed interne al pianello della sottoarea 2 si osserva che i pianelli sono maggiormente diversificati delle zone esterne; infatti, oltre ad aver ritrovato tutti i gruppi presenti fuori dal pianello, sono stati osservati anche gli isopodi, le forme adulte di coleottero e i dipluri, un gruppo euedafico. Le densità di questi gruppi sono comunque basse.

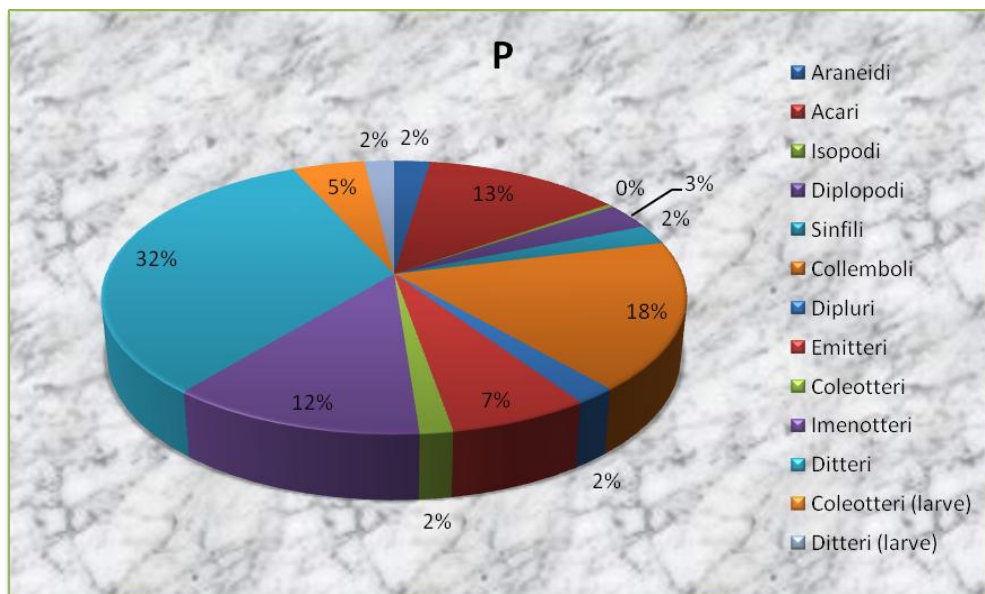


Fig. 43 - Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi all'interno del pianello nella sottoarea 2

Dal confronto delle densità per i gruppi sistematici osservati nella sottoarea 2 presenti sia dentro che fuori dai pianelli (Fig. 44) non risulta per nessuno di essi una preferenza significativa per un ambiente rispetto all'altro, tranne forse per gli emitteri per i quali viene indicata una densità più alta nei pianelli.

Pur tuttavia oltre agli emitteri ci sono altri gruppi che prediligono l'ambiente suolo dei pianelli: araneidi, diplopodi, ditteri (adulti e larve). Alcuni, invece, hanno densità più elevate fuori dai pianelli: acari, collemboli, imenotteri e larve di coleottero; i primi tre mostrano, sebbene in modo meno accentuato, lo stesso fenomeno osservato per la sottoarea 1.

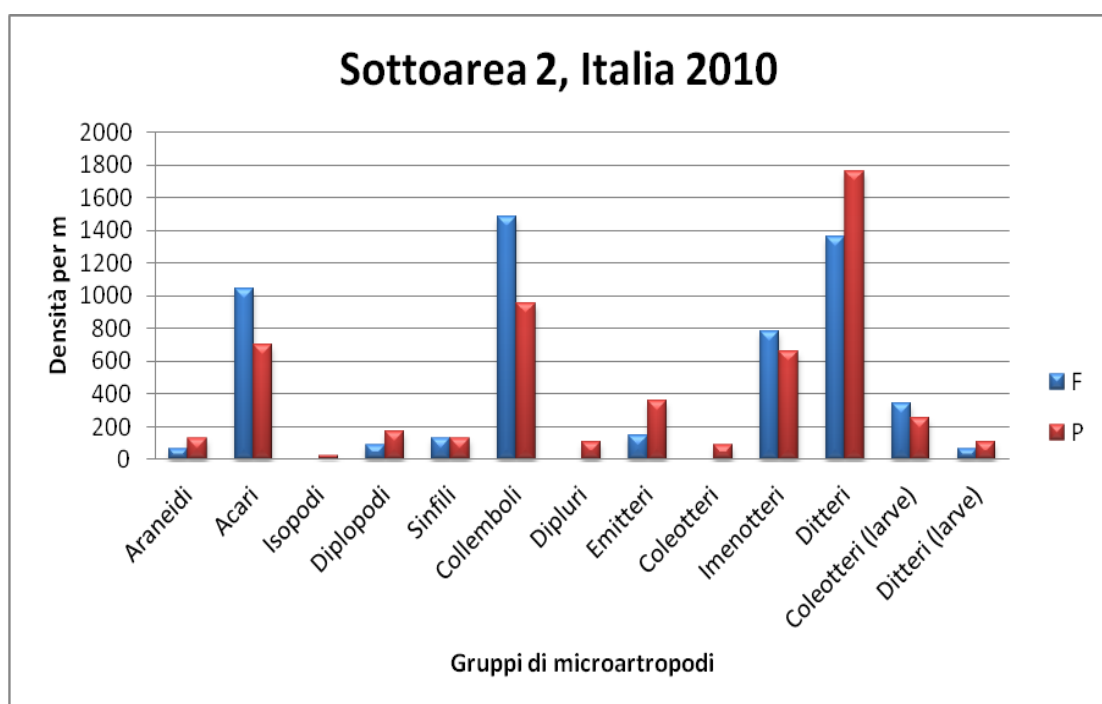


Fig. 44 – Confronto delle densità per mq per ogni gruppo sistematico rinvenuto fuori e dentro il pannello della sottoarea 2

Sottoarea 3

La sottoarea 3 presenta la maggior naturalità rispetto alle altre sottoaree e questa condizione si riflette nella composizione della comunità edafica più ricca di gruppi di microartropodi, con alcuni di essi tipici degli ambienti boschivi, come gli pseudoscorpioni e altri con forme ben adattate alla vita nel suolo, come i pauropodi e i proturi.

Alcuni gruppi sono stati trovati esclusivamente fuori dai pianelli (pseudoscorpioni ed isopodi), altri solo al loro interno (opilionidi ed embiotteri).

Fuori dai pianelli (Fig. 45) il gruppo che presenta la maggiore densità è quello degli acari (31%); l'abbondanza del gruppo è dovuta, probabilmente, alle minori condizioni di deterioramento del suolo nell'area 3 rispetto alle altre aree. I ditteri presentano, comunque, un piccolo scarto in percentuale in termini di abbondanza (28%) rispetto agli acari.

La modesta densità dei collemboli (13%) risente, probabilmente, della competitività degli acari. È importante sottolineare che l'area presenta, seppur in densità modesta, una comunità di microartropodi edafici costituita da: diplopodi, pauropodi, sinfili, proturi, pseudoscorpioni, che aumenta enormemente in termini di biomassa se consideriamo anche gli acari e le forme euedafiche di collemboli.

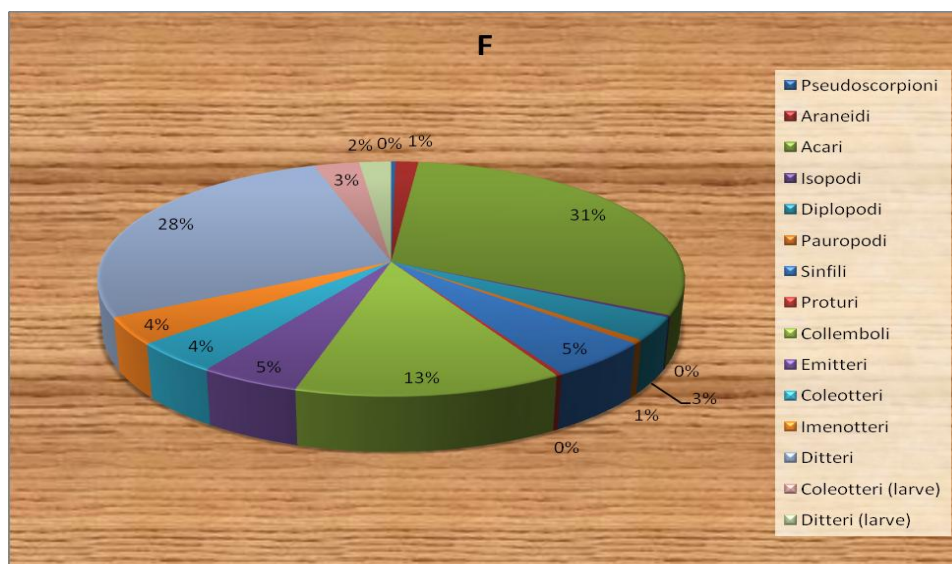


Fig. 45 - Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi fuori dal pianello nella sottoarea 3

Il basso degrado ambientale della sottoarea 3 condiziona anche i suoli dei pianelli che presentano una fauna edafica ben diversificata tanto quanto quella della zona posta fuori dai pianelli. Un'attenta analisi del grafico in figura 46 consente, però, di ottenere alcune informazioni aggiuntive rispetto a quelle già elaborate dal precedente grafico di figura 45 che riportava l'abbondanza relativa % dei gruppi presenti fuori dai pianelli.

Nei pianelli la densità media più alta appartiene alle forme adulte dei ditteri (36%); questo gruppo, tipicamente epigeo, non mostra particolari adattamenti alla vita del suolo e, chiaramente, non può essere incluso tra i gruppi sensibili alle condizioni dell'ambiente suolo, pertanto la sua abbondanza va interpretata come un mero dato di fatto senza la possibilità di assumere informazioni rilevanti circa il comportamento della comunità edafica nelle aree interessate dalla presenza di tartufo. Gli altri gruppi, anche se meno abbondanti dei ditteri, risultano invece più interessanti per l'interpretazione dei dati; in particolare si possono osservare due condizioni. La prima è che i collemboli sono più abbondanti degli acari, (densità % dei collemboli = 20%; densità % degli acari = 16%) e quindi viene invertito il trend presente fuori dai pianelli per la sottoarea 3 che vedeva gli acari più abbondanti dei collemboli. Sebbene i pianelli siano anch'essi condizionati positivamente dal buon grado di naturalità dell'area, le condizioni dettate dalla presenza del tartufo comportano una diminuzione degli acari.

La seconda osservazione che si può trarre dal grafico in figura 46 è che, sebbene gli effetti del tartufo nel suolo siano oggettivamente evidenti a partire dallo studio e dall'osservazione su campo dei pianelli, sono presenti, seppur con densità modeste, i gruppi euedafici, ben adattati alla vita nel suolo, come i sinfili, i diplopodi, i pauropodi e i proturi. In linea generale, comunque, la comunità eudafica totale dei pianelli (che include anche gli acari e le forme euedafiche di collemboli), risulta più bassa in termini di densità per area rispetto a quella osservata fuori dai pianelli. Questa considerazione può essere apprezzata più chiaramente confrontando i singoli gruppi sistematici presenti fuori e dentro i pianelli della sottoarea 3 (Fig. 47).

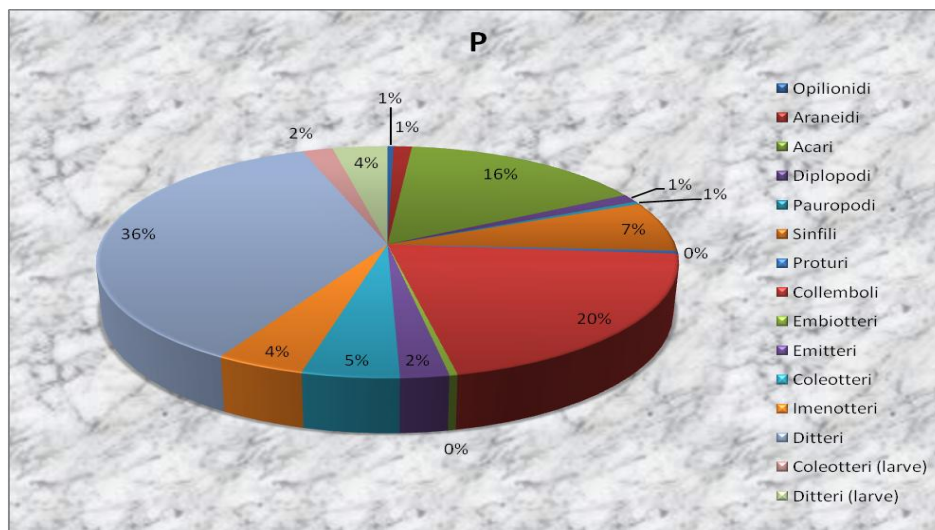


Fig. 46 – Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi all'interno del pianello nella sottoarea 3

In tutte tre le stazioni della sottoarea 3 il numero di forme biologiche è risultato maggiore fuori dal pianello.

Indagando i dati relativi ai singoli gruppi di microartropodi (Fig. 47), la densità di alcuni di essi è sensibilmente maggiore nel suolo campionato fuori dal pianello (aranei, acari, diplopodi, pauropodi, emitteri e larve di coleottero): essi dimostrano una chiara preferenza alla condizione di assenza del corpo fruttifero fungino.

Altri gruppi presentano più o meno le stesse densità sia dentro che fuori il pianello, solo le larve di dittero e i collemboli sono leggermente più abbondanti nei pianelli; i sinfili e i proturi sono distribuiti in modo omogeneo in termini numerici sia fuori che dentro i pianelli, mentre le forme adulte di dittero e di coleottero e gli imenotteri sono leggermente più abbondanti fuori dai pianelli. Per alcuni gruppi non si può dimostrare una chiara preferenza ad un ambiente rispetto all'altro perché le oscillazioni dei valori numerici sono minime, è presumibilmente opportuno ritenere che gli effetti diretti o indiretti dati dalla presenza del tartufo risultino di scarso interesse per la sopravvivenza o il condizionamento della vita di questi gruppi.

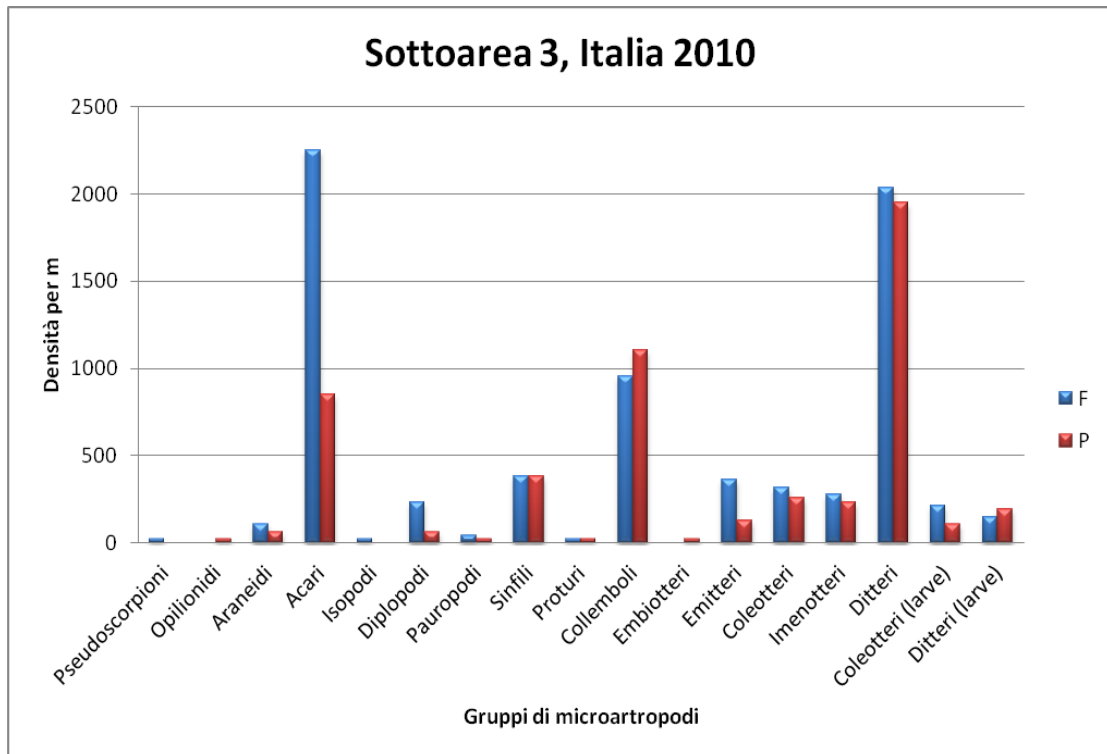


Fig. 47 – Confronto fra le densità per mq per ogni gruppo sistematico rinvenuto fuori e dentro il pianello della sottoarea 3

ITALIA

Campioni anno 2011

Sottoarea 1

Le osservazioni che si possono trarre dall'analisi dell'ambiente posto immediatamente all'esterno dei pianelli per la sottoarea 1 (Fig. 48) consistono nel fatto che acari, collemboli e imenotteri risultano essere i gruppi più abbondanti. In particolare, rispetto ai dati del campionamento effettuato nell'anno 2010, gli acari risultano essere più abbondanti dei collemboli e occupano più di metà della densità totale dell'area fuori dai pianelli. Oltre ai gruppi maggiormente rappresentati, ne risultano presenti altri come sinfili, diplopodi, chilopodi, dipluri, ditteri e coleotteri (larve).

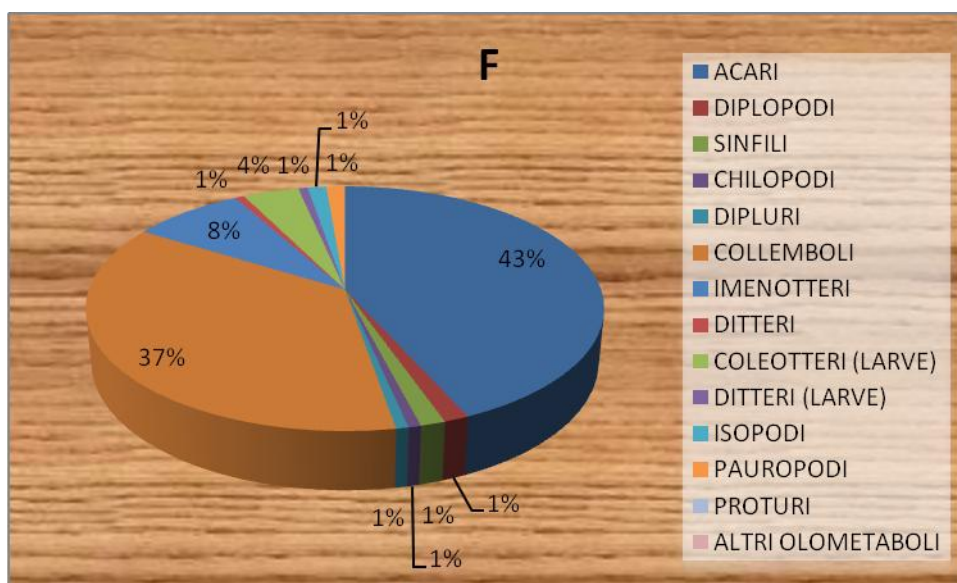


Fig. 48 – Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi fuori dal pannello nella sottoarea 1

Nell'area esterna ai pianelli della sottoarea 1 (Fig. 48) la comunità edafica risulta essere più diversificata rispetto all'area interna ai pianelli. Nell'area interna sono comunque presenti, oltre a collemboli e acari che rappresentano i gruppi più abbondanti, anche gruppi bene adattati al suolo come proturi, sinfili e dipluri. Inoltre, a differenza dell'area esterna al pannello, risultano essere più abbondanti i collemboli rispetto agli acari.

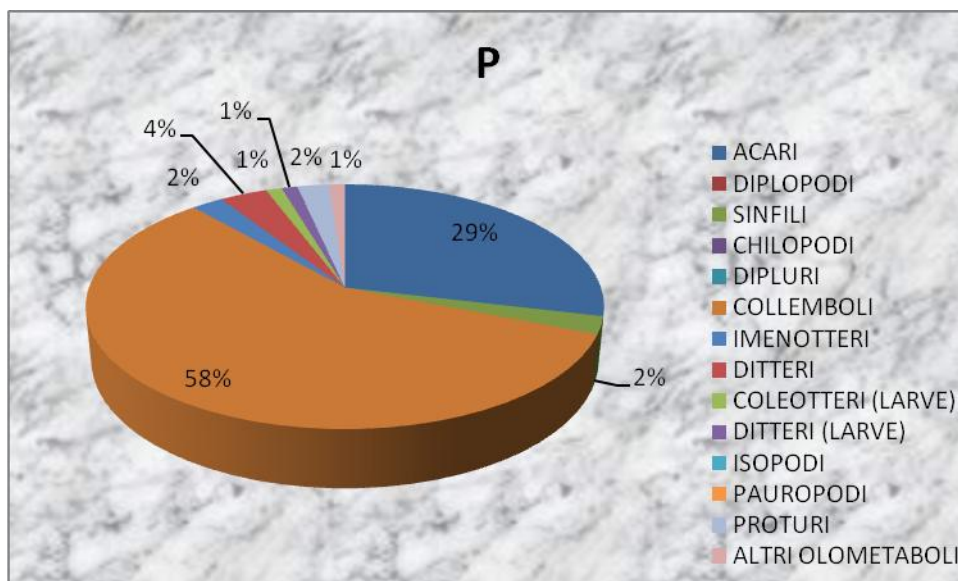


Fig. 49 - Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi all'interno del pannello della sottoarea 1

Per questa sottoarea, nella zona interna ai pannelli è stato rinvenuto un numero di gruppi minore rispetto alla zona esterna, il gruppo più rappresentato nell'area interna al pannello è quello dei collemboli (Fig. 49), seguito da quello degli acari.

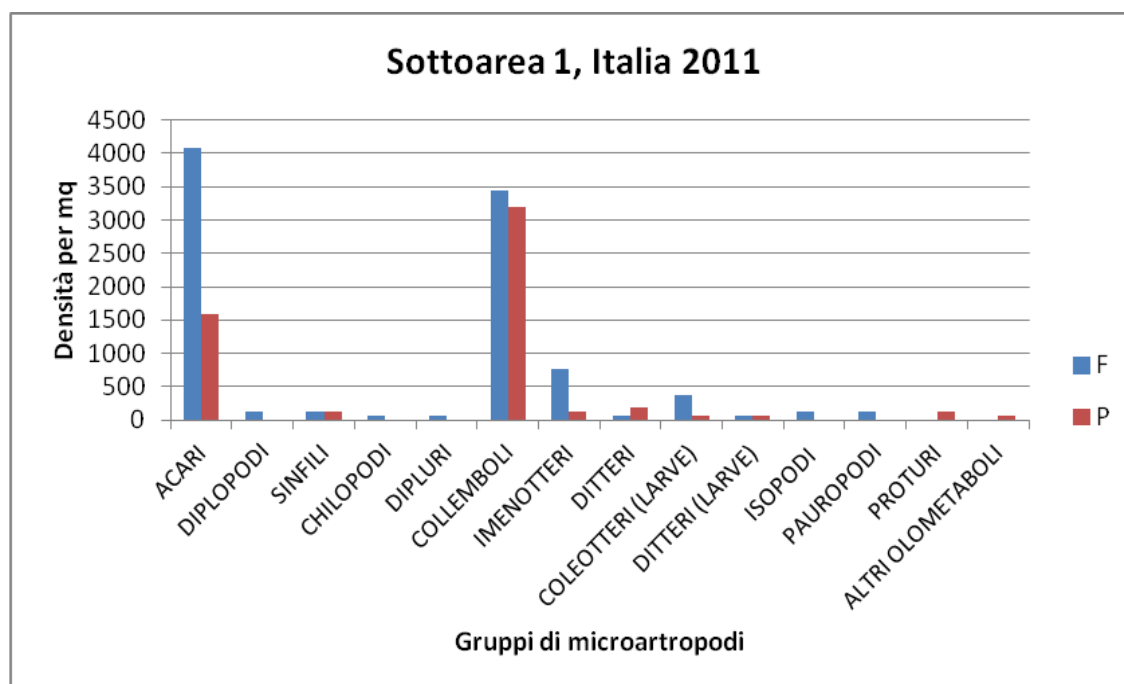


Fig. 50 – Confronto delle densità per mq per ogni gruppo sistematico rinvenuto fuori e dentro il pannello della sottoarea 1

Sottoarea 2

La sottoarea 2 risulta essere caratterizzata da un maggior grado di naturalità rispetto alla sottoarea 1, questo si riflette in un maggiore numero di gruppi presenti (Fig. 51). Il gruppo più rappresentato risulta essere quello degli acari (51%), che occupa più della metà della composizione percentuale, seguito dal gruppo dei collemboli (17%) e da quello degli imenotteri (13%).

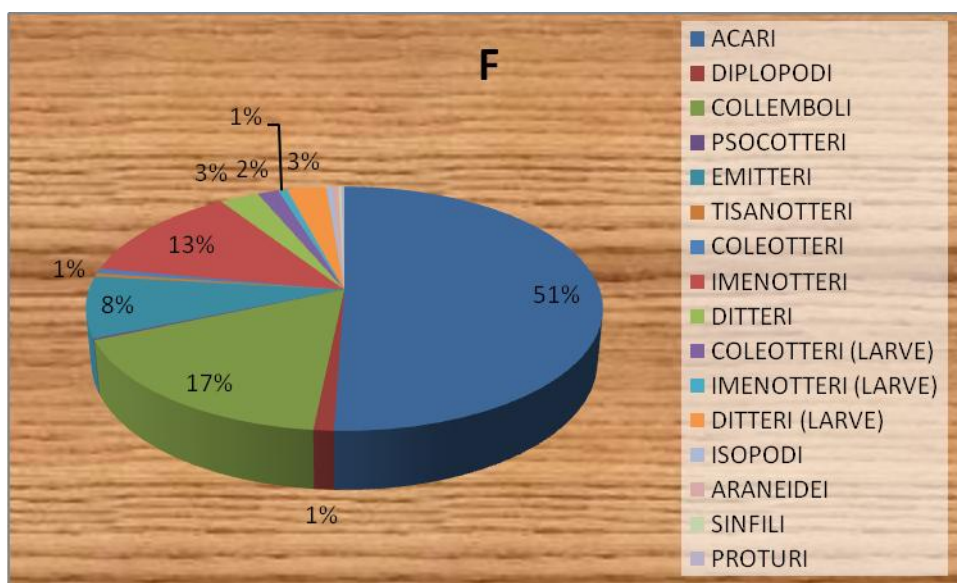


Fig. 51 - Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi fuori dal pannello nella sottoarea 2

Nell'area interna al pannello (Fig. 52) risulta una generale diminuzione di biodiversità. In questo ambiente i collemboli (72%) risultano essere prevalenti rispetto agli acari (16%), con un andamento inverso a quello presentato nell'area esterna ai pannelli. Nell'area interna ai pannelli, inoltre, non sono stati rinvenuti rappresentanti dei gruppi più adattati al suolo, come sinfili e proturi, presenti invece nell'area esterna ai pannelli.

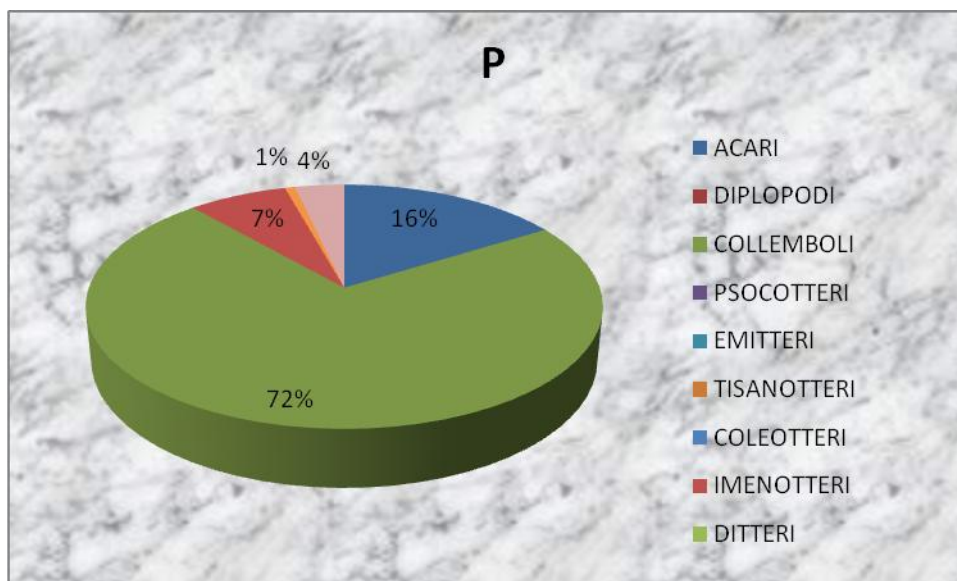


Fig. 52 – Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi all'interno del pianello della sottoarea 2

Dal confronto delle densità per i gruppi sistematici osservati nella sottoarea 2 presenti sia fuori che dentro al pianello (Fig. 53) risultano differenze di preferenza fra i due ambienti per alcuni gruppi. In particolare, gli acari sembrano dimostrare chiara preferenza per l'ambiente esterno al pianello, così come gli imenotteri. Il gruppo dei collemboli mostra invece una netta preferenza per l'ambiente interno al pianello.

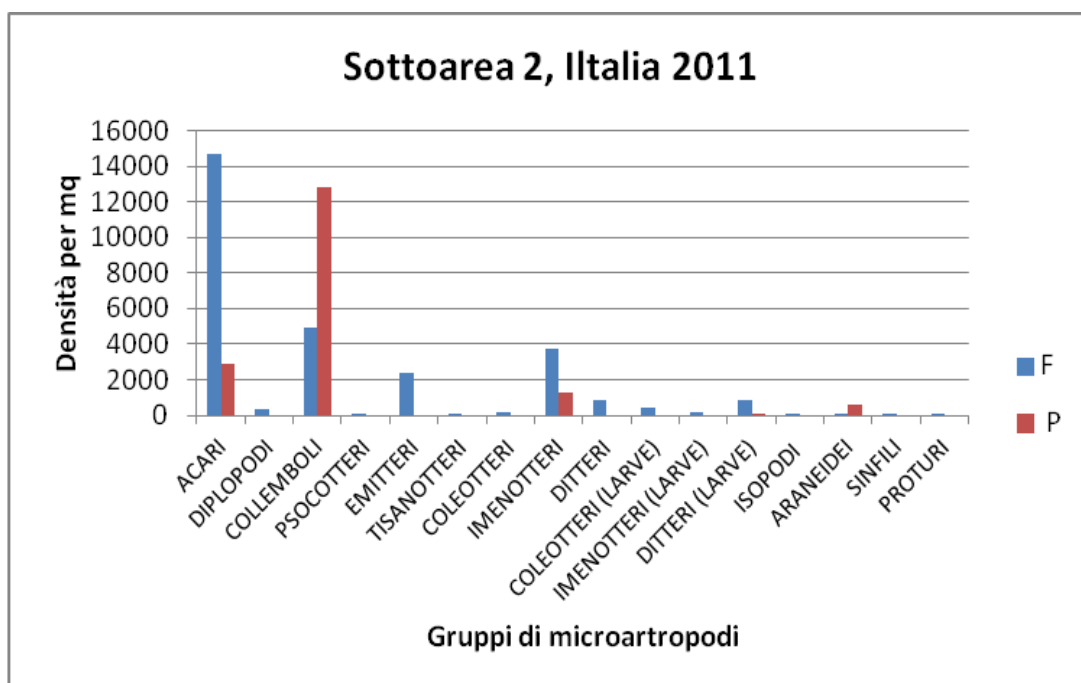


Fig. 53 – Confronto delle densità per mq per ogni gruppo sistematico rinvenuto fuori e dentro il pianello della sottoarea 2

Sottoarea 3

Nell'area esterna ai pianelli il gruppo maggiormente rappresentato risulta essere quello degli acari, a conferma dei risultati dell'analisi sui campioni dell'anno 2010. È inoltre confermata la minore biodiversità presente all'interno dell'area di pianello. Nell'area esterna al pianello (Fig. 54) la composizione risulta comunque maggiormente rappresentata dal gruppo degli acari (49%), seguito da quello dei collemboli (19%).

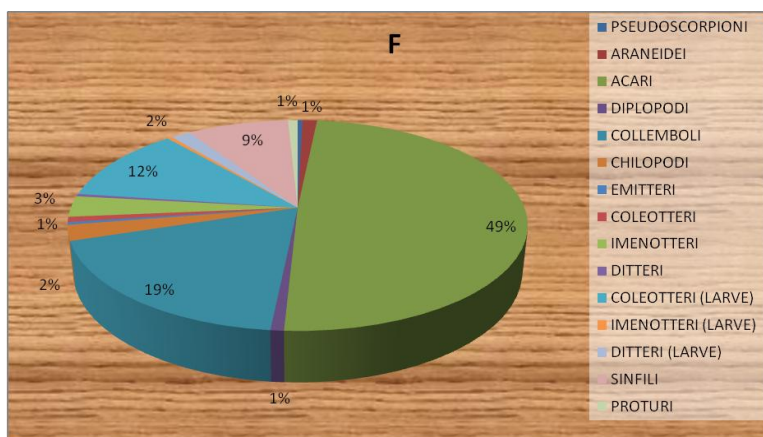


Fig. 54 - Rapporti in percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi fuori dal pianello nella sottoarea 3

Nell'area interna ai pianelli (Fig. 55) si riscontra una diminuzione nel numero dei gruppi, ma la composizione percentuale risulta essere sempre dominata dal gruppo degli acari (41%), seguito dal gruppo dei collemboli (39%). Questi dati rappresentano un andamento diverso rispetto a quello mostrato dai dati raccolti nell'anno 2010, in cui risulta invertito il trend di presenza che vede dominanti i collemboli rispetto agli acari nelle aree di pianello.

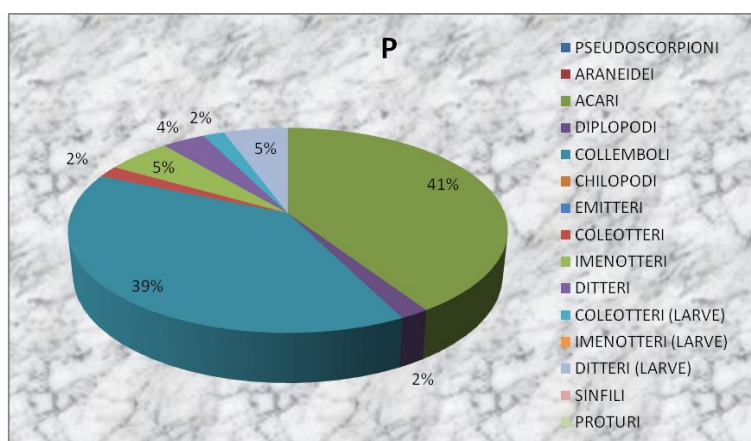


Fig. 55 – Rapporti in percentuale di densità per mq dei gruppi di microartropodi all'interno del pianello nella sottoarea 3

Le densità medie dei singoli gruppi risultano essere sempre maggiori nelle aree esterne al pianello (Fig. 56). Anche in questo caso, gli acari dimostrano una chiara preferenza per l'ambiente esterno. I dati sulle densità relativi all'anno 2011 risultano confermare la preferenza mostrata dagli acari per l'ambiente esterno al pianello, mentre il gruppo dei collemboli mostra un andamento opposto, a quello della sottoarea precedente.

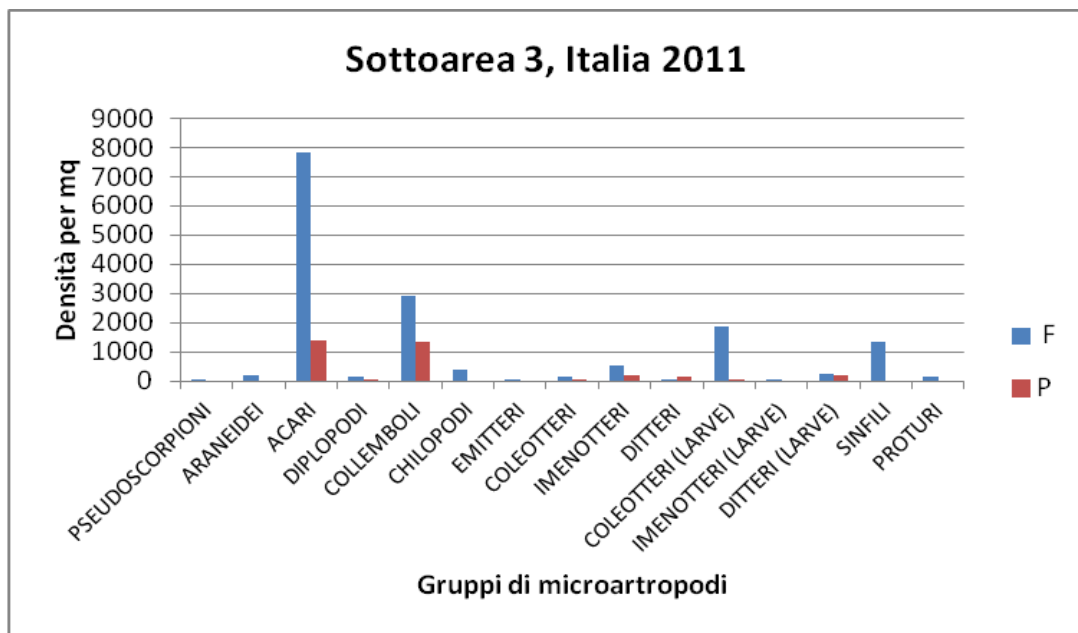


Fig. 56 – Confronto delle densità per mq per ogni gruppo sistematico rinvenuto fuori e dentro il pianello nella sottoarea 3

SPAGNA

Campioni anno 2010

Sottoarea 1

Nelle sottoaree spagnole è stato osservato un minor numero di gruppi di microartropodi e generalmente con densità più basse rispetto alle aree italiane. Fuori dai pianelli della sottoarea 1 (Fig. 57) oltre la metà della densità totale della comunità a microartropodi è costituita dagli acari. Gli acari sono numericamente più del doppio degli imenotteri (23%) e dei collemboli (21%). Sono presenti anche gli emitteri e i ditteri ma con densità molto più basse (rispettivamente 3% e 2%).

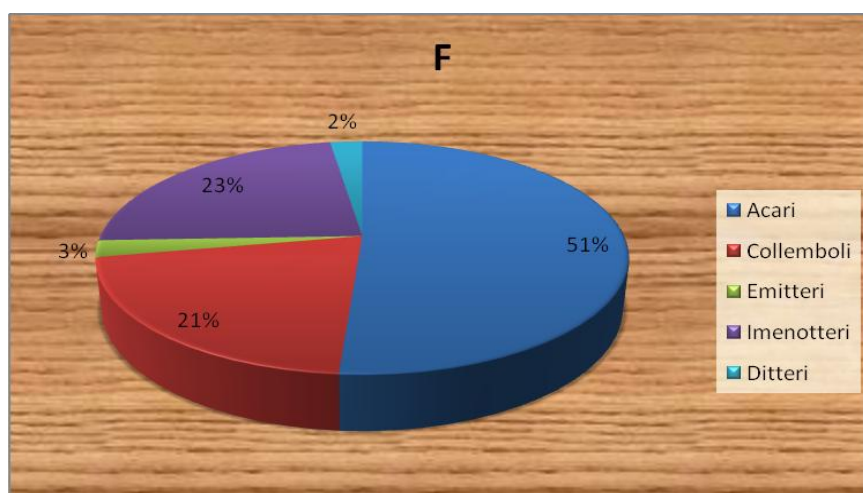


Fig. 57 - Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi fuori dal pianello nella sottoarea 1

La comunità di microartropodi presente nei pianelli della sottoarea 1 (Fig. 58) è costituita in gran parte dagli acari (71%), mentre le densità più basse appartengono alle larve di coleottero (15%), non osservate fuori dai pianelli, ai collemboli (8%), agli imenotteri (4%) e ai sinfili (2%) gruppo eudafico che diversamente a quanto si potrebbe ipotizzare è stato rinvenuto solamente all'interno dei pianelli e non al loro esterno, dove il suolo è meno alterato. Le aree spagnole sono localizzate in località boschive di montagna, abbastanza lontane dalle condizioni di degrado dovute all'impatto antropico, sono pertanto aree con un buon livello di naturalità.

Le condizioni di naturalità della sottoarea 1 si riflette sull'alta densità degli acari rispetto gli altri gruppi, in particolare quando un territorio presenta un basso degrado del suo ambiente gli acari

sono più numerosi dei collemboli (l'altro gruppo che, secondo la letteratura, presenta il più alto numero di individui in un territorio), viceversa se l'ambiente suolo dell'area fosse degradato si avrebbe una diminuzione degli acari, più sensibili rispetto ai collemboli, mentre questi ultimi aumenterebbero in termini di numero e di biomassa, perché progressivamente si ridurrebbe il gruppo degli acari con cui sono in competizione e perché sono meno sofferenti circa le condizioni che portano ad un maggiore degrado dell'ambiente.

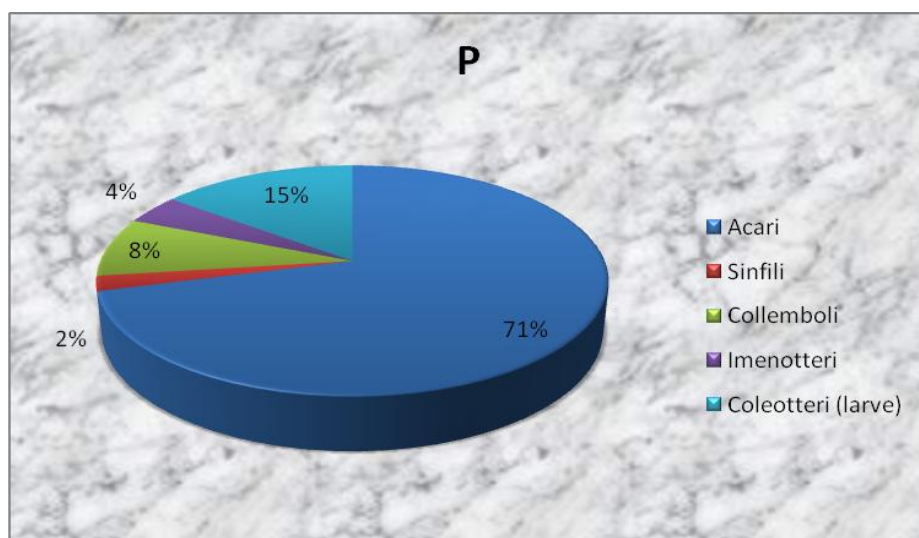


Fig. 58 – Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi all'interno del pianello nella sottoarea 1

Indagando i dati relativi ai singoli gruppi di microartropodi (Fig. 59), la densità di acari, collemboli ed imenotteri è maggiore nel suolo campionato fuori dal pianello, dimostrando una chiara preferenza in particolare per gli imenotteri alla condizione di assenza di corpo fruttifero del tartufo.

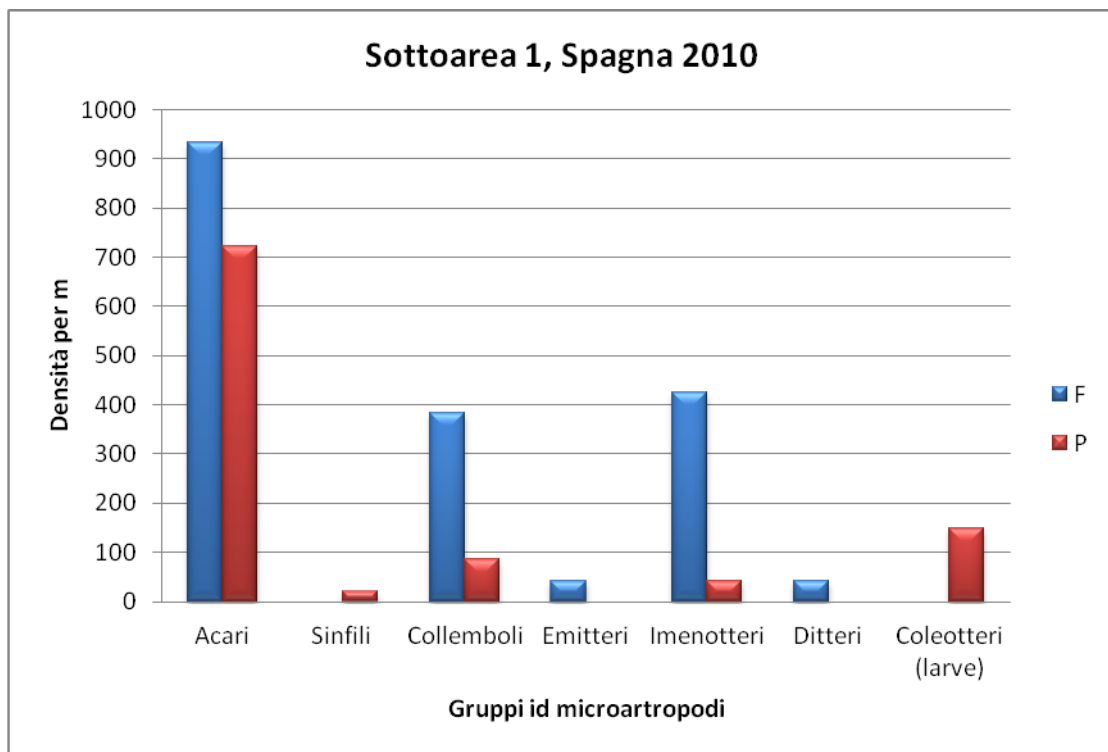


Fig. 59 - Confronto delle densità per mq per ogni gruppo sistematico rinvenuto fuori e dentro il pianello nella sottoarea 1

Sottoarea 2

Fuori dal pianello della sottoarea 2 (Fig. 60) il gruppo più abbondante è quello dei collemboli (38%), seguono acari (22%) ed imenotteri (22%).

I gruppi che presentano minore densità sono gli araneidi, i diplopodi, gli emitteri e le larve di coleottero e di dittero.

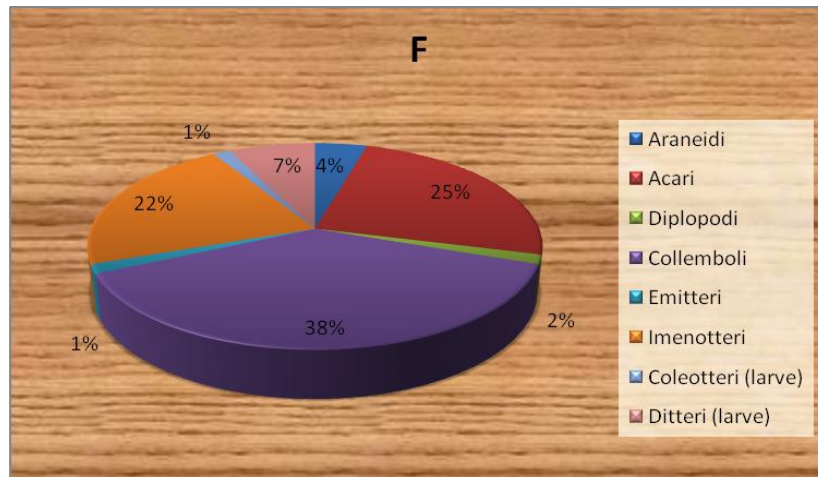


Fig. 60 - Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi fuori dal pianello nella sottoarea 2

Nei pianelli il 59% della densità totale della comunità edafica appartiene al gruppo degli acari (Fig. 61), mentre a valori più bassi ma tra loro relativamente equiripartiti si collocano gli emitteri (12%), le larve di dittero (12%), i collemboli (11%) e i sinfili (6%).

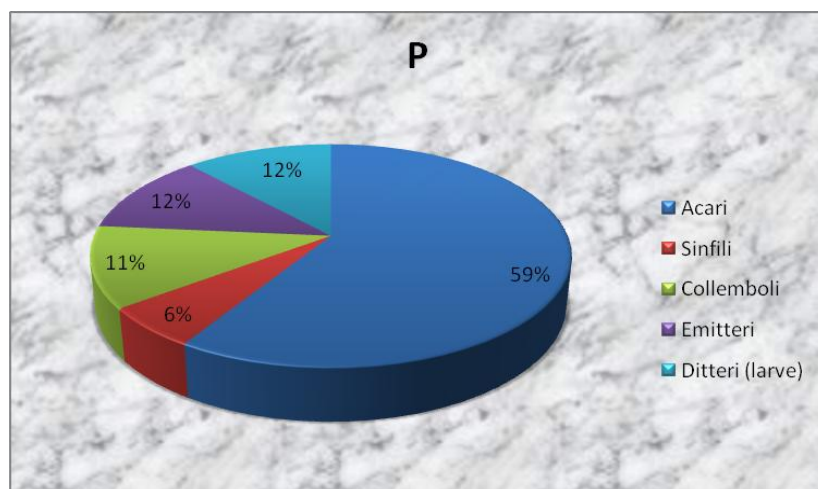


Fig. 61 - Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi all'interno del pianello nella sottoarea 2

La tendenza generale per la sottoarea 2 è che la maggior parte dei gruppi sia numericamente maggiore nei suoli posti fuori dai pianelli a tartufo prediligendo una minor concentrazione delle ife di tartufo nel loro ambiente.

Il confronto tra dentro e fuori il pianello su ogni singolo gruppo sistematico (Fig. 62) mostra come solamente i gruppi degli emitteri e dei sinfili prediligano i suoli dei pianelli, mentre tutti gli altri gruppi sono più abbondanti fuori dai pianelli, nella fattispecie i collemboli hanno densità molto alte fuori dai pianelli e per contro sono numericamente molto meno all'interno degli stessi. Anche per gli imenotteri è stata calcolata una densità alta fuori dai pianelli mentre non sono stati osservati nei campioni di suolo presi al loro interno.

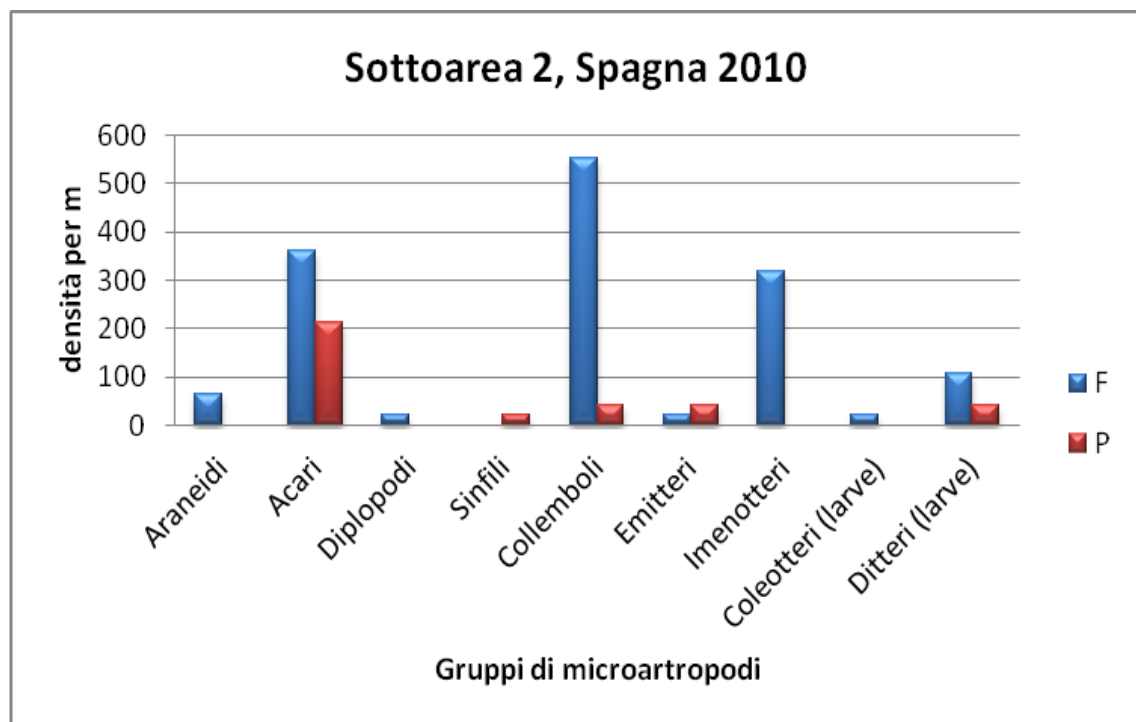


Fig. 62 – Confronto delle densità per mq per ogni gruppo sistematico rinvenuto fuori e dentro il pianello nella sottoarea 2

Sottoarea 3

Fuori dai pianelli della sottoarea 3 (Fig. 63) la maggior parte della composizione di individui della comunità edafica a microartropodi appartiene al gruppo degli acari (72%). Gli altri gruppi osservati mostrano densità di pochi punti percentuali, ad eccezione delle larve di dittero che hanno un valore del 13%. Diversamente dalle altre sottoaree i collemboli e gli imenotteri presentano una densità molto bassa nell'area fuori dai pianelli (rispettivamente 3% e 2%).

Questa è l'unica area in cui è stato osservato il gruppo dei dermatteri.

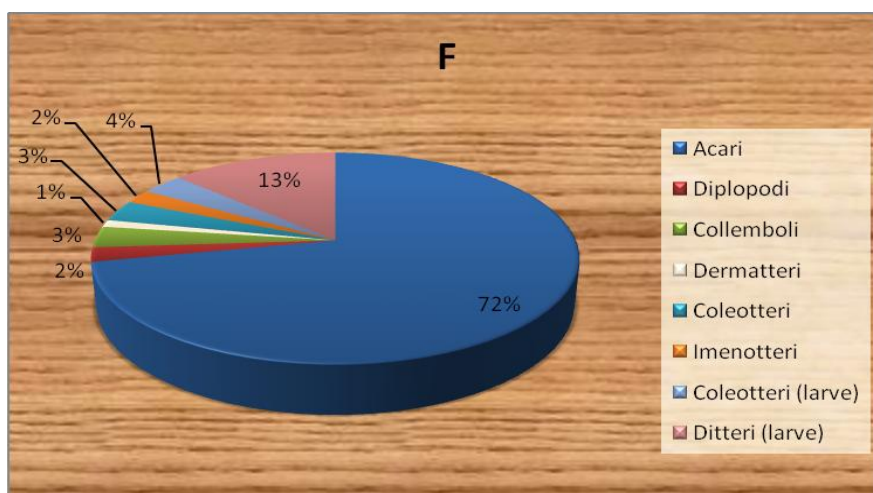


Fig. 63 – Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi fuori dal pianello nella sottoarea 3

I pianelli dell'area 3 presentano solamente 3 gruppi (Fig. 64): gli acari (73%), gli imenotteri (18%) e le forme adulte di coleottero (9%). Sono assenti i collemboli e i gruppi di microartropodi prettamente euedafici.

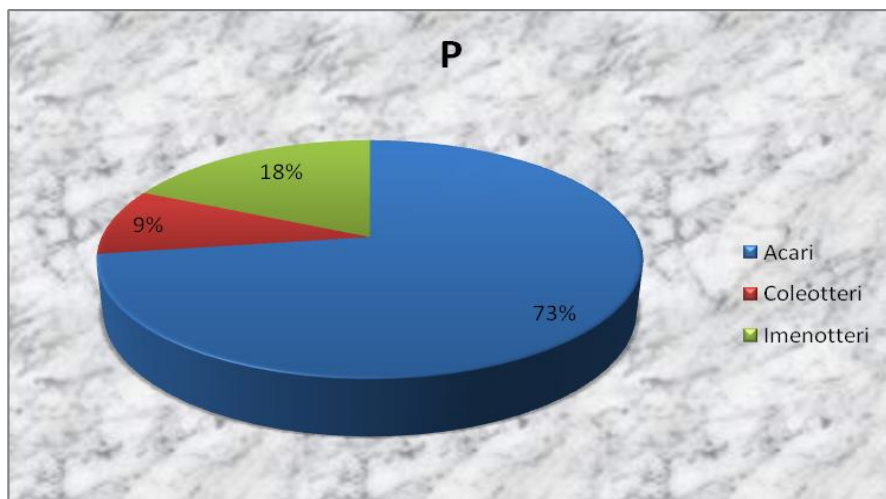


Fig. 64 – Rapporti percentuali di densità per mq dei gruppi di microartropodi all'interno del pianello nella sottoarea 3. Indagando i dati relativi ai singoli gruppi di microartropodi (Fig. 65), la densità di acari e coleotteri è maggiore nel suolo campionato fuori dal pianello, dimostrando una chiara preferenza, in particolare da parte degli acari, alla condizione di assenza dell'ascocarpo fungino.

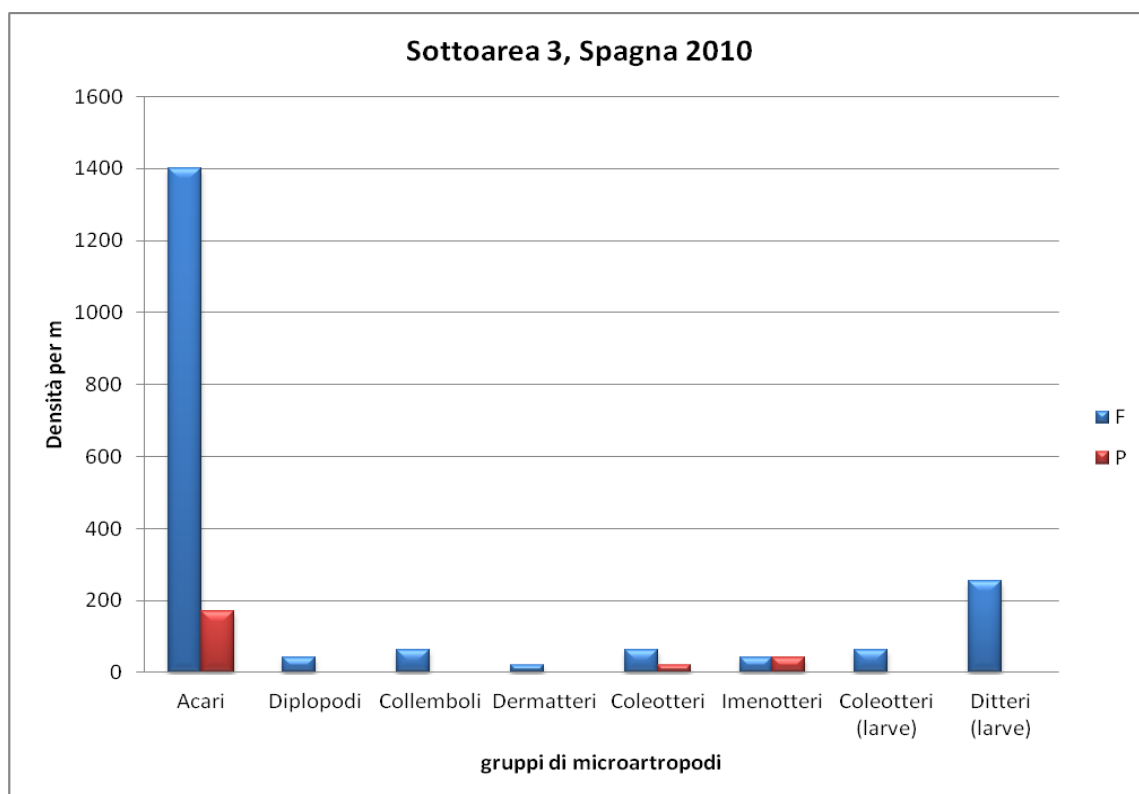


Fig. 65 – Confronto delle densità per mq per ogni gruppo sistematico rinvenuto fuori e dentro il pianello della sottoarea 3

4.2.3 Indagine sulla densità dei gruppi di microartropodi ritenuti maggiormente significativi per il confronto tra l'ambiente esterno e interno al pianello

Indagando i dati relativi ai singoli gruppi di microartropodi si è potuta confrontare la densità presente nei pianelli e all'esterno di essi per ogni area campionata, al fine di individuarne le differenze per verificare se la presenza di tartufo abbia effetto sull'abbondanza dei gruppi per i quali era già stata precedentemente confermata la presenza in entrambi gli ambienti. Per i campioni raccolti nelle località italiane è stato scelto di indagare i gruppi di acari e imenotteri, mentre per quelli raccolti in Spagna si è proceduto all'indagine di acari, imenotteri e collemboli.

ITALIA

Acari

La densità degli acari è maggiore nel suolo campionato fuori dal pianello per tutte tre le sottoaree (Fig. 66 e 67), dimostrando una chiara preferenza da parte di questo gruppo alla condizione di assenza di corpo fruttifero. Questo risultato risulta confermato sia per i campioni dell'anno 2010 che per quelli dell'anno 2011.

Nella sottoarea 1, caratterizzata da una minore naturalità rispetto alla 2 e alla 3 è stato osservato un minor numero di individui sia dentro che fuori i pianelli, mentre la sottoarea 3 è quella che presenta i valori di densità più alti e anche quella con la differenza più evidente tra fuori e dentro i pianelli, per quanto risulta dai campioni dell'anno 2010.

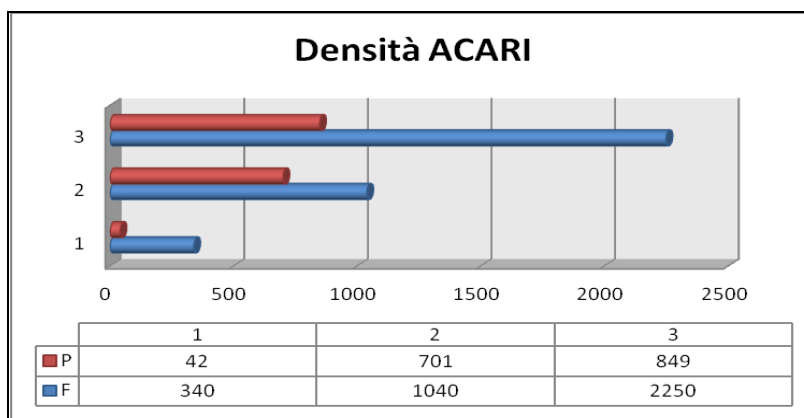


Fig. 66 – Densità per mq degli acari: confronto tra dentro e fuori i pianelli delle sottoaree italiane, 2010

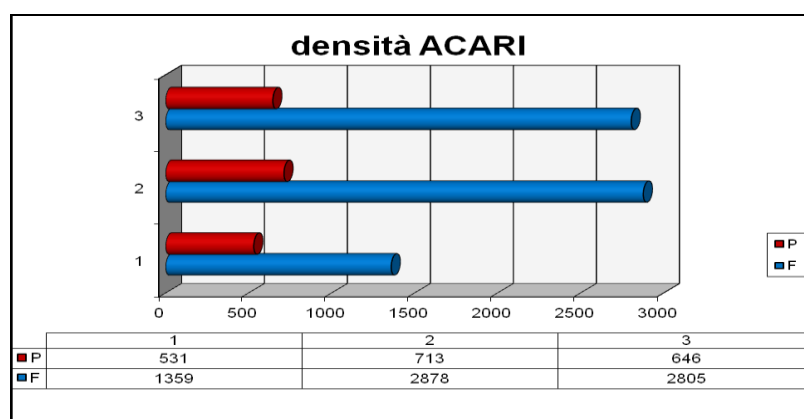


Fig. 67 – Densità per mq degli acari: confronto tra dentro e fuori i pianelli delle sottoaree italiane, 2011

Imenotteri

La densità degli imenotteri è maggiore nel suolo campionato fuori dal pianello per tutte tre le sottoaree (Fig. 68 e 69), dimostrando una chiara preferenza da parte di questo gruppo alla condizione di assenza dell'ascocarpo; ma solo per la sottoarea 1 è evidente la differenza tra la densità riscontrata fuori dai pianelli e quella al loro interno, differenza che risulta statisticamente significativa nei campioni dell'anno 2011.

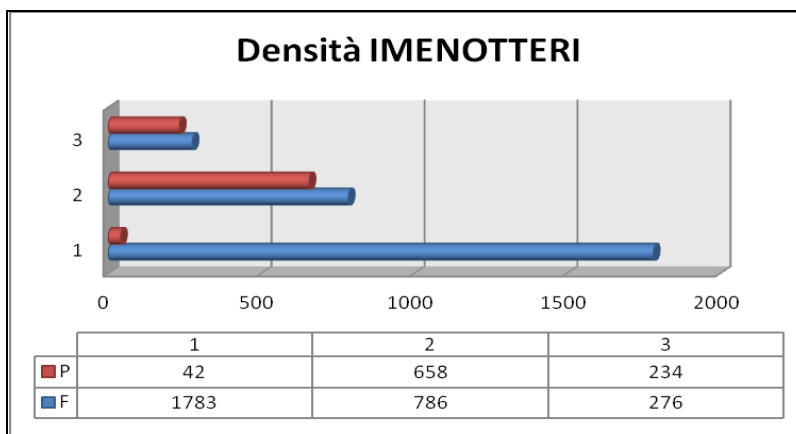


Fig. 68 – Densità per mq degli imenotteri: confronto tra dentro e fuori i pianelli nelle sottoaree italiane, 2010

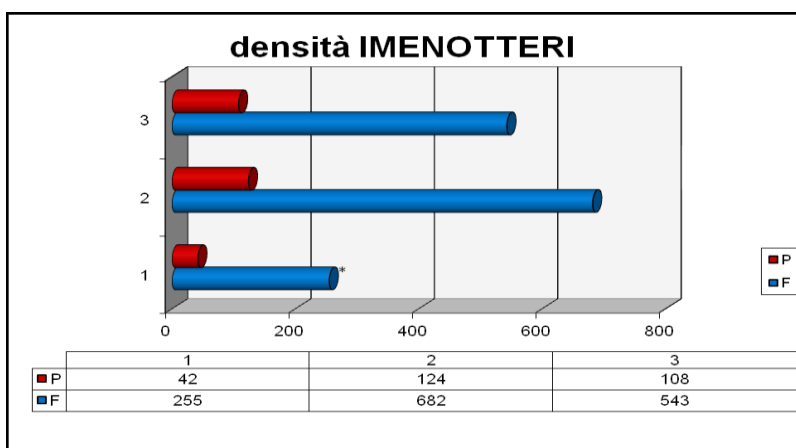


Fig. 69 - Densità per mq degli imenotteri: confronto tra dentro e fuori i pianelli nelle sottoaree italiane, 2011

(* = $p < 0.05$)

SPAGNA

Acari

La densità degli acari è maggiore nel suolo campionato fuori dal pianello per tutte tre le sottoaree (Fig. 70), dimostrando, ancora una volta, una preferenza da parte di questo gruppo alla condizione di assenza del corpo fruttifero del micelio, tuttavia una differenza evidente tra l'interno e l'esterno dei pianelli è apprezzabile solo per la sottoarea 3.

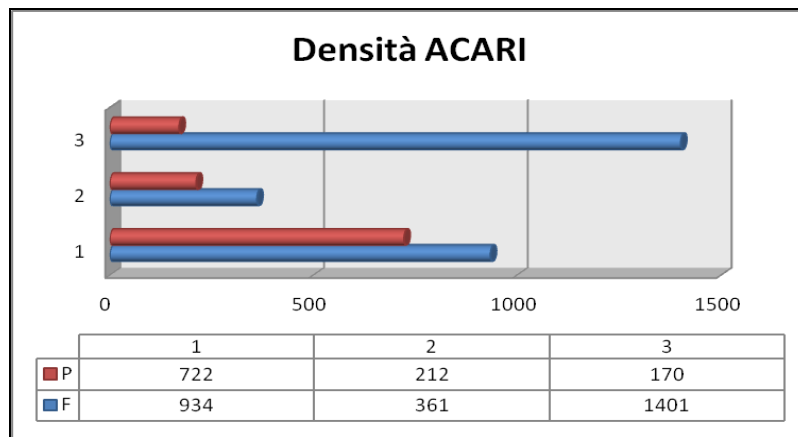


Fig. 70 - Densità per mq degli acari: confronto tra dentro e fuori i pianelli nelle sottoaree spagnole, 2010

Imenotteri

La densità degli imenotteri è maggiore nel suolo campionato fuori dal pianello solo per la sottoarea 1 e la sottoarea 2, tuttavia le differenze tra l'interno e l'esterno dei pianelli risultano molto evidenti (Fig. 71), pertanto è dimostrata una chiara preferenza per questo gruppo verso il secondo tipo di ambiente. La differenza di densità mostrata per questo gruppo nelle diverse zone con assenza e presenza di corpo fruttifero del tartufo è risultata essere statisticamente significativa nella sottoarea 2.

In particolare all'interno dei pianelli gli imenotteri sono rari nelle sottoaree 1 e 3 e assenti nella sottoarea 2.

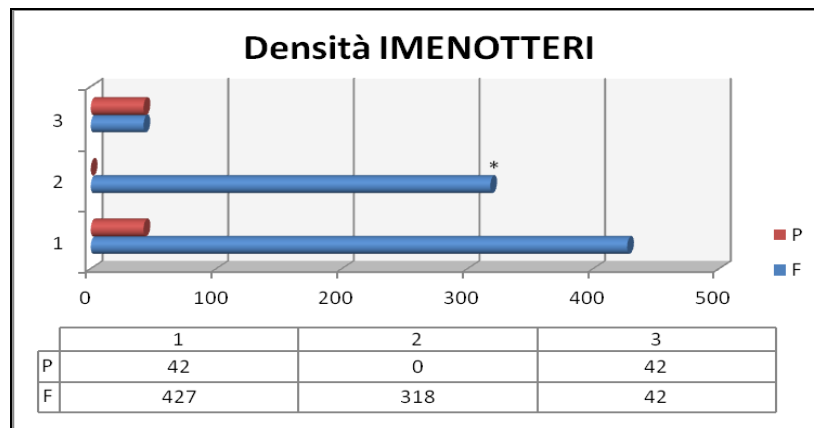


Fig. 71 – Densità per mq degli imenotteri: confronto tra dentro e fuori i pianelli nelle sottoaree spagnole (* = $p < 0.05$)

Collemboli

La densità dei collemboli è maggiore nel suolo campionato fuori dal pianello per tutte tre le sottoaree (Fig. 72).

In particolare si possono apprezzare le differenze per tutte tre le sottoaree: la sottoarea 2 è quella con la differenza più evidente. All'interno dei pianelli non sono stati trovati collemboli.

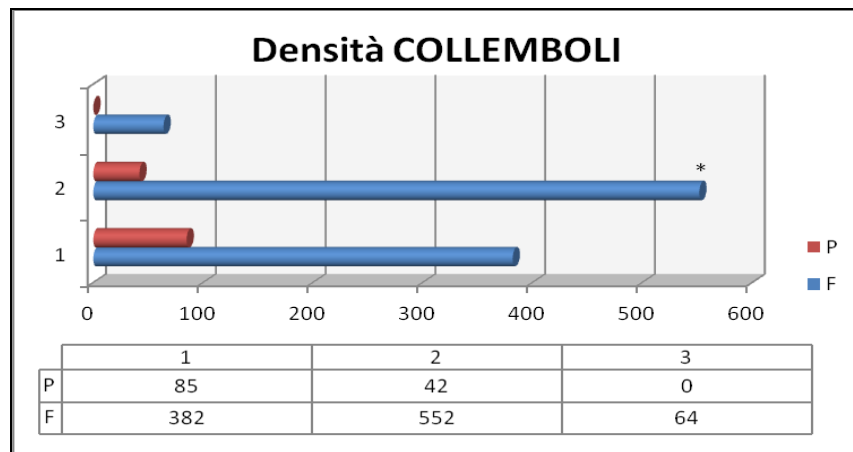


Fig. 72 – Densità per mq dei collemboli: confronto tra dentro e fuori i pianelli nelle sottoaree spagnole (* = $p < 0.05$)

In conclusione per tutte tre le sottoaree il numero di forme biologiche è risultato maggiore fuori dal pianello indicando una netta preferenza per questo tipo di ambiente.

Non si può però escludere che la minor presenza dei gruppi indagati all'interno dei pianelli sia attribuibile alla poca copertura erbacea del suolo e alle grandi dimensioni dei pianelli che potrebbero ostacolare la migrazione orizzontale degli organismi dalla parte esterna.

4.2.4 Indice QBS-ar

ITALIA

Nel campione italiano i valori QBS-ar sono mediamente alti (Fig. 73). Confrontando i valori del QBS-ar con le condizioni ambientali delle aree studiate su campo, per le singole sottoaree è possibile notare come i campioni raccolti nei pianelli presentino in generale valori più bassi di quelli ottenuti dai campioni raccolti fuori dai pianelli. La sottoarea 3 dimostra valori maggiori dell'indice nel suolo campionato al di fuori dei pianelli, dato confermato sia per i campioni dell'anno 2010 che per i campioni dell'anno 2011. I dati raccolti nell'anno 2011 mostrano differenze significative nei valori dell'indice per le sottoaree 1 e 3, che sono rispettivamente la più disturbata antropicamente e quella più naturalizzata.

Le differenze tra le aree esterne e quelle interne ai pianelli nelle sottoaree sono dovute alla presenza/assenza di alcuni gruppi sistematici. La sottoarea 3 è quella che presenta la differenza maggiore tra i valori del QBS-ar calcolato fuori dal pianello e quello calcolato al suo interno.

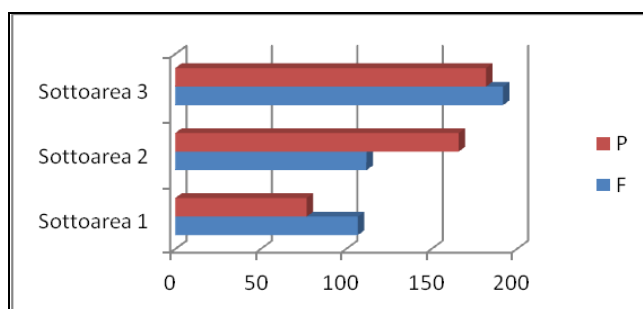


Fig. 73 – QBS-ar massimali all'interno e all'esterno dei pianelli nelle sottoaree italiane, 2010

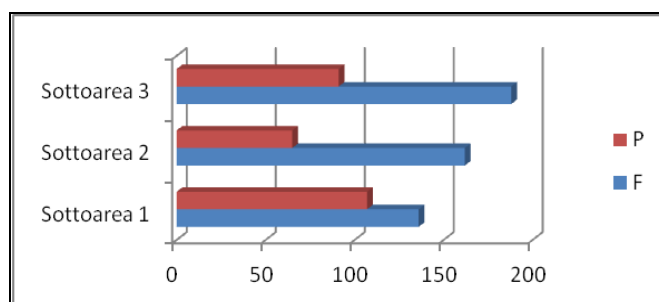


Fig.... – QBS-ar massimali all'interno e all'esterno dei pianelli nelle sottoaree italiane, 2011.

SPAGNA

Nel campione spagnolo l'indice QBS-ar si attesta su un valore medio abbastanza basso per i pianelli e più alto per la zona fuori dai pianelli, assestandosi comunque su livelli intermedi (Fig. 75). Analizzando i singoli QBS-ar delle sottoaree, è possibile notare che due delle 3 sottoaree presentano valori più alti fuori dai pianelli, ma solo la 3 mostra una sostanziale differenza tra F e P per la mancanza di molti gruppi all'interno dei pianelli, alcuni dei quali euedafici e quindi con il massimo punteggio EMI. In conclusione, il campione spagnolo mostra un indice QBS-ar dal valore più basso di quello italiano sia per le zone dei pianelli che per le zone ad essi esterne.

Questo è in accordo con i risultati ottenuti dall'osservazione delle forme biologiche, che risultano essere sensibilmente inferiori nelle aree spagnole rispetto a quelle italiane che presentano una maggiore biodiversità anche tra la comunità più prettamente euedafica.

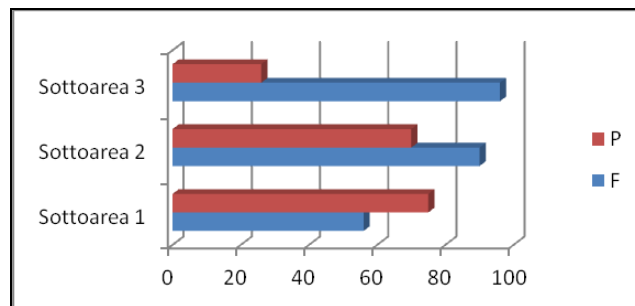


Fig. 75 – QBS-ar massimali all'interno e all'esterno dei pianelli nelle sottoaree spagnole

Capitolo 5. Conclusioni

Lo studio condotto ha dimostrato differenze nelle componenti vegetazionale ed animale nel confronto tra l'ambiente esterno e l'ambiente interno alle aree interessate dalla presenza del corpo fruttifero del tartufo. I risultati ottenuti dai rilievi floristici mostrano una comunità tipica degli ambienti di crescita naturali di tartufo nero, caratterizzati da una vegetazione dinamica di ambiente secco, aperto e soleggiato e con una bassa copertura vegetale, in accordo con i dati ottenuti da Bencivenga et al., 1995. Nonostante il rilievo effettuato nelle tre sottoaree italiane non abbia evidenziato specie esclusivamente presenti all'interno dei pianelli, questi sono risultati essere ambienti che presentano una copertura erbacea minore rispetto a quella tipica delle aree esterne. La differenza nel numero di specie, e conseguentemente di famiglie, riscontrata a favore degli ambienti non interessati dalla presenza di ascocarpo del tartufo è un segnale che può confermare l'effetto di disturbo del fungo sulla vegetazione competitiva della pianta ospite, in particolar modo sulla componente erbacea (González Armada et al., 2008). Gli spettri di composizione di forme biologiche e corotipi rispecchiano i dati rinvenuti in letteratura, da cui si evidenzia che l'ambiente naturale di crescita più adatto per il tartufo nero risulta essere dominato da emicriptofite e terofite, prevalentemente appartenenti ai corotipi di piante mediterranee ed eurasiatiche (González Armada et al., 2008). Le differenze rinvenute nel presente studio per quanto riguarda la composizione percentuale di forme biologiche e corotipi fra l'ambiente interno e l'ambiente esterno al pianello hanno ulteriormente confermato la natura di area disturbata del pianello. In particolare, riguardo alle forme biologiche si assiste ad un aumento percentuale di terofite, piante annuali comuni in ambienti sottoposti a disturbi ambientali e antropici, nell'ambiente con presenza di corpo fruttifero fungino. Le composizioni percentuali di corotipi mostrano altresì un aumento del gruppo delle avventizie, adattate ad ambienti dinamici e disturbati. I valori medi di bioindicazione di Ellenberg attribuiti alle specie vegetali non mostrano differenze significative nei parametri ecologici fra le comunità dei due diversi ambienti. Questo risultato potrebbe testimoniare che le differenze nella vegetazione riscontrate tra i due ambienti siano dovuti maggiormente all'emissione di sostanze allelopatiche da parte del tartufo.

I risultati relativi all'analisi dei dati sulla fauna edafica mostrano la generale presenza di una comunità di microartropodi ben diversificata, prevalentemente composta da acari e collemboli, con la presenza di rappresentanti dei gruppi meglio adattati al suolo, come ad esempio pseudoscorpioni, sinfili, proturi e pauropodi. La composizione della comunità rinvenuta all'esterno dei pianelli risulta essere più abbondante nel numero di gruppi, e quindi maggiormente diversificata, dato attestato sia nelle sottoaree italiane sia in quelle spagnole. Questa differenza nella composizione sembra confermare un'azione di disturbo nell'ambiente di pianello anche per quanto riguarda la fauna edafica. Alcuni invertebrati del suolo, come alcune specie di miriapodi e anellidi utilizzano le ife fungine come risorse alimentari. Anche numerose specie di acari e collemboli, i due gruppi generalmente maggiormente rappresentati nell'ambito della mesofauna edafica, si cibano frequentemente di ife. L'effetto del consumo del micelio da parte di organismi della pedofauna come collemboli e anellidi in alcuni casi porta a conseguenze positive per i funghi, quali la dispersione delle spore indigerite (Hodge, 2000). Uno studio condotto da Hempel et al. (2009) dimostra la presenza di effetti a cascata della micorrizza che influenzano pianta, afidi e vespe parassite degli afidi, con effetti positivi sia sulla pianta ospite sia sulle vespe e negativi sugli afidi, anche se risultano da chiarire i risultati delle interazioni osservate.

Indagando le differenze di densità presentate a livello di singoli gruppi, vengono ulteriormente confermati nel presente studio valori maggiori nelle aree esterne ai pianelli rispetto a quelle interne. Analizzando separatamente i comportamenti dei singoli gruppi di microartropodi, risultano preferenze per l'ambiente esterno al pianello in modo particolare per i gruppi di acari, imenotteri e collemboli. Uno studio precedentemente pubblicato (Cromack et al., 1988), volto ad indagare la componente a microartropodi in prossimità dei tappeti di ife fungine costituiti da basidiomiceti ectomicorrizici della specie *Hysterangium setchellii*, rileva un aumento significativo delle densità di collemboli, acari e nematodi in prossimità delle ife fungine. Le differenze di andamento mostrate dallo studio rispetto ai dati ottenuti in questo progetto di ricerca potrebbero essere imputate alla diversa natura del fungo oggetto di studio, rispetto a quella del tartufo nero, il cui corpo fruttifero è in grado di alterare profondamente l'ambiente producendo l'area di pianello, ambiente seppur ricco di ife fungine, in parte alterato sotto altri aspetti (copertura vegetale in particolare).

I risultati dell'indice di qualità biologica del suolo QBS-ar hanno confermato le differenze riscontrate negli ambienti grazie all'analisi della vegetazione e della pedofauna, con valori che indicano una

generale buona qualità dei suoli con valori più elevati nell'ambiente esterno al pianello rispetto a quello interno.

In conclusione, i risultati delle analisi dei dati vegetazionali mostrano tendenze simili a quelle evidenziate dai risultati delle analisi svolte sulla fauna edafica, confermando la natura inospitale dell'ambiente caratterizzato dalla presenza del corpo fruttifero del tartufo. Le numerose e complesse, in buona parte ancora sconosciute, relazioni tra componente vegetale, componente fungina e fauna edafica rendono difficile indagare le cause che producono diversità fra l'ambiente esterno e l'ambiente interno al pianello. In particolar modo, le variazioni prevalentemente di natura chimica, ma anche fisica, indotte dal micelio tartufigeno nel suolo e le sostanze emesse dal corpo fruttifero, che hanno dimostrati effetti diretti sulla componente vegetale, potrebbero avere sulla componente animale sia effetti diretti sia effetti "a cascata", dovuti alle conseguenze indotte nella vegetazione.

Riassunto

Lo scopo del presente lavoro di tesi è stato quello di indagare la natura delle possibili interazioni esistenti fra le tre principali componenti della comunità ecologica composta da tartufo (*Tuber melanosporum* Vittad. e *Tuber aestivum* Vittad.), pianta ospite e microartropodi del suolo. Le due specie fungine oggetto di studio sono in grado di originare una zona quasi completamente priva di vegetazione nell'area in cui si sviluppano i loro corpi fruttiferi, chiamata pianello, mediante diversi meccanismi fra cui l'emissione di sostanze allelopatiche. Il progetto di ricerca si è proposto di effettuare un confronto della vegetazione e del popolamento edafico a microartropodi fra l'ambiente esterno e l'ambiente interno al pianello, per valutare se la presenza del tartufo ha effetti diretti e/o indiretti sulle due componenti della comunità ecologica.

La ricerca è stata effettuata nel territorio compreso tra Cagli (43°32'N; 12°38'E) e Frontone (43°31'N; 12°44'E), nell'entroterra marchigiano. Al fine di confrontare i risultati dei dati dell'area italiana, lo studio è stato inoltre condotto in Spagna, per l'anno 2010, in un territorio che copre un raggio di 10 km fra la provincia di Peralejos de las Truchas (Guadalajara) e Belvalle (Beteta, Cuenca) (40°35'N; 1°54'W).

Sono stati effettuati un rilievo floristico e la raccolta di campioni di suolo per lo studio dei microartropodi edafici. I risultati delle indagini hanno dimostrato che le due componenti vegetale ed animale sono caratterizzate da una maggiore biodiversità nelle aree esterne al pianello. Inoltre, nelle stesse aree le due comunità sono risultate più ricche di forme biologiche adattate ad ambienti stabili. I valori medi di bioindicazione attribuiti alle specie vegetali non mostrano differenze significative nei parametri ecologici fra le comunità dei due diversi ambienti. Questo risultato potrebbe testimoniare che le differenze nella vegetazione riscontrate tra i due ambienti siano dovuti maggiormente all'emissione di sostanze allelopatiche da parte del tartufo. I risultati dell'indice di qualità biologica del suolo QBS-ar hanno confermato le differenze riscontrate negli ambienti grazie all'analisi della vegetazione e della pedofauna, con valori che indicano una generale buona qualità dei suoli con valori più elevati nell'ambiente esterno al pianello rispetto a quello interno.

Questi risultati possono confermare la natura di ambiente fortemente disturbato del pianello.

Ringraziamenti

I miei più sentiti ringraziamenti vanno al Professor Andrea Fabbri, alla Dott.ssa Cristina Menta e al Professor Luis Gonzaga García Montero per avermi permesso di compiere questo percorso di studi e per l'aiuto e il sostegno durante questi anni.

Un ringraziamento speciale va alla mia famiglia e ai miei amici, senza il cui appoggio e sostegno sarebbe stato davvero impossibile concludere questo cammino.

Ringrazio il Prof. Marcello Tomaselli in particolar modo per l'importante e indispensabile contributo nell'organizzazione dei dati di rilievo floristico.

Voglio rivolgere un ringraziamento sentito alla Prof.ssa Ada Ricci per la disponibilità dimostratami nei momenti di richiesta di spiegazioni e consigli lungo tutto il percorso.

Desidero inoltre ringraziare il Dott. Gianluigi Gregori per l'aiuto fornito e per i preziosi consigli durante le giornate "in campo", il Prof. Carlo Urbinati per la gentilezza dimostratami e l'aiuto nel reperimento dei dati sulle fitocenosi forestali e il Dott. Leonardo Gubellini, insostituibile guida nei rilievi floristici.

Ringrazio gli amici Luigi Ghillani e Michele Adorni per il prezioso sostegno nella raccolta dei dati di rilievo floristico.

Un ringraziamento sentito va a Beatrice, Federica, Alan e Stefano per l'aiuto e i consigli che mi hanno fornito in questi anni e a tutto il personale del Museo di Storia Naturale che mi ha ospitata.

Bibliografia

Agerer, R., 1987-2002 - Colour Atlas of Ectomycorrhizae. 1st-12th delivery. Einhorn Verlag, Schwäbisch Gmünd.

Agerer, R., 2001 - Exploration types of ectomycorrhizae: a proposal to classify ectomycorrhizal mycelial systems according to their patterns of differentiation and putative ecological importance. *Mycorrhiza* 11, 107e114.

Agerer, R., Danielson, R. M., Egli S., Ingleby, K., Luoma D. & Treu R., 1996 – 2004 – Descriptions of Ectomycorrhizae. Schwäbisch-Gmünd: Einhorn-Verlag.

Alexander, I.J., 2006 - Ectomycorrhizas-out of Africa? *New Phytologist* 172, 592e597.

Allen, T. R., Millar, T., Berch, S. M. & Berbee, M. L., 2003 - Culturing and direct DNA extraction find different fungi from the same ericoid mycorrhizal roots. *New Phytologist* 160: 255-272.

Ashford, A. E., Peterson, C. A., Carpenter, J. L., Cairney, J. W. G. & Allaway, W. G., 1988 - Structure and permeability of the fungal sheath in the *Pisonia* mycorrhiza. *Protoplasma* 147: 149- 161.

Avila, R., Johanson, K. J. & Bergström, R., 1999 - Model of the seasonal variations of fungi ingestion and ¹³⁷Cs activity concentrations in roe deer. *Journal of Environmental Radioactivity* 46: 99-112.

Bachelier G., 1973 - Technique d'extraction et d'inclusion globale des Microarthropodes en vue d'en évaluer la diversité, ORSTOM, série Pèdol., vol XI, 1. 85-89.

Bedano J.C., Cantù M.P., Doucet M.E., 2006 - Soil springtail (Hexapoda: Collembola), symphylans and pauropods (Arthropoda: Myriapoda) under different management systems in agroecosystems of the subhumid Pampa (Argentina), *European Journal of Soil Biology* 42. 107–119.

Bencivenga M., Di Massimo G., Donnini D., Tanfulli M., 1995 – Confronto tra la vegetazione delle tartufaie di *Tuber aestivum* Vitt. *T. magnatum* Pico e *T. melanosporum* Vitt. nell'Italia centrale. *Mic. Ital.*, 24 (3): 87-95.

Berbee, M. L. & Taylor, J. W., 2001 - Fungal molecular evolution: gene trees and geologic time. In *The Mycota VII. Part B. Systematics and Evolution.* (edited by D. J. McLaughlin, R. G. McLaughlin, P. A. Lemke) pp. 229-245. Berlin: Springer-Verlag.

Bollmann J., Elmer M., Wollecke J., Raidl S., Reinhard F., 2010 – Defensive strategies of soil fungi to prevent grazing by *Folsomia candida* (Collembola), *Pedobiologia* 53 (2010) 107–114.

Brand, F., 1991 - Ektomykorrhizen an *Fagus sylvatica*. Charakterisierung und Identifizierung, ökologische Kennzeichnung und unsterile Kultivierung. *Libri Botanici*, vol. 2, IHW-Verlag, Eching, Germany.

Branduard, T. E., 1995 - The effects of experimental nitrogen addition on the ectomycorrhizal fungus flora in an oligotrophic spruce forest at Gårdjön, Sweden. *Forest Ecology and Management* 71: 111-122.

Buyck, B., Thoen, D & Watling, R., 1996 – Ectomycorrhizal fungi of the Guinea Congo region. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* 104B: 313-333.

CARTA GEOLOGICA REGIONALE, EDIZIONE CTR SCALA 1:10.000 Trasposizione sulla Carta Tecnica Regionale (C.T.R.), 1996-2003, Prof. Massimo Sarti Dip. Scienze del Mare, Università Politecnica delle Marche - Progetto Docup, Ob 5b e Progetto CARG).

Castrignano`A., Goovaerts P., Lulli L., Bragato G., 2000 - A geostatistical approach to estimate probability of occurrence of *Tuber melanosporum* in relation to some soil properties, *Geoderma* 98_2000. 95–113.

CELESTI GRAPOW L., PIGNATTI E. UND PIGNATTI S., 1993 - *Ellenberg's Zeigerwerte zur ökologischen Bewertung der archäologischen Zonen in Rom*. *Phytocoenologia* 23: 291-299.

Chalot, M., Bran, A., 1998 - Physiology of organic nitrogen acquisition by ectomycorrhizal fungi and ectomycorrhizas. *FMES Microbiology Review* 22, 21e44.

Chiuchiarelli I., Santucci S. & Paolanti M., 2008: I suoli delle tartufaie naturali in abruzzo 3° CONGRESSO INTERNAZIONALE DI SPOLETO SUL TARTUFO. (26 – 28 Nov 2008).

Dahlberg, A., 2001 - Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist* 150, 555e562.

Claridge, A. W., 2002 - Ecological role of hypogeous ectomycorrhizal fungi in Australia forests and woodlands. *Plant and Soil* 244: 291-305.

Courty P-E., Buée M., Gamby Diedhiou A., Frey-Klett P, Le Tacon, F., Rineau F., Turpault M-P., Uroz S., Garbaye J, 2009 - The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: New perspectives and emerging concepts. *Soil Biology & Biochemistry*, 42 (2010) 679 e 698.

Cromack K., Fichter B. L., Nioldenke A. M., Entry J. A., Ingham E. R., 1988 - Interactions between Soil Animals and Ectomycorrhizal Fungal Mats, *Aericulture. Ecosystems and Environment*. 24 (1988) 161-168.

Dickie I. A., Xu, B. & Koide, R. T., 2003 - Vertical niche differentiation of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytologist* 156: 527-535.

Dindal D.L., 1990 - *Soil Biology Guide*, Wiley 1990.

Domínguez Nùñez J. A., Selva Serrano J., Rodríguez Barreal J. A., Saiz de Omeñaca González J. A., 2006 - The influence of mycorrhization with *Tuber melanosporum* in the afforestation of a Mediterranean site with *Quercus ilex* and *Quercus faginea*. *Forest Ecology and Management* 231, 226–233.

- Downes, G., Alexander, I. J. & Cairney, J. G., 1992 - A light and electron microscope study of ageing and death of spruce ectomycorrhizas. *New Phytologist* 122: 141-152.
- Eberhardt, U., 2002 - Molecular kinship analyses of the agaricoid Russulaceae: correspondence with mycorrhizal anatomy and sporocarp features in the genus *Russula*. *Mycological Progress* 1: 201-223.
- ELLENBERG H., 1974 - *Zeigerwerte der Gefäßpflanzen Mitteleuropas*. *Scripta Geobot.* 9. Göttingen, 1974. 2. Aufl. (1979). 3. Aufl. (1992) in ELLENBERG H. et al., *Scripta Geobot.* 18: 9-166.
- Fitter, A. H. & Moyersoen, B., 1996 - Evolutionary trends in root-microbe symbioses. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B-Biological Sciences* 351: 1367-1375.
- Garbaye, J., 1994 - Tansley review No. 76 helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 128, 197e210.
- García-Montero L. G., Manjón J. L., Pascual C., García-Abril A., 2007 - Ecological patterns of *Tuber melanosporum* and different *Quercus* Mediterranean forests: Quantitative production of truffles, burn sizes and soil studies. *Forest Ecology and Management* 242, 288-296.
- García-Montero L. G., Quintana A., Valverde-Asenjo I., Diaz P., 2009 - Calcareous amendments in truffle culture: A soil nutrition hypothesis, *Soil Biology and Biochemistry* (2009) Volume: 41, Issue: 6, Pages: 1227-1232.
- Giovannetti, M., Azzolini, D. & Citrinesi, A. S., 1999 - Anastomosis formation and nuclear and protoplasmic exchange in arbuscular mycorrhizal fungi *Applied and Environmental Microbiology* 65: 5571-5575.
- González Armada B., De Miguel Velasco A. M., Cavero Remón R. Y., 2008 - Estudio de la flora vascular y la microbiota micorrícica en quemados truferos de Navarra (España), *Atti del 3° Congresso Internazionale di Spoleto sul Tartufo*, 152-165.
- Guidot, A., Debaud, J.-C., Effosse, A. & Marmeisse, R., 2003 - Below-ground distribution and persistence of an ectomycorrhizal fungus. *New Phytologist* 161: 539-547.
- Hagvar S., 1982 - Collembola in Norwegian coniferous forest soils. 1. Relations to plant communities and soil fertility, *Pedobiologia*, 24, 255-296.
- Haug, I., Weiss M., Homeier, J., Oberwinkler, F. & Kottke, I., 2005 - Russulaceae and Thelephoraceae form ectomycorrhizas with members of the Nyctaginaceae (Caryophyllales) in the tropical mountain rain forest of southern Ecuador. *New Phytologist* 165: 923-936.
- Heckman, D.S., Geiser, D.M., Eidell, B.R., Stauffer, R.L., Kardos, N.I., Hedges, S.B., 2001 - Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science* 293, 1129e1133.

Hempel S., Stein C., Unsicker S. B., Renker C., Auge H., Weisser W. W., Buscot F., 2009 - Specific bottom-up effects of arbuscular mycorrhizal fungi across a plant-herbivore-parasitoid system. *Oecologia* (2009) 160:267-277.

Henkel, T. W., Terborgh, J. & Vilgalys, R. J., 2002 - Ectomycorrhizal fungi and their leguminous hosts in the Pakaraima Mountains of Guyana. *Mycological Research* 106: 515-531.

Hibbett, D. S., Gilbert, L.-B. & Donohue, M. J., 2000 - Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes. *Nature* 407: 506-508.

Hoffland, E., Kuyper, T.W., Wallander, H., Plassard, C., Gorbushina, A.A., Haselwandter, K., Holmström, S., Landeweert, R., Lundström, U., Rosling, A., Sen, R., Smits, M.M., van Hees, P.A.W., van Breemen, N., 2004 - The role of fungi in weathering. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2, 258e264.

Horton, T., Bruns, T. D. & Parker, V. T., 1999 - Ectomycorrhizal fungi associated with *Arctostaphylos* contribute to *Pseudotsuga menziesii* establishment. *Canadian Journal of Botany* 77: 93-102.

Hodge A., 2000 - Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza, *FEMS Microbiology Ecology* 32 (2000).

INVENTARIO E CARTA FORESTALE DELLA COMUNITA' MONTANA D2 CATRIA E CESANO, REGIONE MARCHE, 2000. ISTITUTO PER LE PIANTE DA LEGNO E L'AMBIENTE I.P.L.A. S.p.A. Corso Casale, 476 - 10132 TORINO.

Klironomos J. N., Ursic M., 1998 - Density-dependent grazing on the extraradical hyphal network of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices*, by the collembolan, *Folsomia candida*, *Biol Fertil Soils* (1998) 26:250-253.

Kennedy, P. G., Izzo, A. D. & Bruns, T. D., 2003 - There is high potential for the formation of common mycorrhizal networks between understorey and canopy trees in a mixed evergreen forest, *Journal of Ecology* 91: 1071-1080.

Koide, R., T., Xu, B., Sharda, J., Lekberg, Y. & Ostiguy, N., 2004 - Evidence of species interactions within an ectomycorrhizal fungal community, *New Phytologist* (on line).

Kuznestova N.A., 2002 - Classification of collembola communities in the east-european Taiga, *Pedobiologia* 46, 373-384.

Landeweert, R., Leeflang, P., Kuyper, T. W., Hoffland E., Rosling, A., Wernars, K. & Smit, E., 2003 - Molecular identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons, *Applied and Environmental Microbiology* 69: 327-333.

Lapeyrie, F., Ranger, J., Vairelles, D., 1991 - Phosphate solubilizing ability of ectomycorrhizal fungi in vitro, *Canadian Journal of Botany* 69, 342e346.

Largent, D., Johnson, D. & Watling, R., 1977 - How to identify mushrooms to genus III: Microscopic features. Eureka, CA: Mad River Press.

Larsson, K.-H., Larsson, E. & Kõljalg, U., 2004 - High phylogenetic diversity among corticoid homobasidiomycetes, *Mycological Research* 108: 983-1002.

Leake, J. R. & Read, D. J., 1997 - Mycorrhizal fungi in terrestrial ecosystems. In: Wicklow D, Söderström B, eds. *The Mycota IV environmental and microbial relationships*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 281-301.

Lee, S. S., Watling, R. & Turnbull, E., 2003 - Diversity of putative ectomycorrhizal fungi in Pasoh Forest Reserve. Pasoh: Ecology of a lowland rain forest in Southeast Asia (eds T. Okuda, N. Manokaran, Y. Matsumoto, K. Niiyama, S. C. Thomas & P. S. Ashton), pp 149-159. Springer.

Le Page, B. A., Currah, R., Stockey, R. & Rothwell, G. W., 1997 - Fossil ectomycorrhiza in Eocene Pinus roots, *American Journal of Botany* 84: 410-412.

Martegoute J. C., Courdeau A., 2002 - *Plantes des causes et des truffières*, Editore Fédération Départementale des Trufficulteurs du Périgord.

Martin, F., 1985 - ¹⁵N-NMR studies of nitrogen assimilation and amino acid biosynthesis in the ectomycorrhizal fungus *Cenococcum graniforme*, *FEBS Letters* 182, 350e354.

Massicotte, H.B., Molina, R., Tackaberry, L.E., Smith, J.E., Amaranthus, M.P., 1999 - Diversity and host specificity of ectomycorrhizal fungi retrieved from three adjacent forest sites by five host species, *Canadian Journal of Botany* 77, 1053e1076.

Materna J., 2004 - Does forest type and vegetation patchiness influence horizontal distribution of soil Collembola in two neighbouring forest sites? *Pedobiologia* 48. 339–347.

Meyer, F. H., 1973 - Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forests, In: *Ectomycorrhizae* (eds G. C. Marks, and T. T. Kozłowski). Academic Press, New York, USA. Pp. 79-105.

Mier, N., Canete, S., Kläbe, A., Chavant, L. & Fournier, D., 1996 - Insecticidal properties of mushroom and toadstool carpophores, *Phytochemistry* 41: 1293-1299.

Molina, R., Massicotte, H. & Trappe, J. M., 1992 - Specificity phenomenon in mycorrhizal symbiosis: community ecological consequences and practical implications. In: *Mycorrhizal Functioning* (ed. M. F. Allen), Chapman and Hall, London, UK. pp. 357-423.

Murat, C., Díez, J., Luis, P., Delaruelle, C., Dupre, C., Chevalier, G., Bonfante, P. & Martin, F., 2004 - Polymorphism at the ribosomal DNA ITS and its relation to postglacial re-colonization routes of the Perigord truffle *Tuber melanosporum*, *New Phytologist* 164: 401-411.

Parisi V., 1974 - *Biologia e ecologia del suolo: tecniche di ricerca*, Boringhieri.

Parisi V., 2001 - La qualità biologica del suolo. Un metodo basato sui microartropodi, *Acta Naturalia de "L'Ateneo Parmense"*, vol. 37, nn. 3/4 : 105-114, Parma.

Parisi V., Menta C., Gardi C., Jacomini C., Mozzanica E., 2005 – Microarthropod Communities as a Tool to Assess Soil Quality and Biodiversity: a new Approach in Italy, *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 105. 323-333.

Peintner, U., Moser, M.M., Thomas, K.A. & Manimohan, P., 2003 - First records of ectomycorrhizal Cortinari species (Agaricales, Basidiomycetes) from tropical India and their phylogenetic position based on rDNA ITS sequences, *Mycological Research* 107: 485-494.

Piculell B., Hoeksema J., Thompson J. - Interactions of biotic and abiotic environmental factors in an ectomycorrhizal symbiosis, and the potential for selection mosaics, *BMC Biology* 2008, 6:23.

PIGNATTI S., 1980 - *Reflections on the phytosociological approach and the epistemological basis of vegetation science*, *Vegetatio* 42: 181-185.

Pignatti S., 1982 – *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna.

Pirozynski, K. A. e Malloch, D. W., 1975 - The origins of land plants: a matter of mycotrophism, *Biosystems*, 6:153-164.

Plassard, C., Bonafos, B., Touraine, B., 2000 - Differential effects of mineral and organic N sources, and of ectomycorrhizal infection by *Hebeloma cylindrosporum*, on growth and N utilization in *Pinus pinaster*, *Plant Cell and Environment* 23, 1195 e 1205.

Read, D. J. & Perez-Moreno, J., 2003 - Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? *New Phytologist* 157: 465-492.

Richard, F., Millot, S., Gardes, M., Selosse, M.A., 2005 - Diversity and specificity of ectomycorrhizal fungi retrieved from an old-growth Mediterranean forest dominated by *Quercus ilex*, *New Phytologist* 166, 1011 e 1023.

Richter, K. O., 1980 - Evolutionary aspects of mycophagy in *Ariolimax columbianus* and other slugs. In *Proceedings of the Seventh International Soil Zoology Colloquium of the International Society of Soil Science*, (ed. D. L. Dindal). Pp 616-636. The Office of Pesticides and Toxic substances, E.P.A., Washington D.C.

Sacchi C. F. & Testard P., 1971 - *Ecologie animale*, Doin, Parigi.

Schreiner R. P., Bethlenfalvay G. J., 2003. Crop residue and Collembola interact to determine the growth of mycorrhizal pea plants, *Biol Fertil Soils* (2003) 39:1–8.

Selosse, M.A., Le Tacon, F., 1998 - The land flora: a phototroph-fungus partnership, *Trends in Ecology and Evolution* 13, 15e20.

Selosse M-A., Richard F., He X., Simard S. W., 2006 - Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? Trends in Ecology and Evolution, Vol.21 No.11.

Smith R. D., 2009. Plant-mycorrhiza percent infection as evidence of coupled metabolism, Journal of Theoretical Biology 259, 172–175.

Smith, S.E., Read, D.J., 1997 – Mycorrhizal Symbiosis (second edition). Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto.

Smith, S.E., Read, D.J., 2008 - Mycorrhizal Symbiosis, third ed. Academic Press, London.

Splivallo R., Bossi S., Maffei M., Bonfante P., 2007 - Discrimination of truffle fruiting body versus mycelial aromas by stir bar sorptive extraction, Phytochemistry 68 (2007) 2584–2598.

Splivallo R., Fischer U., Gobel C., Feussner I., Karlovsky P., 2009 - Truffles regulate plant root morphogenesis *via* 1 the production of auxin and ethylene, Plant Physiology Preview DOI:10.1104/pp.109.141325.

Splivallo R., Ottonello S., Mello A., Karlovsky P., 2010 - Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis, New Phytologist (2011) 189: 688–699.

Stadler, M. & Sterner, O., 1998 - Production of bioactive secondary metabolites in the fruit bodies of macrofungi as a response to injury. Phytochemistry 49: 1013-1019.

Taylor A. F. S., Alexander I., 2005 - The ectomycorrhizal symbiosis: life in the real world, Mycologist, Volume 19, Part 3 August 2005. ©The British Mycological Society Printed in the United Kingdom.

Taylor, A.F.S., Martin, F., Read, D.J., 2000 - Fungal diversity in ectomycorrhizal communities of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) and beech (*Fagus sylvatica* L.) along north-south transects in Europe. In: Schulze, E.-D. (Ed.), Carbon and Nitrogen Cycling in European Forest Ecosystems, Ecological Studies, vol. 142, pp. 343-365.

Tedersoo L., Suvi T., Larsson E., Koljalg U., 2005 - Diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi in a wooded meadow, Mycological Research 110, 734 – 748.

Urban A., Weiss M. & Bauer R., 2003 - Ectomycorrhizae involving sebacinoid fungi and their analogs, Journal of the Linnean Society of London, Botany 13: 31-42.

Villarreal-Ruiz, L., Anderson, I. C. & Alexander I. J., 2004 - Interaction between an isolate from the *Hymenoscyphus ericae* aggregate and roots of *Pinus* and *Vaccinium*, New Phytologist 164: 183- 192.

Vogt, K. A, Edmonds, R. L. & Grier, C. C., 1981 - Biomass and nutrient concentrations of sporocarps produced by mycorrhizal and decomposer fungi in *Abies amabilis* stands, Oecologia 50: 170-175.

Vrålstad, T., Fossheim, T. & Schumacher, T., 2000 - *Piceirhiza bicolorata* – the ectomycorrhizal expression of the *Hymenoscyphus ericae* aggregate? New Phytologist 145: 549-563.

Vrålstad, T., Schumacher, T. & Taylor, A. F. S., 2002 - Mycorrhizal synthesis between fungal strains of the *Hymenoscyphus ericae* aggregate and potential ectomycorrhizal and ericoid hosts, *New Phytologist* 153: 143-152.

Walter, D. E. & Proctor, H. C., 1999 - *Mites. Ecology, Evolution and Behaviour*, CABI Publishing, CABI International, Wallingford Oxon, UK. pp. 322.

Wallwork J.A., 1970 - *Ecology of soil animals*, McGraw-Hill, London.

Wang, B., Qiu, Y.L., 2006 - Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants, *Mycorrhiza* 16, 299 e 363.

Weiss, M., Selosse, M.-A., Rexer, K.-H., Urban, A. & Oberwinkler, F., 2004 - Sebaciales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential, *Mycological Research* 108: 1003-1010.

Zanella A., Tommasi M., De Siena C., Frizzera L., Jaboil B., Nicolini G., 2001 – *Humus forestali*, Centro di Ecologia Alpina.