

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA DI VITERBO

DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE PER L'AGRICOLTURA, LE FORESTE, LA NATURA E
L'ENERGIA

Corso di Dottorato di Ricerca in
Scienze e Tecnologie per la Gestione Forestale ed Ambientale
XXVIII Ciclo

**Suolo, tartufo, comunità vivente animale: un intricato microcosmo
naturale**

BIO/05

Tesi di dottorato di:

Dott.ssa Stefania Pinto



Coordinatore del corso

Prof. Bartolomeo Schirone



Tutore

Dott.ssa Cristina Menta



Co-tutore

Prof. Luis G. García-Montero



28 giugno 2016

*“Credevamo che quella ricchezza non avrebbe avuto mai fine
e invece non è rimasto quasi niente”. Si interruppe, sembrava rattristato.
“Forse i miei nipoti non vedranno mai un elefante,
né sentiranno il ruggito del leone”
Wilbur Smith – Gli eredi dell’eden*

A te, che mi hai fatto vedere gli elefanti
e sentire il ruggito del leone

PREMESSA

Il suolo è considerato una risorsa naturale fondamentale perché è il supporto di tutte le produzioni rinnovabili e la sede di gran parte delle attività umane. Ponge (2015), ha evidenziato come in più di mille pubblicazioni (1560, ultimo update Novembre 2014), selezionate da ISI Web of ScienceTM, il suolo è considerato come il maggior fornitore di servizi ecosistemici. Tra i più citati ci sono la produzione agricola e forestale, la protezione contro l'erosione e l'allagamento, riserva d'acqua e fissazione di azoto e carbonio atmosferici. Il suolo è inoltre la sede di molteplici interazioni tra componente biotica ed abiotica. La fauna edafica riveste un importante ruolo non solo perché partecipa alla funzionalità del suolo ma soprattutto perché dimostra un'evidente sensibilità al degrado e alla conseguente diminuzione della qualità. Organismi importantissimi all'interno del suolo sono i funghi. Sono organismi terrestri di enorme importanza, anche in termini di biomassa; sono infatti al primo posto, con un peso secco di 450 kg/ha, che rappresenta il 91% dell'intera biomassa del suolo (microflora e microfauna; Splivallo, 2008). I funghi, insieme ai batteri ed ad altri microorganismi, sono tra i principali agenti dei cicli biogeochimici e provvedono alla degradazione della sostanza organica. I funghi rappresentano dunque una componente fondamentale per la fertilità del suolo e svolgono un ruolo insostituibile.

Le interazioni tra i funghi e la fauna del suolo sono ancora poco conosciute. Alcuni studi suggeriscono che i microartropodi possano svolgere un ruolo fondamentale nella dispersione delle spore, ma sono ancora poche le ricerche che possono chiarire queste interazioni. Poco conosciute sono inoltre le caratteristiche che alcuni funghi, come alcune specie appartenenti al genere *Tuber*, generano all'intero dell'area (il pianello) in cui fruttificano dando origine al carpoforo.

Il presente studio mira quindi a chiarire le interazioni tra la fauna del suolo e alcune specie di funghi appartenenti al genere *Tuber*. In particolar modo si prefigge di chiarire le particolari condizioni chimiche che si creano all'interno del pianello per la presenza del tartufo e di valutare se queste possano influenzare positivamente o negativamente gli organismi del suolo. Si prefigge inoltre di comprendere se gli effetti del tartufo possano essere estesi all'intero suo ciclo biologico annuale e a più specie appartenenti al genere *Tuber*.

INDICE

1. INTRODUZIONE	
1.1 Il suolo	4
1.1.1. Funzioni del suolo	5
1.2.1. La componente biologica	5
1.2. Fauna edafica	8
1.2.1. Ecologia e habitat	10
1.2.2. Fattori che incidono sul popolamento edafico	11
1.3. Bioindicatori	13
1.3.1. Bioindicatori del suolo	14
1.3.2. Microartropodi come indicatori di qualità del suolo	15
1.4. Micorrize	17
1.4.1. Il genere <i>Tuber</i>	19
1.4.2. Il ciclo biologico del tartufo	21
1.4.3. <i>Tuber aestivum</i> Vittad.	23
1.4.4. <i>Tuber melanosporum</i> Vittad.	23
1.4.5. Il pianello	24
1.4.6. Composti organici volatili (VOCs) emessi dal tartufo	25
1.5. Relazione tra fauna edafica e tartufo	28
1.5.1. Biodiversità di microartropodi in pianelli di <i>Tuber</i>	29
2. SCOPO	33
3. MATERIALI E METODI	34
3.1. Aree di studio	34
3.1.1. <i>Tuber aestivum</i>	34
3.1.2. <i>Tuber melanosporum</i>	35
3.2. Analisi chimiche del suolo	37
3.3. Analisi dei microartropodi del suolo e indici applicati	40
3.4. Test di preferenza alimentare con <i>Folsomia candida</i>	43
3.5. Analisi statistiche	45
4. RISULTATI	46
4.1. <i>Tuber aestivum</i>	46
4.1.1. Analisi chimiche	46

4.1.2. Comunità di microartropodi.....	47
4.1.3. Indici.....	55
4.2. <i>Tuber melanosporum</i>.....	59
4.2.1. Analisi chimiche.....	59
4.2.2. Comunità di microartropodi.....	59
4.2.3. Indici.....	62
4.3. Confronto Italia-Spagna.....	64
4.4. Test di preferenza alimentare con <i>Folsomia candida</i>.....	67
5. DISCUSSIONE.....	68
6. CONCLUSIONI.....	74
7. RIASSUNTO.....	75
RINGRAZIAMENTI.....	77
BIBLIOGRAFIA.....	78
APPENDICE.....	86

1. INTRODUZIONE

1.1. Il suolo

Il suolo assume diverse definizioni a seconda delle discipline che lo studiano. Per un agricoltore è il terreno da sfruttare per la produzione vegetale e/o animale, per un geologo è una serie di strati o di rocce databili a un determinato periodo dell'esistenza del nostro pianeta. Per un ingegnere è una roccia o un sedimento dei quali occorre tener presente per le operazioni di movimento terra, fondazione e costruzione, etc. Per un pedologo, che studia il suolo come scienza pura e applicata, sotto tutti i suoi aspetti, occorre definire il suolo in modo comprensivo di tutti i parametri fisici, chimici, mineralogici, biologici, morfologici, evolutivi, tassonomici e cartografici. Esiste una definizione storica di suolo che lo descrive come: corpi naturali indipendenti, ognuno dei quali ha una sua propria morfologia di profilo risultante da un'unica combinazione di clima, forme biologiche, materiale derivante dalla roccia madre e dal tempo (Dokuchaev, 1885). Se, invece, identifichiamo il suolo come un sistema aperto, possiamo definirlo come una struttura quadridimensionale (spazio, tempo) nella quale persistono o transitano:

- I residui e i prodotti dell'alterazione dello strato minerale superficiale del globo;
- La sostanza organica morta o vivente della biomassa associata allo strato superficiale;
- Gli elementi provenienti dall'atmosfera, sia in modo accidentale che in modo ciclico.

L'organizzazione e l'evoluzione di questa struttura sono il risultato delle variazioni di forme ed energia di ogni tipo che si manifestano sulla superficie del globo (Giordano, 1999).

L'insieme dei processi di alterazione della roccia e di trasformazione della sostanza organica prendono il nome di pedogenesi. L'azione combinata dei vari fattori della pedogenesi (trasformazione, traslocazione, addizione e perdite) porta alla formazione di strati di suolo aventi caratteri fisici e chimici diversi fra loro. Questi strati sono denominati orizzonti, mentre la sezione verticale che comprende l'insieme degli orizzonti prende il nome di profilo. Il profilo è quindi una sezione verticale di suolo comprendente gli orizzonti genetici, gli strati organici superficiali, la roccia madre o altri strati che influenzano la genesi e le caratteristiche del suolo. In un suolo ideale, cioè maturo e non sottoposto a lavorazioni, si possono riconoscere gli orizzonti:

- O (organici): costituiscono lo strato più superficiale e sono costituiti da materiale organico a uno stadio più o meno spinto di evoluzione;
- A: orizzonti minerali che si formano al di sotto dell'orizzonte O e caratterizzati da un contenuto piuttosto elevato di carbonio organico;
- E: orizzonti eluviali nei quali i processi di lisciviazione sono stati particolarmente intensi;
- B: orizzonti illuviali di accumulo di basi, sali e sostanza organica dilavati dai precedenti strati;
- C: orizzonti poco influenzati dai processi pedogenetici e esclusivamente minerali con materiale derivante dalla roccia madre;
- R: roccia madre inalterata e coerente.

1.1.1. Funzioni del suolo

Il suolo assolve numerose ed essenziali funzioni, convenzionalmente ne vengono attribuite cinque:

1. Supporto alla vita delle piante: è sia supporto fisico che trofico per la vita di gran parte delle piante superiori;
2. Regolazione del ciclo dell'acqua: la quasi totalità delle acque che raggiungono la superficie terrestre vengono a contatto e interagiscono con il suolo. Questa interazione influenza il ciclo dell'acqua sia dal punto di vista quantitativo che qualitativo;
3. Decomposizione della sostanza organica: il suolo ha notevole importanza nell'ambito di molti cicli biogeochimici che si svolgono in ambiente terrestre;
4. Riserva di biodiversità: il suolo è riserva di risorse genetiche e sostiene gran parte della biodiversità terrestre;
5. Supporto fisico alle attività umane: gran parte delle infrastrutture realizzate dall'uomo poggiano sul suolo o vengono scavate al suo interno.

1.2.1. La componente biologica

La "nascita" del suolo, come corpo naturale, si verifica quando il substrato litologico è invaso da organismi (Giordano, 1999). La componente biologica del suolo è stata presa in esame dagli anni '70, quando si è iniziato a capire l'importanza degli organismi del suolo, soprattutto per le funzioni che in e per esso svolgono. L'importanza degli organismi del suolo risiede nella loro immensa capacità di dar luogo a nuove fonti di energia, trasformando i residui morti delle piante e degli

animali in semplici composti inorganici che rientrano così nel ciclo vitale dell'ecosistema (Giordano, 1999).

Ghilarov (1978) ha enunciato il principio secondo il quale quanto più simile è la fauna edafica di due suoli, tanto più i suoli in questione saranno geneticamente simili nei riguardi del clima, dell'idrologia, del chimismo e del loro significato ecologico (Giordano, 1999).

La componente vivente del suolo comprende la microflora, la pedofauna (organismi come nematodi, collemboli e lombrichi) e le radici delle piante.

I microrganismi del suolo sono una componente vivente di estrema importanza, capace di svolgere azioni ecologicamente significative in relazione alla vita del suolo stesso, della pianta che esso ospita e degli organismi animali. La diversità e il numero delle cellule microbiche nel suolo dipendono da diversi fattori tra i quali l'umidità, il pH, la temperatura, il contenuto e le proprietà della sostanza organica, la vegetazione, ecc. I fattori di crescita della microfauna comprendono la relazione suolo/pianta, il pH tendenzialmente basico e la presenza di anidride carbonica. L'apporto di sostanza organica al suolo è diverso a seconda dei diversi periodi dell'anno, questo comporta una risorsa nuova e disponibile per gli organismi, suddivisi così in microfiti (autoctoni) e macrofiti (zimogeni). I microfiti appartengono a livelli nutritivi bassi, si occupano della degradazione della sostanza organica più difficilmente degradabile, sono sempre presenti e comunemente a strategia k. Sono organismi tipici di ambienti stabili, con tempi di generazione lenti e discendenza poco numerosa. Intervengono alla fine dell'attività degli zimogeni per degradare la sostanza organica più difficilmente demolibile. Gli zimogeni, invece, appartengono a livelli nutritivi alti, intervengono a seguito di aumenti spropositati di sostanza organica attraverso un picco di densità che si riduce completamente alla riduzione della sostanza organica. Sono organismi con tempi di generazione molto rapidi, le colonie crescono rapidamente e colonizzano substrati effimeri ma molto energetici, sono perciò a strategia r.

I microrganismi comprendono:

- **Batteri:** costituiscono una frazione di estrema importanza per la vita del suolo. Sono gli organismi più piccoli e numerosi che vivono liberi nel suolo. Possono raggiungere densità di 10^9 - 10^{10} individui per grammi di suolo, con biomasse rilevanti di oltre 2500 kg/ha per 10^9 ind/g di suolo (Menta, 2008). Hanno diverse funzioni all'interno del suolo, tra queste la demolizione della sostanza organica, l'ossidazione dei composti organici importanti nella fissazione dell'azoto atmosferico e nell'ossidazione del biossido e triossido di azoto, la secrezione di sostanze che agiscono sulla crescita delle piante o che inibiscono la formazione di altri batteri, sono fonte di nutrimento di organismi microfagi, ecc. Pur essendo presenti nel suolo, molti batteri rimangono inattivi o poco attivi e la scarsa attività è

determinata dalle caratteristiche del suolo. Tra queste la disponibilità di cibo è uno dei più importanti ma anche fattori fisici come l'umidità, l'aerazione e la temperatura possono assumere estrema importanza (Menta, 2008);

- **Attinomiceti:** organismi ad organizzazione cellulare procariotica, simile a quella dei batteri, ma che hanno acquisito caratteristiche morfologiche e fisiologiche simili a quelle dei funghi, per un fenomeno di convergenza evolutiva. All'interno del suolo sono importanti per la demolizione della sostanza organica, l'utilizzo di sostanze recalcitranti come fonte di nutrimento, producono antibiotici e sostanze che favoriscono la crescita delle piante. Infine, intervengono nei processi di umificazione producendo humus a composizione mista tra sostanza organica residuale e sostanza organica ex novo. La loro presenza all'interno del suolo dipende da parametri quali umidità, temperatura, pH e porosità;
- **Alghe:** l'importanza di questi organismi nel suolo è generalmente limitata agli strati superficiali, dove arriva la luce. Sono importanti elementi all'interno del suolo per la produzione/demolizione della sostanza organica, favoriscono le aggregazioni delle particelle, consentono la vita di altri organismi. La loro presenza dipende da determinati valori di umidità, pH (generalmente ad ampio range), disponibilità di nutrienti e infine dalla profondità del suolo. Il metabolismo fotoautotrofo le rende inoltre indipendenti dalla presenza di un substrato organico e quindi buoni colonizzatori di suoli recenti o di habitat particolari come la corteccia degli alberi (Menta, 2008);
- **Funghi:** sono importanti organismi eterotrofi del suolo, all'interno del quale raggiungono biomasse notevoli e sviluppano morfologicamente un insieme di strutture tubiformi dette ife. Sono classificati in cinque diversi gruppi sulla base del tallo vegetativo e sulle strutture riproduttive. Le funzioni dei funghi riguardano la demolizione della sostanza organica, soprattutto di lignina e sugherina, costituiscono fonte di nutrimento, soprattutto le ife, instaurano simbiosi insieme alle radici delle piante andando a formare le micorrize;
- **Muschi e licheni:** i muschi in condizioni umiche creano situazioni molto protette che possono favorire la presenza di un popolamento di organismi particolare. I licheni, invece, sono organismi poco rappresentati perché frutto di simbiosi tra alghe e funghi. Sono però importanti nei suoli in neo-formazione per la loro funzione pioniera.

1.2. Fauna edafica

Gli organismi del suolo sono definiti come “edaphon” termine che intende il complesso di organismi che popolano il suolo. Esistono diversi metodi di classificazione della fauna edafica, ognuno dei quali prende in considerazione determinate caratteristiche, escludendone altre.

La pedofauna occupa due porzioni di ambiente molto diverse, ciò porta a una prima distinzione e classificazione. L'**hydrobios** comprende organismi che nascono in acqua salata o dolce e in seguito colonizzano le pellicole d'acqua in ambiente terrestre. L'**atmobios** comprende organismi che nascono in atmosfera epigea e in seguito colonizzano quella ipogea. È spesso considerato anche un terzo raggruppamento di forme particolarmente adattate al suolo (proturi, sinfili, ecc.) con un'origine edafica.

Una seconda classificazione è basata sul grado d'interazione con il suolo, diverso in funzione delle abitudini di vita dei vari taxa e della porzione del ciclo biologico spesa all'interno del suolo. Quest'ultima caratteristica, in particolare, è in stretta correlazione con gli andamenti morfologici e le funzioni ecologiche degli organismi. La fauna edafica è così suddivisa in quattro categorie:

1. **Geofili inattivi temporanei**: organismi che popolano il suolo solo per alcune fasi della loro vita (durante l'inverno o la fase pupale), cioè quando sono necessarie la stabilità climatica e la protezione che l'ambiente ipogeo fornisce. Gli appartenenti a questo gruppo hanno un impatto modesto sulle funzioni ecologiche dell'ambiente ipogeo, possono solo rientrare nella rete trofica del suolo come prede;
2. **Geofili attivi temporanei** (o edafoxeni): si stabiliscono nel suolo per una buona parte del loro ciclo vitale, attraversandovi uno o più stadi di sviluppo, ed emergendo come adulti. Oltre alle cicale e ad alcune specie di neurotteri, gli insetti di questo gruppo appartengono per la maggior parte a ditteri, coleotteri e lepidotteri, il cui ciclo di sviluppo comprende la fase di pupa. La relativa inattività della pupa rende il suo contributo alle funzioni del suolo più basso, mentre le larve hanno un'importanza considerevole sia come detritivori sia come predatori, in particolare negli ambienti dove hanno densità elevate;
3. **Geofili periodici**: conducono una fase del ciclo biologico nel suolo (generalmente la fase larvale) ma nel corso dell'intera vita continuano a mantenere rapporti con esso, per cacciare, deporre le uova o sfuggire a condizioni climatiche sfavorevoli. Molti coleotteri, ad esempio, completano lo stadio larvale nella lettiera o nei primi orizzonti del suolo, mentre nello stadio adulto utilizzano il suolo come fonte trofica, rifugio o altro;
4. **Geobionti** (o edafobi): questo gruppo comprende organismi estremamente adattati alla vita del suolo e non sono in grado di abbandonarlo neppure temporaneamente, avendo

caratteristiche anatomiche, sia nella fase giovanile che in quella adulta, che non consentono loro di sopravvivere negli ambienti ipogei. A questo gruppo appartengono molte specie di miriapodi, isopodi, acari e molluschi oltre alla maggior parte dei collemboli, dipluri e proturi, esempi particolarmente evidenti di organismi edafobi.

Un altro metodo di classificazione molto utilizzato si basa sulla lunghezza del corpo degli organismi e prevede quattro categorie dimensionali:

1. **Microfauna:** organismi la cui taglia corporea è compresa tra 20 μm e 200 μm . Solo il gruppo dei protozoi è completamente compreso all'interno di questa categoria. Vi possono però comparire anche piccoli acari, nematodi, rotiferi e tardigradi;
2. **Mesofauna:** organismi la cui taglia corporea è compresa tra 200 μm e 2 mm. I maggiori rappresentanti di questa categoria sono i microartropodi come acari e collemboli, ma questo gruppo include anche nematodi, rotiferi, tardigradi, piccoli araneidi, pseudoscorpioni, opilioni, larve di insetto, piccoli isopodi e miriapodi;
3. **Macrofauna:** organismi la cui taglia corporea è compresa tra i 2 mm e i 20 mm. In questa categoria sono inclusi alcuni lombrichi, gasteropodi, isopodi, miriapodi, alcuni araneidi e la maggior parte degli insetti;
4. **Megafauna:** organismi la cui taglia corporea è superiore ai 20 mm. A questa categoria appartengono gli invertebrati di dimensioni maggiori (lombrichi, gasteropodi e miriapodi) e i vertebrati (insettivori, piccoli roditori, rettili e anfibi).

Infine gli ecologi riconoscono all'interno del suolo due gruppi di organismi: l'eudaphon, che comprende gli organismi che abitano la fascia di suolo minerale, l'emidaphon che abitano la fascia di suolo organico; a queste in realtà si aggiungono l'epidaphon (o epigeon), costituito dagli organismi che vivono sulla superficie e l'hiperdaphon che si estende allo strato erbaceo (Menta, 2008).

La pedofauna riveste ruoli di grande importanza nella genesi e nello studio del suolo per l'azione esercitata nei processi di trasformazione e umificazione della sostanza organica, per il suo contributo alla costruzione della struttura del suolo e in particolare dei complessi umoargillosi da cui dipendono largamente l'aerazione e l'infiltrazione dell'acqua nel suolo.

Di seguito viene riportata una breve descrizione dei principali gruppi sistematici:

Mammiferi: in particolar modo la talpa, soprattutto nei nostri climi, è l'organismo che principalmente influenza la configurazione del suolo scavando numerose gallerie.

Molluschi: la loro presenza nel terreno è condizionata da numerosi fattori quali umidità, temperatura e quantità di nutrienti. Il ruolo svolto dai molluschi nella formazione del suolo è duplice. Da un lato

alterano profondamente la sostanza organica attaccando la cellulosa, mediante enzimi da loro secreti, dall'altra liberano nel suolo sostanze colloidali che contribuiscono alla formazione della struttura del terreno.

Anellidi: la classe degli Oligocheti, appartenente a questo gruppo, ha un'elevata importanza per la pedogenesi e per le caratteristiche del suolo. Le circa 3500 specie di oligocheti sono costituite da lombrichi e da molti organismi dulcicoli e marini di piccole dimensioni.

Artropodi: rappresentano l'80% delle specie animali e comprendono le classi di Miriapodi, Insetti, Aracnidi e Crostacei. Nel suolo trovano un ambiente di vita adatto numerosissime specie del phylum, assolvendo ruoli che spaziano dalla triturazione e demolizione della sostanza organica, regolazione della microflora e della microfauna, azione sulla vegetazione, consumo di animali morti.

Aschelmini: comprendono nematodi e rotiferi. I nematodi comprendono circa 20000 specie e hanno elevato bisogno di ossigeno e umidità. I rotiferi comprendono circa 2000 specie fondamentalmente acquatiche.

Il suolo è un ambiente che può essere considerato estremo, gli organismi al suo interno si spostano in microcavità, dell'ordine di qualche mm. Per questo assumono diversi adattamenti e perdono strutture che non hanno ora alcuna funzione. Gli organismi perdono progressivamente gli ocelli o occhi, fino all'anoftalmia, causata dalla mancanza di luce nel suolo. Scompare inoltre la colorazione, fino alla depigmentazione, e contemporaneamente si assottiglia il tegumento fino a che, a volte, è possibile vedere gli organi interni. Infine vanno a ridursi le strutture esterne come le appendici (zampe, antenne, furca, etc.) o peli e setole.

Tutte queste caratteristiche sono, però, falsi adattamenti, cioè strutture perse o regredite successivamente. I veri adattamenti sono costituiti da strutture acquisite quali recettori chimici, idrorecettori, tattocettori, allungamento, in alcuni appiattimento e infine miniaturizzazione. Tali adattamenti si trovano in quasi tutti i gruppi sistematici per un fenomeno di convergenza evolutiva.

1.2.1. Ecologia e habitat

La fauna edafica assume notevole importanza nei processi chimico-fisici e biologici che hanno sede nel suolo. Per questo, viene spesso definita come un "super organismo".

Una delle funzioni più importanti, attribuita agli organismi del suolo, è la bioturbazione. Questo fenomeno, causato principalmente da radici e invertebrati, comporta la formazione nel suolo di canali e cavità. Questo porta alla modifica della struttura del suolo, l'aumento della porosità e, di

conseguenza, un'azione sul ciclo dell'acqua. Gli organismi a capo di questo fenomeno prendono anche il nome di ingegneri del suolo e comprendono formiche, termiti, talpe, etc.

Altri organismi, come molluschi e lombrichi operano un'azione di cementazione sulle particelle del terreno, attraverso secrezioni mucose cutanee, che ne favoriscono la stabilità, la struttura e lo rendono meno vulnerabile ai processi erosivi. Le secrezioni mucose, le feci e il corpo stesso dell'animale influenzano le concentrazioni dei nutrienti presenti nel suolo, soprattutto quella del potassio, fosforo e dell'azoto, riducendo il rapporto C/N della lettiera e facilitandone la decomposizione (Menta, 2008). La fauna edafica interviene nel ciclo del carbonio, dello zolfo e dell'azoto demolendo alcune sostanze, nell'organizzare alcuni composti inorganici e nel rilasciare anidride carbonica, ad esempio come sostanza di rifiuto. Queste attività comportano alterazioni chimiche, quali ad esempio variazioni dei valori di pH, che si traducono in diminuzione dei solfati e in fissazione dell'azoto atmosferico attraverso organismi azoto fissatori come batteri, attinomiceti, funghi e alcune alghe. Infine, queste alterazioni chimiche comportano conseguenti alterazioni fisiche come la cementazione delle particelle o il mantenimento degli aggregati.

Strettamente legata a questa azione sul ciclo dei nutrienti, c'è l'azione di demolizione della sostanza organica esercitata dalla pedofauna. Il 90% della decomposizione della sostanza organica è a carico di batteri e funghi (Brussaard, 1997). La catena del detrito assume notevole importanza all'interno del suolo, dove manca il supporto alla produzione primaria, perché diventa la base della rete trofica ipogea. Molti organismi come gli isopodi, alcuni miriapodi, i lombrichi, i collemboli, un ampio insieme di acari, le larve e gli adulti di molti insetti, si nutrono di detriti vegetali e animali che si depositano al suolo (Menta, 2008). Questa è dunque la classe di organismi che vanno a chiudere i cicli biogeochimici.

1.2.2. Fattori che incidono sul popolamento edafico

Il clima, inteso come temperatura e umidità, può incidere sul popolamento edafico. La tolleranza alle diverse temperature è diversa per le diverse specie. Alcuni organismi preferiscono temperature intermedie (20-25 °C), altri temperature più basse (0-1 °C), altri ancora sono attivi esclusivamente a temperature intorno ai 10-11 °C. L'umidità incide sul popolamento edafico in modo simile. Gli organismi tollerano diversi gradi di umidità, eccezion fatta per livelli troppo alti che portano a condizioni di asfissia, a cessazione delle attività aerobiche e alla morte o migrazione verso gli strati profondi degli organismi appartenenti all'atmobios.

Parametro altrettanto importante e "vincolante" in caso di variazioni sostanziali è il pH. Come per i precedenti parametri, diversi organismi sono in grado di tollerare diversi range di pH. Il pH

influenza inoltre la lettiera, secondo il fenomeno che prende il nome di “effetto lettiera”. Una volta che la sostanza organica arriva al suolo, infatti, viene degradata in diversi composti (zuccheri, emicellulose, cellulose, ecc.); sono questi ultimi i parametri che rendono la lettiera più o meno appetibile e di conseguenza più o meno adatta alla presenza di determinati organismi piuttosto che di altri. Alla sostanza organica sono inoltre collegati parametri come la struttura e la tessitura. Infine, il disturbo antropico sicuramente influisce sul popolamento edafico. Ad esempio le sostanze chimiche usate in agricoltura possono facilmente influenzare la componente edafica, come la gestione del terreno stesso. Nelle colture più impattanti, come il mais ad esempio, è facile riscontrare la totale assenza di mesofauna nelle interfila. Già il semplice calpestio può comportare la drastica riduzione di un’abbondante parte di pedofauna.

1.3. Bioindicatori

La qualità ambientale non può essere misurata direttamente ma richiede una serie di informazioni, legate fra di loro, ottenute da vari parametri di tipo biologico, chimico e fisico, importanti per la sostenibilità dei sistemi ambientali. Karlen et al. (1997) hanno individuato le caratteristiche ideali che dovrebbero possedere indici ed indicatori, quali:

- Parametri facili da misurare;
- Parametri acquisibili in tempi brevi;
- Parametri sensibili a variazioni sia temporali che spaziali.

Il grado di inquinamento e degrado viene in genere valutato attraverso analisi di tipo chimico, fisico e microbiologico. È, però, recentemente emersa la necessità di individuare metodiche e analisi in grado di definire la qualità di un ambiente anche in base agli organismi che lo popolano. Nasce così la bioindicazione quale analisi scientifica di informazioni ecologiche finalizzata alla valutazione della qualità di un ambiente. Si basa sul principio che esista una relazione tra i fattori ambientali, gli organismi e la struttura della loro comunità. Se questa relazione è stretta, allora può essere indicativa delle caratteristiche del suolo. La bioindicazione può individuare cambiamenti nella struttura e nella funzionalità di un processo o di un ambiente (un'alterazione) e può quindi essere quantificata. I bioindicatori sono organismi con specifiche richieste ecologiche che forniscono informazioni relative ai cambiamenti ambientali. L'individuazione di un organismo come bioindicatore è un'operazione complessa che generalmente richiede informazioni dettagliate relative alla tassonomia e all'ecologia della specie individuata come potenzialmente indicatrice. Un organismo, per essere un potenziale bioindicatore, dovrebbe presentare le seguenti caratteristiche:

- Ampia distribuzione: l'organismo deve essere presente in diversi ambienti, non deve perciò essere una specie endemica, perché l'indice deve essere applicabile in diverse località;
- Rappresentatività: l'organismo deve poter essere correlabile con l'effetto che si vuole indagare, deve inoltre essere difficilmente camuffabile da fattori di disturbo. Deve essere correlato ai processi ecosistemici dell'ambiente in cui vive;
- Gradualità: deve essere sensibile e suscettibile (in modo graduale) alle variazioni ambientali;
- Accessibilità: deve essere facilmente campionabile e comportare bassi costi e tempi di campionamento;
- Facile riconoscimento: più facile è il riconoscimento più veloci saranno i tempi di analisi e minori i costi.

La bioindicazione è una relazione quantitativa tra struttura di comunità e fattori ambientali (Van Straalen, 2004). Le proprietà della struttura di comunità che possono essere utilizzate per ottenere informazioni sono:

- Ricchezza in specie;
- Rapporto tra le specie (dominanti e rare);
- Distribuzione della taglia del corpo nelle varie specie;
- Classificazione degli attributi del ciclo di vita;
- Classificazione in accordo con le preferenze ecofisiologiche;
- Struttura delle catene trofiche (Menta, 2008).

Studi ed indicazioni di tipo biologico non possono essere isolati dalle analisi chimico-fisiche.

1.3.1. Bioindicatori del suolo

Biomassa microbica – la componente microbica del suolo svolge un ruolo chiave nel processo di decomposizione della sostanza organica. I microorganismi sono stati individuati come ottimi indicatori di qualità del suolo in relazione alle funzioni chiave che svolgono nella demolizione della sostanza organica e nel ricircolo dei nutrienti e in relazione alla rapida capacità degli stessi di rispondere ai cambiamenti ambientali (Menta, 2008). In generale, i metodi d'indicazione basati su questa componente del suolo comprendono la valutazione di:

- Biomassa e carica microbica;
- Attività e diversità microbica;
- Struttura di comunità;
- Relazioni pianta-microrganismo.

La valutazione di tali parametri include metodi di acquisizione di dati ecologici e molecolari. La biomassa microbica del suolo, trattata come un'intera entità che comprende batteri, attinomiceti, funghi, alghe e protozoi, rappresenta un buon indicatore di qualità del suolo perché questi microorganismi sono coinvolti nel ciclo dei nutrienti e nel funzionamento del suolo (Menta, 2008).

Indicatori vegetali – la crescita e lo sviluppo della componente vegetale sono regolati, in modo preciso, dalle caratteristiche dell'ambiente in cui si trova ed è condizionata da una serie di fattori ecologici e storici. Infatti, ogni specie vegetale presenta un range di tolleranza specie-specifico, verso ciascun fattore ecologico, entro il quale è in grado di svolgere le proprie funzioni vitali. La scelta di un indicatore avviene generalmente verso specie la cui reattività a stimoli esterni all'ecosistema sia ben nota e facilmente valutabile. Per questo, le specie vegetali utilizzate come

indicatori devono essere considerate in concomitanza alle loro esigenze ecologiche. Inoltre, si utilizzano come bioindicatori alcune specie di licheni, soprattutto di qualità atmosferica. I licheni, infatti, forniscono, con la loro presenza e il loro aspetto, una misura della purezza atmosferica e costituiscono uno strumento sensibile per valutarne la qualità.

Invertebrati del suolo –lo sviluppo di indicatori basati sulla fauna edafica sta riscuotendo recentemente nuovo interesse. L'approccio più semplice consiste nel selezionare le singole specie come indicatori, ma quello più moderno tende a considerare non più una singola specie ma più gruppi funzionali e le complesse interazioni che tra essi intercorrono.

Gli invertebrati, che possono essere impiegati nel monitoraggio degli inquinanti, includono i nematodi, gli oligocheti, i gasteropodi, i collemboli, gli isopodi e gli aracnidi. Uno degli indici biotici più conosciuti e utilizzati, basati sugli invertebrati del suolo, è quello proposto da Borges (1990). Il Nematode Maturity Index, o indice di maturità dei nematodi, consente di valutare le condizioni di maturità di un ecosistema basandosi sulla composizione della comunità nematologica. Un altro sistema, relativamente ben conosciuto ed utilizzato, è la classificazione ecologica dei lombrichi proposta da Bouchè (1977). Questo processo si basa sul concetto che alcuni aspetti dell'ecologia e della fisiologia dei lombrichi sono correlati alla loro taglia e alla loro attività di scavo. Bouchè ha così proposto di suddividere la comunità di lombrichi in tre gruppi, la cui proporzione fornisce un semplice ma efficace sistema di bioindicazione. Infine, la ricchezza in specie dei microartropodi del suolo è il terzo sistema di bioindicazione più utilizzato.

1.3.2. Microartropodi come indicatori di qualità del suolo

I microartropodi possiedono numerose caratteristiche che li rendono buoni indicatori, tra cui:

- Rispondono sensibilmente al disturbo antropico;
- L'area che ricoprono durante il loro ciclo vitale è rappresentativa del sito che si sta indagando;
- La storia del loro ciclo vitale permette di intuire le condizioni ecologiche del suolo;
- La loro abbondanza e diversità sono ben correlate con le funzioni benefiche del suolo;
- Sono utili per chiarire i processi ecosistemici.

Alcuni indici e indicatori basati sulla comunità di microartropodi sono:

Rapporto acari/collemboli – questo indice è in grado di rappresentare le condizioni biodinamiche del suolo. Infatti, in condizioni di equilibrio, la percentuale di acari, rispetto ai collemboli, è elevata. I collemboli tendono ad aumentare in condizioni di degrado (Bachelier, 1986).

Arthropod acidity index – uno dei principali parametri che influenza la composizione di comunità di invertebrati del suolo è l'acidità. Questo indice prevede che la preferenza media di ciascuna specie di una comunità sia pesata dalla sua "indicator value" e dalla sua abbondanza. Quando sono disponibili dati di diverse specie, l'indice misura la preferenza media di una comunità di artropodi a un sito specifico. Inoltre i bioindicatori di acidità possono essere utilizzati per predire le conseguenze ecologiche a lungo termine di variazioni del pH del suolo (Van Straalen, 1998).

Test di riproduzione con Folsomia candida (ISO 11267-99) – è la specie più utilizzata all'interno dei test letali e subletali. Consente di determinare gli effetti, in termini di mortalità e riproduzione, provocati da sostanze estranee e aggiunte al suolo. Il test prevede un saggio preliminare a 14 giorni in cui si valuta la mortalità e un saggio definitivo a 28 giorni dove si valuta l'inibizione della riproduzione. I test condotti forniscono però indicazioni solo parziali degli effetti provocati da queste sostanze sui collemboli, per questa ragione è utile calibrare gli esperimenti anche su altre specie.

QBS-artropodi – questo indice ha come obiettivo primario quello di misurare l'entità della convergenza morfologica alla vita ipogea dei microartropodi in diversi ambienti e, come ricaduta applicativa, quella di fornire un valore numerico risultante da un indice sintetico di qualità biologica del suolo, valutato in relazione allo stato della mesofauna a microartropodi, il cui ruolo nel suolo è ben documentato (Menta, 2008). L'indice è basato sul principio che un maggior adattamento porta, come conseguenza, a un'elevata vulnerabilità ai cambiamenti ambientali; per questo motivo, la presenza (o l'assenza) di gruppi euedafici può essere utilizzata come strumento di valutazione della stabilità e della qualità del suolo.

Questo indice ha il doppio intento di: valutare il livello di adattamento dei microartropodi alla vita ipogea e superare le ben note difficoltà nell'analisi tassonomica della mesofauna edafica a livello di specie.

QBS-collemboli – i collemboli rappresentano uno dei gruppi più cospicui, sia per presenza di specie che per densità, della componente microartropodologica della mesofauna edafica (Menta, 2008). Questo gruppo è molto interessante per la lunga evoluzione ipogea che ha realizzato caratteristici adattamenti e modificazioni. Questo li rende particolarmente interessanti sia nello studio del livello di convergenza dell'ambiente edafico sia nella valutazione della qualità biologica del suolo. L'indice QBS-c tiene quindi in considerazione solo i collemboli e si è dimostrato particolarmente utile nel discriminare parcelle di suolo con caratteristiche diverse per quanto riguarda acqua, sostanza organica e trattamenti meccanici.

1.4. Micorrize

Tra i funghi e le piante superiori possono instaurarsi rapporti e interazioni complesse. Il risultato di queste interazioni è una complessa struttura che nel 1885 Frank definì micorrize (Menta, 2008). La parola micorriza deriva dal greco *mykes*, fungo, e *rhiza*, radice, e corrisponde all'associazione strutturale e funzionale tra il micelio di un fungo (microbionte) e le radici di una pianta (fitobionte). La micorriza rappresenta una simbiosi di tipo mutualistico, in cui i due simbionti vivono a stretto contatto e traggono reciproci benefici. Queste sono il tipo di simbiosi più diffuso in natura, coinvolgendo il 90% degli alberi delle foreste temperate. I due individui possono sopravvivere anche separatamente ma, attraverso la simbiosi, acquisiscono numerosi vantaggi reciproci.

Ad esempio, le piante, attraverso l'associazione pianta-fungo riescono ad amplificare la superficie radicale di circa 600 volte rispetto alla singola radice. La superficie di scambio risulta quindi aumentata di circa 1000 metri di micelio per ogni metro di radice (Plassard et al., 2000). In questo modo le micorrize permettono una maggior capacità di esplorazione del suolo (Garbaye et al., 1994). Grazie all'aumentata superficie radicale, le micorrize garantiscono alla pianta resistenza contro gli stress idrici. Le ife fungine permettono di mantenere il contatto tra la radice e il suolo anche in condizioni di estrema siccità, permettendo alle piante di estrarre acqua dal suolo anche in condizioni di basso gradiente. I funghi agiscono inoltre da intermediari nella nutrizione delle piante, di conseguenza le micorrize sono strutture privilegiate per l'assorbimento e l'accumulo del fosforo. Soprattutto negli ecosistemi mediterranei, dove i suoli forestali sono generalmente poveri di fosforo, le micorrize possono portare un significativo miglioramento nell'adattamento della pianta durante il primo anno di messa a dimora (Dominguez Nùñez et al., 2006), permettendo inoltre alla pianta di utilizzare l'azoto inorganico e l'azoto organico. Gli stessi autori hanno inoltre dimostrato un aumento di capacità dell'assorbimento del magnesio nelle piante ospiti soggette a stress idrici. Le micorrize, pur non avendo un ruolo diretto sulla fotosintesi né sull'efficienza fotosintetica ma, essendo in grado di influenzare positivamente lo stato nutrizionale della pianta, sono in grado di agire sulla capacità fotosintetica. Infine, da letteratura, emerge che i funghi micorrizici possono ridurre gli effetti e le malattie causate da patogeni fungini.

Le micorrize sono suddivise in: endomicorrize o ectomicorrize (ECM) sulla base della loro capacità a penetrare nella pianta ospite. I tartufi ricadono nella seconda categoria. Nelle endomicorrize l'ifa penetra all'interno delle cellule corticali della radice, mentre lo sviluppo del micelio sulla superficie esterna è poco consistente. Questo tipo di micorriza non è visibile a occhio nudo. La simbiosi ectomicorrizica, invece, è diffusa solo nel 3% delle fanerogame di foreste boreali e di clima temperato. I micobionti possono essere sia Basidiomiceti che Ascomiceti.

Le ECM si formano, tipicamente, tra le radici alimentari terminali delle piante forestali pluriennali e una varietà di specie di funghi (Smith & Read, 1997).

La simbiosi ectomicorrizica si è evoluta ripetutamente tra gli ultimi 130-180 milioni di anni (LePage et al., 2008), e sembrerebbe influenzare positivamente la crescita della pianta e migliorare l'uptake di nutrienti e la protezione contro i patogeni. In questo tipo di simbiosi, le ife fungine si introducono all'interno della radice fra una cellula e l'altra, negli spazi intercellulari, senza penetrare mai nelle cellule formando una struttura denominata reticolo di Harting. Questo reticolo garantisce un trasferimento efficiente di sostanze nutrizionali fra fungo e pianta grazie alla sua ampia superficie di contatto e scambio. Il fungo si sviluppa poi su radici laterali, non soggette ad accrescimento secondario, avvolgendo la radice con uno strato di ife e formando la micoclona o mantello. La micoclona avvolge completamente l'apice radicale e, considerando che solitamente circa il 100% degli apici radicali viene colonizzato (Taylor et al., 2000), la pianta si trova così completamente isolata dal suolo. Qualsiasi nutriente deve, perciò, passare dal fungo. Il micelio, infatti, assorbe acqua e nutrienti, ed è in grado di convertire gli elementi minerali dalla forma insolubile a quella solubile secernendo opportuni enzimi e ioni H^+ . Le ectomicorrize formano inoltre delle vere e proprie reti sotterranee che collegano tra loro alberi vicini, anche di specie diverse, creando flussi di nutrienti da una pianta all'altra.

La pianta presenta, grazie alle ectomicorrize, una maggiore competitività rispetto alle altre piante non micorrizzate per l'acquisizione dei nutrienti (N, P, Zn, Cu), maggiore superficie di scambio a disposizione e maggiore volume di suolo interessato. Inoltre, presentano capacità di abbattere metalli pesanti nel suolo, maggiore sopportazione degli stress idrici (per maggiore apporto di acqua) e protezione da altri funghi parassiti. Il fungo invece ottiene carbonio organico, vitamine e amminoacidi essenziali. Il numero di piante ospiti, che possono formare ectomicorrize, è relativamente piccolo. Sono circa 8000 specie, circa il 3% delle piante da seme forma micorriza ma questa minoranza è di enorme importanza perché sono i componenti dominanti degli ecosistemi forestali (Ponge, 2015).

Le condizioni della pianta ospite, in termini di fosfato e zuccheri, condizionano l'infezione delle radici da parte del fungo. L'abbondanza di carbonio (per la mancanza di azoto e fosforo) favorirà l'instaurarsi della relazione, mentre, se la pianta si dovesse trovare in uno stato ottimale di nutrizione, potrebbe regolare la relazione e, attraverso un meccanismo di feedback negativo, sfavorirla. Le micorrize, quindi, sottraendo carbonio, inducono un aumento del processo fotosintetico e di conseguenza un maggior quantitativo di anidride carbonica fissata. Tutto ciò, influenza i cicli dei nutrienti e migliora la generale struttura del suolo.

Infine, la produzione dello sporocarpo rappresenta una grande riserva non solo di carbonio ma anche di nutrienti minerali. Infatti, gli sporocarpi di molte specie di ECM sono più ricchi di nutrienti come azoto e fosforo, se paragonati al suolo circostante o alla pianta ospite.

1.4.1. Il genere *Tuber*

I tartufi sono funghi ascomiceti ipogei appartenenti al genere *Tuber*.

Dominio: Eukaryota

Regno: Fungi

Phylum: Ascomycota

Classe: Pezizomycetes

Sottoclasse: Pezizomycetidae

Ordine: Pezizales

Famiglia: Tuberaceae

Genere: *Tuber*

Esistono anche falsi tartufi ripartiti tra varie famiglie e differenti generi: Balsamiacee, Elvellacee, Otideacee, Pezizacee, Terfeziacee. Inoltre alcuni Basidiomiceti producono corpi fruttiferi ipogei che erroneamente potrebbero essere scambiati per tartufi.

I tartufi si sono evoluti in linee filogenetiche di funghi ectomicorrizici, ciò suggerisce che l'associazione con le piante possa essere un importante fattore nell'evoluzione del tartufo. I tartufi dipendono dagli animali, che consumandoli ne disperdono le spore, e per questo hanno sviluppato strutture riproduttive che emettono forti aromi per attrarre gli animali. La convergenza evolutiva di questi tratti in diverse linee filogenetiche suggerisce che la transizione da fungo epigeo a ipogeo sia guidata da meccanismi che promuovono la dispersione tramite animali. Tale dispersione può, infatti, essere una strategia più efficiente, rispetto a quella tramite vento o acqua, poiché gli animali che si nutrono di tartufo tendono a rilasciare le proprie feci in prossimità di potenziali piante ospiti. Un altro processo evolutivo che può avere portato alla formazione del tartufo come corpo fruttifero ipogeo è la prevenzione dalla dissecazione. Infatti, nonostante alcuni tartufi, come *Tuber aestivum* Vittad. e *Tuber melanosporum* Vittad., possiedano una copertura esterna che li protegge, molte altre specie hanno corpi fruttiferi delicati.

Al genere *Tuber* appartengono numerose specie di funghi ipogei. Il corpo fruttifero, carpoforo, comunemente detto tartufo, a piena maturità ha un aspetto globoso, spesso sferoidale, con dimensioni variabili che possono arrivare fino a quelle di una grossa arancia.

Lo strato esterno è chiamato peridio e consiste in un rivestimento che può essere giallo, bianco, rossastro, bruno o nero di superficie liscia (come nel caso del *Tuber magnatum* Pico) oppure più o meno verrucosa (come nel caso del *T. melanosporum* o *T. aestivum*). Le caratteristiche del corpo fruttifero variano a seconda della specie di tartufo, del tipo di pianta simbionte e dell'ambiente in cui cresce. Il peridio, invece, può presentare caratteristiche variabili anche all'interno della stessa specie. Per esempio il tartufo bianco, cresciuto in ambienti acquitrinosi, presenta un peridio con maculature esterne color ruggine, mentre se cresce in ambienti incolti, assolati e con folta copertura erbacea assume colore giallastro.

L'interno del tartufo, la gleba, ha aspetto marmorizzato dovuto a venature chiare, la parte sterile, che racchiudono aree più scure, la parte fertile. Il colore della gleba, come quello del peridio, varia da specie a specie, tuttavia dipende anche dal grado di maturazione, diventando così un carattere diagnostico affidabile solo nei corpi fruttiferi che hanno già raggiunto la maturità. Dipende, inoltre, dal tipo di pianta con cui il fungo vive in simbiosi e dai sali minerali presenti nel terreno. Per esempio la gleba del tartufo bianco è quasi bianca quando questo vive in simbiosi con il salice bianco o con il pioppo, diventa color nocciola scuro quando in simbiosi con la quercia e infine maculata di rosso quando in simbiosi con iliglio. Al contrario, la gleba del tartufo nero pregiato, quando in piena maturità, presenta caratteristico colore nero-violaceo. La parte fertile della gleba (zone scure) ospita gli aschi. Gli aschi sono strutture microscopiche, di forma globosa, dove si formano le spore (più propriamente chiamate ascospore), che costituiscono gli organi per la riproduzione sessuale del fungo. Hanno dimensioni variabili (millesimi di millimetro) e forma variabile a seconda della specie. I membri ipogei delle Pezizales tendono ad avere, all'interno di una stessa famiglia o genere, lo stesso numero di nuclei nelle ascospore, ad eccezione del genere *Tuber*, dove le spore possono racchiudere da uno a 18 nuclei, anche se la maggior parte delle specie ne presenta quattro. Sono rivestite da un involucro resistente, munito di aculei (nel caso del tartufo nero) o di alveoli più o meno regolari (nel caso del tartufo bianco pregiato). Il loro aspetto può essere traslucido oppure di diverse tonalità di bruno. La lunghezza degli aculei, la loro forma, la geometria, la disposizione, le dimensioni, la forma e il colore delle spore sono i caratteri diagnostici di sicuro affidamento. I tartufi tendono ad associarsi con angiosperme e gimnosperme, principalmente querce, noccioli, alcune specie di pini, ma anche alcune specie di arbusti come il genere *Cistus*.

1.4.2. Il ciclo biologico del tartufo

Nonostante il suo enorme valore commerciale ed economico, il ciclo biologico del tartufo è ancora poco noto. La natura ipogea e il suo sviluppo sotterraneo non permettono di seguire il ciclo biologico nella sua completezza, di conseguenza è ancora quasi del tutto sconosciuto. Sono stati, però, condotti degli studi su *T. melanosporum* e da essi si è cercato di desumere uno schema valido anche per le altre specie.

Si possono distinguere tre fasi principali:

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

La prima fase parte dal carpoforo, il corpo riproduttivo del tartufo contenitore delle ascospore. Il carpoforo maturo, una volta formato, rimane nel terreno e si decompone naturalmente per fenomeni di marcescenza oppure è mangiato da animali attratti dal suo odore particolare (roditori, vermi, molluschi, ecc.). In questo modo sono liberate le spore contenute nel carpoforo. La primavera successiva, se le condizioni di clima e suolo sono favorevoli, le ascospore riescono a germinare. L'induzione di questo fenomeno sembrerebbe essere legato anche alle radici delle piante che, alla ripresa vegetativa, producono una maggiore quantità di essudati radicali.

La spora inizia a germinare emettendo un finissimo filamento di micelio uninucleato, geneticamente identico alla spora che lo ha prodotto e che viene detto micelio primario. Il micelio primario poi si accresce, insinuandosi nelle particelle del terreno e, una volta incontrato un altro micelio primario (derivante da un'altra ascospora), si fonde originando un micelio secondario caratterizzato da cellule contenenti due nuclei geneticamente diversi tra di loro. A questo punto può avere inizio la fase simbiotica, nella quale il micelio si espande nel suolo alla ricerca dell'apice radicale appartenente a una pianta ospite adeguata. Quando questo micelio secondario incontrerà l'apice radicale (generalmente di radici secondarie, ricche di capillizio e specializzate nell'assorbimento delle sostanze nutritive del terreno) lo avvolgerà progressivamente con le ife fino a formare un'ectomicorriza (processo conosciuto come infezione primaria). La formazione dell'ectomicorriza avviene attraverso l'avvolgimento dell'ifa attorno all'apice radicale fino alla formazione di una specie di guaina di alcuni strati di cellule (micoclena). Dalla micoclena, poi, alcune ife penetrano negli spazi intercellulari dello strato più esterno della radichetta formando il reticolo di Harting, mentre altre si dirigono verso l'esterno (i cistidi). Questi ultimi, insieme ad altre ife, si occupano dell'assorbimento dell'acqua e dei sali minerali presenti nel terreno e, attraverso le ife del reticolo di Harting, li trasferiscono alla pianta ospite. Allo stesso tempo, il tartufo trae dalla pianta tutte le sostanze organiche necessarie per la propria sopravvivenza.

In questo modo l'apice radicale cambia morfologia, assume una forma clavata, perde i peli e spesso, stimolato dal fungo a produrre nuovi abbozzi di radichette laterali, si accresce portando poi alla formazione prima di nuove micorrize e poi di ife che colonizzano il terreno (infezione secondaria). In certe zone del sistema radicale l'infezione micorrizica provoca un'abbondante divisione radicale ed un'accumulazione o "glomerulo" di micorrize abbastanza compatto. Tutto il processo si estende per il suolo fino a raggiungere una biomassa tale che, se le condizioni sono idonee, può dare inizio alla fruttificazione. Durante questa fase, nella quale si verifica una chiara simbiosi, si produce anche una collaborazione con i batteri che migliorano e stimolano il processo micorrizico, aiutando l'acidificazione del mezzo, favorendo lo sviluppo estensivo del micelio. Quando le radici cessano la loro crescita, a causa ad esempio di un deficit idrico, passano da colore bianco a marrone, cambiamento dovuto ad un accumulo di lignina e tannini. Quest'accumulo di sostanze ricche in idrogeno è fondamentale, perché queste sono le sostanze che maggiormente favoriscono lo sviluppo del tartufo.

Il ciclo biologico del tartufo segue quello della pianta: in primavera le micorrize riprendono a crescere e continuano per tutta l'estate se le condizioni del terreno si mantengono favorevoli. In inverno, invece, riducono l'attività metabolica per affrontare la stagione avversa e, se riescono a superarla, riprenderanno lo sviluppo nella primavera successiva.

La formazione degli ascocarpi (fase di fruttificazione) si verifica solo quando si verificano le seguenti condizioni: 1) la pianta simbiote ha raggiunto maturità fisiologica; 2) nel terreno c'è sufficiente carica micologica; 3) le condizioni ecologiche sono favorevoli.

Solo dopo il verificarsi di queste tre condizioni, le ife fermano il proprio accrescimento e iniziano a formare il carpoforo. Sono ancora poco note le prime fasi di formazione del carpoforo, mancanze dovute principalmente alla natura microscopica del carpoforo nei primi giorni di neoformazione che non ne permettono l'individuazione nel suolo. Si ipotizza, però, che inizialmente sia costituito da un intreccio globoso di ife (primordio o abbozzo del carpoforo) che si sono sviluppate a partire dalle micorrize. I primordi giovani sono costituiti da tre parti: il "piede" (parte basale), il quale produce filamenti che ricoprono la struttura in formazione; l'ascogonio (parte mediana) con citoplasma denso e ricoperto da filamenti giovani; tricogino (parte terminale) avvolto attorno ad un filamento sterile. In questa fase (fase simbiote) il carpoforo è ancora collegato alla pianta ospite. Quando l'ascocarpo raggiunge maturazione (dimensioni di diametro idonee e circa 3 mg di peso) presenta la sua struttura caratteristica: peridio esterno e gleba costituita da vene sterili e vene fertili. È questo lo stadio durante il quale, probabilmente, il carpoforo si stacca dalla pianta e inizia a vivere in maniera autonoma (fase saprofitica) assorbendo nutrienti dalle ife che partono dal peridio. Il tartufo quindi si accresce e cambia, le vene sterili all'inizio evidenti e ampie, diventano sempre più sottili

all'aumentare delle ascospore che si sviluppano nel terreno fertile, più scuro. Infine, quando la maturazione delle spore è completa il tartufo si decompone e, con la liberazione delle ascospore nel terreno, ricomincia il suo ciclo.

1.4.3. *Tuber aestivum* Vittad. 1831

Comunemente noto come tartufo estivo o scorzone, l'etimologia del nome deriva dal latino (*aestivum* = estivo) ed è dovuto al suo periodo di fruttificazione che va da maggio ad agosto. Il corpo fruttifero è di forma più o meno globosa, in media tra i 3/7 cm di diametro, di colore bruno nerastro, verrucoso.

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

Presenta una gleba con aspetto marmorizzato, percorsa da venature sterili di colore bianco-crema chiaro e parte fertile bruno-scuro a maturazione. Gli aschi appaiono sacciformi con breve peduncolo e dimensione massima fino a 100 µm, spore giallo-brunastre, da ellissoidali a subglobose, reticolate, alveolate con maglie irregolarmente poligonali.

L'habitat è quello di un fungo ipogeo, comune e ad ampia diffusione ecologica, sotto vari tipi di latifolia, raggiunge la maturità nel periodo estivo.

1.4.4. *Tuber melanosporum* Vittad. 1831

Comunemente noto come tartufo nero pregiato, il suo nome deriva dal greco *mélas* = nero, e *sporà* = semi, spore. Il periodo di fruttificazione va da settembre a maggio. Presenta ascocarpo di forma più o meno globosa, in media di 3/5 cm di diametro di colore bruno nerastro, verrucoso. Il peridio è sottile, non coriaceo, costituito da verruche irregolarmente poligonali, piatte o poco di rilievo. Se leggermente grattato mostra un colore bruno-rugginoso. La gleba è tipicamente mazzata, marmorizzata, con venature sterili di color biancastro, spesso anastomizzate e parte fertile bruno-scuro. Gli aschi sono sacciformi con o senza breve peduncolo e dimensione massima fino a 70 µm, spore bruno-nerastre, ellissoidali, fittamente aculeate, aculei distinti a volte con apice ricurvo. *T. melanosporum* difficilmente affiora al suolo, è abbastanza comune in natura o coltivato sotto vari tipi di latifolia.

Questa specie di tartufo sembrerebbe avere una forte relazione con il carbonato attivo nel suolo (García-Montero et al., 2009). Alcuni autori hanno infatti dimostrato che le influenze sul suolo, da

parte del tartufo, su parametri come tessitura granulometrica, pH e frazioni calcaree spiegherebbero solo il 27% della variazione nella produzione di *T. melanosporum*. Invece, il carbonato attivo spiegherebbe circa il 43% di questa variazione e ha mostrato una correlazione positiva con la produzione dei corpi fruttiferi. I risultati hanno inoltre dimostrato che la concentrazione di carbonato attivo all'interno del pianello è significativamente più alta (2.17 volte più alta) e l'abbondanza del carbonato totale è significativamente più bassa all'interno rispetto che all'esterno (in media 0.64 volte più bassa; García-Montero et al., 2009).

Il carbonato attivo costituisce un importante riserva di scambio di Ca^{2+} , e la presenza di entrambe le componenti è molto importante per *T. melanosporum*. Gli autori hanno infatti mostrato come il carbonato attivo sia positivamente correlato con la concentrazione del Ca^{2+} di scambio e come spieghi il 42% della varianza totale.

1.4.5. Il pianello

Alcune specie appartenenti al genere *Tuber* producono intorno alla pianta ospite una zona completamente priva di vegetazione o scarsamente inerbita che prende il nome di pianello (o brûlé in francese o burn in inglese). Quest'area, di norma di forma circolare, può essere pluriennale o non. È generalmente di dimensioni molto variabili, si accresce con le dimensioni dei capillari radicali della pianta ospite che portano le micorrize, con una tendenza ad espandersi verso l'esterno di 10-15 cm ogni anno. Lo sviluppo maggiore delle micorrize si può osservare alla periferia dell'area bruciata o all'esterno della stessa dove è presente la vegetazione erbacea. Pacioni (1991) ha dimostrato l'influenza negativa di tre aldeidi (2-metilpropanale, 2-metilbutanale e 3-metilbutanale) e due alcoli (2-metilbutanolo e 3-metilbutanolo) estratti da tartufi maturi, sulla germinazione dei semi di alcune piante coltivate e sullo sviluppo di alcuni funghi e batteri della rizosfera. Sono fitotossici anche alcuni aminoacidi e, in generale, alcune sostanze, sia volatili che solubili. Il pianello è influenzato da fattori quali il clima, principalmente la piovosità, e il periodo dell'anno considerato. Questo fenomeno è dovuto principalmente agli effetti fitotossici dei metaboliti prodotti da alcune specie di *Tuber*, in particolar modo *T. melanosporum*, *T. aestivum* e *T. indicum*, che influenzano la copertura erbacea e le radici della pianta ospite (Lanza et al., 2004; Pacioni, 1991; Pappa, 1980; Plattner & Hall, 1995). La presenza del pianello è un segno che le specie di tartufo, presenti nel sottosuolo, sono attive, anche se non è indice della sicura presenza di ascocarpi. L'area occupata dal pianello si accresce all'estendersi delle dimensioni della pianta ospite e dell'estensione del micelio. La stessa produzione di corpi fruttiferi aumenta all'aumentare dell'area del pianello. Sono diverse le specie di piante che il tartufo "usa" come ospiti: querce (*Quercus* spp.), noccioli

(*Corylus* spp.), pioppo (*Populus* spp.), faggi (*Fagus* spp.) e cisti (*Cistus* spp.). La vegetazione presente all'interno del pianello è quella tipica di ambienti aperti, secchi e soleggiati.

I meccanismi della formazione del pianello non sono ancora completamente conosciuti, ma questo fenomeno inizia quando le radici micorrizzate della pianta ospite si avvicinano alla superficie (in generale 10-15 cm sotto il livello della superficie).

Le alterazioni, all'interno del pianello, create dal tartufo sono (Menta et al., 2014):

1. Innalzamento del pH a valori compresi tra il 7.5 e 8.2 (García-Montero et al., 2014);
2. Diminuzione del carbonio organico (García-Montero et al., 2014);
3. Diminuzione della sostanza organica;
4. Riduzione dell'umidità.

Queste ultime tre conseguenze possono essere dovute principalmente alla scarsa copertura vegetale che riduce l'apporto di materiale da degradare al suolo, con conseguente diminuzione di sostanza organica e carbonio organico, e con la mancanza di copertura durante l'insolazione estiva che facilita lo stress idrico.

García-Montero et al. (2009) hanno inoltre evidenziato come le dimensioni dell'area del pianello sembrerebbero essere correlate alla percentuale di carbonato attivo presente negli orizzonti superficiali (viene considerato carbonato attivo quella frazione di carbonato di calcio con dimensioni inferiori ai 50 μm , suscettibile di rapida mobilizzazione e chimicamente molto attiva). Il micelio fungino è in grado di acidificare la porzione di suolo intorno alla zona di micorrizzazione della pianta ospite, emettendo ioni H^+ per acquisire dal terreno ioni K^+ . Questa acidificazione provoca lo scioglimento di carbonato di calcio e un conseguente aumento di carbonato attivo. L'aumento nel suolo di questo ultimo provoca a sua volta un aumento del pH, che comporta un aumento degli ioni HCO_3^- e Ca^{2+} , questo, a cascata, porta all'insolubilizzazione di elementi come Al, Co, Cu, Fe, Zn, e Mn. Questa maggiore concentrazione di carbonato attivo nel suolo induce, nelle piante presenti nel pianello, uno stato di clorosi (denutrizione). La clorosi si manifesta mediante l'effetto inibente la crescita e la germinazione di altre piante all'interno del pianello. Inoltre, tale stato sulla pianta ospite produce un aumento del bisogno di risorse trofiche, che vengono assorbite attraverso micorrize; questo stimolerà la crescita del micelio fungino, che di conseguenza tornerà ad incrementare la concentrazione di carbonato attivo nel suolo. In questo modo il micelio innesca un meccanismo di feedback vantaggioso per l'aumento della produzione di corpi fruttiferi (García-Montero et al., 2009). Anche Castrignanò et al. (2000), partendo dall'ipotesi che il pianello potesse presentare modificazioni di tipo fisico-chimico, con uno studio confermarono che la presenza di copertura erbacea nell'area esterna al pianello stabilizza la struttura del suolo, favorendo la presenza di aggregati di dimensioni maggiori rispetto all'area interna, che di

conseguenza risulta più sensibile agli effetti disgreganti degli agenti atmosferici, più incoerente, poroso e areato.

1.4.6. Composti organici volatili (VOCs) emessi dal tartufo

Le diverse specie di tartufo emettono una complessa varietà di sostanze che contribuiscono a creare i caratteristici odori tipici delle diverse specie. Queste sostanze prendono il nome di composti organici volatili (VOCs) e ad oggi, sono circa 200 i VOCs identificati emessi da diverse specie di tartufi (Splivallo, 2008). Questi VOCs giocano un ruolo attivo nella regolazione delle simbiosi e nelle interazioni con altri organismi, incluse le piante non ospiti.

È stato dimostrato che i tartufi emettono composti organici volatili ad effetto fitotossico già in uno studio del 1991 di Pacioni. Alcuni di questi composti sono comuni a tutte le specie, altri invece sono specie-specifici. Infatti, mentre 1-octen-3-ol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol e il metilsulfide sono comuni a tutte le specie, altri, presenti semplicemente come tracce, possono avere varia intensità e struttura secondo le diverse specie di tartufo (Splivallo, 2008). Questi composti sono rilasciati durante l'intero ciclo vitale del tartufo (Streiblová et al., 2011), e sono influenzati dallo stadio di maturazione del corpo fruttifero, dalla variabilità genetica intraspecifica, dalle diverse origini geografiche e dalla presenza di flora microbica che abita i tessuti dell'ascocarpo. Esistono, infatti, VOCs prodotti durante le fasi di pre-micorrizzazione. In tal senso, 29 VOCs specifici di queste fasi sono stati identificati come idrocarburi, alcoli, ketoni, un derivato colesterolo brumato e terpenoidi che potrebbero essere interessati nei chemiotropismi delle ife verso le radici delle piante (Menotta et al., 2004). La trasmissione di segnali, all'interno della rizosfera, tra le piante e i microrganismi è regolata dalle molecole che permettono il riconoscimento ospite-simbionte e inducono cambiamenti morfologici in entrambi i partner (Splivallo, 2008). Alcuni autori, inoltre, si sono concentrati sulla fitotossicità di *T. melanosporum* e *T. aestivum* per cercare di spiegare il pianello (Splivallo, 2008). I risultati osservati, suggeriscono che il carpoforo non è la maggiore causa scatenante del pianello, infatti questo appare tra qualche mese fino a qualche anno prima della formazione del primo corpo fruttifero. Inoltre, alcuni carpofori sono ritrovati fuori dal pianello. Nonostante ciò, i metaboliti prodotti dal corpo fruttifero potrebbero aumentare l'effetto fitotossico all'interno del pianello e, inoltre, non si può escludere che i metaboliti prodotti dal corpo fruttifero siano prodotti anche dal micelio e/o dalle micorrize (Splivallo, 2008). Sono infatti stati evidenziati metaboliti fitotossici prodotti dal micelio in uno studio riportato da Fasolo-Bonfante et al. (1971) (Splivallo, 2008). I VOCs prodotti da tartufo sono non solo di diversa struttura e quindi di

diverso significato biologico/ecologico ma anche emessi in diversi momenti del ciclo biologico del tartufo stesso.

I tartufi sono caratterizzati anche da composti volatili con anelli aromatici, con un tipico odore fenolico, che costituiscono un'altra ricca fonte di tossicità fitochimica presente nel pianello. Splivallo et al. (2009) hanno evidenziato come alcuni di questi composti volatili, etilene e IAA (acido 3-indolacetico), agiscano in sinergia per indurre modificazioni nelle radici delle piante, comprese quelle della pianta ospite. Le alterazioni prodotte riguardano principalmente la riduzione dell'accrescimento delle radici primarie, l'aumento di sviluppo di radici secondarie ramificate e l'allungamento di peli radicali. Queste modificazioni portano alla formazione delle migliori condizioni per l'instaurarsi della simbiosi micorrizica con il fungo. Sulla restante parte di vegetazione i due fitormoni possono agire da potenti erbicidi, se prodotti dal micelio in concentrazioni elevate, favorendo la formazione del pianello. In accordo con Splivallo (2007) composti organici singoli sono stati riscontrati, in basse concentrazioni, in varie specie di *Tuber*, ma il loro effetto sul metabolismo del tartufo necessita di ulteriori studi. Recentemente, diciassette composti aromatici attivi del *T. melanosporum* sono stati scoperti e alcuni sono stati identificati come particolarmente ricchi di fenoli. Tra questi nuovi composti identificati sono presenti il 5-metil-2-propilfenolo, il β -feniletanolo e il 3-etilfenolo mentre è stato visto che *T. aestivum* sembrerebbe emettere fino a 100 volte meno composti aromatici, composti principalmente da β -feniletanolo, solfuro dimetile e 3-metilfenolo.

Probabilmente questi composti volatili sono legati al sistema di dispersione delle spore e alla sua evoluzione in ambiente ipogeo. Un ruolo complementare, infatti, di questi composti volatili potrebbe essere quello di sopprimere la vegetazione entro il pianello per marcare la sua posizione nel suolo e, allo stesso tempo, emettere questi composti come segnali per attrarre organismi che possono agire come vettori per la dispersione del tartufo. Il composto che agisce maggiormente come attrattore è il dimetilsolfuro (DMS). Probabilmente, infatti, sarebbe proprio questo composto ad attrarre due noti insetti infestanti del tartufo: *Leiodes cinnamomea* (coleottero) e *Suillia pallida* (dittero). Specifici VOCs sono, probabilmente, prodotti dal tartufo anche per regolare/interagire con popolazioni batteriche e fungine intrappolate all'interno del corpo fruttifero o all'interno del pianello.

1.5. Relazioni tra fauna edafica e tartufo

Le prime evidenze fossili conosciute di ECM sono datate a circa 50 milioni di anni ma i dati molecolari suggeriscono che l'origine potrebbe essere precedente, circa 180 milioni di anni fa (Ponge, 2015). Nonostante questa antica evoluzione, questi organismi sono evoluti in un ambiente in cui erano già presenti altri organismi, come ad esempio gli acari. Alcuni discendenti moderni di questi primi acari sono fungivori e sembrerebbe possibile che abbiano causato una qualche forma di pressione selettiva nell'evoluzione delle ECM (Ponge, 2015). Nelle ECM, infatti, il mantello è esposto sulla superficie delle radici e questo rappresenta per un organismo fungivoro una piccola risorsa alimentare di alta qualità (Ponge, 2015). Molte ECM hanno quindi sviluppato cellule specializzate sulla superficie del mantello. Queste cellule sembrerebbero contenere sostanze che servirebbero all'ECM a difendersi da potenziali artropodi fungivori. Infatti, le piccole strutture delle ECM (mantello, rizomi, ife e sporocarpo primordiali) sono tutte soggette a pressione di pascolo da parte dei microartropodi del suolo. Quindi, meccanismi di difesa di piccola scala, come ad esempio le sostanze rilasciate dalle cellule sopramenzionate, potrebbero essere dei deterrenti efficaci per questi organismi (Ponge, 2015).

In diversi momenti del loro ciclo vitale, i tartufi rilasciano specifici componenti volativi per interagire con particolari organismi (Splivallo et al., 2011). Questi composti possono non giocare un ruolo fondamentale nella normale crescita o sviluppo delle cellule del fungo, ma sicuramente hanno un chiaro ruolo ecologico. I metaboliti secondari sono, infatti, importanti in molti processi fungini, inclusa la stimolazione o l'inibizione di organismi attraverso allelochimici, e la regolazione di interazioni benefiche con i microbi o altre radici (Angelini et al., 2010). Nel tartufo questi composti sono responsabili della formazione del pianello. Le particolari condizioni che si creano all'interno del pianello, generate dal tartufo, possono influenzare gli organismi del suolo in molti modi diversi, sia direttamente che indirettamente. Il pianello, infatti, essendo caratterizzato da livelli più bassi di sostanza organica, alcune volte valori più alcalini di pH e una minore capacità di ritenzione dell'acqua, può sfavorire la presenza di alcuni organismi, causando uno shift nella comunità e incoraggiando la presenza di organismi resistenti agli stress. La mancanza di copertura vegetale può causare un deficit di umidità. L'umidità del suolo influenza gli organismi perché l'acqua è essenziale per la vita e per le attività e il metabolismo degli enzimi, e perché l'umidità del suolo influenza anche la temperatura e l'aerazione del suolo. Molti sono gli organismi che potrebbero essere influenzati da questi cambiamenti. I dipluri, ad esempio, preferiscono suoli con alti livelli di umidità, l'attività dei lombrichi è legata alle piogge e al contenuto di umidità del suolo e anche gli isopodi, che sfuggono condizioni di siccità, potrebbero evitare questo ambiente. L'adattamento al

suolo di questi ultimi, infatti, è meno efficiente rispetto a quello degli altri organismi e compensano la mancanza di acqua assorbendola dalla superficie attraverso la bocca. Gli stress idrici, inoltre, influenzano la taglia e l'attività della comunità di organismi del suolo per due ragioni: 1) una riduzione di acqua nei pori e nello spessore dei film d'acqua del suolo (che controllano l'aerazione del suolo e la mobilità di alcuni animali); 2) la riduzione dell'energia libera dell'acqua, rendendo difficile il suo assorbimento (Killham, 1994).

All'interno del pianello, la sostanza organica arriva in quantità decisamente inferiori rispetto agli altri ecosistemi. Questo può portare a una diversa struttura di comunità del suolo, con una mancanza di organismi decompositori e una conseguente perdita di predatori e probabilmente un aumento di erbivori o di organismi che si nutrono di funghi. Molti organismi del suolo, infatti, come sinfili, proturi, diplopodi e lombrichi, ma anche molti organismi detritivori, preferiscono vivere in suoli ricchi di sostanza organica.

In modo analogo, il pH può influenzare gli organismi del suolo perché specie diverse sono attive a diversi range di pH. Kuperman (1996) ha, per esempio, riscontrato una correlazione positiva tra il pH e diversi organismi del suolo come lombrichi, gasteropodi, isoteri, carabidi, stafilinidi, blattoidea e larve di dittero. Esher et al. (1993) hanno evidenziato grandi effetti di trattamenti leggermente acidi sulla popolazione di lombrichi. Questi esperimenti hanno dimostrato che molti lombrichi hanno particolari limiti in termini di tolleranza all'acidità del suolo e che tendono ad evitare suoli con livelli di pH sfavorevoli. Kaplan et al. (1980) hanno ad esempio osservato una mortalità del 100% in *Eisenia fetida* quando sottoposta a pH tra 5 e 9. Anche chilopodi e sinfili sembrerebbero molto sensibili a variazioni di pH. La maggior parte delle specie sembrerebbe preferire pH tra il 5 e il 6, mentre nessuna riuscirebbe a sopravvivere a pH più bassi di 4.

Infine, il pianello è caratterizzato da più bassi contenuti di sostanza organica. È stato infatti dimostrato che il carbonio organico nel pianello diminuisce di circa il 52% (Bragato, 1997). Anche questo parametro potrebbe influenzare la comunità del suolo. Kuperman (1996) ha infatti identificato una correlazione negativa tra questo parametro, nell'orizzonte A₁, e il numero di lombrichi, carabidi, gasteropodi e stafilinidi. Inoltre, in accordo con numerosi studi, gli invertebrati del suolo mediano circa il 15% del carbonio e il 30% del turnover di azoto (Anderson, 1995).

1.5.1. Biodiversità dei microartropodi nei pianelli di *Tuber*

In accordo con l'ipotesi filogenetica per la quale i funghi ipogei, come i tartufi, si siano evoluti con un sistema attivo di dispersione delle spore, la dispersione deve essere a carico degli animali. Alcuni animali hanno evoluto la capacità di cibarsi delle spore di tartufo e così facendo sono

diventati degli agenti attivi di dispersione (Pacioni et al., 1991). Questi animali sono stati chiamati “hydrophagous” (Pacioni et al., 1989) dal greco “hydnon”, tartufo, e “phagous”, mangiare, e questa categoria include specie appartenenti a diversi gruppi tassonomici. Tutte le piante micorriziche del mondo hanno almeno una (spesso molte) specie di insetti erbivori che le attaccano (Koricheva et al., 2009). La presenza delle micorrize sembrerebbe influenzare le performances degli insetti erbivori e, alla fine, le densità delle popolazioni di insetti e l’entità del danno degli erbivori alla pianta. La dieta di alcuni animali, come alcuni mammiferi (roditori, cervi, maiali), uccelli e lumache include i tartufi, queste spore ipogee alcune volte rappresentano la loro intera dieta. Esempari di quest’ultima categoria sono alcuni generi di artropodi, in particolar modo coleotteri e ditteri. Alcuni autori hanno descritto il meccanismo spiegando l’impatto che i microartropodi del suolo hanno sulla comunità fungina. Hanlon & Anderson (1979) hanno dimostrato come l’attività di alimentazione dei microartropodi possa avere una forte influenza sulla popolazione di funghi e batteri. Inoltre alcune reviews sulle interazioni tra le micorrize arboricole e la fauna del suolo evidenzia che i collemboli hanno il potenziale per restringere la funzionalità delle micorrize nel suolo (Fitter & Garbaye, 1994; Fitter & Sanders, 1992).

Mentre è ben noto come alcune specie di mammiferi sappiano riconoscere l’odore del tartufo, non è ancora ben chiaro come i microartropodi che vivono nelle vicinanze del tartufo possano agire come potenziali agenti della dispersione delle spore. Ad eccezione degli studi menzionati sopra, ci sono solo alcuni studi sulle relazioni tra la fauna e la biologia del tartufo (Queralt et al., 2014). L’organismo più famoso e largamente studiato legato al tartufo è un coleottero. Uno dei fungivori più specializzati che attacca il tartufo è il coleottero *Leiodes cinnamomea* (Coleoptera: Staphylinoidea, Leiodidae). Questo coleottero è univoltino ed ha una distribuzione europea. Si nutre di diverse specie di tartufo (*Tuber* spp.) e completa il suo ciclo di vita all’interno o vicino al corpo fruttifero (Arzone, 1970; Newton, 1984). Hochberg et al. (2003) hanno dimostrato che individui adulti di *L. cinnamomea*, nonostante allo stadio larvale sembrano infliggere danni sostanziali ai corpi fruttiferi di tartufo nero, non sono attratti dall’odore emesso dal tartufo. Nonostante ciò, alcuni individui mostrano una attrazione persistente se ripetutamente esposte, mostrando come gli adulti possano in qualche modo percepire l’odore. Questa non è l’unica specie di coleottero conosciuta che sembra attratta dal tartufo, ci sono molti dati legati ai Catopidae, Cryptophagidae, Leiodidae, Micropeplidae, Nitidulidae, Ptiliidae, Staphylinidae, Scarabaeidae, ma Leiodidae è la famiglia più strettamente legata al tartufo. A questa famiglia appartengono organismi tipicamente micofagi (Wheeler, 1984) e in alcuni casi (*Leiodes*) lo sviluppo delle larve è strettamente legato al tartufo (Arzone, 1971). Anche altri insetti (ditteri e coleotteri) sono stati identificati come fauna nutrizionalmente legata ai carpofori dei tartufi (Pacioni et al., 1989). Le più conosciute sono le

“mosche del tartufo”, otto specie di *Suillia* (Heleomyzidae)(Bratek et al., 1992; Callot, 1999; García-Montero et al., 2004; Janvier, 1963; Pacioni et al., 1989). In riferimento alle altre specie di artropodi, ci sono solo alcuni studi che si soffermano a studiare soprattutto coleotteri e ditteri. Menta et al. (2014) hanno cercato di evidenziare differenze tra la comunità di microartropodi associata a pianelli di *T. aestivum* e quella all'esterno del pianello. Questa ricerca prende in considerazione tre diverse aree, due in Italia (nel Nord e nel Sud) e una in Spagna (nella provincia di Guadalajara). Gli autori non hanno evidenziato un trend univoco, ma la maggior parte dei gruppi di microartropodi erano più abbondanti all'esterno del pianello. Questi gruppi in particolare erano: acari, imenotteri, diplopodi, sinfili, pauropodi, proturi, dipluri, emitteri, pseudoscorpioni e ragni. Questo trend suggerisce che questi gruppi possono trovare all'interno del pianello un ambiente sfavorevole alla loro crescita e sviluppo, probabilmente dovuto a diversi fattori che includono ad esempio il minor contenuto di sostanza organica. Questa tendenza non era seguita dai coleotteri o dalle larve di lepidottero i quali probabilmente trovano all'interno del pianello maggiori risorse di cibo e migliori condizioni fisico-chimiche. Menta et al. (2011b) e Tarasconi et al. (2011) hanno inoltre riportato le interazioni tra i microartropodi e il *T. melanosporum* evidenziando densità più basse di acari e formiche all'interno del pianello. All'interno del gruppo dei collemboli, invece, Menta et al. (2014) hanno mostrato come le famiglie di Ipogastruridae, Sminthurididae e Isotomidae fossero più abbondanti all'esterno del pianello, mentre all'interno della famiglia degli Isotomidae, il genere *Folsomia* ha evidenziato abbondanze maggiori all'interno del pianello. Uno studio (Hodge, 2000) ha, infatti, evidenziato la presenza di spore e micelio extraradicale di ife di micorrize arboricole nel contenuto intestinale di *Folsomia candida*. Queralt et al. (2014) si sono focalizzati sulla comunità di acari associata a pianelli di tartufo nero. Hanno evidenziato come gli acari oribatei dominassero la comunità in termini di abbondanza e ricchezza in specie in suoli coltivati e naturali. Molti acari oribatei sono micofagi e possono avere una relazione diretta con il ciclo del tartufo nero, interagendo con il micelio e la dispersione delle spore. In alcuni casi, sono stati visti trasportare spore attaccate ai loro corpi. I ricercatori hanno inoltre evidenziato una più alta densità di popolazione di *Passalozetes ruderalis*, endemismo iberico (Pérez-Íñigo, 1993), e *Arthrodamaeus reticulatus* (Pérez-Íñigo, 1993) nelle aree del tartufo e hanno così assunto che possano potenzialmente essere specie legate al tartufo.

La fauna del suolo potrebbe avere un impatto positivo sullo sviluppo del tartufo non solo in termini di dispersione delle spore. Lombrichi e formiche, ad esempio, come “ingegneri ecosistemici”, grazie al loro importante contributo alla porosità del suolo, alla demolizione della sostanza organica e alla rimescolazione della sostanza organica all'interno del suolo, possono avere degli effetti positivi sul tartufo, alterando le caratteristiche fisiche del suolo.

La lista degli organismi associati al tartufo include, oltre ai lombrichi, nematodi e protozoi. Callot (1999), Ricard (2003) e Pargney et al. (2008) indicano che spesso, nelle aree circostanti i carpofori di tartufo all'interno dei pianelli, sono presenti lombrichi. Questo tipo di suoli hanno infatti molto spesso bassi livelli di sostanza organica cosicché i lombrichi ricercano sostanza organica nelle vicinanze dei carpofori (García-Montero et al., 2013). Inoltre, Lulli et al. (1999) e Castrignanò et al. (2000) indicano che il tartufo richiede una considerevole porosità del terreno che viene per la maggior parte originata da lombrichi e formiche. Infatti, García-Montero et al. (2013) mostrano che le feci di lombrico hanno un forte impatto sul suolo nei pianelli di *T. melanosporum*.

Infine, nonostante gli studi sopra citati, le ricerche riguardanti le relazioni tra tartufo e fauna del suolo sono ancora scarse e legate soprattutto a particolari specie di tartufo come *T. melanosporum* e *T. aestivum*. Potrebbe essere importante analizzare non solo l'effetto degli animali sul tartufo, in termini di dispersione delle spore, ma anche gli effetti diretti o indiretti del tartufo sugli animali. I componenti volatili emessi dal tartufo e la mancanza di copertura vegetale all'interno del pianello possono avere un effetto negativo su alcune specie o taxon. Un'ulteriore sfida sarebbe chiarire quando il *Tuber* spp. è capace di creare un microcosmo, il pianello, all'interno di un macrocosmo, il suolo all'esterno, non solo in termini di parametri chimico-fisici a copertura vegetale ma anche in termini di biodiversità animale e funzionalità.

2. SCOPO

Nonostante le sopra menzionate ricerche sul tartufo e sulla fauna del suolo, sono ancora pochi gli studi che si focalizzano sulle interazioni tra le diverse specie di tartufo e la fauna del suolo. La ricerca qui presentata ha come obiettivo primario quello di indagare le relazioni, dirette e indirette, tra la fauna del suolo e i funghi del genere *Tuber*, con particolare riferimento al pianello. In dettaglio, gli obiettivi della presente ricerca sono:

1. Studiare le intricate relazioni tra tartufo e la fauna del suolo, con particolare riferimento ai microartropodi e a un gruppo chiave, i collemboli. Capire quali tra questi sono coinvolti nell'ecologia del tartufo, influenzandone la distribuzione e/o essendo influenzati dalla stessa;
2. Indagare se e come le peculiari caratteristiche chimiche del suolo nel pianello, possano avere effetto sulla comunità animale del suolo, utilizzando due specie di tartufo differenti che producono entrambe pianello;
3. Valutare se l'effetto del tartufo possa essere maggiore durante il periodo di fruttificazione, attraverso un'analisi che segua l'intero ciclo biologico del *Tuber*;
4. Valutare se l'effetto del consumo di micelio da parte di organismi fungivori, come alcune specie di collemboli, possa favorire la dispersione del fungo;
5. Valutare se la specie di collembolo, *Folsomia candida* (ISO 11267-99), è in grado di riconoscere la presenza di tartufo nel suolo standard e valutarne l'eventuale attrazione (test di preferenza alimentare).

3. MATERIALI E METODI

3.1. Aree di studio

3.1.1. *Tuber aestivum*

Lo studio, per la specie di tartufo *T. aestivum*, è stato condotto in nove pianelli spontanei, situati in provincia di Piacenza. L'area è localizzata a un'altitudine di 721 m s.l.m. dominata dalla presenza di *Quercus pubescens* Willd. Allo scopo di mantenere il segreto della localizzazione dei pianelli, non è rivelato, in questo studio, il comune o le esatte coordinate geografiche dei pianelli studiati. L'area è caratterizzata da una temperatura media annua di 10.6 °C e precipitazioni medie annue di 810 mm. Il substrato geologico è caratterizzato da calcare luteziano e calcari marnosi, marne alternati e marne calcaree. Il suolo è un cambisol calcareo quindi un suolo con l'inizio di una differenziazione dell'orizzonte in un sub suolo evidente da cambiamenti di struttura, colore, contenuto di argilla o di carbonato. Presenta tessitura media o fine. È caratterizzato da materiale derivante da una grande varietà di rocce.

Il campionamento è iniziato nel giugno 2013 ed è stato ripetuto tutte le prime settimane dei mesi successivi fino a maggio 2014, al fine di seguire l'intero ciclo biologico del tartufo. In febbraio 2014 non è stato, però, possibile campionare per condizioni atmosferiche avverse.



Figura 1: cartina raffigurante l'area di studio di *T. aestivum*

3.1.2. *Tuber melanosporum*

Per studiare *T. melanosporum*, e la fauna ad esso associata, è stata scelta un'area localizzata in Spagna, in provincia di Guadalajara. Come per il *T. aestivum*, le esatte coordinate geografiche e il comune di appartenenza non sono riportate per preservare la segretezza dei pianelli.

L'area si trova a un'altitudine di 1000 m s.l.m., è caratterizzata da una piovosità media annua di 797 mm e da temperature medie intorno ai 10 °C.

Il substrato geologico è costituito da calcari e dolomiti dei periodi Giurassico e Cretaceo. Il suolo è ricco di materiali carbonatici (carbonato di calcio totale compreso tra il 7-8%, calcare attivo tra il 3-7%), si presenta di colore marrone e non è particolarmente ricco di sostanza organica.

La vegetazione comprende specie vegetali tipiche di aree boschive adatte alla crescita del tartufo, molti esemplari appartenenti al genere *Quercus*, con cui il tartufo instaura rapporti simbiotici.

Il campionamento, che per motivi logistici è stato concentrato in una unica data, è stato effettuato il 30 Maggio 2014.



Figura 2: cartina raffigurante l'area di studio di *T. melanosporum*

3.2. Analisi chimiche del suolo

I campioni di suolo sono stati raccolti secondo le linee guida FAO (FAO, 1990) all'interno dei buchi fatti dai raccoglitori per estrarre i carpofori. Solo i primi 30 cm di ciascun profilo di suolo sono stati studiati perché la maggior parte dei *Tuber* forma micorrize e fruttifica in questo range. In Italia è stata campionata una zolla di suolo all'interno e una all'esterno di 9 pianelli, per ciascun mese, per un totale di 198 campioni di suolo. Sono state condotte analisi di pH, sostanza organica e carbonio organico (TOC – dall'inglese total organic carbon). Lo stesso campionamento è stato condotto per analizzare l'umidità del terreno.

In Spagna è stata prelevata una zolla all'interno e una all'esterno di 20 pianelli (per un totale di 40 campioni) per determinare il pH. Per condurre le analisi di carbonato di calcio e calcare attivo sono state invece prelevate 5 repliche di suolo, unite a formare un unico campione (per un totale di 40, 20 all'interno e 20 all'esterno).

Le analisi del pH (in acqua), sia in Spagna che in Italia, sono state condotte utilizzando il metodo ISRIC (1995). È stata preparata una sospensione suolo-acqua composta da 20 g di suolo (preventivamente setacciato a 2 mm) e 50 ml di acqua. La soluzione è stata agitata meccanicamente per 2 ore, al termine delle quali il valore di pH è stato determinato con l'utilizzo di un pHmetro (precedentemente tarato).

La sostanza organica è stata determinata utilizzando il metodo Ball (1964) della combustione a secco. 1 g di suolo (secco all'aria e preventivamente setacciato a 2 mm), posto in un crogiolo di tara nota, è stato essiccato in stufa a 105°C per 1 ora. Il peso secco a 105°C è stato così determinato. In seguito, il campione è stato posto in muffola a 360°C per 3 ore. Il peso secco a 360°C è stato così determinato. Infine, la sostanza organica (%) del campione è stata calcolata con la formula:

$$\frac{\text{Peso secco } 105^{\circ} - \text{Peso secco } 360^{\circ}}{\text{Peso iniziale}} * 100$$

Dal valore di sostanza organica è stato poi determinato il valore di carbonio organico del campione, con la formula:

$$\text{Carbonio organico (\%)} = \frac{\% \text{ sostanza organica}}{1.72}$$

L'umidità (%) del campione è stata determinata con il metodo gravimetrico. Un campione di suolo umido (di peso noto) è stato fatto seccare in stufa, alla temperatura di 105°C, per 24 ore. Il campione secco è stato pesato e l'umidità è stata calcolata secondo la formula:

$$\frac{\text{Peso umido} - \text{Peso secco } 105^{\circ}}{\text{Peso secco}} * 100$$

Il carbonato di calcio è stato determinato secondo il metodo ISRIC (1995). Le analisi sono state condotte su una soluzione di 5 g di suolo (precedentemente seccato all'aria e setacciato a 2 mm) e 100 ml di HCl (0.2 M). Dopo aver agitato leggermente la soluzione, il campione è stato fatto riposare per tutta la notte. Il giorno successivo è stato agitato meccanicamente per 2 ore. La soluzione è stata poi filtrata, sono stati prelevati 10 ml e posti all'interno di un matraccio da 100 ml. Sono stati aggiunti 25 ml di acqua. Al campione sono state poi aggiunte 3-4 gocce di fenolftaleina e NaOH (0.1 M) fatto cadere pian piano fino al raggiungimento di pH pari a 7.80. Il carbonato viene poi calcolato con la formula:

$$\% \text{CaCO}_3 \text{ equivalente} = M * \frac{a - b}{s} * 50 * mcf$$

dove

a = ml di NaOH usati per il bianco

b = ml di NaOH usati per il campione

s = peso in grammi del campione di suolo seccato all'aria

M = molarità della soluzione di NaOH

50 = $50 * 10^{-3} * 10 * 100\%$ (50 = peso equivalente di CaCO_3)

mcf = fattore di correzione dell'umidità

Il calcare attivo è stato invece determinato secondo il metodo Drouineau (1942). In una beuta sono stati preparati 4 g di suolo (setacciato a 2 mm) e 100 ml di ossalato di ammonio. La soluzione è agitata meccanicamente per 2 ore. Il suolo è stato poi filtrato, ne sono stati prelevati 100 ml, vi si sono aggiunti 80 ml di acido solforico diluito e sono stati fatti scaldare fino a una temperatura di 60°C. Parallelamente è stato preparato un controllo da testare, utilizzando 100 ml di ossalato di ammonio (filtrato) scaldato fino a 60 °C. Nelle soluzioni è stato fatto cadere (a gocce) del permanganato di potassio, finché non sono diventate rosa (per almeno un minuto). Il valore di

permanganato fatto cadere all'interno della soluzione deve essere inferiore a quello del controllo (il quale è generalmente compreso tra i 18 e i 22 ml).

Il valore di calcare attivo è stato quindi calcolato con la seguente formula:

$$50 * \left(\frac{V_0}{10} - \frac{V_A}{10} \right) * \frac{100}{10} * \frac{100}{4000} * \frac{c}{0.02} = 62.5c (V_0 - V_A)$$

3.3. Estrazione dei microartropodi e indici applicati

Sia per i campioni di *T. aestivum* che di *T. melanosporum* sono stati raccolti campioni di suolo per l'estrazione e l'analisi di microartropodi. In Italia sono stati raccolti 198 campioni (dimensioni 10x10x10 cm), 18 per ciascun mese, 9 all'interno e 9 all'esterno. In Spagna, invece, 40 campioni, rispettivamente 20 all'interno e 20 all'esterno.

I microartropodi sono stati estratti con il selettore di Berlese-Tüllgren e raccolti in una soluzione di 75% alcool e 25% glicerina. Sono stati poi classificati a livello di classe per i miriapodi, ordine per esapodi, chelicerati e crostacei e Famiglia per i collemboli. Gli organismi appartenenti a ciascun taxon sono stati contati ed è stato estrapolato il numero di individui su m².

I microartropodi del suolo sono stati poi analizzati attraverso l'applicazione di indici di qualità e biodiversità. La biodiversità è stata valutata attraverso l'applicazione di numero di taxa osservati (NT), l'indice di diversità di Shannon (H') e l'evenness di Pielou (J). La qualità biologica dei suoli, invece, è stata indagata mediante QBS-artropodi (QBS-ar), QBS-collemboli (QBS-c), il rapporto acari/collemboli (A/C) e il rapporto Oribatei/altri acari. Di seguito, in dettaglio, la descrizione degli indici applicati.

Indice di diversità di Shannon (H' - Shannon, 1948): l'indice è basato sull'abbondanza relativa delle specie e normalmente oscilla tra 1.5 e 3.5. Si calcola con la seguente formula:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \cdot \ln(p_i)$$

Dove:

S è il numero di specie

p_i rappresenta la frequenza relativa delle specie i nella comunità

p_i è misurata come il rapporto tra il numero di individui della specie i e il numero totale di individui.

Indice di Pielou (J - Pielou, 1967): l'indice prende in considerazione la modalità di distribuzione dei singoli individui delle diverse specie. Esprime il grado di omogeneità con il quale gli individui sono distribuiti nelle varie specie che compongono la comunità. L'indice viene calcolato con la seguente formula:

$$J = \frac{H'}{\log_2 S}$$

Dove:

H' è il valore dell'indice di diversità di Shannon

S è il numero delle specie presenti nella comunità.

Il valore dell'indice tende a 1 quanto più gli organismi sono distribuiti uniformemente tra le specie mentre tende a 0 quando c'è la presenza di specie che numericamente dominano sulle altre.

Numero di taxa (NT): questo indice rappresenta il numero totale di taxa individuati nel campione. Sarà tanto più alto quanto più la ricchezza in specie del campione è elevata.

Rapporto acari/collemboli (A/C - Bachelier, 1986): rappresenta le condizioni biodinamiche del suolo. Infatti, in condizioni di equilibrio il numero di acari è maggiore rispetto a quello dei collemboli, quest'ultimo tende ad aumentare (e quindi il rapporto a diminuire) in condizioni di degrado.

Rapporto Oribatei/altri acari (Aoki, 1967): come per il rapporto A/C, anche questo indice rappresenta le condizioni biodinamiche del suolo. In condizioni di naturalità il numero di Oribatei è maggiore di quello degli altri acari, mentre quest'ultimo tende ad aumentare in condizioni di degrado.

QBS-artropodi (QBS-ar - Parisi & Menta, 2008): tale indice ha come obiettivo primario quello di misurare l'entità della convergenza morfologica alla vita ipogea dei microartropodi in differenti ambienti e, come ricaduta applicativa, quella di fornire un valore numerico risultante da un indice sintentico di qualità biologica del suolo. L'indice è basato sul principio che un maggior adattamento degli organismi determina un'elevata vulnerabilità ai cambiamenti ambientali. Il suolo è infatti un ecosistema estremo a causa delle proprietà che lo caratterizzano, quali assenza di luce, spazi ridotti tra le particelle, escursioni termiche diurne e annue contenute. Queste caratteristiche hanno determinato, attraverso un fenomeno di convergenza evolutiva, la presenza di caratteri peculiari negli organismi che trascorrono nel suolo tutta o una parte del loro ciclo vitale. Nei microartropodi questo si manifesta attraverso la presenza di caratteri come: riduzione della dimensione delle appendici, l'anoftalmia o la microftalmia, l'atterismo o microatterismo, la perdita di tegumenti ispessiti e la depigmentazione. La presenza di tutti questi caratteri è associata all'euédaphon, a cui appartengono gli organismi ipogei altamente adattati al suolo e che quindi risultano maggiormente vulnerabili agli stress ambientali, perché non in grado di sfuggire alle condizioni sfavorevoli. La presenza (o l'assenza) di gruppi euedafici può quindi essere utilizzata come strumento di valutazione della stabilità e della qualità del suolo. Con l'ausilio di uno stereomicroscopio vengono

determinate le forme biologiche (FB, sensu Sacchi & Testard, 1971) presenti nel campione o, più semplicemente, i gruppi di organismi aventi stessi caratteri morfologici convergenti. Questa ripartizione è effettuata in relazione ai caratteri di adattamento che consentono di associare a ogni gruppo un valore numerico definito “Indice Ecomorfologico” (EMI): il valore di EMI, compreso tra 1 e 20, è tanto maggiore quanto più elevato è il numero di caratteri morfologici di adattamento al suolo (Menta, 2008). Per alcuni gruppi sistematici si ha un adattamento alla vita edafica di tutte o quasi tutte le specie; in questo caso si attribuisce un unico valore di EMI. Per altri gruppi invece si riconoscono diversi livelli di adattamento al suolo e si utilizzano intervalli di valori indicati nelle tabelle di EMI (Fig. 1 in appendice). Attraverso queste analisi è possibile ottenere una tabella preliminare di presenza/assenza dei diversi gruppi di microartropodi. Se in un gruppo di riconoscono più forme biologiche, per il calcolo dell’indice si considera solo il valore di EMI più alto, rappresentante il massimo grado di adattamento al suolo mostrato dal gruppo in una certa stazione. È così possibile il calcolo del valore di QBS-ar semplicemente sommando i singoli valori di EMI. L’indice QBS-ar ha come obiettivo primario quello di misurare l’entità della convergenza morfologica alla vita ipogea dei microartropodi in differenti ambienti e, come ricaduta applicativa, quella di fornire un valore numerico risultante da un indice sintetico di qualità biologica del suolo. Rispetto ai metodi che utilizzano un solo gruppo come bioindicatore, il metodo QBS-ar presenta il vantaggio di non dover raggiungere il livello di specie, inoltre prescinde dalla densità degli organismi, basandosi essenzialmente sulla composizione della comunità di microartropodi edafici. Nonostante ciò, sono stati contati gli esemplari appartenenti a diversi gruppi per avere stime di densità da correlare ai valori dell’indice, pur sapendo che tale valore varia in funzione di parametri intrinseci come il periodo riproduttivo o le condizioni climatiche, e per l’applicazione di indici di biodiversità. Per maggiori informazioni è possibile consultare Gardi et al., 2008; Tabaglio et al., 2009; Menta et al., 2011a; Blasi et al., 2013.

QBS-collemboli (Parisi & Menta, 2008): per l’applicazione dell’indice QBS-c si è proceduto con le stesse modalità sopra indicate, considerando che, per il calcolo di tale indice si tengono in considerazione tutti i valori di EMI e non solo quello più elevato; inoltre la scala di punteggi va da 0 a 40. Infine, mentre il QBS-ar ha un valore massimo valido per tutti gli ambienti, corrispondente alla presenza di tutti i gruppi previsti dalla tabella, il QBS-c ha valori massimi differenti per i diversi ambienti (Parisi, 2007). Gli organismi appartenenti al genere *Folsomia* (Isotomidae) sono stati classificati separatamente perché, in uno studio precedente (Menta et al., 2014), è emerso un trend diverso rispetto alla loro famiglia.

3.4. Test di preferenza alimentare con *Folsomia candida*

I collemboli sono stati allevati su un substrato standard preparato secondo la ISO 10390 (80% gesso in polvere, 10 g di carbone attivo, 80 g di acqua). Il substrato è stato posto in piastre Petri da 400 ml di capienza, riempite per una profondità di circa 0.5 cm. I collemboli sono stati nutriti con un mix di cereali in granuli ed è stato periodicamente inumidito il terreno di allevamento.

Le uova deposte dagli adulti nell'allevamento sono state trasferite in un'altra piastra con lo stesso substrato di crescita. Le petri sono state regolarmente controllate per verificare la schiusa degli organismi. I neanidi, aventi tutti la stessa età, sono stati poi trasferiti in un nuovo substrato di crescita dove vi sono rimasti per 10 giorni provvisti di acqua e cibo. Dopo 10 giorni i collemboli sono pronti per essere utilizzati per l'esperimento.

Per il test di preferenza alimentare sono state allestite cinque repliche per entrambe le specie di tartufo analizzate. Ogni piastra Petri, utilizzata per le repliche, è stata preparata con del substrato di crescita e vi sono stati effettuati due fori, l'uno in posizione opposta all'altro. In uno dei due fori è stato inserito il preparato di cereali in granuli (lo stesso utilizzato per gli allevamenti), mentre nell'altro è stato inserito il tartufo da testare finemente sminuzzato. Per ogni replica sono stati poi inseriti 10 organismi di circa 10 giorni d'età.

In tabella 1 sono riportate le caratteristiche dei tartufi utilizzati

Tabella 1: caratteristiche delle due specie di tartufo utilizzate nella sperimentazione

Campione	Luogo di raccolta	Habitat	Note
<i>Tuber aestivum</i> , Vittadini f.ma <i>uncinatum</i> (Chatin) Montecchi e Borrelli 1995	Casal Selce (RM) Località La Selce Altezza 55 m s.l.m.	Impianto forestale a <i>Quercus ilex</i>	Data di raccolta: 22 marzo 2015 Legit: Alessandro Crema Determinavit: Carmine Siniscalco
<i>Tuber melanosporum</i> , Vittadini 1831	Casal Selce (RM) Località La Selce Altezza 55 m s.l.m.	Impianto forestale a <i>Quercus pubescens</i>	Data di raccolta: 22 marzo 2015 Legit: Alessandro Crema Determinavit: Carmine Siniscalco

Per valutare la preferenza alimentare dei collemboli, gli organismi sono stati osservati alle 12, 24, 48 e 72 ore dall'introduzione nelle capsule Petri. Durante ogni osservazione è stato registrato il

numero di collemboli presenti sul tartufo e quello degli organismi sul preparato di cereali, non considerando, invece, quelli al centro della piastra, che non sembravano mostrare alcuna preferenza. Ogni controllo è stato effettuato mantenendo le piastre chiuse per evitare un eccessivo disturbo agli organismi.

4.5. Analisi statistiche

I dati dei parametri chimici e degli indici sono stati analizzati utilizzando l'aligned rank transformation, dopo la quale è stata fatta una ANOVA usando il least square means (LSMEANS). Nell'analisi degli indici A/C e QBS-c (dei campioni italiani) è stato deciso di eliminare il mese di agosto a causa del numero troppo basso di collemboli raccolti.

Per evidenziare eventuali differenze nelle densità degli organismi è stata utilizzata una Permutational MANOVA utilizzando "adonis" dal pacchetto *vegan* (Oksanen et al., 2013) in R (R Core Team, 2013). Per i campioni italiani, per calcolare la varianza spiegata dal fattore "mese", è stata usata la seguente formula:

Matrice di similarità ~ mese+pianello+mese:pianello

Per calcolare la varianza spiegata dal fattore "pianello", è stata usata la seguente formula:

Matrice di similarità ~ pianello+mese+pianello:mese

Per i campioni spagnoli è stata usata la formula:

Matrice di similarità ~ pianello

Per creare la matrice di similarità è stata usata la distanza di similarità di Bray-Curtis. Attraverso la funzione "betadisper" dal pacchetto *vegan* (Oksanen et al., 2013) in R (R Core Team, 2013) è stata creata la matrice di similarità per stimare la β diversità e per l'analisi delle coordinate principali. Infine, per definire il contributo relativo, di ciascun gruppo, alla similarità tra stagioni e pianello è stato utilizzato il SIMPER test. Gli stessi test statistici sono stati utilizzati per analizzare la comunità di collemboli. Anche in quest'ultimo caso, nei campioni italiani, agosto è stato rimosso dalle analisi a causa dello scarso numero di organismi raccolti. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite con il software R 3.2.1 (R Core Team, 2013).

4. RISULTATI

4.1. *Tuber aestivum*

4.1.1. Analisi chimiche

I risultati delle analisi chimiche sono riportati in tabella 2. I valori di umidità seguono i trend tipici di un sito del Nord Italia. Il valore più alto è stato riscontrato nei mesi invernali (novembre, dicembre e gennaio) e in marzo. Il valore più basso è stato registrato in agosto seguito da luglio e settembre. Nonostante sia stato ipotizzato che l'area del pianello possa essere caratterizzata da una minore umidità, i risultati di questa ricerca annuale non hanno mostrato un trend particolare. Le analisi statistiche, infatti, non hanno evidenziato alcuna differenza significativa, nemmeno quelle stagionali. L'area all'interno del pianello sembra essere caratterizzata da valori di pH più elevati. È stato riscontrato, eccetto in ottobre quando i due valori medi erano molto simili tra loro, un pH moderatamente alcalino se paragonato all'esterno. L'analisi statistica ha, infatti, evidenziato una differenza significativa sia per i diversi mesi che tra l'interno e l'esterno del pianello. Nonostante ciò, le analisi statistiche non hanno rilevato un'interazione significativa tra mesi e pianello. La sostanza organica e il TOC hanno mostrato una differenza significativa sia tra i mesi, che tra l'interno e l'esterno del pianello e nella interazione tra i due parametri. È stato rilevato il valore più alto in agosto (fuori) e in luglio (dentro). L'analisi post-hoc ha mostrato valori più elevati in agosto e marzo fuori se paragonati all'interno e un andamento opposto in ottobre.

Tabella 2: Media± Errore Standard delle analisi chimiche effettuate sui campioni italiani di *T. aestivum*.

	Giugno		Luglio		Agosto		Settembre		Ottobre	
	Dentro	Fuori								
Umidità (%)	8.10±0.73	8.73±1.21	5.20±0.31	5.09±0.52	2.99±0.13	3.28±0.10	6.05±0.22	6.68±0.29	9.86±0.61	9.52±0.18
pH	8.14±0.03	7.97±0.03	8.03±0.02	7.89±0.05	8.05±7.89	7.89±0.03	8.19±0.03	8.10±0.03	8.13±0.03	8.13±0.03
SO (%)	5.04±0.50	5.73±0.40	4.02±0.16	5.15±0.18	7.98±0.33	9.76±0.20	4.84±0.18	5.60±0.18	5.08±0.22	4.97±0.14
TOC (%)	2.93±0.29	3.33±0.23	2.33±0.09	3.00±0.11	4.64±0.19	5.67±0.11	2.81±0.10	3.26±0.10	2.95±0.13	2.89±0.08

	Novembre		Dicembre		Gennaio		Marzo		Aprile		Maggio	
	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori
Umidità (%)	11.42±0.39	11.11±0.55	10.87±0.36	11.15±0.52	10.79±0.18	10.66±0.90	10.05±0.70	10.34±0.60	9.26±0.70	9.94±0.69	6.80±0.55	7.92±0.72
pH	8.25±0.03	8.06±0.04	8.20±0.03	8.07±0.04	8.22±0.03	8.14±0.04	8.19±0.03	8.03±0.05	8.24±0.02	8.10±0.04	8.27±0.04	8.21±0.03
SO (%)	5.20±0.14	6.13±0.75	4.10±0.27	4.68±0.18	5.11±0.56	4.83±0.42	4.51±0.24	6.32±0.49	4.39±0.16	5.53±0.13	4.42±0.18	8.15±2.13
TOC (%)	2.89±0.08	3.56±0.43	2.39±0.16	2.72±0.11	2.97±0.32	2.81±0.25	2.62±0.14	3.67±0.28	2.55±0.09	3.21±0.08	2.57±0.10	4.74±1.24

4.1.2. Comunità di microartropodi

Un totale di 55113 organismi appartenenti a 22 gruppi di microartropodi sono stati identificati dai 198 campioni raccolti. La tabella 3 riporta media e errore standard degli organismi evidenziati nei diversi mesi dello studio. Acari e collemboli sono stati i gruppi più numerosi in quasi tutti i campioni, seguiti dagli imenotteri. In particolare, il valore più elevato riscontrato in tutti i campioni è stato di 1719 organismi appartenenti a quest'ultimo gruppo. Sono emersi gruppi di organismi ben adattati al suolo come sinfili, proturi, dipluri e pauropodi in tutte le date campionate ad eccezione di agosto. In alcuni casi hanno mostrato valori più alti di 1000 ind/m². Chilopodi, psocotteri, emitteri, coleotteri (sia adulti che larve) e i ditteri (larve) hanno mostrato abbondanze più basse. Infine, pseudoscorpioni, diplopodi, microcorifi, tisanotteri, ditteri adulti e lepidotteri larve sono stati riscontrati solo sporadicamente.

Alcuni gruppi di organismi sono stati riscontrati solo all'interno del pianello come gli pseudoscorpioni (luglio), gli araneidi (giugno, settembre e maggio) e gli isopodi (aprile). Altri invece quasi sempre solo all'esterno come opilionidi (tranne in dicembre) e i dipluri.

In generale le densità totali sono emerse più alte all'esterno in tutti i mesi, tranne settembre. Il mese con le abbondanze più alto è risultato maggio mentre quello più povero agosto.

Un'analisi più approfondita sulla sola comunità di collemboli, di cui in tabella 4 sono riportati i risultati, ha evidenziato una comunità ricca e ben diversificata che presentava andamenti diversi a seconda dei mesi considerati. La famiglia che ha registrato abbondanze più elevate è stata quella degli Isotomidae seguita poi da Entomobridae, Ipogastruridae, Onichiuridae e Tullbergidae. Gli organismi appartenenti alla famiglia Dicirtomidae sono stati riscontrati solo in dicembre e marzo e solo all'esterno del pianello. Stesso andamento per Neanuridae (ad eccezione di luglio), comunque solo sporadicamente presenti. Al contrario, gli organismi appartenenti alla famiglia Sminthuridae hanno evidenziato andamento opposto e sono stati riscontrati, anche se solo sporadicamente, sempre

all'interno del pianello. Il genere *Folsomia*, che è stato classificato a parte rispetto alla sua famiglia di appartenenza (Isotomidae), ha effettivamente registrato un andamento diverso rispetto agli Isotomidi in novembre, dicembre, gennaio, aprile, e maggio. In particolar modo, il genere *Folsomia* e la sua famiglia di appartenenza, hanno evidenziato stesso andamento da giugno a ottobre (periodo di fruttificazione del *T. aestivum*), con densità maggiori all'interno. Al contrario, nei restanti mesi dell'anno, la famiglia degli Isotomidae ha mostrato valori più elevati all'esterno.

Agosto è emerso essere il mese più povero, con densità di collemboli molto basse. Infine, sono emerse abbondanze maggiori all'interno del pianello nel periodo da giugno a ottobre e densità più alte all'esterno da novembre a maggio.

I risultati delle analisi statistiche hanno evidenziato alcune differenze, sia stagionali che all'interno/esterno del pianello. Inoltre queste differenze sono emerse sia per gli indici sia per le densità di microartropodi. Nei paragrafi successivi sono mostrati i risultati delle analisi post-hoc.

Tabella 3: Medie \pm Errore Standard dei gruppi di microartropodi emersi nei campioni italiani di *T. aestivum*

	Giugno		Luglio		Agosto		Settembre		Ottobre		
	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	
Pseudoscorpioni	-	7 \pm 7	7 \pm 7	35 \pm 24	-	14 \pm 9	-	78 \pm 43	-	43 \pm 21	
Opilioni	-	-	-	21 \pm 21	-	7 \pm 7	-	-	-	-	
Araneidi	14 \pm 9	57 \pm 42	-	42 \pm 24	-	7 \pm 7	14 \pm 9	36 \pm 11	-	48 \pm 15	
Acari	2194 \pm 412	3602 \pm 610	9292 \pm 1526	28344 \pm 4664	6999 \pm 2597	7877 \pm 1949	7021 \pm 1251	20679 \pm 4601	2031 \pm 479	5372 \pm 606	
Isopodi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Diplopodi	7 \pm 7	50 \pm 35	-	57 \pm 27	-	71 \pm 29	-	71 \pm 36	7 \pm 7	21 \pm 11	
Paupodi	21 \pm 21	106 \pm 38	7 \pm 7	191 \pm 175	-	-	21 \pm 11	149 \pm 82	50 \pm 30	142 \pm 82	
Sinfili	50 \pm 30	114 \pm 54	50 \pm 42	71 \pm 27	-	-	28 \pm 15	113 \pm 33	191 \pm 68	198 \pm 62	
Chilopodi	21 \pm 15	14 \pm 9	7 \pm 7	21 \pm 15	-	-	71 \pm 34	64 \pm 34	7 \pm 7	28 \pm 22	
Proturi	219 \pm 83	531 \pm 214	57 \pm 37	389 \pm 174	7 \pm 7	7 \pm 7	99 \pm 35	1210 \pm 469	57 \pm 43	205 \pm 65	
Dipluri	-	50 \pm 26	57 \pm 22	170 \pm 73	-	14 \pm 14	50 \pm 21	361 \pm 93	14 \pm 9	219 \pm 65	
Collemboli	4465 \pm 1434	2272 \pm 524	3178 \pm 1043	1868 \pm 349	64 \pm 35	50 \pm 21	12654 \pm 5596	3631 \pm 914	10219 \pm 3697	7685 \pm 1639	
Microcorifi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Ortotteri	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Psocotteri	35 \pm 22	78 \pm 35	382 \pm 180	198 \pm 50	50 \pm 23	71 \pm 34	49 \pm 21	127 \pm 34	14 \pm 9	21 \pm 21	
Emitteri	35 \pm 28	28 \pm 22	28 \pm 15	453 \pm 103	35 \pm 28	1224 \pm 552	28 \pm 19	403 \pm 126	14 \pm 14	368 \pm 131	
Tisanotteri	-	-	127 \pm 112	50 \pm 21	14 \pm 14	78 \pm 51	-	14 \pm 9	7 \pm 7	78 \pm 63	
Imenotteri	396 \pm 109	3843 \pm 2920	481 \pm 242	3305 \pm 1406	694 \pm 381	5492 \pm 3237	14996 \pm 12137	283 \pm 124	1592 \pm 1115	320 \pm 194	
Coleotteri	Adulti	21 \pm 11	14 \pm 9	35 \pm 22	57 \pm 22	21 \pm 21	21 \pm 21	7 \pm 7	57 \pm 20	50 \pm 28	106 \pm 24
	Larve	64 \pm 24	134 \pm 70	828 \pm 494	340 \pm 81	219 \pm 45	297 \pm 179	113 \pm 47	255 \pm 54	149 \pm 52	170 \pm 41
Ditteri	Adulti	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Larve	21 \pm 15	21 \pm 11	120 \pm 47	340 \pm 60	7 \pm 7	85 \pm 47	42 \pm 35	319 \pm 108	43 \pm 15	198 \pm 80
Lepidotteri	Larve	-	-	-	-	-	7 \pm 7	-	7 \pm 7	-	14 \pm 14
TOT		7594 \pm 2082	10955 \pm 4624	14713 \pm 2814	35982 \pm 4977	7990 \pm 2571	15315 \pm 3620	35195 \pm 13504	27905 \pm 5572	14466 \pm 4166	15103 \pm 1787

	Novembre		Dicembre		Gennaio		Marzo		Aprile		Maggio		
	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	
Pseudoscorpioni	-	64±32	-	21±15	-	7±7	-	28±28	-	14±9	-	106±79	
Opilioni	-	-	50±50	-	-	-	-	-	-	-	-	99±99	
Araneidi	-	29±16	-	35±22	-	14±9	-	28±15	-	28±19	21±11	64±21	
Acari	6009±822	16391±3843	7572±2718	20927±5936	5032±1972	5414±1735	4253±802	10503±1491	1380±172	3468±476	9313±2573	19504±4372	
Isopodi	-	-	-	-	-	-	-	-	7±7	-	-	-	
Diplopodi	-	35±15	7±7	-	-	-	7±7	92±38	-	28±22	-	57±22	
Paupodi	14±9	57±22	7±7	35±22	14±9	35±15	14±9	35±15	28±15	78±33	43±21	191±67	
Sinfili	453±126	2916±980	21±21	2081±587	290±74	116±315	205±145	736±142	21±15	262±83	14±9	170±51	
Chilopodi	21±11	85±30	-	35±15	14±9	21±15	7±7	78±33	14±9	42±18	50±21	113±31	
Proturi	120±46	1252±512	7±7	609±403	106±37	212±100	120±29	495±120	226±89	347±178	297±197	3680±1224	
Dipluri	7±7	113±51	-	149±56	-	85±32	-	120±44	-	156±70	35±15	156±43	
Collemboli	4430±1204	6037±1033	1769±576	9625±1417	2328±681	2923±490	2123±374	5025±1077	6051±2108	8027±2054	6716±2013	11171±1859	
Microcorifi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7±7	
Ortotteri	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7±7	
Psocotteri	78±36	170±110	35±15	389±254	49±36	78±63	78±42	50±35	7±7	7±7	35±22	28±22	
Emitteri	7±7	241±217	7±7	453±321	50±50	78±70	14±9	163±81	432±424	212±122	14±9	113±51	
Tisanotteri	-	-	21±21	-	7±7	-	14±9	-	-	-	35±22	35±19	
Imenotteri	21±15	64±21	50±35	7±7	-	28±28	134±134	-	7±7	159±79	276±93	1239±641	
Coleotteri	Adulti	7±7	28±15	14±9	7±7	28±11	14±9	7±7	21±15	-	50±30	21±11	35±15
	Larve	142±42	340±122	113±21	269±31	99±28	99±32	127±44	135±44	64±21	311±102	141±41	85±26
Ditteri	Adulti	-	42±35	7±7	64±24	14±14	42±18	-	7±7	-	-	-	
	Larve	21±15	149±47	71±22	736±314	169±45	347±116	227±142	191±54	120±29	191±56	35±24	333±82
Lepidotteri	Larve	-	7±7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
TOT	11338±1370	28025±4368	9760±3021	35463±6326	8302±2649	10595±2215	7399±1187	17700±2095	8358±2132	13844±2646	16985±7737	37112±5176	

Tabella 4: Medie \pm Errore Standard di ciascuna famiglia di collemboli e del genere *Folsomia* emersi nei campioni italiani di *T. aestivum*

	Giugno		Luglio		Agosto		Settembre		Ottobre	
	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori
Dicirtomidae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Entomobridae	120 \pm 31	212 \pm 55	764 \pm 162	807 \pm 136	50 \pm 35	35 \pm 15	644 \pm 175	722 \pm 125	510 \pm 156	708 \pm 225
Ipogastruridae	92 \pm 70	170 \pm 74	43 \pm 15	134 \pm 106	-	-	113 \pm 35	149 \pm 38	3135 \pm 1367	2859 \pm 1424
Isotomidae	2520 \pm 854	863 \pm 144	1182 \pm 448	361 \pm 97	-	-	998 \pm 324	686 \pm 195	1352 \pm 726	821 \pm 341
<i>Folsomia</i>	1604 \pm 467	510 \pm 325	849 \pm 510	106 \pm 72	-	-	10049 \pm 5410	325 \pm 61	3192 \pm 1372	1543 \pm 657
Neanuridae	-	-	14 \pm 14	-	-	-	-	-	-	-
Neelidae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Onichiuridae	85 \pm 26	184 \pm 86	191 \pm 138	233 \pm 138	-	-	262 \pm 195	687 \pm 163	814 \pm 397	807 \pm 503
Tullbergidae	7 \pm 7	50 \pm 28	99 \pm 52	219 \pm 153	-	7 \pm 7	701 \pm 234	276 \pm 105	1047 \pm 310	453 \pm 176
Sminthuridae	-	-	7 \pm 7	-	14 \pm 14	7 \pm 7	-	-	-	-
Sminthurididae	35 \pm 22	283 \pm 157	28 \pm 22	14 \pm 9	-	-	-	7 \pm 7	170 \pm 60	545 \pm 216
TOT	4465 \pm 1434	2272 \pm 733	3178 \pm 1043	1875 \pm 354	64 \pm 35	50 \pm 21	12654 \pm 5596	3631 \pm 914	10219 \pm 3697	7685 \pm 1639

	Novembre		Dicembre		Gennaio		Marzo		Aprile		Maggio	
	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori	Dentro	Fuori
Dicirtomidae			-	56 \pm 30	-	-	-	35 \pm 35				
Entomobridae	127 \pm 57	786 \pm 223	99 \pm 62	984 \pm 334	120 \pm 31	205 \pm 61	142 \pm 46	262 \pm 79	240 \pm 64	786 \pm 299	474 \pm 132	1146 \pm 207
Ipogastruridae	1387 \pm 640	495 \pm 110	283 \pm 128	1344 \pm 486	361 \pm 235	325 \pm 74	106 \pm 26	226 \pm 58	184 \pm 62	538 \pm 185	78 \pm 28	113 \pm 35
Isotomidae	439 \pm 118	1281 \pm 190	180 \pm 57	2501 \pm 768	219 \pm 105	736 \pm 199	736 \pm 147	1161 \pm 266	566 \pm 114	4855 \pm 1350	1564 \pm 476	5449 \pm 958
<i>Folsomia</i>	552 \pm 207	368 \pm 222	389 \pm 196	630 \pm 346	170 \pm 52	99 \pm 63	340 \pm 124	518 \pm 470	4238 \pm 1775	354 \pm 171	2498 \pm 755	2569 \pm 1187
Neanuridae	-	7 \pm 7	-	21 \pm 11	-	7 \pm 7	-	-	-	78 \pm 41	-	21 \pm 15
Neelidae	21 \pm 21	1026 \pm 699	71 \pm 56	1048 \pm 476	64 \pm 26	42 \pm 18	7 \pm 7	43 \pm 21	-	28 \pm 15	14 \pm 14	7 \pm 7
Onichiuridae	318 \pm 75	1104 \pm 261	580 \pm 220	2597 \pm 839	920 \pm 432	1175 \pm 384	488 \pm 226	2194 \pm 961	127 \pm 64	835 \pm 229	375 \pm 228	1444 \pm 494
Tullbergidae	1054 \pm 348	927 \pm 483	78 \pm 23	304 \pm 126	432 \pm 184	318 \pm 64	290 \pm 71	297 \pm 71	680 \pm 328	460 \pm 179	1592 \pm 1102	354 \pm 188
Sminthuridae	43 \pm 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sminthurididae	488 \pm 153	99 \pm 32	85 \pm 30	28 \pm 22	43 \pm 15	14 \pm 9	14 \pm 9	28 \pm 15	14 \pm 9	92 \pm 54	120 \pm 73	64 \pm 21
TOT	4430 \pm 1204	6036 \pm 1033	1769 \pm 576	9625 \pm 1417	2328 \pm 681	2923 \pm 490	2123 \pm 374	5025 \pm 1077	6051 \pm 2108	8027 \pm 2054	6716 \pm 2013	11171 \pm 1859

L'analisi della densità degli organismi, eseguita con il test Adonis, ha evidenziato sia delle differenze tra l'interno e l'esterno del pianello che tra i diversi mesi analizzati. È emersa inoltre un'interazione significativa tra i mesi e il pianello. La fig. 3 rappresenta l'analisi delle coordinate principali. Se la comunità di microartropodi è ordinata secondo i mesi, si rendono evidenti solo piccole differenze. Aprile sembra essere il mese più lontano rispetto al centroide (la mediana) seguito da giugno, ottobre e dicembre; gennaio, luglio e marzo sembrano essere quelli più vicini.

Il pianello, invece, mostra differenze tra l'interno e l'esterno, differenza che emerge anche dall'analisi delle coordinate principali (Fig. 3). Infine, nonostante le analisi statistiche abbiano evidenziato una piccola differenza tra l'interno e l'esterno, il grafico non mostra differenze nelle interazioni dei due parametri.

Al fine di identificare il gruppo di microartropodi responsabile di queste differenze è stato eseguito il test SIMPER. Tale analisi ha evidenziato come, sia per i diversi mesi che per il pianello, le differenze fossero a carico di due gruppi in particolare, acari e collemboli. Il terzo gruppo di organismi era costituito dagli imenotteri, che in alcuni casi hanno registrato valori più alti di 14000 ind/m², seguiti poi da gruppi di organismi ben adattati al suolo come proturi e sinfili. Questi ultimi due gruppi hanno mostrato densità elevate, specialmente all'esterno del pianello, nella maggior parte dei mesi considerati.

Come per l'intera comunità di microartropodi, sono stati eseguiti gli stessi test statistici per evidenziare differenze nella comunità di collemboli. Le analisi statistiche hanno evidenziato differenze nei diversi mesi considerati, tra l'interno e l'esterno del pianello e nell'interazione tra questi due parametri (stagionalità e pianello – Fig.4). I mesi estivi, giugno e luglio, sembrerebbero essere i più distanti dalla mediana mentre quelli autunnali, ottobre e settembre i più vicini. È stata evidenziata solo una piccola differenza tra l'interno e l'esterno del pianello, emersa dalle analisi statistiche, ma difficile da vedere attraverso il grafico. Il grafico delle interazioni dei due parametri conferma quanto emerso fino ad ora. I più vicini alla mediana risultano sempre essere ottobre e settembre (sia dentro che fuori), mentre i più lontani giugno e luglio (sia dentro che fuori) e dicembre all'esterno.

È stata poi eseguita l'analisi SIMPER per verificare quale famiglia di collemboli fosse responsabile di queste differenze. È così emerso che la maggior parte delle differenze erano a carico di quattro gruppi: il genere *Folsomia* (famiglia degli Isotomidae) e le famiglie Isotomidae, Onichiuridae e Ipogastruridae. In generale, tutte le famiglie evidenziate nello studio hanno mostrato valori più bassi in estate e inverno, in particolar modo in agosto quando è stato raccolto un limitato numero di organismi. Focalizzandosi sulle differenze tra l'interno e l'esterno, è emerso che le differenze erano a carico degli stessi gruppi di collemboli. In particolar modo, il genere *Folsomia* ha mostrato valori

più alti all'interno per la maggior parte dei mesi considerati, mentre la sua famiglia, Isotomidae, non ha mostrato un trend univoco. Al contrario, gli Onichiuridae e Ipogastruridae, hanno mostrato lo stesso trend di *Folsomia* in quasi tutti i mesi considerati.

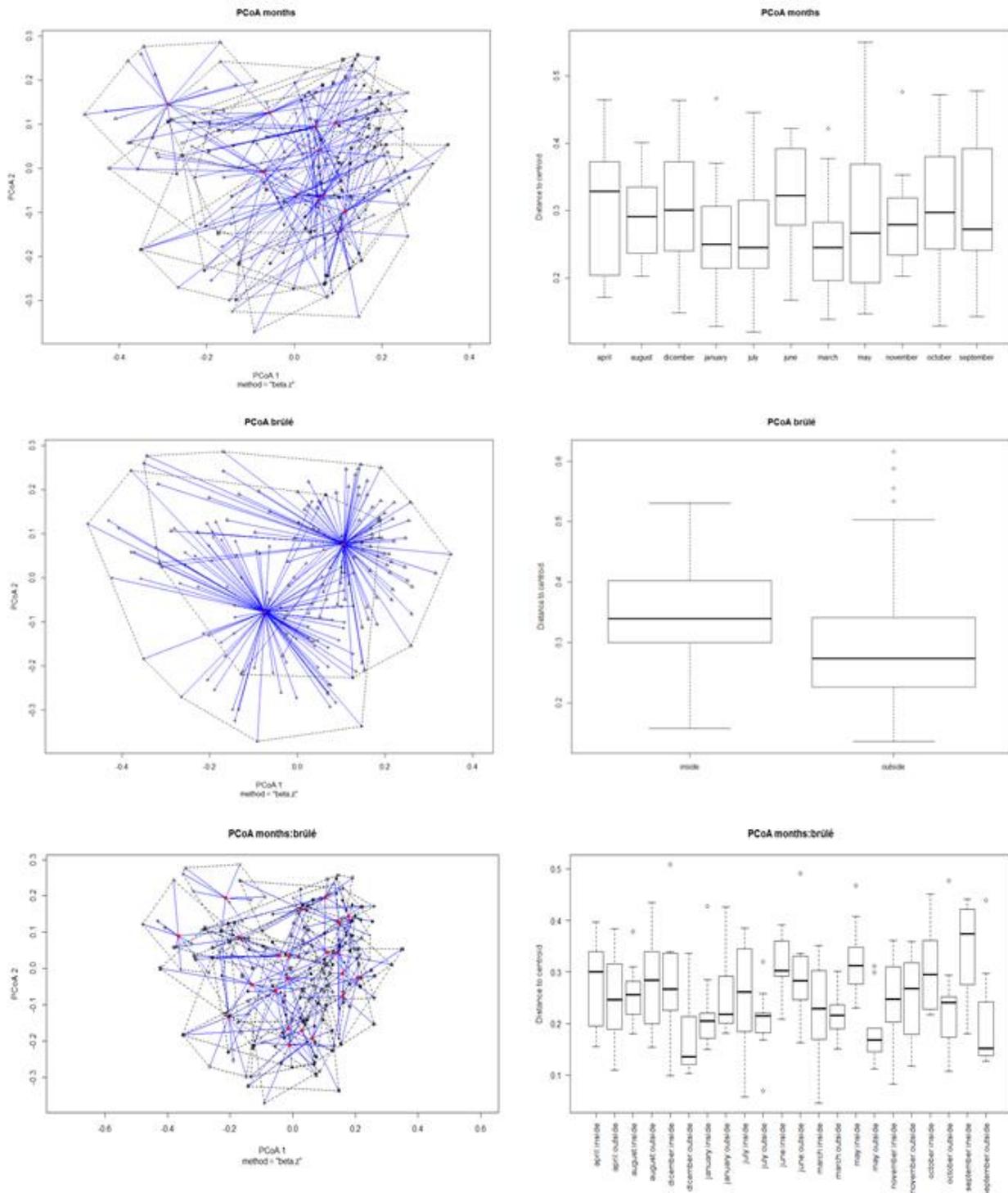


Figura 3: analisi delle coordinate principali effettuata sulle densità degli organismi ordinate secondo i mesi, il pianello e l'interazione tra i due parametri

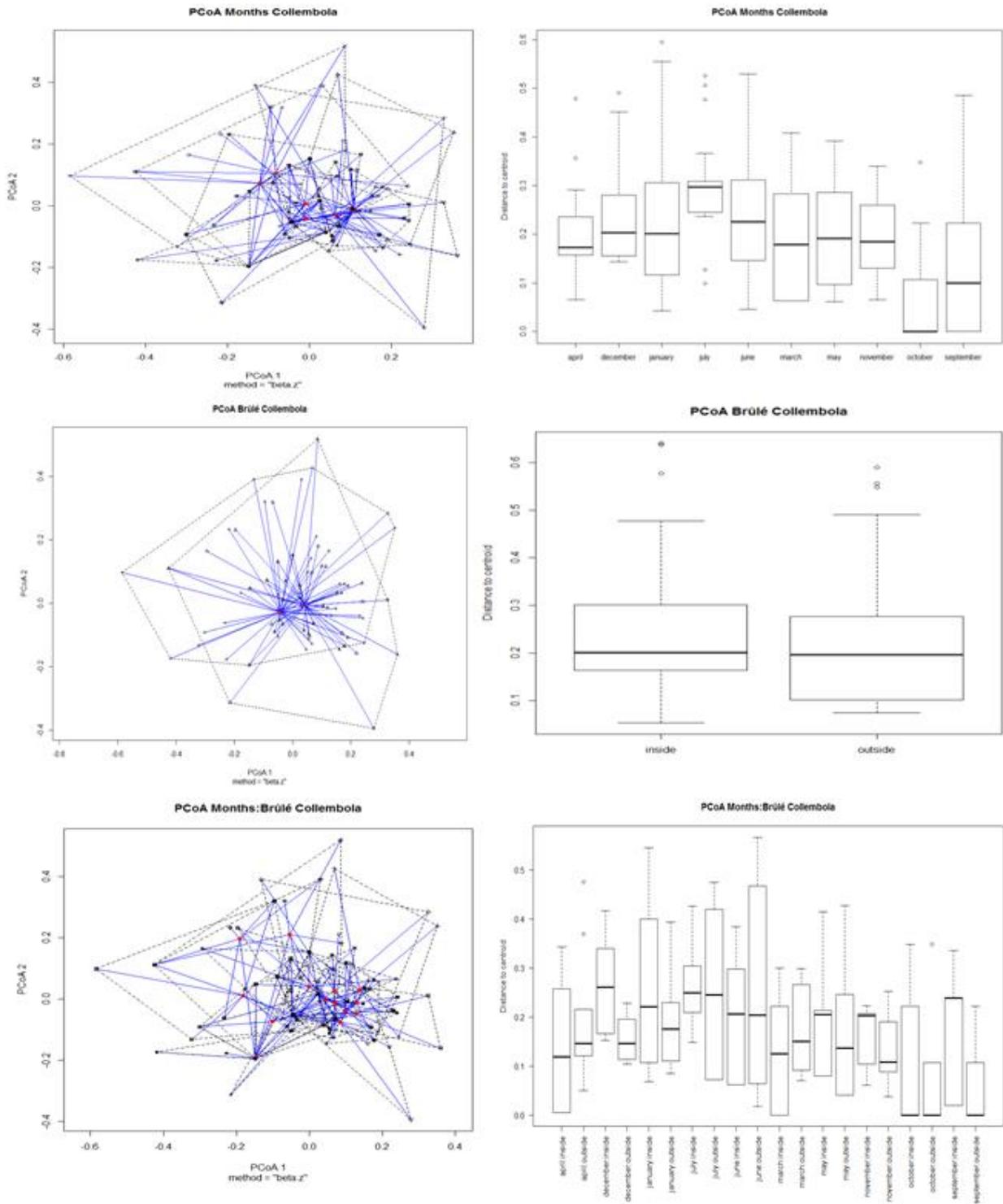


Figura 4: analisi delle coordinate principali effettuata sulle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* ordinate secondo i mesi, il pianello e l'interazione tra i due parametri

4.1.3. Indici

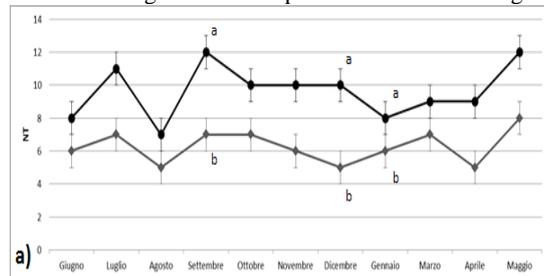
Gli indici di qualità e biodiversità del suolo hanno evidenziato differenze sia stagionali che tra l'interno e l'esterno del pianello. NT, QBS-ar, l'indice Oribatei/altri acari e in parte l'indice di Shannon hanno registrato sempre lo stesso andamento, con valori maggiori all'esterno del pianello. I restanti indici applicati non hanno evidenziato, invece, un trend univoco. Tutti gli indici considerati hanno evidenziato valori più bassi, sia all'interno che all'esterno del pianello, nel mese di agosto. I mesi autunnali e quelli primaverili sono risultati invece quelli con una comunità di microartropodi più ricca secondo gli indici NT, QBS-ar, Oribatei/altri acari e H'. L'indice QBS-c, come A/C, ha mostrato invece valori molto simili tra l'interno e l'esterno del pianello. Nei paragrafi successivi (e in figura 5 in modo sintetico) vengono riportati i risultati delle analisi statistiche, suddivisi per differenze stagionali e differenze dentro/fuori pianello.

Figura 5: Media±Errore Standard degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum*. I grafici rappresentano rispettivamente:

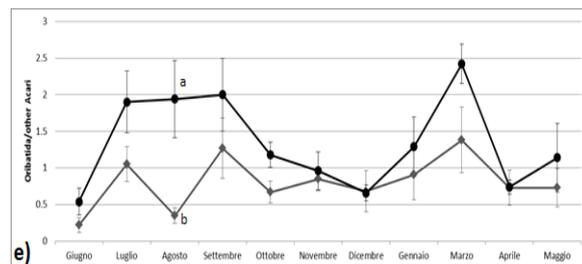
- a) Numero Taxa (NT)
- b) QBS-artropodi (QBS-ar)
- c) QBS-collemboli (QBS-c)
- d) Acari/collemboli (A/C)
- e) Oribatei/altri acari
- f) Indice di Shannon (H')
- g) Indice di Pielou (J)

Le lettere sui grafici indicano differenze statisticamente significative tra l'interno e l'esterno del pianello

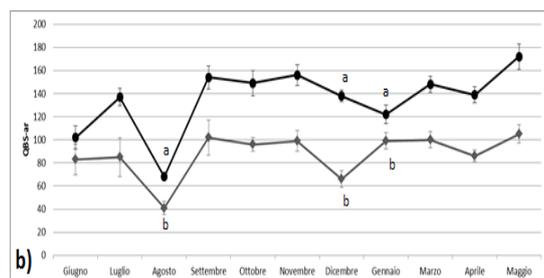
Sotto ciascun grafico sono riportate le differenze stagionali significative per ciascun indice



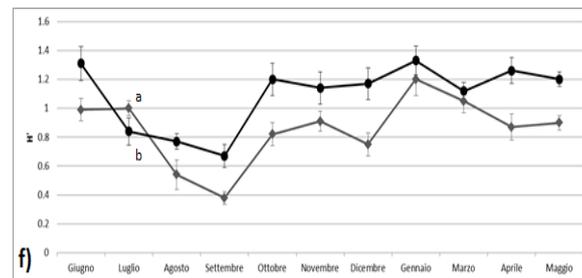
DENTRO – Gen vs: Dic = 0.028; Set = 0.034
FUORI – Gen vs. Dic = 0.039



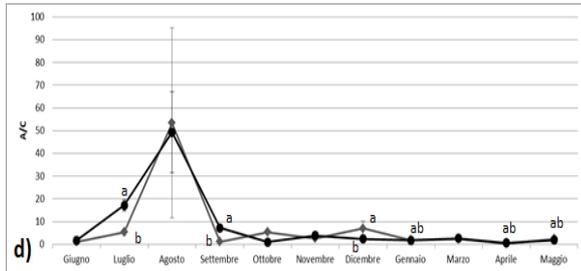
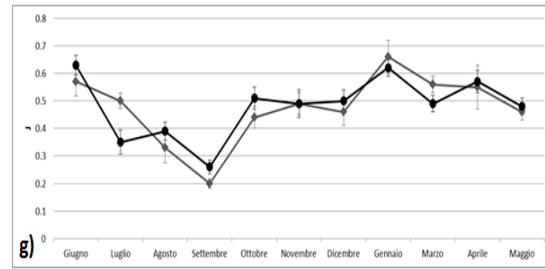
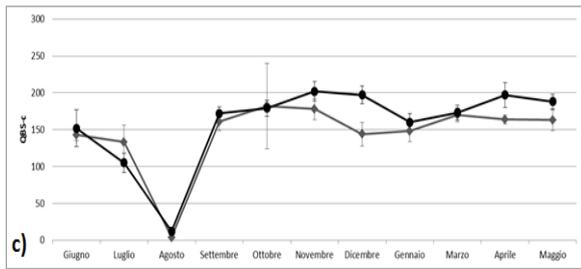
DENTRO – Mar vs: Apr = 0.036, Giu = 0.021, Nov = 0.020; Ago vs: Apr = 0.007,
Nov = 0.004, Ott = 0.019, Dic = 0.013, Giu = 0.004



DENTRO – Ago vs: Dic = 0.024, Mag = 0.036; Dic vs. Gen = 0.021;
Gen vs. Mag = 0.030
FUORI – Dic vs: Ago = 0.036; Gen = 0.020; Gen vs. Mag = 0.042



DENTRO – Lug vs: Apr = 0.026, Dic = 0.015, Mag = 0.035, Ott = 0.030
FUORI – Lug vs: Apr = 0.042, Dic = 0.019, Ott = 0.048



DENTRO – Lug vs: Ott = 0.024, Set = 0.026

Legenda:

—▲— Dentro —●— Fuori

DENTRO - Lug vs: Apr, Gen, Giu, Mar, Mag, Ott < 0.0001, Dic = 0.0003, Nov = 0.0004; Set vs: Apr, Gen < 0.0001, Mar, Mag, Ott = 0.0001, Dic = 0.003, Giu = 0.001, Nov = 0.005
 FUORI - Dic vs: Lug, Set < 0.0001, Apr = 0.018, Gen = 0.035, Giu = 0.006, Mar = 0.018, Mag = 0.066, Nov = 0.009, Ott = 0.013; Set vs: Gen = 0.001, Apr = 0.008, Giu = 0.010, Mar = 0.003, Mag = 0.006, Nov = 0.007, Ott = 0.005; Lug vs: Apr = 0.008, Dic < 0.0001, Gen = 0.004, Giu = 0.023, Mar = 0.008, Mag = 0.002, Ott = 0.011, Nov = 0.016

Differenze stagionali degli indici fuori e dentro pianello

Le analisi statistiche hanno evidenziato alcune differenze per gli indici. La figura 5 mostra i trend stagionali (sia all'interno che all'esterno del pianello) evidenziati per gli indici applicati.

NT: ha mostrato valori maggiori in maggio (fuori) e minori in agosto (dentro). Le analisi post-hoc hanno evidenziato valori statisticamente più alti in gennaio all'interno, quando confrontato con dicembre, e un andamento opposto all'esterno. Settembre, invece, ha registrato valori più alti di gennaio (dentro);

QBS-ar: ha mostrato stesso andamento di NT con valori più alti in maggio e più bassi in agosto. È emersa una differenza significativa tra agosto e dicembre (interno e esterno) e tra agosto e maggio (interno). Dicembre ha registrato valori più alti di gennaio all'esterno ma ha mostrato un andamento opposto all'interno. Sono stati riscontrati valori più bassi in inverno, infatti gennaio ha mostrato valori significativamente più bassi di maggio, sia all'interno che all'esterno;

A/C: ha evidenziato valori maggiori in luglio (fuori) e minori in aprile (dentro). Le analisi statistiche hanno evidenziato che l'estate è un periodo migliore per lo sviluppo e crescita degli acari, rispetto ai collemboli, perché i valori di luglio sono stati significativamente più alti di tutti gli altri mesi eccetto che per ottobre e dicembre. Lo stesso si è verificato all'esterno. Inoltre, settembre ha mostrato valori più alti di giugno, marzo e aprile (dentro), ma più bassi di ottobre, novembre, dicembre, gennaio, marzo e maggio. All'esterno settembre ha registrato un trend simile con valori

più alti rispetto a giugno, ottobre, novembre, gennaio, marzo, aprile e maggio. Infine, dicembre (fuori) ha evidenziato valori più alti di giugno, ottobre e maggio, ma più bassi di luglio, settembre, novembre, gennaio, marzo e aprile;

Acari oribatei/altri acari: ha mostrato valori più bassi in giugno (dentro) mentre i più alti in marzo (fuori). Marzo ha mostrato valori statisticamente più alti di aprile, giugno e novembre (dentro); agosto, invece, valori più bassi rispetto a aprile, ottobre, novembre e dicembre (dentro) ma valori più alti rispetto a giugno.

Un'analisi più approfondita sulla comunità di collemboli, basata sull'applicazione dell'indice QBS-c, non ha evidenziato differenze statisticamente significative.

Infine, i due indici di biodiversità applicati (H' e J) hanno mostrato valori più alti in gennaio (fuori) e più bassi in settembre (dentro). Le analisi statistiche hanno evidenziato differenze significative. Luglio (dentro) ha mostrato valori più alti se confrontati con aprile, dicembre, maggio e ottobre, ma fuori ha mostrato valori più bassi di aprile, dicembre e ottobre. J ha mostrato valori più alti in luglio (dentro) quando confrontato con ottobre e settembre.

Differenze dentro-fuori

In figura 5 sono mostrate le differenze emerse, in termini di indici applicati, tra l'area all'interno e all'esterno del pianello. Le analisi statistiche post-hoc hanno evidenziato alcune differenze significative. Sono emersi valori statisticamente più alti all'esterno del pianello per quasi tutti gli indici applicati. Il QBS-ar ha evidenziato valori più alti all'esterno in tutti i mesi considerati, con un valore massimo registrato a maggio. Valori significativi più bassi all'interno sono emersi per agosto, dicembre e gennaio. NT ha evidenziato stesso trend. Sono emerse differenze significative in settembre, dicembre e gennaio, con valori più alti all'esterno. L'indice QBS-c ha registrato stesso trend ma in questo caso sono emerse minori differenze tra l'interno e l'esterno, in alcuni casi le due medie hanno registrato valori molto simili (ad esempio in giugno, agosto, ottobre e marzo). Infatti, in questo caso, le analisi statistiche non hanno evidenziato differenze significative. Gli ultimi due indici di qualità biologica hanno mostrato andamenti diversi. Il rapporto A/C ha registrato valori simili tra l'interno e l'esterno del pianello; le analisi statistiche hanno mostrato valori statisticamente maggiori in aprile, luglio e settembre fuori, quando confrontati con l'interno. Dicembre, gennaio e maggio hanno invece mostrato valori più alti all'interno. Al contrario, il rapporto acari oribatei/altri acari ha registrato valori quasi sempre più alti all'esterno. In questo caso, nonostante l'ANOVA a due vie abbia identificato solo lievi differenze ($p\text{-value} = 0.069$), l'analisi post-hoc ha evidenziato una differenza significativa per il mese di agosto.

Infine, i due indici di biodiversità non hanno mostrato un unico trend. H' ha mostrato valori statisticamente più alti in luglio (interno) quando confrontato con l'esterno; Pielou invece nessuna differenza.

4.2. *Tuber melanosporum*

4.2.1. Analisi chimiche

I risultati delle analisi chimiche condotte in Spagna sono riportati in tabella 5. I valori di pH emersi confermano quanto emerso per *T. aestivum*, cioè un valore medio leggermente più alto all'interno. Le analisi statistiche hanno, infatti, evidenziato una differenza significativa tra dentro e fuori.

Il carbonato di calcio ha evidenziato valori pressoché simili tra l'interno e l'esterno del pianello. I due valori medi sono, infatti, praticamente uguali. Le analisi statistiche non hanno mostrato differenze statisticamente significative. Il calcare attivo ha mostrato andamento molto simile, anche se l'interno sembrerebbe presentare valori leggermente più alti). Come il caso precedente, l'analisi statistica non ha evidenziato valori statisticamente significativi.

Tabella5: Media \pm Errore Standard delle analisi chimiche effettuate sui campioni spagnoli di *T. melanosporum*

	pH	Carbonato di calcio	Calcare attivo
Dentro	8.03 \pm 0.04	51.65 \pm 5.95	1.89 \pm 0.52
Fuori	7.88 \pm 0.06	51.20 \pm 6.45	1.54 \pm 0.35
p-values	*		

4.2.2. Comunità di microartropodi

Sono stati identificati 15448 organismi appartenenti a 11 gruppi di microartropodi. In tabella 6 sono riportati i risultati dell'analisi. Non sono emerse, in termini di gruppi, grandi differenze tra l'interno e l'esterno del pianello. Un unico gruppo è stato riscontrato esclusivamente all'interno, gli pseudoscorpioni, mentre due solo all'esterno, gli araneidi e i lepidotteri (larve). Entrambe le comunità sono risultate ricche e ben diversificate con la presenza dei maggiori taxa ben adattati al suolo (quali proturi, dipluri, pauropodi e sinfili). Non sono stati identificati, invece, organismi appartenenti al gruppo dei diplopodi. La maggior parte dei gruppi emersi hanno registrato valori più elevati all'esterno del pianello, ad eccezione di dipluri, tisanotteri, imenotteri e coleotteri larve. Acari e collemboli sono i due gruppi che hanno evidenziato maggiori densità all'esterno, gli imenotteri, invece, all'interno. In particolar modo, quest'ultimo gruppo ha raggiunto, in un campione, densità superiori ai 10000 ind/mq. Infine, gruppi come emitteri, psocotteri e coleotteri sono stati riscontrati solo sporadicamente, sia all'interno che all'esterno.

L'analisi effettuata sulla sola comunità di collemboli, di cui sono riportati i risultati in tabella 7, ha confermato quanto emerso per la comunità di microartropodi. Non sono emerse evidenti differenze tra l'interno e l'esterno del pannello. Le uniche famiglie riscontrate esclusivamente all'esterno del pannello son state Neelidae e Neanuridae. Gli altri gruppi hanno confermato questo andamento, con valori maggiori all'esterno, ad eccezione della famiglia degli Onichiuridi.

Infine, a differenza di quanto emerso in *T. aestivum*, il genere *Folsomia* ha mostrato valori maggiori all'esterno del pannello.

Le analisi statistiche hanno evidenziato differenze significative sia per quanto riguarda gli indici che per le densità degli organismi.

Tabella 6: Medie \pm Errore Standard dei gruppi di microartropodi emersi nei campioni spagnoli di *T. melanosporum*

		Dentro	Fuori
Pseudoscorpioni		2 \pm 2	-
Opilioni		-	-
Araneidi		-	23 \pm 19
Acari		9941 \pm 2236	17209 \pm 3133
Isopodi		-	-
Diplopodi		-	-
Pauropodi		120 \pm 61	243 \pm 80
Sinfili		154 \pm 85	236 \pm 62
Chilopodi		2 \pm 2	17 \pm 9
Proturi		21 \pm 11	25 \pm 17
Dipluri		15 \pm 7	8 \pm 5
Collemboli		245 \pm 47	1173 \pm 294
Microcorifi		-	-
Ortotteri		-	-
Psocotteri		15 \pm 11	30 \pm 10
Emitteri		74 \pm 36	994 \pm 766
Tisanotteri		103 \pm 34	63 \pm 22
Imenotteri		922 \pm 530	646 \pm 153
Coleotteri	Adulti	2 \pm 2	4 \pm 3
	Larve	141 \pm 115	135 \pm 42
Ditteri	Adulti	-	-
	Larve	11 \pm 7	15 \pm 7
Lepidotteri	Larve	-	2 \pm 2
TOT		11768 \pm 20823	20823 \pm 3562

Tabella 7: Medie \pm Errore Standard di ciascuna famiglia di collemboli e del genere *Folsomia* emersi nei campioni spagnoli di *T.*

<i>melanosporum</i>		
	Dentro	Fuori
Dicirtomidae	-	-
Entomobridae	119 \pm 33	368 \pm 138
Ipogastruridae	55 \pm 34	141 \pm 70
Isotomidae	74 \pm 18	363 \pm 115
<i>Folsomia</i>	3 \pm 2	321 \pm 122
Neanuridae	-	12 \pm 4
Neelidae	-	12 \pm 4
Onichiuridae	16 \pm 8	9 \pm 7
Tullbergidae	24 \pm 12	26 \pm 10
Sminthuridae	-	-
Sminthurididae	16 \pm 8	30 \pm 15
TOT	245 \pm 47	1173 \pm 294

Come per *T. aestivum* anche per *T. melanosporum* sono emerse delle differenze tra l'interno e l'esterno del pianello, in termini di densità. La figura 6 rappresenta l'analisi delle coordinate principali effettuata sulla comunità di microartropodi associata ai campioni spagnoli. Da tale analisi risulta evidente una differenza, in termini di comunità, tra l'interno e l'esterno del pianello, confermata da analisi statistica. L'analisi SIMPER, condotta per verificare quali fossero i gruppi responsabili di tali differenze, ha individuato nei gruppi di acari, imenotteri e collemboli i principali responsabili delle differenze tra l'interno e l'esterno del pianello.

Un'analisi approfondita effettuata sulla comunità di soli collemboli ha evidenziato, anche in questo caso, delle differenze statisticamente significative. Il test Adonis ha rilevato una differenza significativa per le abbondanze totali, con valori maggiori all'esterno del pianello. L'analisi delle coordinate principali, rappresentata in figura 7 evidenzia, nuovamente, una differenza tra l'interno e l'esterno del pianello. Sono infatti emersi valori maggiori all'esterno. La SIMPER analisi ha individuato come gruppi responsabili di queste differenze le famiglie degli Entomobridae, Isotomidae e il genere *Folsomia*. A seguire tutte le restanti famiglie.

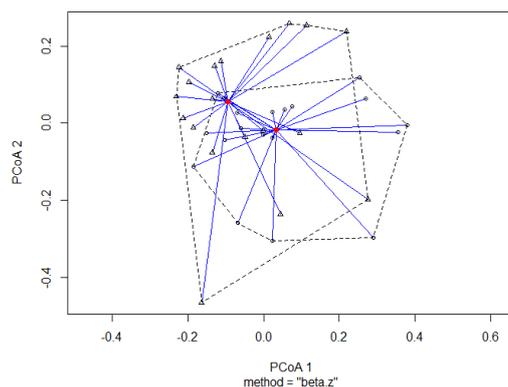


Figura 6: analisi delle coordinate principali effettuata con le densità di organismi (campioni spagnoli)

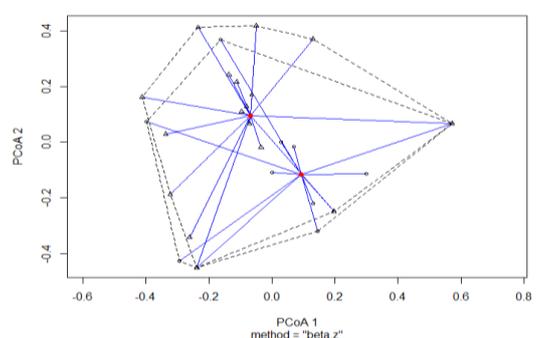


Figura 7: analisi delle coordinate principali effettuata con le densità delle famiglie di collemboli (campioni spagnoli)

4.2.3. Indici

Gli indici applicati hanno in parte confermato quanto emerso fino ad ora sia per *T. aestivum* che per *T. melanosporum*. In tabella 8 sono riportate medie e errori standard. Gli indici di qualità biologica del suolo (NT, QBS-ar, QBS-c, A/C e Oribatei/altri acari) hanno mostrato tutti, ad eccezione di A/C, valori maggiori all'esterno. I due indici di biodiversità (H' e J), invece, non hanno evidenziato un chiaro andamento ma valori simili tra l'interno e l'esterno del pianello. Sono emerse delle differenze significative per NT, QBS-ar, QBS-c, che hanno evidenziato valori maggiori all'esterno e A/C che invece ha mostrato andamento opposto (Tab. 8).

Tabella 8: Medie \pm Errore Standard degli indici applicati per i campioni spagnoli di *T. melanosporum*. Gli asterischi indicano differenze dentro/fuori statisticamente significative

	NT	QBS-ar	QBS-c	A/C	Orib/altri acari	H'	J
Dentro	6 \pm 1	72 \pm 6	50 \pm 6	52.72 \pm 13.44	0.37 \pm 0.05	0.62 \pm 0.08	0.34 \pm 0.04
Fuori	8 \pm 1	89 \pm 2	82 \pm 11	36.61 \pm 3.77	1.55 \pm 0.35	0.63 \pm 0.01	0.33 \pm 0.01
	*	*	*	***			

4.3. Confronto Italia-Spagna

L'ultimo campionamento effettuato in Italia, quello del mese di maggio (2014), è stato utilizzato per effettuare un confronto tra le comunità di microartropodi associate alle due specie di tartufo. Questo mese è stato scelto perché corrispondente al mese di campionamento dei campioni spagnoli.

La tabella 9 confronta medie e errori standard degli organismi emersi all'interno e all'esterno dei pianelli delle due specie di tartufo. È emerso come gli pseudoscorpioni fossero presenti in Spagna solo all'interno del pianello mentre in Italia solo all'esterno. Gli araneidi, invece, in Italia sono stati rinvenuti sia all'interno che all'esterno mentre in Spagna solo all'esterno. I campioni italiani all'esterno sono risultati più ricchi, con un numero maggiore di ordini e classi individuati, come pseudoscorpioni, opilioni, diplopodi, microcorifi e ortotteri. Infine le densità totali sono risultate più alte nei campioni italiani sia all'interno che all'esterno.

I risultati degli indici sono riportati nelle figure 8 e 9. Gli indici applicati hanno mostrato una tendenza generale a valori più elevati nei pianelli di *T. aestivum*, sia all'interno che all'esterno del pianello. Gli unici due indici ad evidenziare andamento opposto sono stati A/C, all'interno del pianello, a significare densità maggiori di collemboli in tale zona, e Oribatei/ altri acari all'esterno del pianello. Quest'ultimo risultato dimostra che gli acari Oribatei sarebbero più numerosi all'esterno dei pianelli di *T. melanosporum*.

Tabella 9: Medie \pm Errore Standard degli organismi riscontrati nei campioni spagnoli di *T. melanosporum* e nei campioni italiani di *T. aestivum* (campionamento di maggio)

		Dentro		Fuori	
		Italia	Spagna	Italia	Spagna
Pseudoscorpioni		-	2 \pm 2	106 \pm 79	-
Opilioni		-	-	99 \pm 99	-
Araneidi		21 \pm 11	-	64 \pm 21	23 \pm 19
Acari		9313 \pm 2573	9941 \pm 2236	19504 \pm 4372	17209 \pm 3133
Isopodi		-	-	-	-
Diplopodi		-	-	57 \pm 22	-
Paupodi		43 \pm 21	120 \pm 61	191 \pm 67	243 \pm 80
Sinfili		14 \pm 9	154 \pm 85	170 \pm 51	236 \pm 62
Chilopodi		50 \pm 21	2 \pm 2	113 \pm 31	17 \pm 9
Proturi		297 \pm 197	21 \pm 11	3680 \pm 1224	25 \pm 17
Dipluri		35 \pm 15	15 \pm 7	156 \pm 43	8 \pm 5
Collemboli		6716 \pm 2013	245 \pm 47	11171 \pm 1859	1173 \pm 294
Microcorifi		-	-	7 \pm 7	-
Ortotteri		-	-	7 \pm 7	-
Psocoteri		35 \pm 22	15 \pm 11	28 \pm 22	30 \pm 10
Emitteri		14 \pm 9	74 \pm 36	113 \pm 51	994 \pm 766
Tisanoteri		35 \pm 22	103 \pm 34	35 \pm 19	63 \pm 22
Imenoteri		276 \pm 93	922 \pm 530	1239 \pm 641	646 \pm 153
Coleotteri	Adulti	21 \pm 11	2 \pm 2	35 \pm 15	4 \pm 3
	Larve	141 \pm 41	141 \pm 115	85 \pm 26	135 \pm 42
Ditteri	Adulti	-	-	-	-
	Larve	35 \pm 24	11 \pm 7	333 \pm 82	15 \pm 7
Lepidotteri	Larve	-	-	-	2 \pm 2
TOT		16985 \pm 7737	11768 \pm 20823	37112 \pm 5176	20823 \pm 3562

Figura 8: Media \pm Errore Standard dei valori degli indici applicati in Italia (maggio 2014) e Spagna (maggio 2014) all'interno del pianello

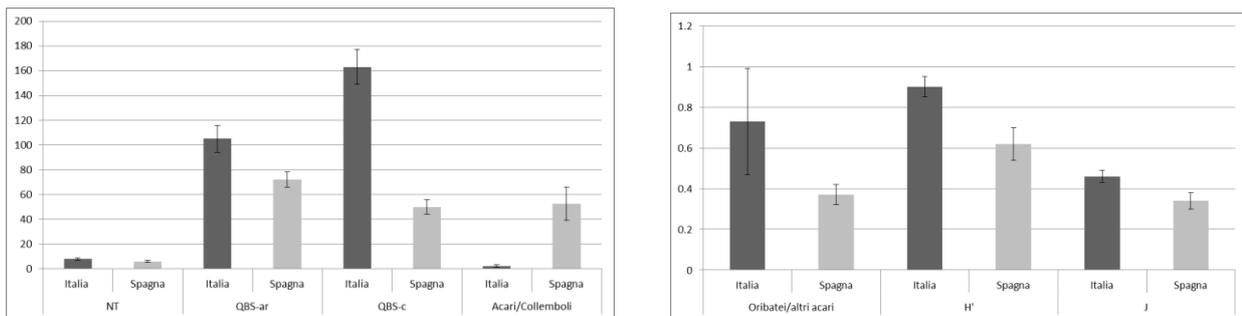
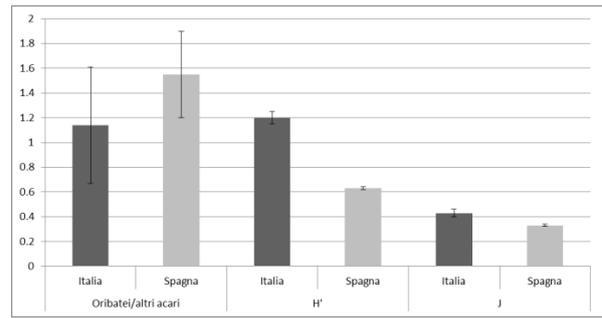
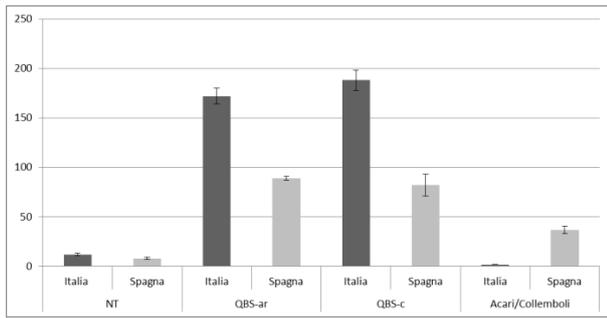


Figura 9: Media±Errore Standard dei valori degli indici applicati in Italia (maggio 2014) e Spagna (maggio 2014) all'esterno del pianello

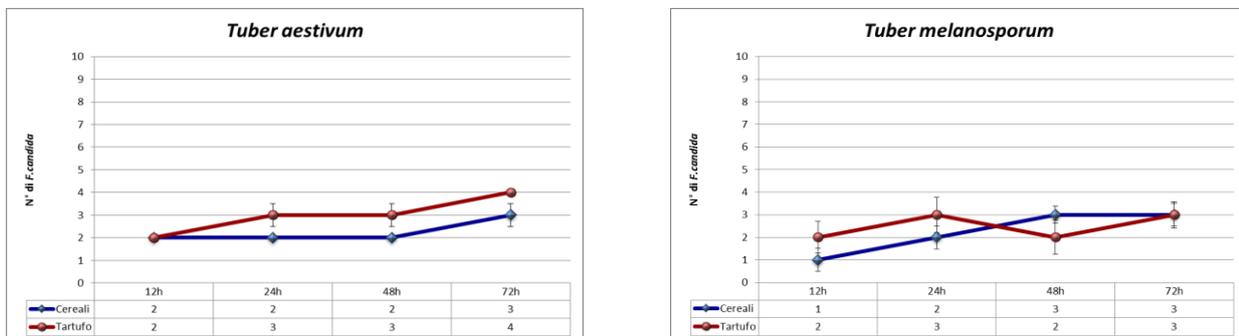


4.4. Test di preferenza alimentare con *F. candida*

La figura 10 mostra i risultati dei test di preferenza alimentare effettuati con *F. candida*. Il numero di collemboli registrato sul tartufo e sul mix di cereali si è mantenuto piuttosto costante nel tempo, per quanto riguarda *T. aestivum*. La preferenza per il tartufo è stata sempre leggermente superiore durante tutti i controlli, aumentando nelle ultime ore del test. Mediamente nell'arco delle 72 ore il 23% dei collemboli ha preferito il mix di cereali, il 29% il tartufo e il restante 48% non ha mostrato preferenze.

Nel caso di *T. melanosporum*, invece, i collemboli hanno preferito il tartufo alle 12 e alle 24 ore, mentre alle 48 ore ne sono stati riscontrati in media 3 sul mix di cereali e 2 su tartufo. Il restante sembrava non mostrare alcuna preferenza. All'ultimo controllo delle 72 ore il numero di collemboli sul tartufo e sui cereali era mediamente lo stesso. Infine, durante l'intera durata del test, in media il 22% dei collemboli ha preferito il mix di cereali, il 26% il tartufo e il 53% non ha mostrato preferenze.

Figura 10: Media±Errore Standard del numero di individui nei test di preferenza alimentare con *Folsomia candida* per entrambe le specie di tartufo analizzate



5. DISCUSSIONE

Questo studio mirava a caratterizzare la comunità di microartropodi associata a pianelli naturali di *T. aestivum* e *T. melanosporum*. I risultati hanno confermato la presenza di un microcosmo particolare all'interno del pianello, creato dal tartufo, in termini di cambiamenti chimico-fisici. Inoltre, a differenza di quanto effettuato fino ad ora, questo studio estende i risultati, per *T. aestivum*, all'intero ciclo biologico annuale del tartufo.

Lo studio contribuisce a confermare che il tartufo produce, all'interno del pianello, una zona a pH leggermente alcalino, come già emerso in studi precedenti (García-Montero et al., 2014a; García-Montero et al., 2014b; Hilszczańska et al., 2008; Menta et al., 2014). Tale risultato è stato confermato sia per *T. aestivum* che per *T. melanosporum*. Il pH può influenzare gli organismi del suolo perché le diverse specie di organismi sono attive a diversi range di pH. Kuperman (1996), ad esempio, ha identificato delle correlazioni positive tra il pH e diversi organismi del suolo come lombrichi, gasteropodi, isotteri, carabidi, stafilinidi, blattoidei e ditteri (larve). Ha inoltre verificato che suoli molto acidi o alcalini non supportano un grande numero di artropodi. Inoltre, Edwards & Lofty (1975) hanno scoperto che il numero di chilopodi e sinfili era più elevato in suoli a pH 5.0 e 6.0 (o valori più alti) piuttosto che in suoli con valori di pH più bassi e nessuno di questi organismi poteva essere riscontrato in suoli con pH più basso di 4.0.

Poiché il pianello è caratterizzato da una minor copertura erbacea, l'ipotesi preliminare riguardante l'umidità del suolo, era di trovare valori minori all'interno. Nonostante ciò, non sono emerse differenze tra l'interno e l'esterno dei pianelli di *T. aestivum* (per il quale tale analisi è stata condotta). L'umidità del suolo può influenzare la comunità edafica in molti modi diversi. La siccità sembrerebbe avere, sui microartropodi del suolo, effetti simili in molti tipi di ambienti climatici differenti (Tsiafouli et al., 2005). Ad esempio, Kardol et al. (2011) hanno riscontrato una correlazione positiva tra la ricchezza dei microartropodi e l'umidità del suolo.

In questo studio, sono, inoltre, emersi valori maggiori di sostanza organica e TOC all'esterno dei pianelli di *T. aestivum*, ad eccezione del mese di ottobre. Questo risultato conferma quanto ipotizzato in partenza, essendo il pianello un'area a scarsa copertura vegetale. Bragato (1997) aveva già evidenziato una riduzione di circa il 52% del TOC all'interno di pianelli di *T. melanosporum* mentre Hasegawa (2001) ha dimostrato che la comunità di artropodi del suolo era legata all'ammontare di sostanza organica presente. Tale risultato contribuisce a confermare l'ipotesi iniziale che il pianello sia un ambiente disturbato e che tale disturbo possa influenzare la comunità di organismi del suolo.

Le analisi sul carbonato di calcio e il calcare attivo, effettuate per *T. melanosporum*, non hanno identificato delle marcate differenze tra l'interno e l'esterno del pianello. Questo risultato discorda da quanto emerso fino ad ora, in studi precedenti. Callott (1999), Ricard (2003), Jaillard et al. (2007), García-Montero et al. (2009) hanno dimostrato che lo sviluppo di *T. melanosporum* è strettamente legato al pH e alla disponibilità di carbonato di calcio e calcare attivo nel suolo. Gli autori hanno inoltre osservato un interessante fenomeno di de-carbonatazione/ri-carbonatazione nei pianelli di *T. melanosporum* (García-Montero et al., 2013). García-Montero et al. (2013) hanno inoltre evidenziato come anche gli organismi del suolo possano influenzare il contenuto di carbonato. Molte specie di lombrichi, ad esempio, secernono granuli millimetrici di carbonato di calcio. Secrezioni sferiche di suolo composte da cristalli di calcite sono inoltre state trovate nelle feci dei lombrichi e in suoli dove i lombrichi erano presenti. Questi granuli di calcite, singoli o agglomerati di 2.5 mm di diametro, sono prodotti da ghiandole calcicole di tutte le specie appartenenti alla famiglia *Lumbricidae*.

Tutti questi cambiamenti nei parametri chimici del suolo e la riduzione della copertura vegetale (che può causare variazioni di temperatura e luminosità) possono influenzare negativamente la comunità di microartropodi del suolo. In questo studio è emerso come gruppi differenti siano influenzati in maniera diversa dalla presenza del tartufo. Alcuni gruppi sembrano essere influenzati negativamente; pauropodi, sinfili e proturi che hanno registrato densità più abbondanti all'esterno, in entrambe le specie di tartufo considerate. Menta et al. (2014), hanno cercato di analizzare la comunità di microartropodi associata a pianelli di *T. aestivum* in Italia e in Spagna, con un particolare riferimento alla comunità di collemboli. Gli autori non hanno osservato un trend univoco ma la maggior parte dei microartropodi registrava abbondanze maggiori all'esterno del pianello. Questi gruppi erano principalmente acari, imenotteri, diplopodi, sinfili, pauropodi, proturi, dipluri, emitteri e pseudoscorpioni. Nel presente studio, non solo sono stati confermati questi risultati per la maggior parte dei gruppi citati, ma le differenze emerse sono state, nel caso di *T. aestivum*, estese all'intero ciclo biologico annuale del tartufo. Inoltre la ricerca è stata ampliata con l'aggiunta di un'altra specie di tartufo (*T. melanosporum*) che ha contribuito a confermare quanto emerso per *T. aestivum* e negli studi precedenti. È possibile che i gruppi sopra citati trovino all'interno del pianello un ambiente sfavorevole a causa di numerosi fattori. Per esempio, come citato in precedenza, Kuperman (1996) ha dimostrato che gruppi come sinfili e chilopodi possono essere influenzati dagli alti valori di pH presenti all'interno del pianello. Altri gruppi, come i diplopodi, organismi principalmente detritivori, potrebbero trovare all'interno del pianello scarse risorse alimentari. Infine, Hasegawa (2001) ha dimostrato che ci sarebbe una piccola correlazione tra i collemboli e la sostanza organica totale.

Al contrario di quanto emerso in questo studio, Queralt et al. (2014) hanno identificato una maggior densità di *Passalozetes ruderalis* endemismo iberico (Pérez-Íñigo, 1993) e *Arthrodamaeus reticulatus* (Pérez-Íñigo, 1997), due specie di acari, nell'area a tartufo. Hanno così ipotizzato che queste potessero essere delle specie tartufo-correlate. In questo studio, invece, sono state riscontrate densità più elevate di acari principalmente all'esterno del pianello (per entrambe le specie di tartufo analizzate) ma la classificazione si è fermata a livello di ordine. Probabilmente la ricerca potrebbe essere implementata con il riconoscimento degli organismi appartenenti all'ordine degli acari fino a livello di genere o specie. Queralt et al. (2014) hanno inoltre ipotizzato che essendo la maggior parte delle specie di acari oribatei fungivore, queste potrebbero avere un impatto diretto sul ciclo biologico del tartufo, interagendo con il micelio e la dispersione delle spore. Gli acari oribatei sono molto importanti perché presumibilmente influenzano la distribuzione, dispersione e crescita dei funghi del suolo con il loro movimento e la loro attività alimentare (Renker et al., 2005). In questo studio è però emerso un trend differente poiché il rapporto acari oribatei/altri acari ha mostrato valori maggiori all'esterno per entrambe le specie di tartufo analizzate, indice di un più elevato numero di oribatei in quest'area. Questo indicherebbe non solo una condizione più "naturale" all'esterno del pianello ma anche che gli acari oribatei individuati all'interno sarebbero in numero inferiore rispetto a quelli individuati all'esterno e rispetto ai non oribatei. Alcuni studi hanno dimostrato che la preferenza alimentare di tre specie di acari differiva significativamente tra le tre ma che tutte mostravano una preferenza per *Hymenoscyphus*, *Boletus* e *Alternaria* (Schneider et al., 2005), tre specie di funghi. Nonostante ciò, Renker et al. (2005) non hanno trovato associazioni tra funghi micorrizici e acari oribatei, a suggerimento del fatto che probabilmente la dispersione delle spore del fungo ad opera di questi acari è di poca importanza. Inoltre, è stata identificata una correlazione positiva tra l'abbondanza di questi organismi e la temperatura del suolo. Questa relazione può essere spiegata dai relativi cambiamenti nel contenuto di umidità del suolo (Kardol et al., 2011). Questo parametro può essere vincolante all'interno del pianello e potrebbe spiegare il ridotto numero di acari oribatei trovati all'interno.

Al contrario, la comunità di collemboli ha mostrato un andamento diverso. È risultato difficoltoso individuare un unico andamento, sia nel caso di *T. aestivum* che di *T. melanosporum*, nonostante nella maggior parte dei campioni considerati la grande maggioranza delle famiglie mostrasse densità maggiori all'esterno. Il genere *Folsomia*, è stato l'unico gruppo di organismi che ha mostrato, solo in *T. aestivum*, quasi sempre valori maggiori all'interno. Tale risultato non è stato però confermato nei campioni spagnoli e discorda con l'ipotesi iniziale di una maggior densità di questi organismi all'interno del pianello. La maggior parte dei collemboli si nutre di ife unguine o di materiale vegetale in decomposizione. Le ife forniscono una ricca fonte di nutrimento che viene

rilasciata dal materiale vegetale attraverso la digestione degli enzimi dei funghi che i collemboli non sono in grado di produrre da soli (Hopkin, 1997). Molti studi hanno dimostrato l'importanza dei funghi nell'alimentazione dei collemboli (Gange, 2000; Hanlon, 1981; Hanlon & Anderson, 1979), ma questi organismi sembrerebbero favorire i funghi saprofitici e patogeni a quelli micorrizici (Klironomos & Kendrick, 1996; Klironomos & Ursic, 1998; Kaneda & Kaneko, 2004; Sadaka-Laulan et al., 1998). Nel suolo, questi organismi possono influenzare la crescita delle micorrize e controllare le malattie di molte piante. In generale, questi effetti sono positivi; stimolano la crescita delle ife e la respirazione fungina (Hopkin, 1997). Inoltre, Seastedt (1984) ha ipotizzato che un'alimentazione selettiva sui funghi da parte dei collemboli potrebbe essere estremamente importante nell'influenzare le popolazioni di funghi associate alle radici delle piante (Hopkin, 1997). I collemboli, nutrendosi di funghi, possono inoltre spargere le loro spore lontano dal luogo di origine. Batteri e funghi sono infatti spesso osservati nell'intestino dei collemboli (Hopkin, 1997). Alcune spore fungine sono resistenti alla digestione e rimangono vitali anche dopo il passaggio nell'apparato alimentare dei collemboli (Hopkin, 1997). È possibile ipotizzare che le varie famiglie di collemboli (ad eccezione del genere *Folsomia*) tendano ad evitare l'area del pianello, nonostante l'abbondante risorsa alimentare fornita dalle ife del tartufo, a causa delle condizioni particolarmente sfavorevoli all'interno del pianello. Ad esempio, in agosto, e durante il periodo estivo in generale, sono state riscontrate basse densità di questi organismi nei pianelli di *T. aestivum*. Infatti, i due indici associati alla comunità di collemboli (A/C e QBS-c) hanno mostrato valori molto bassi, in alcuni casi prossimi o pari allo zero. L'umidità può essere la causa di questo deficit, perché questi organismi possono essere facilmente influenzati da fenomeni di siccità. Sono organismi inclini alla siccità perché la maggior parte delle specie di collemboli manca di un vero sistema tracheale e respirano attraverso i tegumenti (Tsiadouli et al., 2005). Kardol et al. (2010) hanno infatti evidenziato che l'abbondanza totale di collemboli tende a diminuire in condizioni di siccità; inoltre, tra i vari trattamenti sperimentati, l'abbondanza totale di collemboli era negativamente correlata alla temperatura del suolo. È, infine, da sottolineare il comportamento della famiglia degli Isotomidae registrato in *T. aestivum*. Gli organismi appartenenti a questa famiglia hanno registrato valori maggiori all'interno del pianello da giugno a ottobre, all'esterno invece in tutti i restanti mesi dell'anno. È possibile che questi organismi prediligano l'area del pianello durante il periodo di fruttificazione del tartufo (giugno-ottobre), probabilmente attratti dalla maggiore disponibilità di risorsa alimentare o dai VOCs emessi dal tartufo stesso durante la formazione dei carpofori, mentre durante il resto dell'anno prediligano l'area all'esterno per le migliori condizioni chimico-fisiche del suolo.

Tutti questi risultati confermano il pianello come un ambiente disturbato. Nonostante ciò, l'area all'interno non era completamente priva di organismi. Il tartufo può attrarre alcuni animali, ad esempio con i VOCs, per facilitare la dispersione delle spore. Alcuni gruppi di organismi, o più facilmente alcune specie, potrebbero essere attratte dai VOCs emessi dal tartufo allo scopo di cibarsi di questo e rilasciare le spore lontano dal loro luogo di origine. Hochberg et al. (2003) ad esempio, hanno dimostrato che le larve del coleottero *Leiodes cinnamomea* (Coleoptera: Staphylinoidea, Leiodidae) mostravano persistente attrazione al tartufo quando ripetutamente testate. *Leiodes cinnamomea* è considerata una delle specie fungivore più specializzate che attacca il tartufo. È conosciuta per concludere il suo ciclo vitale all'interno e nelle vicinanze del corpo fruttifero del tartufo e per alimentarsi con diverse specie dello stesso. In luglio, in effetti, uno dei mesi di fruttificazione di *T. aestivum*, è stato riscontrato un numero elevato di densità di larve di coleottero all'interno del pianello. In agosto, è stato riscontrato praticamente lo stesso numero all'interno e all'esterno.

Il confronto tra le due specie di tartufo analizzate ha permesso di individuare in *T. aestivum* una specie meno impattante sulla comunità di microartropodi del suolo. Sono infatti emersi, nella maggior parte dei casi, valori più elevati nei campioni italiani. Questo risultato può essere anche legato alle diverse condizioni climatiche delle due zone individuate per lo studio. La primavera italiana è infatti caratterizzata da numerose piogge che permettono non solo un miglior sviluppo della copertura vegetale ma anche un apporto maggiore di acqua al suolo.

Infine, i test di preferenza alimentare non hanno contribuito a identificare una chiara preferenza del collembolo *F. candida* per il tartufo. Fitter & Sanders (1992) hanno dimostrato che le specie di funghi che formano ectomicorrize possono avere palatabilità differenti a seconda del luogo di crescita o del tipo di pianta con cui entrano in simbiosi. Per i funghi saprofitici, ad esempio, la preferenza alimentare dei collemboli era legata all'età del micelio e all'attività metabolica (Kaneda & Kaneko, 2004). La fauna del suolo spesso preferisce, tra le tante, solo alcune specie di funghi come fonte alimentare (Butterfield, 1999; Hogervorst et al., 2003; Hubert et al., 2004; Kaneko et al., 1998; Klironomos et al., 1999; Lavelle et al., 1997; Maraun, 2004). Alcuni autori hanno stabilito che i funghi maggiormente preferiti sono anche quelli più idonei per la crescita e lo sviluppo della fauna del suolo (Frouz et al., 2001; Hubert et al., 2004; Koukol et al., 2009). Inoltre è possibile che il substrato utilizzato per la crescita dei funghi o gli allevamenti dei collemboli possa influenzare la preferenza di *F. candida* verso il fungo (Heděnec et al., 2012). La ricerca riguardante la preferenza alimentare di *F. candida* potrebbe essere implementata con l'utilizzo di substrati di crescita differenti, differenti specie sia di tartufo che di collemboli e tempi e repliche di sperimentazione

maggiori, al fine di identificare con maggiore chiarezza se i collemboli, e in particolar modo *F. candida* possano avere un ruolo nel ciclo biologico dei tartufi.

6. CONCLUSIONI

La presente ricerca ha permesso di chiarire ulteriormente quello che accade all'interno del particolare microcosmo generato nel pianello da alcune specie di tartufo. Ha contribuito a confermare che *T. aestivum* modifica parametri come pH, sostanza organica e carbonio organico totale e ad estendere questi risultati all'intero ciclo biologico annuale del tartufo. Non è stato invece possibile confermare quanto emerso da studi precedenti per *T. melanosporum*. Non sono emerse infatti chiare differenze tra l'interno e l'esterno del pianello per il contenuto di carbonato di calcio e di calcare attivo.

Sono emerse, invece, per entrambe le specie di tartufo delle chiare differenze in termini di comunità di microartropodi del suolo. L'area all'esterno è caratterizzata da una comunità più ricca e diversificata rispetto all'area all'interno. Nonostante ciò, alcuni gruppi di organismi, in particolar modo il genere *Folsomia*, hanno dimostrato di preferire, soprattutto nel caso di *T. aestivum*, l'area all'interno del pianello.

Il confronto, in termini di comunità di microartropodi, effettuato tra le due specie di tartufo analizzate, ha permesso di individuare in *T. aestivum* una specie meno impattante sulla comunità di organismi. Inoltre il clima italiano sembrerebbe favorire un miglior sviluppo degli organismi rispetto a quello spagnolo.

Infine, i test di preferenza alimentare condotti con il collembolo *F. candida*, non hanno identificato un trend chiaro e ben definito. In generale, però, è emersa, soprattutto verso le fasi conclusive del test una preferenza alimentare verso le due specie di tartufo.

In conclusione, alcune questioni riguardanti il genere *Tuber*, e in particolare, riguardanti il rapporto tra il *Tuber* e gli organismi della fauna del suolo rimangono ancora aperte. La ricerca andrebbe implementata con l'aggiunta di altre specie del genere *Tuber* e altri organismi del suolo come nematodi e lombrichi. Questi ultimi due gruppi potrebbero essere di grande interesse soprattutto per l'enorme ruolo che ricoprono all'interno del suolo. Inoltre, la ricerca potrebbe essere migliorata analizzando gli organismi a livelli tassonomici più elevati, come genere o specie, allo scopo di identificare specie tartufo-correlate.

7. RIASSUNTO

Gli sforzi scientifici per scoprire i segreti dei tartufi risalgono al 1800 ma ad oggi molti aspetti sono ancora sconosciuti. *Tuber aestivum* Vitt., o tartufo estivo, e *Tuber melanosporum* Vitt., o tartufo nero pregiato, sono funghi ipogei ectomicorrizici che sviluppano simbiosi con piante come *Quercus* (spp.), *Corylus avellana* L., *Pinus* (spp.). Entrambe queste specie di tartufo formano intorno al tronco della pianta ospite una zona quasi completamente priva di vegetazione, chiamata pianello in italiano, o brùlé in francese. Il completo significato ecologico di quest'area, come ad esempio le dinamiche degli organismi che vivono al suo interno, sono però ancora in parte sconosciute.

La ricerca qui presentata ha come obiettivo primario indagare le relazioni, dirette e indirette, tra la fauna del suolo e i funghi del genere *Tuber*, con particolare riferimento al pianello. In dettaglio, gli obiettivi della presente ricerca sono:

1. Studiare le intricate relazioni tra tartufo e la fauna del suolo, con particolare riferimento ai microartropodi e a un gruppo chiave, i collemboli. Capire quali tra questi sono coinvolti nell'ecologia del tartufo, influenzandone la distribuzione e/o essendo influenzati dalla stessa;
2. Indagare se e come le peculiari caratteristiche chimiche del suolo nel pianello, possano avere effetto sulla comunità animale del suolo, utilizzando due specie di tartufo differenti che producono entrambe pianello;
3. Valutare se l'effetto del tartufo possa essere maggiore durante il periodo di fruttificazione, attraverso un'analisi che segua l'intero ciclo biologico del *Tuber*;
4. Valutare se l'effetto del consumo di micelio da parte di organismi fungivori, come alcune specie di collemboli, possa favorire la dispersione del fungo;
5. Valutare se la specie di collembolo, *Folsomia candida* Willem (ISO 11267-99), è in grado di riconoscere la presenza di tartufo nel suolo standard e valutarne l'eventuale attrazione (test di preferenza alimentare).

Lo studio è stato condotto in pianelli naturali di *T. aestivum* e *T. melanosporum*. Per la prima specie sono stati scelti nove pianelli situati in provincia di Piacenza (Italia), mentre per la seconda venti pianelli situati in provincia di Guadalajara (Spagna).

In entrambe le località sono stati raccolti campioni di suolo al fine di eseguire analisi chimiche e biologiche. In Italia sono stati raccolti campioni ogni prima settimana del mese (da giugno 2013), per la durata totale di 12 mesi (con l'esclusione del mese di febbraio dove non è stato possibile campionare per avverse condizioni atmosferiche). In Spagna, invece, i campioni sono stati raccolti

in un'unica data, il 30 maggio 2014, alla fine del periodo di fruttificazione del tartufo e della stagione secca spagnola.

Per i campioni di *T. aestivum* sono state condotte analisi quali umidità, pH, sostanza organica e carbonio organico totale. Per i campioni di *T. melanosporum*, invece, pH, carbonato di calcio e calcare attivo. Per entrambe le specie è stata analizzata la comunità di microartropodi, con particolare riferimento alla comunità di collemboli e al genere *Folsomia*, e sono stati applicati indici di biodiversità e qualità del suolo. Inoltre, tra giugno e settembre 2015, sono stati allestiti dei test di preferenza alimentare con entrambe le specie di tartufo analizzate e il collembolo *F. candida*.

L'area all'interno del pianello si è dimostrata a pH leggermente alcalino, rispetto all'area all'esterno, con contenuto di sostanza organica e carbonio organico minori per *T. aestivum*. *T. melanosporum* invece ha rilevato valori di pH leggermente alcalini ma poche o nulle differenze per il carbonato di calcio e il calcare attivo. Per entrambe le specie sono emerse comunità di microartropodi ricche e ben diversificate con la presenza dei principali gruppi di organismi ben adattati al suolo. Non sono emerse chiare differenze tra l'interno e l'esterno del pianello, ma l'esterno era caratterizzato da abbondanze maggiori e un più elevato numero di gruppi. Alcuni gruppi sembrano favorire l'area all'esterno, dove probabilmente trovano un ambiente più adatto per la loro sopravvivenza, mentre, il genere *Folsomia*, in particolare, sembrerebbe favorire l'area del pianello, solo in *T. aestivum*.

Quest'ultima potrebbe trovare all'interno del pianello maggiore risorsa alimentare e quindi un ambiente più adatto. Gli indici, sia di biodiversità che di qualità biologica del suolo, hanno confermato questo andamento. Infine, nei test di preferenza alimentare è emersa una preferenza verso il tartufo soprattutto verso la parte finale del test.

Le analisi condotte dimostrano che il tartufo contribuisce a modificare l'area del pianello. Queste differenze nei parametri chimici possono contribuire a modificare la struttura di comunità (in termini di fauna edafica) all'interno. In conclusione lo studio ha contribuito a chiarire le condizioni particolari create all'interno del pianello, sia in termini di parametri chimici che di comunità di microartropodi. Nonostante ciò, alcune questioni riguardo al rapporto tra il genere *Tuber* e la fauna del suolo rimangono ancora aperte. La ricerca potrebbe essere estesa ad altre specie di *Tuber*, anche a quelle che non producono pianello, e ad altri organismi del suolo. Potrebbe, infatti, essere di grande interesse, soprattutto per l'importante ruolo che hanno all'interno del suolo, studiare gli effetti del tartufo su organismi come lombrichi e nematodi. Inoltre la ricerca potrebbe essere implementata con il riconoscimento degli organismi a livello di specie, per verificare se ci possano essere ulteriori differenze a livelli tassonomici più elevati.

RINGRAZIAMENTI

I ringraziamenti sono sempre stati, per me, la parte più difficile. Da dove iniziare...

Iniziamo dalla persona che per prima ha creduto in me, lavorativamente parlando, e mi ha permesso di intraprendere questo percorso. Un grazie speciale va alla Prof.ssa Cristina Menta che non è stata solo la mia tutor. Negli anni è diventata un'amica. Mi ha supportato nei momenti difficili, capita e sostenuta. Mi ha aiutata e spronata quando necessario. Non ci sono parole per ringraziarti.

Un grazie speciale va a Federica, con cui ho condiviso soprattutto i dolori, di un percorso che è tutto tranne che semplice. Grazie e un in bocca al lupo con il cuore per il tuo percorso.

Grazie a Fabio, con il quale non mi annoio mai e riesco a parlare per interminabili ore!

Grazie a tutto il personale del Museo di Storia Naturale di Parma e in particolare ad Anna che con la sua esuberanza mi ha riempito intere giornate.

Una menzione speciale non può che andare a Fiorenza, l'ultima arrivata, ma non per importanza, con la quale mai avrei creduto di andare d'accordo e che alla fine si è rivelata un'amica sincera. Mi manchi tanto.

Grazie a tutti i miei studenti, chi poco, chi forse anche troppo, mi hanno lasciato ricordi e pensieri.

Grazie a tutta la parte spagnola di questo dottorato. Luis e tutto il personale del laboratorio dell'Università Tecnica di Madrid, Paz in particolare.

Ci sono poi tre persone che meritano per me un ringraziamento speciale, Arianna, Silvia e Erion. Ary sei con me da oltre vent'anni, la "relazione" più lunga della mia vita e l'unica su cui non ho mai avuto il minimo dubbio. La mia vita senza il tuo supporto sincero e, soprattutto, incondizionato non sarebbe la stessa. Silvy sei la mia compagna di risate. Quella che come carattere più si avvicina a me e quindi che più facilmente, senza sforzi, mi capisce. Infine, Erion, sempre con me, anche se spesso riusciamo a vederci poco.

All'ultimo posto arrivano sempre i familiari, ma non per importanza. Non ho veramente parole per descrivere la gratitudine che provo verso i miei genitori. Mi avete sempre sostenuta e rispettata. Avete sempre condiviso le mie scelte, perché erano e potevano essere solo mie. Ho due genitori meravigliosi (e un fratello un po' troppo silenzioso), GRAZIE!

Infine grazie a te, a cui questa tesi è dedicata. Eri con me il giorno del concorso, sarai con me il giorno della discussione e spero che questo sia solo l'inizio. Grazie, perché a modo tuo ci sei sempre e perché sei il miglior compagno che mai avrei potuto desiderare.

BIBLIOGRAFIA

- Anderson J.M., 1995. Soil organisms as engineers: microsite modulation of macroscale processes. In: C.G. Jones, J.H., Lawton (Eds.), Linking species and ecosystems. Chapman Hall, London, 94-106
- Angelini P, Donnini D., Pagiotti R., Tirillini B., Granetti B., Venanzoni R., 2010. Biological activities of methanolic extract from *Tuber aestivum*, *Tuber borchii*, and *T. brumale* f. *moschatum*. Österreichische Zeitschrift für Pilzkunde, 19, 281-289
- Aoki J., 1967. Microhabitats of oribatid mites on a forest floor. Bulletin National Science Museum (Tokyo), 10, 133-138
- Arzone A., 1971. Reperti ecologici ed etologici di *Liodes cinnamomea* Panzer vivente su *Tuber melanosporum* Vittadini (Coleoptera Staphylinoidea). Centro di Entomologia Alpina e Forestale del Consiglio Nazionale delle Ricerche, Italy, 158, 317-357
- Bachelier G., 1986. La vie animale dans le sol. ORSTOM, Paris.
- Ball D.F., 1964. Loss-on-ignition as an estimate of organic matter and organic carbon in non-calcareous soils. Journal of Soil Science, 15, 84-92
- Blasi S., Menta C., Balducci L., Conti F.D., Petrini E., Piovesan G., 2013. Soil microarthropod communities from Mediterranean forest ecosystems in Central Italy under different disturbances. Environmental Monitoring Assessment, 185 (2), 1637-1655
- Borges T., 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. Oecologia, 83, 14-19
- Bouchè M.B., 1977. Strategie lombriciennes. In: U. Lohm & T. Persson (Eds.), Soil organisms as components of ecosystems. "Ecological Bulletins", Stockholm, 122-132
- Bratek Z., Papp O., Markl L., Ádám L., Takács V., 1992. Insects living in truffles. Micologia e Vegetazione Mediterranea, 1, 103-107
- Bragato G., 1997. Modificazioni indotte dal tartufo nero pregiato (*Tuber melanosporum* Vitt.) sulla struttura e sulla sostanza organica del suolo. Monti e Boschi, 1, 23-27

- Brussaard L., 1997. Biodiversity and ecosystem functioning in soil. *Ambio*, 26 (8), 563-570
- Callot G., 1999. *La truffe, la terre, la vie*. INRA, Versailles (France)
- Castrignanò 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, 95-113
- Dokuchaev V.V., 1885. *Il chernozem russo*. Nov, 18, San Pietroburgo (Russia)
- 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
- Drouineau G., 1942. Dosage rapide du calcaire actif des sols. Nouvelles données sur la repartition et la nature des fractions calcaires. *Annal. Agron.*, 12, 441-450
- Esher R.J., Ursic S.J., Baker R.L., Miller L.C., 1993. Responses of invertebrates to artificial acidification of the forest floor under southern pine. In: *Proceedings of VIII Woodcock Symposium*, Lafayette, IN.
- FAO, 1990. *Guideline for Soil Description*. FAO, Rome
- Fasolo-Bonfante P., Fontana A., Montacchini F., 1971. Studi sull'ecologia del *Tuber melanosporum*. Dimostrazione di un effetto fitotossico. *Allionia*, 17, 47-54
- Fitter A.H. & Garbaye J., 1994. Interactions between mycorrhizal funghi and other soil organisms. *Plant and Soil*, 159, 123-132
- Fitter A.H. & Sanders I.R., 1992. Interactions with the soil fauna. In: M.F. Allen (Eds.), *Mycorrhizal functioning an integrative plant-fungal process*. Chapman Hall, London, 333-354
- Garbaye J., 1994. Tansley review No. 76 helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 128, 197-210
- García-Montero L.G., Kuyper T., Moreno D., Monleon V., Myrold D., Trappe J., Baham J., Valverde I., Parladé X., Álvarez A., Benito L.F., Quintana J.R., Parke J., Quintana A., 2014. Could ectomycorrhizae perform “ecosystem engineering” on the host plant’s rhizosphere? In: J.A Bonet,

C. Colinas, X. Parladé (Eds.) Proceedings of the Encuentro en Cataluña del proyecto Micosylva. Centre Tecnològic Forestal de Catalunya, Lleida. Submitted.

García-Montero L.G., Pérez Andueza G., Díaz P., Manjón J.L., 2004. Contribución al conocimiento ecológico de los dípteros fitófagos (Diptera: Heleomyzidae) de las trufas en España. Boletín de sanidad vegetal Plagas, 30, 679-683

García-Montero L.G., Quintana A., Valverde-Asenjo I., Díaz P., 2009. Calcareous amendments in truffle culture: a soil nutrition hypothesis. Soil Biology and Biochemistry, 41, 1227-1232

García-Montero L.G., Valverde-Asenjo I., Grande-Ortíz M.A., Menta C., Hernando I., 2013. Impact of earthworms casts on soil pH and calcium carbonate in black truffle burns. Agroforest System, 87, 815-826

Gardi C., Menta C., Leoni A., 2008. Evaluation of environmental impact of agricultural management practices using soil microarthropods. Fresenius Environmental Bulletin, 17 (8b), 1165–1169

Giordano A., 1999. Pedologia. UTET

Hanlon R.D.G. & Anderson J.M., 1979. The effects of Collembola grazing on microbial activity in decomposing leaf litter. Oecologia, 38, 93-99

Hochberg M.E., Bertault G., Poitrineau K., Janssen A., 2003. Olfactory orientation of the truffle beetle, *Leiodes cinnamomea*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 109, 147-153

Hodge A., 2000. Microbial ecology of the arbuscular mycorrhiza. FEMS Microbiology Ecology, 32, 91-96

Hopkin S.P., 1997. Biology of the springtails. Insecta: Collembola. Oxford, 1-340

ISRIC, 1995. Procedures for Soil Analysis. FAO, Wageningen, The Netherlands

Janvier H., 1963. La mouche de la truffe (*Heleomyza tuberiperda* Rondani). Bulletin de la Société Entomologique de France, 68, 50-83.

Kaplan D.L., Hartenstein R., Neuhauser E.F., Nalecki M.R., 1980. Physicochemical requirements in the environment of the earthworm *Eisenia foetida*. Soil Biology and Biochemistry, 12, 347-352

- Karlen D.L., Mausbach M.J., Doran J.W., Cline R.G., Harris R.F., Scuman G.E., 1997. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (a guest editorial). *Soil Science Society of American Journal*, 61, 4-10
- Killham K., 1994. *Soil ecology*. Cambridge University Press
- Koricheva J., Gange A.C., Jones T., 2009. Effects of mycorrhizal fungi of insect herbivores: a meta-analysis. *Ecology*, 90 (8), 2088-2097
- Kuperman R.G., 1996. Relationships between soil properties and community structure of soil macroinvertebrates in oak-hickory forests along an acidic deposition gradient. *Applied Soil Ecology*, 4, 125-137
- Lanza B., Owczarek M., De Marco A., Raglione M., 2004. Evaluation of phytotoxicity and genotoxicity of substances produced by *Tuber aestivum* and distributed in the soil using *Vicia faba* root micronucleus test. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13, 1410-1414
- LePage B.A., Currah R.S., Stockey R.A., Rothwell G.W., 1997. Fossil ectomycorrhizae from the middle Eocene. *American Journal of Botany*, 84, 410-412
- Lulli L., Bragato G., Gardin L., 1999. Occurrence of *Tuber melanosporum* in relation to soil surface layer properties and soil differentiation. *Plant and Soil*, 214, 85-92
- Menotta M., Amicucci A., Sisti D., Gioacchini A.M., Stocchi V., 2004. Differential gene expression during pre-symbiotic interaction between *Tuber borchii* Vittad. And *Tillia Americana* L. *Current Genetics*, 46, 158-165
- Menta C., 2008. *Giuda alla conoscenza della biologia e dell'ecologia del suolo – Funzionalità, degrado, indicatori*. Bologna: Alberto Perdisa Editore, 1-165. ISBN: 978-88-8372-454-1
- Menta C., Garcia-Montero L.G., Pinto S., Conti F.D., Baroni G., Maresi M., 2014. Does the natural "microcosm" created by *Tuber aestivum* affect soil microarthropods? A new hypothesis based on Collembola in truffle culture. *Applied Soil Ecology*, 84, 31-37
- Menta C., Leoni A., Gardi C., Conti F.D., 2011a. Are grasslands important habitats for soil microarthropod conservation? *Biodiversity Conservation*, 20, 1073-1087
- Menta C., Tarasconi K., García-Montero L.G., Vicari M., Gregori G., 2011b. Comunità edafica animale in suoli italiani e spagnoli interessati dalla presenza del tartufo. In: *Riassunti XXI*

Congresso della Società Italiana di Ecologia (Gianguzza P, Chemello R, eds). Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italy

Newton A.F., 1984. Mycophagy in Staphylinoidea (Coleoptera). Fungus-insect relationships, perspectives in ecology and evolution (Ed. by Q Wheeler & M Blackwell). Columbia University Press, New York.

Pacioni G., 1989. Biology and ecology of truffle. *Acta medica romana*, 27, 104-117

Pacioni G., 1991. Effects of *Tuber* metabolites on the rhizospheric environment. *Mycological Research*, 95 (12), 1355-1358

Pappa G., 1980. Purification attempts of the plant inhibitory principle of *Tuber melanosporum* Vitt. *Phytopathologia Mediterranea*, 198, 177

Pargney J.C., Boumaza O., Toutain F., 2008. In situ micro-and ultrastructural study of ascocarp development in *Tuber mesentericum*. In: Università degli studi di Perugia (ed) 38° Congresso Internazionale di Spoleto sul Tartufo. Comunità Montana dei Monti Martani e del Serano, Spoleto

Parisi V., 2007. Materiali per l'applicazione dell'indice QBS-c nella valutazione della qualità biologica dei suoli. *Acta Naturalia de L'Ateneo Parmense*, 43 (1-4), 5-18

Parisi V. & Menta C., 2008. Microarthropods of the soil: convergence phenomena and evaluation of soil quality using QBS-ar and QBS-c. "Fresenius Environmental Bulletin", 17, 1-5.

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 and Environment*, 105, 323-333

Pérez-Íñigo C., 1993. Acari, Oribatei, Poronota. In: *Fauna Ibérica*, Volumen 3 (Ramos MA, ed). Museo de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid, Spain

Pérez-Íñigo C., 1997. Acari, Oribatei, Gymnonota I. In: *Fauna Ibérica*, Volumen 9 (Ramos MA, ed). Museo de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid, Spain

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, 1195-1205

- Plattner I. & Hall I.R., 1995. Parasitism of non-host plants by the mycorrhizal fungus *Tuber melanosporum*. *Mycological Research*, 99, 1367-1370
- Pielou E.C., 1967. The use of information theory in the study of the diversity of biological populations. *Proc. Fifth Berkeley Symp. On Math. Statist. And Prob.*, 4, 163-177
- Ponge J.F., 2015. The soil as an ecosystem. *Biology and Fertility of Soils*, 51 (6), 645-648
- Queralt M., Moraza M.L., de Miguel A.M., 2014. Preliminary study of the mite community structure in different black truffle producing soils. *Forest Systems*, 23 (2), 339-348
- Ricard J.M., 2003. *La Truffe Guide Technique de Trufficulture*. Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes CTIFL, Paris.
- Sacchi C.F. & Testard P., 1971. *Ecologie Animale*. Doin, Paris.
- Shannon C.E., 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27, 379-423
- Smith S.E. & Read D.J., 1997. *Mycorrhizal Symbiosis* (second edition). Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Splivallo R., 2008. Biological significance of truffle secondary metabolites. In: P. Karlovsky (Ed.), *Secondary metabolites in soil ecology*. *Soil Biology*, 14, 141-165
- Splivallo R., Fischer U., Göbel C., Feussner I., Karlovsky P., 2009. Truffles regulate plant root morphogenesis via the production of auxin and ethylene. *American Society of Plant Biologists*, 150 (4), 2018-2029
- Splivallo R., Ottonello S., Mello A., Karlovsky P., 2011. Truffle volatiles: from chemical ecology to aroma biosynthesis. *New Phytologist*, 189 (3), 688-699
- Streiblová E., Gryndlerová H., Gryndler M., 2011. Truffle brûlé: an efficient fungal life strategy. *FEMS Microbiology Ecology*, 80, 1-8
- Tabaglio V., Gavazzi C., Menta C., 2009. Physico-chemical indicators and microarthropod communities as influenced by no-till, conventional tillage and nitrogen fertilization after four years of continuous maize. *Soil Tillage Research*, 105, 135-242

Tarasconi K., Menta C., García-Montero L.G., Gregori G., 2011. Effetti della presenza del tartufo sulla comunità edafica. In: Atti Workshop. La percezione del suolo (Dazzi C, ed). Le Penseur, Palermo, Italy

Tarasconi K., Menta C., García-Montero L.G., Gregori G., 2011. Effetti della presenza del tartufo sulla comunità edafica. In: Atti Workshop. La percezione del suolo (Dazzi C, ed). Le Penseur, Palermo, Italy

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 and south transects in Europe. In: E.D. Schulze (Ed.), Carbon and Nitrogen Cycling in European Forest Ecosystems, Ecological Studies, 142, 343-365.

Van Straalen N.M., 1998. Evaluation of bioindicator system derived from soil arthropod communities. *Applied Soil Ecology*, 9, 429-437

Van Straalen N.M., 2004. The use of soil invertebrates in ecological survey of contaminated soils. In: P. Doelman, H.J.P. Eijsackers (Eds.), *Vital Soil Function, Value and Properties*, Elsevier, 159-194

Wheeler K.A., Hocking A.D., Pitt J.I., 1988. Influence of temperature and water relations of *Polypaccilium pisce* and *Basipetospora halophile*, two halophilic, fungi. *Journal of General Microbiology*, 134, 2255-2260

APPENDICE

Eco-morphologic indices (EMIs) of edaphic microarthropod groups ^a	
Group	EMI score
Protura	20
Diplura	20
Collembola	1-20
Microcoryphia	10
Zygentomata	10
Dermaptera	1
Orthoptera	1-20
Embioptera	10
Blattaria	5
Psocoptera	1
Hemiptera	1-10
Thysanoptera	1
Coleoptera	1-20
Hymenoptera	1-5
Diptera (larvae)	10
Other holometabolous insects (larvae)	10
Other holometabolous insects (adults)	1
Acari	20
Araneae	1-5
Opiliones	10
Palpigradi	20
Pseudoscorpiones	20
Isopoda	10
Chilopoda	10-20
Diplopoda	10-20
Pauropoda	20
Symphyla	20

Figura1: valori Eco-Morfologici (EMI) dei gruppi di microartropodi (Parisi et al., 2005)

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di giugno

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni																64			
Opilioni																			
Araneidi	64											64	382		64				
Acari	3758	3885	2739	2102	510	1529	1338	828	3057		2166	7834	2548	2994	4586	2994	4331	1783	3185
Isopodi																			
Diplopodi								64			318			64		64			
Pauropodi						191					127	382	127	64	64	127	64		64
Sinfili	127			64		255					64		64	510	127	191			
Chilopodi						127	64					64				64			
Proturi	191		191	191	255	828	64	255			955	764	1975	255	573	127		127	
Dipluri												127	127			191			
Collemboli	2166	764	7389	2484	1783	7261	2102	12739	3758		1465	6051	2293	2102	1847	3185	1975	764	1083
Microcorifi																			
Psocotteri			64			191			64		318		127			127	64		64
Emitteri		255	64								191	64							
Tisanotteri																			
Coleotteri		64		64			64					64							64
Imenotteri	318	764	446		955	318		191	573		573	27070	1274	3121	510	1274	255		510
Ditteri																			
Larve di Coleotteri	127	64	64			191	127				255	191			64			64	637
Larve di Ditteri	127						64				64		64			64			
Larve di Lepidotteri																			
TOT	6879	5796	10955	4904	3503	10892	3822	14140	7452		6497	42611	8662	9490	7771	8535	6688	2803	5541

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di luglio

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni				64								127	191						
Opilioni												191							
Aranei												191	64	127					
Acari	12102	2675	12739	10446	9108	16242	4841	3885	11592		22548	34777	45223	25669	12357	6306	32548	26433	49236
Isopodi																			
Diplopodi												64	64				64	64	255
Paupodi	64											1592	64						64
Sinfili						382			64		64	127	64		64	64			255
Chilopodi									64			127							64
Proturi					255	255					64	1210	637	64	64			191	1274
Dipluri	127		64		64			64	191			637	191		191			127	382
Collemboli	6815	510	9490	3312	1529	3758	701	382	2102		2038	3885	1911	2038	637	637	1401	1338	2930
Microcorifi																			
Psocotteri	64	127		828			1210	1210			255	191	318	64	510	127	127		191
Emitteri						64	64		127		64	1019	382	573	382	510	764	64	318
Tisanotteri						127			1019					64	64		64	64	191
Coleotteri		191	64						64			64			64	191	127	64	
Imenotteri	64	127	2357	127	573	446	64	382	191		9108		764	1274	6752	828	10446	382	191
Ditteri																			
Larve di Coleotteri	127		4522	1720	318	64	191	64	446		318	382	382	191	64	828	64	573	255
Larve di Ditteri			127	64		191	127	127	446		446	127	446	382	318	127	637	127	446
Larve di Lepidotteri													318						
TOT	17962	3822	29363	16242	12102	23694	7070	5987	16178		35350	44713	51019	29636	21465	9936	46242	29427	56051

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di agosto

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni															64	64			
Opilioni												64							
Aranei							64												
Acari	13822	24459	2548	10064	2611	2038	2675	2420	2357		21338	7197	9490	5223	6433	1911	6879	10573	1847
Isopodi																			
Diplopodi											64			255	64	127		127	
Pauropodi																			
Sinfili																			
Chilopodi																			
Proturi			64								64								
Dipluri												127							
Collemboli	318	64				64	127				191	64		64			64		64
Microcorifi																			
Psocotteri	127				191		64	64			64		64			64	127		318
Emitteri						255		64			2675	127	892	191			1529	4968	637
Tisanotteri						64			64			64					191	446	
Coleotteri	64	64		64							64		64				64		
Imenotteri	127	510	255	191	64	3567	127	191	64		573	701	2038	318	2548	127	28344	255	14522
Ditteri																			
Larve di Coleotteri	191	191	255	191	318	191	510	64	64		191	191	127	64	64	64	64	1720	191
Larve di Ditteri						64						64		64			127	446	64
Larve di Lepidotteri											64								
TOT	14650	25287	3121	10510	3185	6242	3567	2803	2548		25287	8599	12675	6178	9172	2357	37389	18535	17643

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di settembre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni												64	64	382					191
Opilioni																			
Araneidi	64	64											64	64		64		64	64
Acari	6624	4904	16051	3185	7261	6561	7516	7389	3694		24522	27643	23567	22229	8280	6561	8981	13503	50828
Isopodi																			
Diplopodi												64		318	127				127
Paupodi			64			64		64			127	255	127	764					64
Sinfili	127		64			64					64	318		191	127	64		127	127
Chilopodi		127	318				64	64	64		64		64	318	64	64			
Proturi	64	64	255		255	64		191			446	2803	318	2866	191	127		191	3949
Dipluri			191	64	64		64	64			127	764	318	701	64	382	64	191	637
Collemboli	5605	4076	12611	828	11720	5924	13439	55860	3822		2102	3694	3503	4268	1338	9936	1338	1401	5096
Microcorifi											446								
Psocotteri			127			127		127	64			191	64	127	127	127	191		318
Emitteri	127	127									637	191	637	955	127	191			892
Tisanotteri											64								64
Coleotteri					64						64	64	191	64		64			64
Imenotteri			64			25350	109490		64		446	1210	64	64	318	127	127	64	127
Ditteri																			
Larve di Coleotteri	446		64	127		127	191	64			510	64	255	64	64	382	318	382	255
Larve di Ditteri								318	64		255	510	573	637				64	828
Larve di Lepidotteri														64					
TOT	13057	9363	29809	4204	19363	38280	130764	64140	7771		29873	37834	29809	34076	10828	18089	11019	15987	63631

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di ottobre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni															64	64		64	191
Opilioni																			
Aranei											64	64				64	64	127	
Acari	2229	446	3121	1083	955	2229	510	4777	2930		4968	5796	4841	5096	2420	3631	5924	8726	6943
Isopodi																			
Diplopodi								64					64			64	64		
Pauropodi						127	64	255				764		191	64	64	191		
Sinfili		64	191	127	191	701	64	191	191		255	573	255	382	127	64	64	64	
Chilopodi		64											191						
Proturi						127		382			382	318				64	446	191	446
Dipluri					64	64					127	637	446	64	191	127	191	64	127
Collemboli	701	2611	8025	7580	9618	13949	5605	37962	5924		4904	11401	1720	5796	4586	16242	3949	6943	13631
Microcorifi																			
Psocoteri			64		64												191		
Emitteri			127								573	127	892	127		64	318	1083	127
Tisanoteri			64											64			573	64	
Coleotteri	64	64				64			255		64	191	191	127			127	127	127
Imenoteri	892		127	64		2102	10318	828			64			191			1401	64	64
Ditteri																			
Larve di Coleotteri		64	127			255	382	127	382			318	191	191		64	318	255	191
Larve di Ditteri	64	64				64		64	127		446	191	127				701	64	255
Larve di Lepidotteri											127								
TOT	3949	3376	12038	8854	10892	19682	16943	44650	9809		11975	20382	8917	12229	7452	20510	14522	17834	22166

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di novembre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni													64		64	191			255
Opilioni																			
Aranei													64	191		64			
Acari	4459	7898	8599	4013	2484	7383	5924	9554	3758		2484	12548	32420	18981	32675	24459	9363	2484	12102
Isopodi																			
Diplopodi												127	64			64			64
Paupodi		64						64				191	127		64			64	64
Sinfili	446	127	446	1274	318	637	637	191			3503	6306	9108	637	1656	1656	637	828	1911
Chilopodi			64	64		64					64	191	127			255	64	64	
Proturi	446	64	64	191	127	127		64			573	3121	4586	191	764	318	382	955	382
Dipluri			64									446			127	127		64	255
Collemboli	2484	1083	1975	5732	828	1592	8917	7006	10255		5414	9809	4586	2866	4459	2548	10637	4522	9490
Microcorifi																			
Psocoteri	318				191	64	64		64		892					64			573
Emitteri							64								127	64			1975
Tisanoteri																			
Coleotteri						64							64	127	64				
Imenotteri			64	127							64	64	191	64	127			64	
Ditteri											318							64	
Larve di Coleotteri	64	64	64	255		64	255	382	127			1210	255	191	318	127	318	573	64
Larve di Ditteri		64					127				191	64	255		191		446	127	64
Larve di Lepidotteri																	64		
TOT	8217	9363	11338	11720	3949	10000	15987	17261	14204		13503	34076	51911	23248	40637	29936	21911	9809	27197

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di dicembre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni													64						127
Opilioni	446																		
Aranei											191	64	64						
Acari	4904	23694	3885	2930	3248	1274	6178	19554	2484		1274	7197	5350	16178	60191	20191	18854	28726	30382
Isopodi																			
Diplopodi	64																		
Paupodi				64								64	64		191				
Sinfili	191										255	2866	2994	828	701	5541	955	3567	1019
Chilopodi											64				127	64			64
Proturi					64						127	3822	255	318	64	318	64	318	191
Dipluri											64	510		191	64	318	127		64
Collemboli	3312	764	1465	1338	1338	191	1592	5669	255		2420	8535	8089	12229	6815	8599	15860	15414	8662
Microcorifi																			
Psocotteri	64			64		127	64					191		64	127	2357	637	64	64
Emitteri							64					64	382	191	318			127	2994
Tisanotteri		191																	
Coleotteri		64						64									64		
Imenotteri	64	64											64						
Ditteri			64								127	64	191			64			127
Larve di Coleotteri		127	127	127	64	127	191	64	191		255	255	191	382	127	191	382	255	382
Larve di Ditteri	127	64		127			191	64	64		64	255	64	510	446	637	510	1019	3121
Larve di Lepidotteri																			
TOT	9172	24968	5541	4713	4713	1720	8599	25414	2994		4841	23885	17962	30892	69172	38280	37452	49490	47197

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di gennaio

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni																		64	
Opilioni																			
Aranei																	64		64
Acari	955	4140	2229	1146	573	9427	4713	3057	19045		2229	5732	1783	5796	18662	5096	4268	2229	2930
Isopodi																			
Diplopodi																			
Paupodi				64	64							64	127	64		64			
Sinfili	637	191	446	191	127	510	446		64		1338	1019	637	1083	1019	1019	191	892	3567
Chilopodi			64			64					64		127						
Proturi	191	318	64		191	127			64		955	318	255	64			64	191	64
Dipluri													255		64		127	191	127
Collemboli	955	1783	701	955	637	4268	4395	1146	6115		2166	2293	1146	1656	5860	2611	2803	3185	4586
Microcorifi																			
Psocoteri			318			127						127			573				
Emitteri									446		255	127	127				64		127
Tisanoteri		64																	
Coleotteri			64	64	64				64							64	64		
Imenoteri													255						
Ditteri						127					127		127		64			64	
Larve di Coleotteri		64	64	127	191	64	127		255		127		64	127	318	64	64		127
Larve di Ditteri	255	191	318	127	127	255	573	318	255		127	318	191	828	1019		318	255	64
Larve di Lepidotteri																			
TOT	2994	6752	4268	2675	1975	14968	10255	4522	26306		7389	10000	5096	9618	27580	8917	8025	7070	11656

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di marzo

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni																		255	
Opilioni																			
Aranei													127	64			64		
Acari	8981	3312	4204	892	1847	5032	4331	6369	3312		4204	5159	15096	9427	16624	12739	9745	7134	14395
Isopodi																			
Diplopodi	64												191	318		64	64	191	
Paupodi			64			64					64				64	64		127	
Sinfili	446	64	255	64	127	382	127	191	191		1274	446	955	510	764	1274	1019	127	255
Chilopodi								64				64	127	64		64	318		64
Proturi	191		191	64	127	127		255	127		892	764	637	255	764	127	892	64	64
Dipluri											191			255	64	127	382	64	
Collemboli	2930	892	1656	1592	2038	4459	955	1783	2803		1911	7452	6242	1720	3885	11911	3758	2803	5541
Microcorifi																			
Psocotteri			127	382		64			127				64		64				318
Emitteri	64		64								382		64				255	64	701
Tisanotteri	64						64												
Coleotteri	64												127			64			
Imenotteri									1210										
Ditteri												64							
Larve di Coleotteri	191	446	127		64	64	64	64	127		191	64	64	191	64	64		127	446
Larve di Ditteri	1338		191	191	64	191			64		64	255	127	191	573	191	127		191
Larve di Lepidotteri																			
TOT	14331	4713	6879	3185	4268	10982	5541	8726	7962		9108	14268	23694	13057	22930	26688	16624	10955	21975

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di aprile

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni											64			64					
Opilioni																			
Aranei																127		127	
Acari	2293	1146	764	1720	1083	1146	2038	1210	1019		2102	2675	637	3885	4586	3822	3885	5287	4331
Isopodi							64												
Diplopodi											64			191					
Paupodi							127	64	64			127				255		127	191
Sinfili						64	127				191	637		64	255	510	127		573
Chilopodi		64				64								127	127		64	64	
Proturi	127	64	382	127	764	510		64			255	1656	255			764	1083	764	2357
Dipluri											127	64	64	127	127	64		701	127
Collemboli	3248	2293	1975	20446	2038	2038	11975	6879	3567		1083	2229	2420	7707	4522	7898	13248	18153	14986
Microcorifi																			
Psocotteri		64									64								
Emitteri	64	3822											64			510	64	191	1083
Tisanotteri																			
Coleotteri															255	64		127	
Imenotteri				64							701	64	64	64	382		127		
Ditteri																			
Larve di Coleotteri	127			127		64	127		127		127	701	892	64	255		127	446	191
Larve di Ditteri	191	64		191		127	127	127	255			64	127		191	318	318	510	191
Larve di Lepidotteri																			
TOT	6051	7516	3121	22675	3885	4013	14586	8344	5032		4777	8217	4522	12293	10701	14331	19045	36497	24013

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di maggio

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Pseudoscorpioni														255					701
Opilioni															892				
Araneidi							64	64	64				64		191	64	64	64	127
Acari	2930	6815	7707	2803	8726	8726	26051	17197	2866		47261	34904	21210	12102	15732	11401	13631	8535	10764
Isopodi																			
Diplopodi											127					64	64	64	191
Paupodi				64	64	64	191				255	191	318	637	191	64			64
Sinfili					64			64			127	255	510	255	127	64	64		127
Chilopodi	64		191		64		64	64			191	64	318	64	127	64	127		64
Proturi	64	255	64		1847	64		318	64		10955	6115	6943	3694	2930	382	892	318	892
Dipluri					127	64	64	64			127	191	64	255	64	64	64	446	127
Collemboli	955	3885	892	2994	3631	10446	19554	10382	7707		15924	14204	19682	12102	14140	4968	10673	2803	6051
Microcorifi											64								
Psocotteri	64	191				64							64				191		
Emitteri			64					64			127	382	191				318		
Tisanotteri		64			191		64						127		127		64		
Coleotteri	64				64				64		127				64	64	64		
Imenotteri	127	191	127		382	446	892	318			1783	446	127	6115	892	382	64	1274	64
Ditteri																			
Larve di Coleotteri		318	191	255	255		127		127		64	255	127		127		64	64	64
Larve di Ditteri							191		127		446	318	127		446	127	255	446	828
Larve di Lepidotteri																			
TOT	4268	11720	9236	645	14777	19873	47325	28535	11019		76879	57325	49873	35478	36051	17707	26561	14013	20127

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di giugno

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																			
Entomobridae	191	127	128	64	319		127	64	64		191	255	127	191	510	382	255		
Ipogastruridae	64	127	637								127	64	127	128		318		64	701
Isotomidae	1402	64	3758	892	509	3758	1083	8280	2930		510	701	1147	1019	955	955	1719	509	255
<i>Folsomia</i>	446	446	2675	1529	828	3248	637	4140	509		573	3058	319	128	255	255			
Neanuridae																			
Neelidae																			
Onichiuridae			127		127	191	64	64	191		64	510	255		127	701			
Tullbergidae	64												64	255	64	64			
Sminthurididae			64			64	191					1465	64	191		510		191	127
Sminthuridae																			
TOT	2166	764	7389	2484	1783	7261	2102	12739	3758		1465	6051	2293	2102	1847	3185	1975	764	1083

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di luglio

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																			
Entomobridae	1147	64	1465	1146	956	382	446	254	1019		1338	956	1082	1146	191	191	701	637	1019
Ipogastruridae			127		64	64		64	64			255							955
Isotomidae	3567	191	2803	1975	255	1529			318		127	955	382	318	127	318	383		637
<i>Folsomia</i>	1656	255	4713	64	255	254	255	64	127		573	382							
Neanuridae						127													
Neelidae																			
Onichiuridae	255			64		1274			127				64	446	318	127	318	637	191
Tullbergidae			255	64		127			446			1401	382	64					127
Sminthurididae	191		64											64				64	
Sminthuridae			64																
TOT	6815	510	9490	3312	1529	3758	701	382	2102		2038	3885	1911	2038	637	637	1401	1338	2930

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di agosto

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																			
Entomobridae	318					64	64				128			64			64		64
Ipogastruridae																			
Isotomidae																			
<i>Folsomia</i>																			
Neanuridae																			
Neelidae																			
Onichiuridae											64								
Tullbergidae																			
Sminthurididae																			
Sminthuridae		64					64					64							
TOT	318	64				64	127				191	64		64			64		64

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di settembre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																			
Entomobridae	1146		255	191	1402	509	319	1338	637		892	891	510	956	446	191	636	509	1465
Ipogastruridae	64		318		191	127	64	191	64		255	255	64	318	127		127		191
Isotomidae	1273	637	3121		765	765	382	1847	191		764	637	1464	1083	191	255	191		1592
<i>Folsomia</i>	3121	1019	8471	445	6624	3949	12420	52101	2293		127	509	127	510	191	637	254	318	255
Neanuridae																			
Neelidae					1783			255	318		64	1019	1083	1019	127	637	255	510	1465
Onichiuridae					1783			255	318		64	1019	1083	1019	127	637	255	510	1465
Tullbergidae	828	2420	446	191	955	573	255	127	518			382	255	382	255	1019	64	64	64
Sminthurididae																			64
Sminthuridae																			
TOT	5605	4076	12611	828	11720	5924	13439	55860	3822		2102	3694	3503	4268	1338	9936	1338	1401	5096

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di ottobre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																			
Entomobridae	64	64	318	892	765	255		955	1274		510	2166	510	128	127	382	1401	828	318
Ipogastruridae	64		2420	1083	828	9299	1911	11083	1529		955	446	892	1401	3694	13885	701	956	2803
Isotomidae	191	255	1975	828	319	1019	64	6943	573		382	1656		510		127	446	3121	1146
<i>Folsomia</i>	127	2038	955	2994	6497	128	1083	12866	2038		2229	6050	127	3057	255	191	382	828	764
Neanuridae																			
Neelidae																			
Onichiuridae				446	701	2229	510	3376	64		318	255		191	3181	255	892	255	4777
Tullbergidae	255	255	2293	1083	191	573	2038	2357	382		510	191	191	64	191	573		637	1720
Sminthurididae			64	255	318	446		382	64			637		446	446	828	127	318	2102
Sminthuridae																			
TOT	701	2611	8025	7580	9618	13949	5605	37962	5924		4904	11401	1720	5796	4586	16242	3949	6943	13631

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di novembre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																			
Entomobridae						127	255	318	446		446	1910	892	128	573	382	318	510	1911
Ipogastruridae	127	64	191	1019		127	5287	1911	3758		191	701	255	255	191	255	955	955	701
Isotomidae	318	382	127	382	64	573	191	1210	700		574	2420	1783	765	828	1147	1273	1528	1210
<i>Folsomia</i>	255	191	382	1274	64		254	1847	701		1974	892	191				127	128	
Neanuridae											64								
Neelidae				191							127	191	573	127	191	127	6561	318	1019
Onichiuridae	764	255	127	382	382	191	255		510		1720	2548	510	1592	1146	318	1146	955	
Tullbergidae	955	191	446	1592	255	510	1911	318	3312		382	828	892		1338	255	64		4586
Sminthurididae			637	828	64	64	764	1210	828			255			191	64	191	127	64
Sminthuridae	64		64	64				191											
TOT	2484	1083	1975	5732	828	1592	8917	7006	10255		5414	9809	4586	2866	4459	2548	10637	4522	9490

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di dicembre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																127	127		255
Entomobridae			64				191	573	64		191	191	255	382	3057	573	764	2102	1338
Ipogastruridae	382	127	127	64	64		637	1146			127	1401	191	318	318	509	4076	3248	1911
Isotomidae	382	254	510	127	151	64		64	64		446	338	1720	3758	1019	701	4586	7134	2803
<i>Folsomia</i>	764		318	128			509	1783			191	3249	637		510	956	127		
Neanuridae												64	64	64					
Neelidae	510			64			64				1274	1274	4650	382	892	382	446	64	64
Onichiuridae	1019	191	255	637	892	64	64	2038	64		191	892	510	7325	828	5096	4777	2102	1656
Tullbergidae	127			127	191	64	127	64				127				255	955	764	637
Sminthurididae	127	191	191	191					64				64		191				
Sminthuridae																			
TOT	3312	764	1465	1338	1338	191	1592	5669	255		2420	8535	8089	12229	6815	8599	15860	15414	8662

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di gennaio

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																			
Entomobridae		191	191	64		128	254	64	191			254		127	573	127	191	191	382
Ipogastruridae				318		64	2166	127	573		64	318	191	127	255	255	382	764	573
Isotomidae		446		191	64	955		64	255		764	573	446		828	318	446	1210	2039
<i>Folsomia</i>	127	382	191			64	64	318	382		574	191					64		64
Neanuridae												64							
Neelidae	64	255		64	64	64	64				127		64	64	127				
Onichiuridae	764	191	255		510	2420	64	318	3758		318	828		1146	3885	1592	1210	255	1338
Tullbergidae		255		255		510	1656	255	955		318	64	446	191	191	318	446	701	191
Sminthurididae		64	64	64		64	127										64	64	
Sminthuridae																			
TOT	955	1783	701	955	637	4268	4395	1146	6115		2166	2293	1146	1656	5860	2611	2803	3185	4586

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di marzo

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae	446														318				
Entomobridae	127	127			127	255	64	128	127		765	64	382	254		255	319		318
Ipogastruridae	1146	64	127		191		191	191	64		127	127	127	318	255	64	637	255	127
Isotomidae	382	318	700	446	446	1465	127	892	1082		509	828	2930	255	1083	1784	828	892	1338
<i>Folsomia</i>			255	128	255	127	255	382	1274		4268	128	264						
Neanuridae																			
Neelidae	191		64												64	64	191		64
Onichiuridae	637	191	64	510	637	2229	255	191	127		1083	573	191	255	1847	9363	1401	1401	3631
Tullbergidae		191	382	510	382	318	64		127		573	191		637	318	318	382	191	64
Sminthurididae			64			64					127					64		64	
Sminthuridae																			
TOT	2930	892	1656	1592	2038	4459	955	1783	2803		1911	7452	6242	1720	3885	11911	3758	2803	5541

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di aprile

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																			
Entomobridae	127	127	64	700	318	318	127	191	191			191	127	2293	191	446	382	2166	1274
Ipogastruridae	127	446	64	318			255	446			318	191		382	191	255	955	1783	764
Isotomidae	573	191	127	318	955	955	700	956	318		255	510	1147	4713	2166	6625	7834	10701	9745
<i>Folsomia</i>	1593	1146	1401	15923	254	254	9808	5032	2739		446	128	127		382		1656	255	191
Neanuridae														318		64		255	64
Neelidae												64						127	64
Onichiuridae			64		446	446			191		64	510	637		1210	382	1911	1720	1083
Tullbergidae	828	382	255	3121	64	64	1083	255	64			637	255		318	64	510	637	1720
Sminthurididae				64					64				127		64	64		510	64
Sminthuridae																			
TOT	3248	2293	1975	20446	2038	2038	11975	6879	3567		1083	2229	2420	7707	4522	7898	13248	18153	14986

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di maggio

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
Dicirtomidae																			
Entomobridae	191	191		509	127	445	1210	828	764		1910	637	1592	1719	1784	1210	573	446	446
Ipogastruridae	64	64	127			127	64		255		255	191			127	255		127	64
Isotomidae	192	1847	127	828	764	700	4331	3057	2230		2547	6815	7707	9045	6943	2612	8344	1528	3503
<i>Folsomia</i>	382	1337	191	1083	1465	6370	2548	5860	3248		8853	3503	8280	573		255	318	382	955
Neanuridae													127				64		
Neelidae							127						64						
Onichiuridae			127			2038	828		382		1783	1210	1338	510	5159	382	1338	255	1019
Tullbergidae	127	446		573	637	764	10382	637	764		510	1783	382	127	127	191		64	
Sminthurididae			318		637		64		64		64	64	191	127		64			64
Sminthuridae																			
TOT	955	3885	892	2994	3631	10446	19554	10382	7707		15924	14204	19682	12102	14140	4968	10673	2803	6051

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di giugno

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	110	45	77	90	65	136	101	76	46		147	137	137	120	115	177	56	59	62
QBS-c	148	98	116	103	158	154	153	149	59		142	148	226	218	175	257	70	64	64
Acari/Collemboli	1,74	5,08	0,37	0,85	0,29	0,21	0,64	0,007	0,81		1,48	1,29	1,11	1,42	2,48	0,94	2,19	2,33	2,94
H'	1,2	1,04	0,9	0,95	1,17	1,2	1,08	0,44	0,95		1,89	1,06	1,63	1,51	1,17	1,56	0,85	0,95	1,21
J	0,58	0,58	0,46	0,59	0,84	0,55	0,56	0,25	0,68		0,79	0,46	0,71	0,73	0,6	0,61	0,53	0,53	0,67
Oribatida/ altri acari	0,16	0,27	0,13	0,03	1	0,09	0,05	0,18	0,1		1,83	0,12	0,6	0,68	0,6	0,62	0,05	0,08	0,28
NT	8	5	7	5	4	9	6	6	4		11	9	10	8	6	13	5	5	5

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di luglio

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	96	56	105	86	85	107	53	74	118		103	218	198	93	129	92	89	128	184
QBS-c	187	78	162	134	104	234	36	64	201		73	147	160	119	72	82	94	48	146
Acari/Collemboli	1,78	5,25	1,34	3,15	5,96	4,32	6,91	10,17	5,52		11,06	8,95	23,67	12,59	19,4	9,9	23,23	19,76	16,8
H'	0,78	0,89	1,27	1,08	0,82	0,83	1,04	1,13	1,08		0,99	0,97	0,6	0,68	1,14	1,26	0,88	0,5	0,6
J	0,4	0,55	0,65	0,55	0,46	0,38	0,54	0,58	0,45		0,43	0,35	0,22	0,3	0,46	0,57	0,38	0,21	0,23
Oribatida/ altri acari	0,68	0,35	0,59	0,98	0,7	1,36	2,8	1	1		1,11	0,91	1,42	1,96	4,54	3,5	1,17	1,22	1,27
NT	7	5	6	7	6	9	7	7	10		9	15	14	10	11	8	9	10	14

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di agosto

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	39	38	55	40	36	51	39	37	32		98	81	38	70	75	76	55	63	53
QBS-c	10	-	-	-	-	16	14	-	-		57	7	-	10	-	-	16	-	16
Acari/Collemboli	43,4	382	-	-	-	32	21	-	-		111,67	113	-	82	-	-	108	-	29
H'	0,3	0,18	0,65	0,22	0,64	1,06	0,88	0,57	0,35		0,62	0,71	0,8	0,68	0,71	0,78	0,75	1,17	0,68
J	0,17	0,11	0,47	0,16	0,46	0,55	0,49	0,35	0,25		0,27	0,32	0,44	0,35	0,44	0,43	0,34	0,6	0,35
Oribatida/ altri acari	0,17	0,02	0,33	0,01	0,03	0,6	0,75	0,45	0,81		0,74	2,65	0,34	4,47	4,32	0,67	1,51	1,31	1,42
NT	5	4	4	3	4	7	6	5	4		10	9	5	7	5	6	8	7	7

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di settembre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	96	82	156	70	85	116	95	141	76		178	188	188	219	147	143	76	126	208
QBS-c	134	136	169	100	206	169	148	206	185		156	218	177	178	153	156	206	141	166
Acari/Collemboli	1,18	1,2	1,27	3,85	0,62	1,11	0,56	0,13	0,97		11,67	7,48	8,14	5,21	6,19	0,66	6,71	9,64	9,98
H'	0,49	0,36	0,37	0,25	0,24	0,6	0,26	0,53	0,33		0,62	0,83	0,56	1,09	0,64	0,3	0,35	0,39	0,62
J	0,25	0,2	0,16	0,18	0,15	0,29	0,14	0,24	0,18		0,23	0,31	0,21	0,39	0,27	0,36	0,2	0,18	0,22
Oribatida/ altri acari	1,17	0,33	1,23	0,32	0,52	0,6	1,68	4,27	1,32		1,37	1,55	2,01	0,57	1,89	1,19	5,13	2,66	0,74
NT	6	6	10	4	5	8	6	9	6		13	13	13	16	11	11	6	9	15

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di ottobre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	56	101	98	65	81	146	95	145	81		132	157	146	127	120	166	183	153	161
QBS-c	128	146	173	194	213	191	167	213	213		196	216	139	213	163	163	126	209	191
Acari/Collemboli	3,18	0,17	0,39	0,14	0,1	0,16	0,09	0,13	0,49		1,01	0,51	2,81	0,88	0,53	0,22	1,5	1,26	0,51
H'	1,1	0,84	0,95	0,49	0,45	1,03	0,9	0,58	1,02		1,37	1,28	1,47	1,17	0,91	0,67	1,78	1,19	1
J	0,98	0,43	0,43	0,35	0,28	0,45	0,5	0,26	0,57		0,57	0,52	0,64	0,51	0,51	0,28	0,66	0,46	0,42
Oribatida/ altri acari	1,33	0	0,96	0,21	0,5	0,75	0,33	0,83	1,09		1,22	0,82	1,17	1,22	0,36	2,19	0,86	1,11	1,66
NT	5	7	9	4	5	9	6	9	5		10	11	9	9	6	11	14	12	10

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di novembre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	91	120	131	131	81	112	82	110	51		117	181	187	115	167	163	130	162	182
QBS-c	192	164	172	252	127	156	210	120	206		240	250	230	147	210	203	212	194	132
Acari/Collemboli	1,79	7,29	4,35	0,7	3	4,64	0,66	1,36	0,37		0,46	1,28	7,07	6,62	7,33	9,6	0,88	0,55	1,28
H'	1,17	0,59	0,79	1,21	1,08	0,88	0,97	0,87	0,65		1,45	1,54	1,16	0,69	0,77	0,75	1,06	1,49	1,39
J	0,65	0,3	0,38	0,58	0,67	0,42	0,5	0,48	0,47		0,66	0,64	0,45	0,33	0,31	0,3	0,51	0,62	0,56
Oribatida/ altri acari	0,46	0,24	0,9	0,58	1,44	1,76	1,02	0,58	0,69		0,3	0,45	1,45	0,99	1,28	1,31	0,07	0,26	2,52
NT	6	7	8	8	5	7	7	6	4		9	11	12	7	11	12	8	11	12

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di dicembre

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	96	67	51	81	70	51	67	52	60		136	144	153	122	162	142	122	102	163
QBS-c	183	109	141	205	117	98	188	185	72		190	255	194	175	148	250	212	187	159
Acari/Collemboli	1,48	31	2,65	2,19	2,43	6,67	3,88	3,45	9,75		0,53	0,84	0,66	1,32	8,83	2,35	1,19	1,86	3,51
H'	1,09	0,27	0,74	1	0,73	0,85	0,91	0,58	0,62		1,5	1,56	1,41	1,05	0,52	1,32	1,02	1,03	1,15
J	0,53	0,14	0,53	0,56	0,53	0,61	0,47	0,36	0,45		0,65	0,63	0,55	0,48	0,22	0,57	0,46	0,5	0,46
Oribatida/ altri acari	0,17	0,04	0,03	0,05	0,65	0,18	2,23	0,99	1,79		1	0,45	0,18	1,31	0,62	0,52	0,57	0,54	0,68
NT	8	6	4	6	4	4	7	4	4		10	12	13	9	11	10	9	8	12

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di gennaio

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	90	101	122	101	121	122	80	50	102		122	112	167	120	102	91	123	131	126
QBS-c	147	89	191	176	153	171	90	200	114		223	209	136	131	158	127	156	125	178
Acari/Collemboli	1	2,32	3,18	1,2	0,9	2,21	1,07	2,67	3,11		1,03	2,5	1,56	3,5	3,18	1,95	1,52	0,7	0,64
H'	1,44	1,09	1,51	1,39	1,75	1	1,07	0,8	0,78		1,66	1,25	1,96	1,19	1	1,03	1,18	1,38	1,31
J	0,9	0,56	0,69	0,71	0,84	0,46	0,67	0,73	0,37		0,76	0,6	0,79	0,61	0,48	0,58	0,51	0,67	0,6
Oribatida/ altri acari	0,36	0,23	0,13	0,2	0,13	1,39	2,89	0,71	2,11		0,52	1,43	0,22	1,53	4,14	1,11	1,31	0,17	1,19
NT	5	7	8	6	7	8	5	3	7		8	8	11	7	7	5	9	7	9

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di marzo

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	123	70	122	91	100	121	71	100	106		141	121	143	161	142	181	152	171	122
QBS-c	200	125	208	152	196	168	149	163	171		213	199	134	131	170	194	187	149	177
Acari/Collemboli	3,07	3,71	2,54	0,56	0,91	1,13	4,53	3,57	1,18		2,2	0,69	2,42	5,48	4,28	1,07	2,59	2,55	2,6
H'	1,16	0,84	1,2	1,28	1,05	1,06	0,69	0,81	1,35		1,55	1,12	1,04	1,07	0,93	1,02	1,28	1,03	1
J	0,5	0,61	0,55	0,72	0,59	0,51	0,43	0,45	0,65		0,7	0,54	0,43	0,46	0,41	0,42	0,56	0,45	0,46
Oribatida/ altri acari	1,52	0,04	0,5	0,75	0,93	0,46	2,09	4,56	1,6		1,28	2	2,29	2,89	2,63	3,08	4,1	1,43	2,05
NT	9	4	9	6	6	8	5	6	8		9	7	10	10	10	10	10	10	9

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di aprile

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	81	92	60	85	60	120	110	90	80		156	145	106	145	135	137	126	161	141
QBS-c	141	138	181	158	187	187	159	162	163		124	233	162	135	181	200	209	263	263
Acari/Collemboli	0,71	0,5	0,39	0,08	0,53	0,56	0,17	0,18	0,29		1,94	1,2	0,26	0,5	1,01	0,48	0,29	0,29	0,29
H'	1,02	1,15	0,89	0,4	1,01	1,27	0,63	0,58	0,87		1,63	1,63	1,37	0,93	1,29	1,32	0,95	1,05	1,2
J	0,57	0,59	0,81	0,23	0,92	0,65	0,32	0,36	0,54		0,71	0,74	0,66	0,42	0,59	0,57	0,43	0,44	0,55
Oribatida/ altri acari	0,5	0,64	0,33	0,23	0,21	0,5	2,14	0,19	1,8		1,15	0,88	0,67	1,11	1,06	0,36	0,36	0,38	0,68
NT	6	7	3	6	3	7	7	5	5		10	9	8	9	8	10	9	10	9

Tabella degli indici applicati per i campioni italiani di *T. aestivum* nel mese di maggio

	P1D	P2D	P3D	P4D	P5D	P6D	P7D	P8D	P9D		P1F	P2F	P3F	P4F	P5F	P6F	P7F	P8F	P9F
QBS-ar	87	77	96	70	171	106	127	127	81		198	166	169	165	182	167	170	126	207
QBS-c	159	159	110	122	132	206	219	150	213		213	228	228	172	163	191	162	184	154
Acari/Collemboli	3,07	1,75	8,64	0,94	2,91	0,84	1,33	1,66	0,37		2,97	2,46	1,08	1	1,11	2,29	1,28	3,05	1,78
H'	0,95	1,03	0,66	0,89	1,25	0,86	0,87	0,84	0,79		1,11	1,08	1,22	1,46	1,33	0,98	1,1	1,22	1,31
J	0,49	0,53	0,34	0,64	0,52	0,44	0,38	0,38	0,41		0,41	0,45	0,46	0,67	0,5	0,4	0,41	0,56	0,5
Oribatida/ altri acari	0,21	0,39	0,7	0,33	0,28	0,56	0,78	0,53	2,75		0,92	0,64	0,6	0,28	4,49	1,63	0,3	0,63	0,78
NT	7	7	7	5	10	7	10	9	6		14	11	14	9	13	11	14	9	14

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni spagnoli di *T. melanosporum* all'interno dei pianelli

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
Pseudoscorpioni							42													
Opilioni																				
Aranei																				
Acari	1646	1055	10464	9451	21097	2110	20886	4895	10169	40633	13629	10422	7637	1857	3460	23797	5907	5105	844	3755
Isopodi																				
Diplopodi																				
Paupodi			127	422	1181		84		295	84	127		42			42				
Sinfili		42	506	464	1646	42	84		84	42		42	127							
Chilopodi								42												
Proturi			42	42	211										42	42				42
Dipluri												84			42		84		84	
Collemboli	675	295	211		506		338	338	211	633	211	42	211		295	506	295	42	84	
Ortotteri																				
Psocotteri	42						211											42		
Emitteri		42	42		42	717	127	42	84	42	42	42		42		211				
Tisanotteri	633	84	211	42	42	84		42		42	42	42	42		127	253	42	295	42	
Coleotteri					42															
Imenotteri	42	295	338	675	10802	42	169	127	295	127	928	0	169	127	759	127	380	2068	422	549
Larve di Coleotteri		42	127	211	2321			84											42	
Larve di Ditteri							42	42												127
Larve di Lepidotteri																				
TOT	3038	1857	12068	11308	37890	2996	21983	5612	11139	41603	14979	10675	8228	2025	4726	24979	6709	7553	1519	4473

Tabella delle densità degli organismi rinvenuti nei campioni spagnoli di *T. melanosporum* all'esterno dei pianelli

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
Pseudoscorpioni																				
Opilioni																				
Aranei								42										42	380	
Acari	18397	5865	18228	13924	15612	12363	31688	12700	10084	12194	10549	31603	21561	12068	20717	20970	3376	65527		6751
Isopodi																				
Diplopodi																				
Paupodi	84		295	295	84	1139	1139	211		42		211	802	42	169		42	295		
Sinfili			591	338	211	169	464	338	84	84	84	1013	169	675				422	42	42
Chilopodi					169		42									42		84		
Proturi				338							42		42		84					
Dipluri													84		42	42				
Collemboli	338	802	338	970		1097	3249	1519	253	211	169	2574	717	1435	84	4346	211	3797		1350
Ortotteri																				
Psocotteri	42			42		84	42	42				42			42	169	84			
Emitteri			15274	42	127	84	338	42	42	211		2996	169	549						
Tisanotteri	211		253	84							42	84	42			253		253		
Coleotteri				42									42							
Imenotteri	591	42	591	591	1350	549	84	338	42	253	127	2869	844	1224	1561	338	211	84	506	717
Larve di Coleotteri	422		127	42	84	759	295	211	42	127	127	253		84	42	42	42			
Larve di Ditteri		84			84						42		84							
Larve di Lepidotteri							42													
TOT	20084	6793	35696	16709	17764	16245	37384	15443	10549	13122	11181	41646	24557	16076	22743	26203	3966	70506	928	8861

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni spagnoli di *T. melanosporum* all'interno dei pianelli

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
Entomobridae		42	84		127		127	211		549					169	338	127	42	84	
Ipogastruridae	591	211														84				
Isotomidae	42	42	84		253		42		169	84	211				127	84	42			
<i>Folsomia</i>	42																			
Neanuridae																				
Neelidae																				
Onchiuridae							42	42	42								127			
Tullbergidae			42				84					42	211							
Sminthuridae					127		42	84												
TOT	675	295	211		506		338	338	211	633	211	42	211		295	506	295	42	84	

Tabella delle densità delle famiglie di collemboli e del genere *Folsomia* rinvenuti nei campioni spagnoli di *T. melanosporum* all'esterno dei pianelli

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
Isotomidae	211		253	759		253	717			127	42	169	169	380		1814		1435		211
Entomobridae						295	1603	549	127		127	253	42		84	1097	211	2152		84
Ipogastruridae		253		42		169	253	42	84	42		84	84			1350		127		
<i>Folsomia</i>						295	380	717	42			2025	295	1055				42		928
Neanuridae																42				
Neelidae				42		42	42	42										42		
Onchiuridae	127																			42
Tullbergidae						42		127		42			127			42				84
Sminthuridae			84	127			253	42				42								
TOT	338	802	338	970		1097	3249	1519	253	211	169	2574	717	1435	84	4346	211	3797		1350

Tabella degli indici applicati per i campioni spagnoli di *T. melanosporum* all'interno dei pianelli

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
QBS-ar	35	65	117	96	110	47	117	77	86	75	55	82	86	26	74	75	66	33	60	55
QBS-c	66	48	69	36	120	65	25	21	40	40	72	51	66	10	4	-	-	-	-	-
Acari/Collemboli	2,44	3,57	49,60	-	41,67	-	61,88	14,50	48,20	64,20	64,60	247,00	36,20	-	11,71	47,00	20,00	121,00	10,00	-
H'	1,11	1,30	0,63	0,69	1,21	0,81	0,29	0,58	0,42	0,14	0,39	0,15	0,36	0,33	0,88	0,26	0,50	0,50	1,20	0,55
J	0,69	0,67	0,29	0,35	0,52	0,50	0,13	0,28	0,24	0,07	0,22	0,08	0,20	0,30	0,49	0,13	0,31	0,31	0,67	0,40
Oribatei/altri Acari	0,05	0,14	0,16	0,18	0,59	0,35	0,64	0,45	0,46	0,11	0,25	0,07	0,48	0,42	0,55	0,44	0,43	0,53	0,82	0,37
NT	5	7	9	7	10	5	9	8	6	7	6	6	6	3	6	7	5	5	6	4

Tabella degli indici applicati per i campioni spagnoli di *T. melanosporum* all'esterno dei pianelli

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
QBS-ar	77	43	85	109	107	97	117	102	64	96	94	88	142	82	102	97	64	101	45	65
QBS-c	62	19	32	82	144	111	154	45	105	25	108	106	68	10	129	20	132	127	-	-
Acari/Collemboli	54,50	7,32	54,00	14,35	-	11,27	9,75	8,36	39,83	57,80	62,50	12,28	30,06	8,41	245,50	4,83	16,00	17,26	-	5,00
H'	0,42	0,47	0,98	0,75	0,53	0,94	0,63	0,72	0,24	0,37	0,32	0,92	0,59	0,92	0,38	0,64	0,63	0,63	0,84	0,72
J	0,21	0,34	0,47	0,31	0,24	0,45	0,27	0,33	0,13	0,19	0,15	0,42	0,24	0,47	0,18	0,31	0,35	0,30	0,76	0,52
Oribatei/altri Acari	0,27	0,30	0,39	0,28	0,37	0,28	0,25	0,06	0,06	0,09	1,16	0,07	23,37	0,16	0,40	0,93	0,51	1,32	0,50	0,28
NT	7	4	8	11	9	8	10	9	6	7	8	9	11	7	8	8	6	8	3	4

