



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE DELLE PRODUZIONI VEGETALI**
INDIRIZZO Protezione delle Colture - CICLO XXIII
Dipartimento di Territorio e Sistemi Agro-Forestali

Comunità fungina dei suoli agrari

Confronto tra due sistemi di conduzione: biologico e convenzionale

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. Andrea Battisti

Supervisore : Ch.mo Prof. Roberto Causin

Dottorando : Cristina Ceschi Berrini

31 gennaio 2012

Declaration

I hereby declare that this submission is my own work and that, to the best of my knowledge and belief, it contains no material previously published or written by another person nor material which to a substantial extent has been accepted for the award of any other degree or diploma of the university or other institute of higher learning, except where due acknowledgment has been made in the text.

li 31/01/2012, Cristina Ceschi Berrini,

A copy of the thesis will be available at <http://paduaresearch.cab.unipd.it/>

Dichiarazione

Con la presente affermo che questa tesi è frutto del mio lavoro e che, per quanto io ne sia a conoscenza, non contiene materiale precedentemente pubblicato o scritto da un'altra persona né materiale che è stato utilizzato per l'ottenimento di qualunque altro titolo o diploma dell'università o altro istituto di apprendimento, a eccezione del caso in cui ciò venga riconosciuto nel testo.

li 31/01/2012, Cristina Ceschi Berrini,

Una copia della tesi sarà disponibile presso <http://paduaresearch.cab.unipd.it/>

Riassunto	<i>pag. 1</i>
Abstract	<i>pag. 3</i>
 1 INTRODUZIONE	 <i>pag. 5</i>
1.1 Agricoltura biologica	<i>pag. 5</i>
1.2 Biodiversità in ambiente agrario	<i>pag. 7</i>
1.3 Pratiche colturali e biodiversità	<i>pag. 8</i>
1.3.1 Concimazione	<i>pag. 9</i>
1.3.2 Rotazione colturale	<i>pag. 9</i>
1.3.3 Lavorazioni del terreno	<i>pag. 11</i>
1.4 Controllo biologico	<i>pag. 11</i>
1.5 Patogeni e antagonisti	<i>pag. 14</i>
1.5.1 Il genere <i>Fusarium</i>	<i>pag. 15</i>
1.5.2 Il genere <i>Aspergillus</i>	<i>pag. 17</i>
1.5.3 Il genere <i>Trichoderma</i>	<i>pag. 18</i>
1.5.4 Il genere <i>Gliocladium</i>	<i>pag. 19</i>
 2 SCOPO DELLA TESI	 <i>pag. 20</i>
 3 MATERIALI E METODI	 <i>pag. 21</i>
3.1 L'ambiente agricolo	<i>pag. 21</i>
3.2 Il campionamento	<i>pag. 22</i>
3.3 Attività in campo	<i>pag. 23</i>
3.4 Attività in laboratorio	<i>pag. 23</i>
3.5 Prove di antagonismo in vitro	<i>pag. 25</i>
3.5.1 Analisi dello sviluppo degli antagonisti a diverse temperature	<i>pag. 25</i>
3.5.2 Saggi di antagonismo in vitro	<i>pag. 25</i>
3.6 Attività di sintesi ed organizzazione dei dati	<i>pag. 26</i>
3.6.1 Stima della densità fungina	<i>pag. 26</i>
3.6.2 Compilazione della check-list	<i>pag. 27</i>
3.6.3 Analisi dei dati	<i>pag. 28</i>
3.7 Metodi Statistici	<i>pag. 29</i>
3.8 Metodi di classificazione	<i>pag. 34</i>
3.9 Metodi di ordinamento	<i>pag. 35</i>
 4 RISULTATI DELLA COMUNITA'	 <i>pag. 37</i>
4.1 Analisi della comunità – visione di insieme	<i>pag. 37</i>
4.1.1 Numero di specie per stagione	<i>pag. 42</i>
4.1.2 Numero di specie per anno	<i>pag. 42</i>
4.1.3 Numero di specie per campionamento	<i>pag. 43</i>
4.1.4 Numero di specie per parcella	<i>pag. 43</i>
4.1.5 Numero di specie per pratica agronomica	<i>pag. 43</i>
4.2 Specie caratterizzanti le due tipologie agronomiche	<i>pag. 45</i>
4.3 Frequenza delle specie di interesse	<i>pag. 46</i>

4.4 Frequenza di patogeni, antagonisti e saprofiti non d'interesse	pag. 47
4.5 Analisi multivariata	pag. 48
4.5.1 Cluster analysis delle specie	pag. 49
4.5.2 Analisi delle coordinate principali (PCoA)	pag. 50
4.5.3 Analisi delle corrispondenze	pag. 51
5 RISULTATI GENERI DI INTERESSE	pag. 54
5.1 Densità fungina	pag. 54
5.1.1 Differenza tra campionamenti	pag. 56
5.1.2 Differenza tra anni	pag. 57
5.1.3 Differenza tra stagioni	pag. 58
5.1.4 Differenza tra parcelle	pag. 59
5.1.5 Differenza tra colture	pag. 60
5.1.6 Differenza tra pratiche agronomiche	pag. 62
5.2 Valutazione per singolo genere	pag. 63
5.2.1 <i>Fusarium</i>	pag. 64
5.2.1.1 Differenza tra campionamenti	pag. 64
5.2.1.2 Differenza tra anni	pag. 66
5.2.1.3 Differenze tra stagioni	pag. 68
5.2.1.4 Differenze tra parcelle	pag. 70
5.2.1.5 Differenza tra colture	pag. 71
5.2.1.6 Differenza tra pratiche agronomiche	pag. 71
5.2.2 <i>Aspergillus</i>	pag. 73
5.2.2.1 Differenza tra campionamenti	pag. 73
5.2.2.2 Differenza tra anni	pag. 75
5.2.2.3 Differenza tra stagioni	pag. 77
5.2.2.4 Differenze tra parcelle	pag. 79
5.2.2.5 Differenza tra colture	pag. 79
5.2.2.6 Differenza tra pratiche agronomiche	pag. 80
5.2.3 <i>Trichoderma</i>	pag. 81
5.2.3.1 Differenza tra campionamenti	pag. 81
5.2.3.2 Differenza tra anni	pag. 84
5.2.3.3 Differenza tra stagioni	pag. 84
5.2.3.4 Differenza tra parcelle	pag. 86
5.2.3.5 Differenza tra colture	pag. 87
5.2.3.6 Differenza tra pratiche agronomiche	pag. 89
5.2.4 <i>Gliocladium</i>	pag. 90
5.2.4.1 Differenza tra campionamenti	pag. 90
5.2.4.2 Differenza tra anni	pag. 91
5.2.4.3 Differenza tra stagioni	pag. 92
5.2.4.4 Differenza tra parcelle	pag. 92
5.2.4.5 Differenza tra colture	pag. 93
5.2.4.6 Differenza tra pratiche agronomiche	pag. 94
5.3 Prove di sviluppo degli antagonisti in vitro	pag. 96
5.4 Saggi di antagonismo in vitro	pag. 101
5.4.1 Antagonismo <i>Gliocladium roseum</i> – <i>Fusarium graminearum</i>	pag. 101

5.4.2 Antagonismo <i>G. roseum</i> - <i>F. verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. sporotrichioides</i>	<i>pag. 109</i>
5.4.2.1 Antagonismo <i>G. roseum</i> – <i>F. verticillioides</i>	<i>pag. 111</i>
5.4.2.2 Antagonismo <i>G. roseum</i> – <i>F. proliferatum</i>	<i>pag. 115</i>
5.4.2.3 Antagonismo <i>G. roseum</i> – <i>F. oxysporum</i>	<i>pag. 118</i>
5.4.2.4 Antagonismo <i>G. roseum</i> – <i>F. solani</i>	<i>pag. 122</i>
5.4.2.5 Antagonismo <i>G. roseum</i> – <i>F. culmorum</i>	<i>pag. 125</i>
5.4.2.6. Antagonismo <i>G. roseum</i> – <i>F. sporotrichioides</i>	<i>pag. 127</i>
6 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	<i>pag. 132</i>
BIBLIOGRAFIA	<i>pag. 136</i>

RIASSUNTO

L'utilizzo in agricoltura convenzionale di fertilizzanti chimici e pesticidi ha migliorato la produttività delle colture, ma ha causato un declino nella fertilità del suolo, un aumento del carico ambientale e la presenza di residui di pesticidi negli alimenti. La crescente sensibilità dell'opinione pubblica nei confronti della tutela dell'ambiente, lo sviluppo di popolazioni di organismi patogeni resistenti ai fitofarmaci, la revoca dell'autorizzazione all'impiego di alcuni composti chimici e non ultima, la sempre più crescente attenzione da parte di produttori e consumatori alla salubrità dei prodotti alimentari, ha stimolato la ricerca di strategie alternative da utilizzare per un'agricoltura sostenibile.

Negli agrosistemi i funghi sono fondamentali per il mantenimento della funzione del terreno, per il loro coinvolgimento nei processi chiave quali la formazione della struttura del suolo, il ciclo dei nutrienti, la decomposizione della materia organica, etc. Contrariamente, altri funghi sono conosciuti come patogeni delle colture da reddito. Tra questi, il genere *Fusarium* comprende specie responsabili di alcune patologie dei cereali come l' FHB (*Fusarium head blight*) nel frumento, che nel territorio nazionale è causata per lo più da *Fusarium graminearum* e i marciumi rosa e rossi (*Pink and Red ear rot*) nel mais. Tali malattie sono importanti non solo per la perdita in resa e qualità dei raccolti ma anche per la loro contaminazione da micotossine che determina una riduzione nella sicurezza degli alimenti destinati al consumo umano ed animale. Poiché la "driving force" di *Fusarium* è spesso rappresentata dall'inoculo del patogeno nel terreno, la gestione della comunità fungina del suolo potrebbe offrire una strategia utile alla riduzione di tali patologie. Anche se alcuni generi di funghi sono intensamente studiati, la struttura delle comunità fungine dei suoli agrari è spesso poco nota. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di confrontare la struttura delle comunità fungine di suoli sottoposti a differenti sistemi di conduzione (biologico e convenzionale) in due aziende del Veneto. Le comunità fungine sono state indagate in relazione al tipo di conduzione, rotazione colturale, sito di campionamento, stagione e anno di raccolta. Una particolare attenzione è stata inoltre rivolta ai patogeni micotossigeni e ai loro potenziali agenti di biocontrollo appartenenti ai generi *Trichoderma* e *Gliocladium*. La protezione delle colture contro gli agenti patogeni, parassiti ed erbe infestanti, è una fase della produzione agricola in cui gli input chimici sono ancora abbastanza elevati. Un contributo alla riduzione di tali input potrebbe provenire dall'impiego di microrganismi con spiccate caratteristiche di antagonismo verso i patogeni, adatti a svilupparsi nel suolo, nel rispetto del naturale equilibrio biologico.

La coltura micologica ha permesso l'isolamento di 99 taxa. Sebbene la struttura della comunità

fungina, statisticamente non sia risultata influenzata dai diversi fattori considerati, 21 taxa sono stati rilevati esclusivamente nel sistema organico e 7 nel sistema convenzionale. Anche per le abbondanze dei generi *Trichoderma*, *Fusarium* e *Aspergillus* non state riscontrate differenze statisticamente significative mentre per il genere *Gliocladium* le abbondanze sono risultate significativamente più elevate nella conduzione biologica rispetto a quella convenzionale.

Otto ceppi di *G. roseum* isolati dal suolo nel corso della sperimentazione, sono stati saggiati in colture duali per la loro capacità di inibizione della crescita di *Fusarium graminearum* e di altri Fusaria micotossigeni. I risultati mostrano come nelle interazioni patogeno-antagonista alcuni ceppi di *F. graminearum* siano risultati inibiti da *G. roseum* mentre per altri la crescita è stata promossa (rispetto al controllo). Nessuno dei ceppi di *G. roseum* da noi selezionati ha presentato un'azione antagonista nei confronti di tutti i ceppi di *F. graminearum*. Tra tutti i ceppi di *G. roseum* saggiati contro *F. graminearum*, i tre ceppi che hanno manifestato una seppur minima attività inibitoria e che sono risultati anche i meno sensibili all'inibizione da parte del patogeno, sono stati testati contro: *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum* e *F. sporotrichioides*.

In questo caso, tutti i *G. roseum* sono riusciti a contenere lo sviluppo del patogeno con diminuzioni dal 15 al 45% ceppo dipendente, candidandosi come buoni agenti di biocontrollo. In conclusione il nostro studio condotto nell'arco di 3 anni sostanzialmente conferma quanto riportato in letteratura a riguardo dell'omeostasi delle comunità fungine del suolo. Anche se dal confronto tra la struttura delle comunità fungine dei due sistemi considerati non si sono riscontrate differenze statisticamente significative, la conduzione di tipo biologico è stata caratterizzata da una maggior ricchezza in specie e per il genere *Gliocladium*, da abbondanze più elevate. Tuttavia, è da prendere in considerazione che la conversione alla conduzione organica è stata effettuata solo pochi anni prima che questo studio fosse avviato. Pertanto, le variazioni rilevate nella struttura della comunità fungina potrebbero costituire un primo indicatore di cambiamento.

ABSTRACT

Conventional farming using chemical fertilizers and pesticides improved the productivity of crops but caused a decline in soil fertility, an increase in environmental load and the presence of pesticide residues in food. Concerns over environmental conservation and consumers' perceptions about the safety of public health require the development of organic farming.

In agricultural soil, fungi are critical to the maintenance of soil function because their involvement in key processes as: soil structure formation, nutrient cycling, decomposition of organic matter, plant growth promotion, induction of plant resistance.

In contrast, other fungi are known to comprise some of the economically most serious plant pathogens especially *Fusarium* and *Aspergillus* genus.

The aim of this work was to compare the structure of soil fungal communities from organic and conventional management. A particular attention was focused on the mycotoxigenic species and their potential antagonists as *Trichoderma* and *Gliocladium*. The employment of these microorganisms to control *Fusarium Head Blight* (FHB) of wheat appears to be one of the most interesting and promising.

FHB can be caused by different pathogens and the most important is *Fusarium graminearum*, which can strongly reduce the yield and produce mycotoxins.

Fungal community were investigated in relation to season, years, site sampling, crop rotation and system management. Mycological cultures allowed the isolation of 99 taxa. Although the community structure was not statistically affected by different factors considered, 21 taxa were detected only in organic system and 7 taxa were found only in conventional system.

MPN analysis results showed that *Trichoderma*, *Fusarium* and *Aspergillus* genus were not significantly affected by different factors. *Gliocladium* inoculum instead were significantly higher in organic management compared to the conventional one.

Eight *G. roseum* strains isolated from soil samples were screened in dual culture bioassays. Results show that in pathogen-antagonist interactions some *F. graminearum* are inhibited by *G. roseum* but none of selected antagonists suppress all tested *F. graminearum* strains. The only three *G. roseum* strains shown a minimal inhibitory activity against *F. graminearum*, were tested against *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum* and *F. sporotrichioides*.

In this test, *G. roseum* always reduced the pathogen growth with decreases from 15 to 45% according to strains. *G. roseum* strains isolated from soil and selected for inhibition tests are scarcely able to carry out biocontrol against *F. graminearum* but are able to slow the development

of others phytopathogenic *Fusarium*, showing a good biocontrol activity.

In summary, our investigation based on 3-years management systems confirm what reported in literature. Soil fungal community was characterized by an elevated homeostasis and short-time effects of different soil managements can be very low.

The fungal community structure observed regardless the “biological” value of species was not statistically different between organic and conventional but the organic management was characterized by a higher number of species than conventional.

However, it has to be taken into account that the conversion of organic management was made only few years before this study was started. Therefore, the change in fungal community might be a first indicator of shifts in the community to occur some years after the change in agricultural management.

1 INTRODUZIONE

L'utilizzo in agricoltura convenzionale di fertilizzanti chimici e pesticidi ha migliorato la produttività delle colture, ma ha causato un declino nella fertilità del suolo, un aumento del carico ambientale e la presenza di residui di pesticidi negli alimenti. La crescente sensibilità dell'opinione pubblica nei confronti della salvaguardia dell'ambiente e la maggiore attenzione da parte di produttori e consumatori alla salubrità dei prodotti alimentari, ha stimolato la ricerca di strategie alternative da utilizzare per un'agricoltura sostenibile, a basso impatto ambientale.

La Politica Agricola Comunitaria a livello europeo riconosce il ruolo importante rivestito dai problemi ambientali, tra i quali i cambiamenti climatici, l'inquinamento dell'aria, acqua, terreno, l'erosione del suolo ecc. Poiché metà della superficie dell'Unione Europea è adibita ad agricoltura è facile intuire il livello di interazione esistente tra le attività primarie e le risorse naturali. L'integrazione di una strategia agroambientale all'interno della PAC prevede in sintesi una serie di misure ed incentivi che mirano a garantire la redditività dell'agricoltura e, allo stesso tempo, a prevenire i rischi di degrado ambientale che possono derivare dalle pratiche agricole. Gli obiettivi prefissati, in accordo con la Politica Comunitaria sono:

- contenere le forme di inquinamento causate dall'agricoltura;
- assicurare ai produttori agricoli una fonte di reddito adeguato;
- tutelare i prodotti locali mantenendo e incrementando la biodiversità;
- offrire ai consumatori prodotti alimentari privi di residui tossici e sottoposti ad un limitato numero di processi di trasformazione.

L'Unione Europea inoltre, ha fatto della sicurezza alimentare una delle grandi priorità del suo programma politico tanto da risultare un obiettivo comune a tutto il comparto agroalimentare. A tal riguardo nel 2006, l'EFSA (Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare) ha fornito le linee guida per la tracciabilità degli alimenti sia in fase produttiva che in fase distributiva.

1.1 Agricoltura biologica

É accertato che le produzioni agricole finalizzate allo sfruttamento intensivo del terreno, spesso sono accompagnate da un elevato costo ambientale in termini di impoverimento del suolo che si

ripercuotono su resa e qualità del prodotto. Per ovviare ad un eccessivo impoverimento del suolo si è pertanto resa necessaria l'adozione di pratiche colturali in grado di migliorare la fertilità, la qualità fisica e microbiologica del suolo (Poudel *et al.*, 2001).

L'agricoltura biologica rappresenta, nel contesto dei metodi di coltivazione, un'alternativa all'agricoltura convenzionale di tipo intensivo, ad elevato consumo energetico, che punta prevalentemente a massimizzare la produzione mediante l'utilizzo di sostanze chimiche di sintesi come fertilizzanti, antiparassitari, diserbanti.

La conduzione biologica, si pone come obiettivo la riduzione degli input esterni all'azienda agricola, utilizzando al meglio le risorse interne all'azienda stessa, la salvaguardia e l'incremento della biodiversità dell'ambiente in cui opera e la fertilità dei suoli. Il tutto escludendo l'utilizzo di prodotti chimici di sintesi.

Numerosi studi comparativi di sistemi di agricoltura biologica e convenzionale sono stati condotti per determinare l'effetto del tipo di conduzione (biologica e convenzionale) sulle proprietà chimico-biologiche del suolo. Tali studi hanno permesso di rilevare nella gestione organica, livelli significativamente più bassi di nitrati e azoto totale nel suolo, un numero più elevato di microrganismi e una maggior ricchezza in specie dei diversi gruppi trofici (van Diepeningen *et al.*, 2005).

La produzione biologica è un sistema globale di conduzione dell'azienda agricola e di produzione agroalimentare basato sull'interazione tra le migliori pratiche ambientali, su un alto livello di biodiversità, sulla salvaguardia delle risorse naturali.

L'agricoltura biologica adotta strategie produttive ecocompatibili che riguardano:

- il rispetto dei cicli naturali, che influisce sulla produzione e riduce l'impatto ambientale;
- la priorità alle risorse rinnovabili, con particolare riferimento alla sostanza organica di origine agricola;
- la salvaguardia della complessità ambientale, alla base della biodiversità, attuata proteggendo e potenziando la vegetazione spontanea;
- la conservazione del suolo;
- la difesa fitosanitaria ed il controllo delle malerbe senza l'impiego di prodotti chimici di sintesi, ma tramite l'applicazione di pratiche agronomiche ed il ricorso ad antagonisti e a predatori naturali;
- la scelta del seme e delle varietà delle piante coltivate, che deve ricadere su cultivar maggiormente adatte all'ambiente pedo-climatico di coltivazione, naturalmente più resistenti a malattie e infestazioni parassitarie.

Alcuni importanti aspetti di questo metodo di coltivazione aiutano a comprendere a fondo l'idea che sta alla base dello stesso:

- la concimazione organica è indicata come fondamentale per il mantenimento della fertilità del terreno e per l'attività biologica dello stesso. “Nutrire il terreno per nutrire la pianta”. Essa deve essere effettuata con materiali quali letami, sovesci e altro interni all'azienda o comunque provenienti da aziende biologiche. Possono essere utilizzati anche altri prodotti quali: fertilizzanti consentiti, pollina, ammendanti (Giardini, 2004).
- le rotazioni in generale assumono un ruolo importante, che risiede proprio nello sfruttare gli effetti di avvicendamento, considerando anche l'importanza di tale pratica nel controllo di malerbe e parassiti;
- il controllo delle malerbe si basa sulla prevenzione e sulla cura, attraverso interventi agronomici, quali l'avvicendamento, la scelta oculata dei fertilizzanti, l'impianto di colture da sovescio, interventi meccanici, come, ad esempio, la falsa semina, interventi fisici come la pacciamatura, solarizzazione o il pirodiserbo.
- la difesa dalle avversità è effettuata attraverso misure preventive (scelta di varietà resistenti o tolleranti, salvaguardia dell'entomofauna utile, sovesci con piante biocide, adeguati avvicendamenti, un adeguato piano di fertilizzazione e di irrigazione ecc.) e tecniche di difesa diretta tra cui la lotta biologica.

1.2 Biodiversità in ambiente agrario

Il termine biodiversità è stato definito in vari modi e descrive il numero di specie e la loro relativa abbondanza in una data comunità in un determinato habitat. Vista la complessità e la dinamicità degli ecosistemi, il rapporto tra composizione delle specie e funzionamento degli habitat è difficile da studiare, quantificare e determinare in maniera definitiva (Costanza and Folke, 1996; Leps *et al.*, 1982; Naeem *et al.*, 1994; Tilman, 1996; McGrady-Steed *et al.*, 1997; Franklin and Mills, 2006; Wertz *et al.*, 2006; Wertz *et al.*, 2009). La biodiversità in ambiente agrario svolge servizi ecosistemici che vanno ben oltre la produzione di cibo, di fibre, di carburante o di reddito. Gli esempi includono il controllo del microclima e dei processi idrologici locali, il riciclo dei nutrienti, la rimozione dei prodotti nocivi, etc. Poiché i processi rinnovabili e i servizi ecosistemici sono in gran parte biologici, la loro persistenza dipenderà dal mantenimento della biodiversità (Altieri, 1994) Quando questi servizi a causa della semplificazione biologica, vengono perduti, il danno

economico ed il relativo costo ambientale in termini di riduzione della fertilità del suolo, della qualità dell'acqua e del cibo, può risultare piuttosto elevato. In agricoltura, il risultato della semplificazione della biodiversità, è un ecosistema che richiede il costante intervento dell'uomo (Altieri, 1999). I servizi ecologici forniti dagli organismi del suolo sono cruciali per la sostenibilità degli agroecosistemi. E' quindi importante definire e incoraggiare le pratiche colturali in grado di incrementare l'abbondanza e la diversità degli organismi del suolo. Un'agricoltura sostenibile può dipendere dalla selezione di pratiche colturali in grado di aumentare le attività biologiche del suolo coinvolte nella fissazione dell' azoto atmosferico, nel riciclo del carbonio e di altri nutrienti e nella soppressione dei patogeni del suolo.

1.3 Pratiche colturali e biodiversità

È noto che le pratiche colturali influenzano la matrice, le proprietà chimico-fisiche e nel lungo termine la biomassa del suolo. La biomassa del suolo è la parte viva della frazione organica del suolo, escluse le radici delle piante e la fauna pluricellulare; è composta di eucarioti (funghi, lieviti, protozoi e microalghe) e procarioti (eubatteri, attinomiceti e archibatteri) in numero e variabilità diverse da terreno a terreno. La dinamica, le dimensioni e la composizione della biomassa del terreno sono dettate da peculiarità quali: tessitura del terreno, pH, contenuto di ossigeno e umidità, temperatura del suolo e potenziale redox. Il suolo è un microambiente operativamente definito per i microrganismi, caratterizzato da numerose nicchie ecologiche, da attività dell'acqua relativamente stabile, da scarsa disponibilità di O₂ e da bassa accessibilità per elementi tossici esogeni (Postma and van Veen, 1989; Ranjard *et al.*, 2000; Ranjard and Richaume, 2001). I funghi rappresentano una componente importante della biomassa nei suoli arabili (Jenkinson, 1981). Le loro attività sono fondamentali per una vasta gamma di processi, proprietà e funzioni come il ciclo dei nutrienti e per la formazione e la stabilizzazione della struttura del suolo (Shanmuganathan and Oades, 1983; Lynch and Bragg, 1985; Kennedy and Papendick, 1995).

Ogni attività di disturbo può costituire un fattore cruciale nel determinare l'attività biotica e la diversità in specie di un suolo agrario.

1.3.1 Concimazione

Molti studi sono stati condotti sull'influenza a lungo termine dell'applicazione di concimi organici e di fertilizzanti sulle proprietà fisiche del suolo (Pernes-Debuyers e Tessier, 2004), sulla fertilità (Evanylo *et al.*, 2008), sul contenuto in materia organica e sulla resa delle colture (Belay *et al.* 2002). Secondo alcuni autori, i fertilizzanti minerali e il concime organico sono in grado di migliorare le rese colturali e indurre cambiamenti nelle caratteristiche chimico-fisiche e biologiche del suolo (Acton and Gregorich, 1995; Belay *et al.*, 2002; Zhong and Cai, 2007). Diversi autori hanno documentato come fertilizzanti minerali e concimi organici aumentino la biomassa e la diversità microbica del suolo (Belay *et al.*, 2002; Chu *et al.*, 2007; Zhong and Cai, 2007). In alcuni studi, l'applicazione a lungo termine di fertilizzanti azotati ha determinato un aumento della comunità di organismi ammoniacali-ossidanti conferendo al suolo un maggiore potenziale di nitrificazione (Chu *et al.*, 2007).

Gli apporti organici oltre a migliorare la biodiversità microbica possono avere un effetto pratico sul contenimento delle malattie del suolo. Il compost ad esempio può sopprimere il marciume radicale causato da *Pythium* e *Phytophthora* (Hoitink and Boehm, 1999) e da *Ralstonia solanacearum* (Schönfeld *et al.*, 2002). Durante la fase di decomposizione della materia organica, l'ecosistema del suolo è sottoposto a "oligotrofizzazione" che altera il rapporto tra popolazione a strategie *k* o *r* durante la successione microbica (van Bruggen and Semenov, 1999). Un rapporto favorevole alle popolazioni a strategia *k* è stato associato alla riduzione generale delle malattie (van Bruggen and Semenov, 2000). La conoscenza delle comunità microbiche e dei microrganismi coinvolti nella riduzione delle malattie è fondamentale per una migliore comprensione della rilevanza che la diversità microbica può assumere nella gestione degli agenti patogeni.

1.3.2 Rotazione colturale

Il frequente utilizzo della monocoltura, il ricorso a intense lavorazioni meccaniche e alla rimozione dei residui colturali determina un calo nei rendimenti colturali (nonostante il ricorso a fertilizzanti inorganici) causato dalla diminuzione della fertilità e dal deterioramento della struttura del suolo nonché da un ridotto controllo delle infestanti (Fischer *et al.*, 2002).

La rotazione delle colture è una pratica agronomica atta a mantenere e/o migliorare la fertilità dei suoli e quindi il loro rendimento.

Le caratteristiche di maggior interesse sono:

- contribuisce ad interrompere il ciclo vitale degli organismi nocivi legati ad una certa coltura, fenomeno evidente in particolare con la successione di piante di famiglie differenti;
- grazie alla diversità dei sistemi radicali, il profilo del terreno è meglio esplorato, il che si traduce in un miglioramento delle caratteristiche fisiche del suolo e in particolare della sua struttura;
- l'impiego di alcune specie vegetali miglioratrici quali le leguminose consente la fissazione e l'arricchimento del suolo in azoto e materia organica.

La scelta delle colture da impiegare nella rotazione avviene in funzione degli obiettivi e delle necessità dell'agricoltore, delle caratteristiche chimico-fisiche del terreno, del clima, tenendo conto sia del rischio allelopatico che di trasmissione di malattie delle piante e dalla pressione di insetti voraci.

Le colture utilizzate si dividono in tre gruppi principali:

- colture da rinnovo (a fine ciclo lasciano il terreno con una migliore fertilità agronomica, es. colza);
- colture miglioratrici (principalmente le leguminose, azoto-indipendenti, es. erba medica, trifoglio);
- colture depauperanti (generalmente le graminacee).

Un sistema di rotazione colturale con associazioni vegetali idonee può essere in grado di migliorare l'uso del suolo attraverso il rinnovamento continuo del potenziale biotico e determinare un incremento della diversità microbica. Diversi studi indicano che le leguminose come base di sostegno alla rotazione possono influenzare la diversità microbica e la sostenibilità degli ecosistemi agricoli (Lupwayi *et al.*, 1998).

In Italia tra le colture maggiormente sottoposte a rotazione vi sono mais, frumento e soia alternate tra loro. Uno studio condotto per sedici anni con queste tre colture, valutando tutte le possibili combinazioni di pratiche colturali, ha mostrato che la prolungata monocoltura di frumento, nessuna lavorazione e la conservazione dei residui colturali determinano una maggiore resa dei raccolti, un miglioramento della qualità del suolo, un'incidenza inferiore di marciume radicale nonché un ridotto numero di nematodi. Contrariamente, la monocoltura di mais caratterizzata da lavorazioni profonde dei terreni e rimozione dei residui colturali ha determinato il peggioramento di tutti i

parametri (Govaerts *et al.*, 2008).

Come in mais anche la monocoltura di soia è stata responsabile della diminuzione del rendimento e del deterioramento di qualità della produzione: la riduzione media della resa di una monocoltura condotta per 2, 3 e 4 anni è stata del 15%, 20% e il 30% rispettivamente (Liu and Herbert , 2002; He *et al.*, 2003).

1.3.3 Lavorazioni del terreno

Le perturbazioni fisiche del suolo hanno un forte impatto sulla biomassa microbica (Peacock *et al.*, 2001). Lo strato disturbato dall'aratura solitamente comprende una fascia di almeno 15-25 cm della superficie del suolo e sostituisce orizzonti stratificati di superficie con una zona coltivata più omogenea per caratteristiche fisiche e distribuzione dei residui. La perdita di stratificazione del terreno altera il microhabitat provocandone una diminuzione della densità e del numero delle specie che lo abitano. Tale riduzione della biodiversità del suolo è negativa per il riciclo dei nutrienti ed il mantenimento del corretto equilibrio tra sostanza organica, organismi del suolo e diversità vegetale, componenti necessarie per fare di un suolo un ambiente produttivo ed ecologicamente equilibrato. (Hendrix *et al.*, 1990). In suoli a basso disturbo si riscontra una maggior densità e ricchezza di specie rispetto a suoli lavorati in profondità (Lupwayi *et al.*, 2001; Fuentes *et al.*, 2009). Ridotte lavorazioni del terreno (no-tillage) creano un ambiente relativamente più stabile e incoraggiano lo sviluppo delle comunità di organismi decompositori a più lento ricambio nutritivo. Le lavorazioni ridotte e il mantenimento dei residui colturali permettono la stratificazione dei nutrienti, con concentrazioni maggiori nello strato più vicino alla superficie.

Il no-tillage può però anche indurre una maggiore aggressività nei patogeni permettendone la sopravvivenza sui residui colturali rimasti sulla superficie del suolo. Ne è un esempio, il marciume radicale del grano causato da *R. solani* e favorito da lavorazioni ridotte o nessuna lavorazione.

1.4 Controllo biologico

La difesa delle colture da patogeni, parassiti e malerbe, costituisce una fase della produzione agricola in cui gli input chimici sono ancora piuttosto elevati. Un'interessante alternativa all'utilizzo

di tali input potrebbe provenire dalla possibilità di impiegare microrganismi antagonisti ai patogeni per la difesa delle malattie, sfruttando il naturale equilibrio biologico esistente in natura.

Per controllo biologico s'intende la riduzione della densità dell'inoculo e dell'attività o del parassita in attività o in fase di dormienza/riposo, grazie a uno o più organismi, attuato naturalmente o tramite manipolazione dell'ambiente, dell'ospite, dell'antagonista o per introduzione di massa di uno o più antagonisti (Baker and Cook, 1974).

“Un'antagonista” è un organismo presente in natura che può limitare la crescita del patogeno e mantenerlo al di sotto della soglia economica di danno. L'antagonista ideale deve produrre un eccesso di inoculo, resistere, tollerare gli altri antagonisti, germinare e crescere rapidamente, invadere e insediarsi facilmente nel substrato organico (Baker and Cook, 1974). I potenziali organismi antagonisti vengono isolati in laboratorio con modalità diverse a partire da diversi materiali in campo. Una volta ottenuti in coltura pura, sono valutati per stimarne la potenziale efficacia, prima *in vitro* e poi *in vivo*. I principali vantaggi che derivano dall'utilizzo di agenti di biocontrollo sono legati al fatto che, essendo organismi presenti naturalmente nell'ambiente, possono essere facilmente degradati e non rilasciano residui sui prodotti destinati all'alimentazione, inoltre non provocano inquinamento delle risorse ambientali in quanto la loro persistenza è generalmente molto bassa. I meccanismi di azione degli agenti di biocontrollo possono essere riassunti in:

- **COMPETIZIONE:** si ha quando due o più organismi richiedono la stessa risorsa. L'utilizzo di essa da parte di uno limita il quantitativo disponibile per l'altro. La risorsa può essere costituita da nutrienti, acqua o spazio. I meccanismi di competizione possono essere suddivisi in competizione di interferenza o di sfruttamento. La prima generalmente riguarda la competizione tra organismi per lo spazio. La competizione di sfruttamento si verifica invece quando un organismo utilizza una risorsa riducendone di conseguenza la disponibilità per gli altri. (Lockwood, 1992; Wicklow, 1992). Nei funghi, l'accesso ai nutrienti va di pari passo con la competizione per lo spazio, ed è pertanto difficile separare la competizione di interferenza da quella di sfruttamento. La competizione fungina può inoltre essere suddivisa in: accesso primario alle risorse in cui il successo nella colonizzazione è determinato da vari fattori quali, buona dispersione e rapida germinazione delle spore, veloce accrescimento miceliare ed efficiente utilizzo delle risorse disponibili e in difesa da potenziali invasori (Cooke and Rayner, 1984).

- **ANTIBIOSI:** Per antibiosi s'intende la produzione, da parte di organismi antagonisti, di metaboliti secondari, specifici ed aspecifici, volatili e non, che inibiscono lo sviluppo del patogeno, causandone una ridotta o assente germinazione dei propaguli e ritardo o arresto della crescita dei miceli. Ciò si verifica anche in assenza di un contatto fisico tra i due microrganismi.

I meccanismi tramite cui questo tipo di antagonismo si manifesta sono:

- emissione nel substrato di molecole organiche che hanno effetto deleterio sulla crescita e sull'attività dei patogeni (antibiotici e batteriocine)
- produzione di proteasi e immobilizzazione degli enzimi che agiscono nel processo di patogenesi

Dennis e Webster (1971), furono tra i primi studiosi ad interessarsi del ruolo dei metaboliti secondari nel processo del controllo biologico dei patogeni fungini ed individuarono composti non volatili nell'estratto di colture cellulari di *Trichoderma spp.*

Le sostanze ad effetto antibiotico prodotte dagli antagonisti sono di varia natura chimica e sono suddivise in diversi gruppi, di cui i principali sono: Alchilpironi, Isonitrili, Polichetidi, Peptaiboli, Dichetopiperazine, Sesquiterpeni e Steroidi. Questi composti organici a basso peso molecolare agiscono già a limitate concentrazioni, determinando effetti deleteri sulla crescita e sull'attività dei patogeni.

Spesso questi metaboliti, sono prodotti dalla microflora antagonista in condizioni di scarsa disponibilità di nutrienti (Irtwange, 2006). Questo meccanismo è il predominante nell'attività antagonistica di *Trichoderma* e *Gliocladium*.

- **MICOPARASSITISMO** Consiste nel parassitismo di un'ifa nei confronti di un'altra, preceduto solitamente da contatto e riconoscimento dell'ospite (Chet *et al.*, 1997). Questo meccanismo è seguito da penetrazione o appressione e continuo accrescimento sull'ifa dell'ospite o al suo interno. Con il termine parassitismo si intende un rapporto di danneggiamento esercitato da un organismo su un altro ed il micoparassitismo è quel fenomeno che si instaura quando un fungo arreca danno ad un altro fungo. Se l'ospite è un parassita il fenomeno si definisce più propriamente iperparassitismo.

Gli antagonisti fungini micoparassiti si distinguono in necrotrofi e biotrofi: si parla di parassiti biotrofi quando questi si nutrono di cellule vive dell'ospite, penetrandole tramite gli austori. Si parla, invece, di parassiti necrotrofi quando essi si nutrono delle cellule dell'ospite solo dopo

averle uccise.

Il micoparassitismo, è un processo molto complesso che comprende eventi sequenziali:

- chemiotropismo, ossia la crescita orientata dell'antagonista in direzione del patogeno come risposta a messaggi chimici emessi da quest'ultimo
- riconoscimento, che avviene su base molecolare mediante sostanze presenti sulla parete cellulare dei due microrganismi
- attacco e avvolgimento delle ife dell'antagonista intorno a quelle del patogeno
- secrezione di enzimi litici che intervengono nella degradazione della parete cellulare
- penetrazione e morte dell'ospite.

La prima fase segna il passaggio dallo stato saprofitico del fungo a quello antagonistico. L'interazione avviene ancor prima del contatto fisico e sembra essere mediata dalla diffusione di una serie di macromolecole responsabili anche di una serie di cambiamenti morfologici dell'antagonista quali l'arrotolamento e la formazione di strutture come l'appressorio, che servono a penetrare l'ospite (Benitez *et al.*, 2004).

Tra i microrganismi antagonisti più noti in letteratura si ricordano ad esempio *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Pythium oligandrum*, *Coniothyrium minitans* tra i funghi, e *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas spp.* e *Bacillus spp.* tra i batteri (Butt *et al.*, 2001; Chet *et al.*, 1987).

Grazie al loro basso impatto ambientale e all'assenza di residui nel prodotto finale, questi agenti di biocontrollo sono uno dei mezzi più promettenti per il futuro nella difesa delle piante contro patogeni e parassiti, rappresentando una valida alternativa all'uso dei fitofarmaci tradizionali, con notevoli benefici per il consumatore, l'agricoltore e l'ambiente (Pritsch *et al.*, 2000).

1.5 Patogeni e antagonisti

Le comunità fungine dei suoli agrari ospitano specie patogene di una grande varietà di piante di interesse. In particolare per colture largamente diffuse come mais, frumento e soia, le specie micotossigene più comuni appartengono ai generi *Fusarium* e *Aspergillus*. Le micotossine sono sostanze chimiche a basso peso molecolare, tossiche già a limitate concentrazioni, prodotte dal metabolismo secondario di funghi filamentosi.

Questi composti, chimicamente molto diversi tra loro, identificati e studiati di recente, hanno da sempre esercitato un'azione nociva nei confronti dell'uomo e degli animali (Bennet and Klich,

2003), ma le variazioni climatiche degli ultimi anni hanno favorito l'insorgenza di contaminazioni anche in aree geografiche che in passato non erano interessate dal fenomeno.

La FAO ha accertato che il 25% delle derrate alimentari mondiali è contaminato da micotossine e molti studi hanno, inoltre, stimato che le perdite economiche associate alla contaminazione da micotossine nei prodotti alimentari è di circa 2,67 miliardi di dollari.

Tutti i continenti sono interessati da questo problema; vi sono sicuramente differenze importanti ma aflatossine, fumonisine, ocratossine, tricoteceni, zearalenone e molte altre sostanze ancora poco studiate, prodotte principalmente dai funghi appartenenti ai generi *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* e *Claviceps* preoccupano tutti i Paesi.

La presenza di micotossine negli alimenti coinvolge tutta la filiera produttiva, a partire dal campo, dove le caratteristiche degli areali climatici, quelle biologiche della coltura, le tecniche agronomiche e l'andamento meteorologico possono condizionare la contaminazione che può essere presente già al momento della raccolta. Inoltre, le successive operazioni di essiccamento, movimentazione, stoccaggio o trasformazione, possono contribuire ad aumentare il rischio della contaminazione degli alimenti per gli animali e per l'uomo.

Le micotossine preoccupano per diversi motivi:

- Possono essere presenti anche in alimenti non visibilmente ammuffiti
- Hanno effetti tossici particolarmente insidiosi (cancerogeni, mutageni e immunodepressivi), spesso di lungo periodo
- Sono attive anche a basse concentrazioni
- Sono particolarmente stabili e generalmente vengono poco degradate nel corso dei normali processi di trasformazione
- Non si dispone di antidoti nei loro confronti

1.5.1 Il genere *Fusarium*

Fusarium è un genere di funghi ubiquitario, presente praticamente in tutti gli ambienti, caratteristico dei suoli o in associazione con piante. Le specie appartenenti a questo genere, non tollerano la siccità e le alte temperature, mentre si sviluppano bene in condizioni di forte umidità e con temperature miti. La maggior parte dei *Fusaria* vive saprofiticamente nel terreno o sui residui vegetali. Inoltre mostrano una spiccata patogenicità nei confronti delle piante e delle colture in generale come mais, grano, orzo e altri cereali.

Il mais rappresenta una delle colture più diffuse nella Pianura Padana dove occupa la maggior parte

della superficie arabile. Questo cereale viene utilizzato principalmente nell'alimentazione zootecnica, ed in misura minore in quella umana; entrambi gli usi, però sono resi problematici dalla presenza di micotossine. Queste sostanze derivate dal metabolismo secondario di alcune specie fungine del genere *Fusarium*, sono particolarmente dannose per la salute dell'uomo (Bennet and Klich, 2003; Li *et al.*, 1999) e degli animali (Bottalico and Perrone, 2002), tanto che ne sono stati regolamentati per legge i limiti massimi tollerabili. Nei nostri ambienti il mais risulta particolarmente contaminato dalle Fumonisine prodotte principalmente da *Fusarium verticillioides*. Questo fungo è favorito dal clima della Pianura Padana ed ormai si può considerare presente, con alto potenziale d'inoculo, in tutti i terreni maidicoli dell'Italia settentrionale. *F. verticillioides* non è dotato di grande virulenza, tanto che può convivere con la pianta, sviluppandosi endofiticamente, senza dare sintomi; oppure favorito da situazioni di stress (siccità, attacchi di piralide ecc.) può colonizzare la spiga sviluppando un caratteristico marciume (Pink ear rot). Inoltre si conserva come saprofita nel terreno, nei residui colturali e da qui infetta il mais già nelle prime fasi di crescita attraverso le radici all'epoca della fioritura, attraverso le setole, dove arrivano i suoi conidi trasportati dal vento e dall'aerosol oppure favorito e forse anche veicolato sulla spiga già formata, dalla piralide. Esistono importanti interazioni tra *F. verticillioides* ed altri organismi presenti nel suolo, ed endofiticamente nel mais e nella sua spiga. Alcune di queste come ad esempio l'antagonismo di funghi del genere *Trichoderma* e *G. roseum* risultano di particolare interesse, in quanto potrebbero permettere di controllare lo sviluppo di *F. verticillioides* e quindi la contaminazione da Fumonisine, senza negativi effetti collaterali. Oltre a ciò è nota la possibilità che alcuni specifici ceppi fungini appartenenti al genere *Trichoderma*, possano indurre nelle piante una resistenza traslocabile che può frenare efficacemente lo sviluppo di infezioni fungine. Appare chiaro quindi che l'entità delle infezioni di *F. verticillioides* nel mais risente anche dell'azione esercitata dalla restante comunità microbiologica presente nell'ambiente. Ciò apre la via ad interventi di controllo biologico che potrebbero essere molto interessanti data la totale mancanza, al momento attuale, di possibilità di lotta diretta contro *F. verticillioides*. In questo ambito, per la semplicità operativa, risulta molto interessante la possibilità di intervenire nel terreno, sia per colpire l'inoculo di *F. verticillioides*, sia per indurre eventuale resistenza nel mais.

La fusariosi della spiga (FHB- *Fusarium* Head Blight) è una delle principali malattie del frumento; è causa di perdite produttive e soprattutto qualitative a seguito della contaminazione da micotossine, in particolare da deossinivalenolo (DON). Questa malattia è causata da diversi microrganismi fungini, tra i quali, i più frequentemente isolati appartengono al genere *Fusarium* e alle specie *graminearum*, *culmorum*, *avenaceum*, *poae*, ed al *Microdochium nivale* (Pasquini and Delogu,

2003). Nel territorio nazionale *F. graminearum* rappresenta il principale agente causale, in quanto generalmente predilige temperature miti, più elevate rispetto a quelle ottimali per lo sviluppo di *F. culmorum*, *F. poae* e *F. avenaceum*, e *M. nivale* che, invece, tende addirittura a predominare nelle regioni molto fresche come Scandinavia e Regno Unito (Audenaert *et al.*, 2009). Nonostante ciò, il quadro eziologico è comunque complesso e le interazioni tra le diverse specie responsabili e la loro diversità in merito alle esigenze ecologiche spiegano la grande diffusione della malattia, come pure la sua variabilità geografica e stagionale. La malattia si presenta come imbiancamento di una parte o di tutta la spiga. Il fungo può anche infettare lo stelo (peduncolo) immediatamente sotto la spiga, provocando una colorazione marrone/violacea del tessuto staminale. I semi di grano duro infetti risultano avvizziti, di un colore opaco grigio. Se l'infezione si verifica in ritardo nello sviluppo della granella, questa potrà avere dimensioni normali, ma mostrerà un aspetto opaco o una decolorazione rosa.

L'inoculo principale di *Fusarium* sverna sui residui delle colture, come mais, frumento e orzo, e le mancate o ridotte lavorazioni del terreno possono aumentare l'accumulo dei residui e il livello di svernamento dell'inoculo. Diversi autori riportano che le condizioni propizie sono generalmente simili per tutti gli agenti patogeni: condizioni di elevata umidità durante la fioritura e l'inizio di sviluppo del seme (Birzele *et al.*, 2002; De Wolf *et al.*, 2003).

Diversi aspetti agronomici come l'applicazione di azoto, la rotazione delle colture, la lavorazione del terreno e la gestione delle stoppie possono influenzare la sopravvivenza e la riproduzione delle singole specie. L'aumento delle concimazioni azotate determina ad esempio un aumento della gravità di FHB e contaminazione da DON in grano, ciò è legato ad una maggiore densità della coltura ed all'alterazione del microclima (Lemmens *et al.*, 2004). Aratura e gestione delle stoppie assumono particolare importanza quando la coltura in precessione è grano o mais.

1.5.2 Il genere *Aspergillus*

Gli Aspergilli sono per lo più funghi saprofiti che svolgono un ruolo essenziale nei cicli ambientali di carbonio e azoto (Haines, 1995). Le specie appartenenti a tale genere sono presenti in tutti i suoli e residui vegetali ma prediligono gli ambienti caratterizzati da alti livelli di ossigeno, umidità e temperatura (Wicklow and Carroll, 1981). Formano importanti consorzi fungini in grado di degradare amido, emicellulosa, pectine e altri carboidrati. Il tasso più elevato di decomposizione si ottiene in presenza azoto e fosforo in condizioni non limitanti. In agricoltura gli aspergilli sono considerati un grosso problema per il deterioramento delle derrate alimentari in particolare in

presenza di elevata umidità. Alcune specie possono comportarsi sia da saprofiti che da patogeni nei confronti di numerose piante di interesse agrario e provocare danni sia in termini quantitativi che qualitativi associati alla produzione di micotossine. Le colture agricole maggiormente soggette ad attacco di *Aspergillus spp.* sono mais (Palencia *et al.*, 2010), soia, arachidi (Gibson, 1953), uva (Battilani *et al.*, 2004), caffè (Nartowicz *et al.*, 1979). La principale micotossina prodotta da alcune specie del genere *Aspergillus* è l'aflatossina, associata in passato a improvvise morti di massa di animali allevati e nutriti con cereali contaminati, in particolare polli e maiali (Hesseltine *et al.*, 1970). Oltre all'aflatossina, altre importanti micotossine prodotte da *Aspergillus spp.* sono sterigmatocistina, ocratossina e patulina. (Cole and Cox, 1981; Brase *et al.*, 2009).

1.5.3 Il genere *Trichoderma*

Trichoderma è un genere di funghi filamentosi ritrovabili generalmente in tutti i suoli, dalle foreste (Wardle *et al.*, 1993) ai suoli agrari (Roiger *et al.*, 1991). Vive generalmente come saprofita del terreno, sulle piante o come endofita (Petrini and Fisher, 1986). Anche se di facile adattamento alle diverse condizioni climatiche, Danielson & Davey (1973) riportarono per questo genere una forte preferenza, per l'habitat e la composizione in materia organica dei suoli forestali. La maggior parte delle specie appartenenti a questo genere sono considerate competitrici aggressive, in grado di occupare tutte le nicchie ecologiche.

Trichoderma spp. sono un efficace strumento di biocontrollo per molti patogeni del suolo (Kubicek *et al.*, 2001; Benítez *et al.*, 2004). Alcune specie sono in grado di indurre resistenza sistemica così come di promuovere la crescita vegetale (Harman *et al.*, 2004)). Il biocontrollo esercitato da *Trichoderma* deriva da meccanismi di antagonismo legati a competizione per i nutrienti, da rilascio di sostanze antibiotiche che bloccano la penetrazione del patogeno nella pianta o di enzimi litici associati al micoparassitismo (Ruiz-Herrera, 1992; Schirmböck *et al.*, 1994) che nello specifico rappresenta il principale meccanismo antagonistico di *Trichoderma*. (Kubicek *et al.*, 2001).

1.5.4 Il genere *Gliocladium*

Gliocladium è un genere cosmopolita, abbondante nei suoli soprattutto agrari dove è conosciuto come saprofita in grado di degradare differenti fonti di carbonio. Le specie del genere *Gliocladium* si conservano a lungo nel terreno sia nella rizosfera crescendo a spese della sostanza organica, sia sotto forma di conidi e clamidospore: i primi sono soggetti al potere fungistatico del terreno, che al contrario non influenza la germinazione delle clamidospore (Beagle-Ristaino and Papavizas, 1985; Papavizas, 1985). Il genere *Gliocladium* comprende diverse specie antagoniste di funghi fitopatogeni: *G. catenulatum*, *G. deliquescens*, *G. nigrovirens*, *G. roseum* e *G. virens*. Tra queste *G. roseum* e *G. virens* sono tra principali microrganismi impiegabili in lotta biologica (Papavizas, 1985; Luongo *et al.*, 2005).

In *G. virens*, pur essendo stata osservata attitudine parassitaria sia in vitro che in vivo (Tu and Vaartaja, 1981; Howell, 1982), si ritiene che l'antibiosi sia il meccanismo predominante nell'interazione con altri miceti (Howell, 1987). La specie è stata infatti ampiamente studiata per la capacità di produrre diversi metaboliti, alcuni dei quali risultano in grado di inibire la crescita miceliare dei funghi terricoli. L'elenco include composti di varia natura chimica, quali la gliotossina, la gliovirina, l'acido gliocladico, l'acido eptelidico o avocetina, la viridina, il viridiolo e la valinotricina (Lumsden *et al.*, 1992).

G. roseum è considerato un promettente agente di biocontrollo di *Fusarium head blight* e di micotossine nel frumento. Diversi autori e tra i più recenti Xue (2009) attribuiscono l'inibizione della crescita di *Fusarium graminearum* alla produzione da parte di *G. roseum* di sostanze diffusibili con effetto antifungino. Ulteriori studi sono in atto per valutare i meccanismi di antagonismo coinvolti e per identificare e purificare gli eventuali composti antifungini prodotti.

2 SCOPO DELLA TESI

Lo scopo di questo studio è stato quello di confrontare, nell'arco di un ciclo di rotazione delle colture completa della durata di tre anni, la struttura delle comunità fungine del suolo agrario di due aziende che a parità di rotazione adottano due differenti sistemi di conduzione: biologico e convenzionale. Una particolare l'interesse è stato rivolto ai patogeni micotossigeni e ai loro potenziali antagonisti

Più in dettaglio, il lavoro è stato articolato in tre parti:

- confronto fra i terreni delle due aziende mediante lo studio mirato di 4 generi fungini di interesse agrario (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Gliocladium*);
- studio ecologico della comunità fungina del suolo mediante compilazione di check-list delle specie;
- selezione e valutazione in vitro di eventuali antagonisti di *Fusarium graminearum*, agente causale dell' FHB nel frumento e di altre specie di *Fusarium* fitopatogene.

3 MATERIALI E METODI

3.1 L'ambiente agricolo

L'indagine è stata svolta in due siti:

- il Podere Biologico dell'Università di Padova, sito in agro di Padova, località Pozzoveggiani;
- Azienda Sperimentale Agraria "L. Toniolo" dell'Università di Padova, sita in agro di Legnaro (PD).

Il piano sperimentale ha previsto l'utilizzo di complessive sei parcelle, di cui tre coltivate secondo pratiche agronomiche convenzionali e tre coltivate secondo le pratiche agronomiche dell'agricoltura biologica. Ciascuna parcella è stata contrassegnata da un proprio codice identificativo: 51, 52, 53 per le tre parcelle coltivate nel sito 2 con pratiche convenzionali; 1D, 1E, 1F per le tre parcelle coltivate nel sito 1 con pratiche biologiche.

In entrambe i siti è stato rispettato un piano di rotazione triennale, le colture oggetto di rotazione sono state: frumento tenero, mais e soia.

coltura	semina	raccolta
mais	aprile	settembre
soia	aprile	ottobre
frumento	novembre	giugno

Tab. 3.1 – Periodo di semina e raccolta delle colture

3.2 Il campionamento

Sono stati eseguiti un totale di 9 campionamenti: 3 campionamenti l'anno, a cadenza stagionale ad eccezione dell'estate, per un periodo di tre anni, dalla primavera 2007 all'inverno 2009 per un totale di tre annate agrarie.

Calendario del campionamento

			Parcella Convenzionale			Parcella Biologico		
anno solare	meze solare	rif. camp.	51	52	53	1D	1E	1F
2007	aprile	Pri. 2007	F	M	S	S	M	F
	ottobre	Aut. 2007	F	M	S	S	M	F
2008	febbraio	Inv. 2007	F	F	S	S	F	F
	aprile	Pri. 2008	S	F	M	M	F	S
	ottobre	Aut. 2008	S	F	M	M	F	S
2009	febbraio	Inv. 2008	S	F	F	F	F	S
	aprile	Pri. 2009	M	S	F	F	S	M
	ottobre	Aut. 2009	M	S	F	F	S	M
2010	febbraio	Inv. 2009	F	S	F	F	S	F

Tab. 3.2 – Calendario dei campionamenti e rotazione colturale (F = frumento, M = mais, S = soia).

Poiché i residui colturali sono stati lasciati al suolo ed interrati sino alla semina della coltura successiva, nei campionamenti su terreno libero i residui colturali sono stati considerati al pari della coltura in campo,

Per entrambe le tesi, convenzionale e biologico, l'indagine ha riguardato:

- la determinazione qualitativa dei generi e delle specie fungine presenti nel terreno;
- per taluni generi alla determinazione qualitativa è seguita una determinazione semi-quantitativa;

3.3 Attività in campo

Da ciascun appezzamento è stato prelevato un campione di terreno avendo cura di rimuovere lo strato più superficiale (2- 3 cm) ed estraendo l'opportuna quantità di terra dai primi 15- 20 cm di profondità.

3.4 Attività in laboratorio

I campioni di terreno sono stati analizzati presso i laboratori di Patologia Vegetale del Dipartimento “Territorio e Sistemi Agro-Forestali” dell’Università di Padova, dove si è proceduto con le indagini sull’inoculo fungino presente nel terreno, utilizzando le tecniche tradizionali di coltivazione microbica in laboratorio, la procedura delle diluizioni progressive di sospensioni di terreno, il metodo del piastramento in superficie.

Per le colture di terreno sono stati utilizzati due substrati: PDA (Potato Dextrose Agar, substrato non selettivo) e AFPA (substrato selettivo per *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*), entrambi addizionati di streptomicina solfato a 50 ppm.

La sospensione di terreno da versare in piastra è stata ottenuta da ogni campione raccolto in campagna prelevando 50 g di terreno. Si è quindi proceduto alla miscelazione dei 50 g di terreno con 450 ml di acqua deionizzata, ottenendo così una diluizione (proporzione terreno : miscela) di 1 : 10 (10^{-2}). Da questa sono stati prelevati 50 ml che sono stati miscelati a 450 ml di acqua deionizzata. Si è proceduto in questo modo, fino all’allestimento in totale di 7 diluizioni scalari in base 10, dalla 10^{-1} alla 10^{-7} .

Per ogni diluizione (ad eccezione della 1:10 troppo ricca di terreno e soggetta a dar luogo a piastre eccessivamente cariche di microrganismi e quindi illeggibili) sono state piastrate 5 ripetizioni per tipo di substrato, per un totale di 60 piastre per campione. Da ogni diluizione sono stati prelevati con micropipetta e seminati 0,5 ml di sospensione di terreno per piastra. La sospensione è stata distribuita uniformemente nella piastra con un'apposita spatola di metallo. Le piastre sono state quindi chiuse con parafilm da laboratorio e poste in apposito locale, a temperatura ambiente. Tutte le operazioni sono state svolte in ambiente sterile protetto da una cappa a flusso verticale, per evitare contaminazioni esterne. Dopo 4-5 giorni di incubazione al buio a 25°C, si è proceduto con l'osservazione delle piastre, finalizzata sia alla caratterizzazione quanti-qualitativa dei generi *Fusarium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, che all' identificazione specifica di tutte le specie fungine

presenti Il frequente rinvenimento di un genere potenzialmente interessante quale *Gliocladium*, ha spinto ad estendere dall'inverno 2008 la ricerca qualitativa e semi-quantitativa anche a questo genere. Per quanto riguarda l'identificazione specifica, per ogni piastra le colonie morfologicamente differenti sono state isolate e si è proceduto a successivi reisolamenti, fino ad ottenere per ogni tipo di micelio una coltura in purezza.

Le varie colonie sono state indi sottoposte ad osservazioni, raggruppandole in tipologie, considerando in un'unica tipologia tutte quelle ritenute tra loro pressoché identiche nelle varie caratteristiche. Le varie osservazioni delle colture pure sono state condotte allo stereoscopio e/o al microscopio ottico per trasparenza, spesso previ trattamenti e/o allevamenti in condizioni selettive (sviluppo in alternanza di luce; a temperature differenti; su substrati selettivi, ecc.) per una induzione artificiale delle fruttificazioni.

Tramite le osservazioni allo stereoscopio, si è proceduto al rilievo di:

- pigmentazione della colonia, rilevata sia dalla parte superiore che dal rovescio della piastra;
- sviluppo ed aspetto della colonia. Micelio sommerso e/o aereo. Colonie piatte, aderenti al terreno, bombate, ondulate; con superficie regolare, eterogenea, disegni ed ornamenti particolari, come cerchi concentrici, settori circolari crateri e pieghe; aspetto opaco, vischioso, polverulento, vellutato, lanoso, fascicolato, infeltrito, fioccoso. Presenza sulla superficie di gocce d'essudati, limpide o colorate, localizzate nella parte centrale e/o marginalmente;
- fruttificazioni. Tipo degli apparati di moltiplicazione e loro disposizione sul substrato; colore e caratteristiche dell'apparato conidiogeno, suo modo di ramificarsi, disposizione dei conidi (isolati, in catene, a grappoli). Modo di apparire degli organi di riproduzione: singoli o con crescenti, isolati o raggruppati, ammassati, a catena, sferici, schiacciati, crateriformi, a forma irregolare.

Le osservazioni al microscopio ottico per trasparenza sono state rivolte a frammenti di micelio ed eventuali fruttificazioni, ife conidiogene, spore, conidi, ecc. Nel caso di corpi fruttiferi (es. picnidi), questi sono stati schiacciati sul vetrino portaoggetti per rilevare eventuali strutture ed ife interne e far fuoriuscire conidi o spore. La determinazione del genere e/o della specie di ciascuna tipologia fungina, è stata effettuata confrontando i caratteri macro e microscopici rilevati con tabelle, disegni e schemi riportati in testi di riferimento (Samson and Pitt, 1985; Barnett and Hunter, 1998; Hanlin, 1998; Watanabe, 2002; Leslie and Summerell, 2006) e con parametri utilizzati dal laboratorio di Patologia Vegetale del Dipartimento "Territorio e Sistemi Agro-Forestali" dell'Università di Padova.

3.5 Prove di antagonismo *in vitro*

Le prove di antagonismo sono state condotte *in vitro* ricorrendo a colture duali prendendo in considerazione come patogene le specie di *Fusarium* più ubiquitarie e frequenti nell'area di ricerca studiata. Per quanto riguarda gli antagonisti, sono stati utilizzati ceppi di *G. roseum* isolati dal suolo nel corso della sperimentazione.

3.5.1 Analisi dello sviluppo degli antagonisti a diverse temperature.

I ceppi di *G. roseum* sono stati saggiati per valutarne la crescita a differenti temperature. Per ciascun ceppo sono state effettuate 5 misure di crescita a 6 diverse temperature (6, 12, 18, 24, 30, 36 gradi centigradi).

3.5.2 Saggi di antagonismo *in vitro*

Con gli isolati di *G. roseum*, sono state allestite prove di antagonismo *in vitro*, simulando un confronto diretto tra patogeno ed antagonista, allo scopo di effettuare uno screening preliminare atto valutare le caratteristiche dei ceppi in funzione della loro capacità di inibire la crescita del patogeno. La capacità antagonistica è stata saggiata nei confronti di *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. sporotrichioides*.

Le colture duali sono state effettuate in capsule Petri di 15 cm di diametro, nelle quali, ad una distanza di 45 mm tra loro, sono stati inseriti 2 dischetti (4 mm di diametro) di micelio prelevati da una giovane colonia che aveva appena ricoperto la capsula Petri (dei due funghi posti a confronto). Le capsule così preparate venivano poi inserite nel termostato a 25°C per favorire la crescita dei funghi. La crescita è stata misurata mediante acquisizione delle immagini e software di analisi di immagine (AutoCAD 2008, Autodesk; CA, USA); al termine del periodo di incubazione si è rilevata l'area del micelio espressa in pixel da cui, per mezzo di un opportuno fattore di conversione, si è calcolata l'area in cm². A tale area, per ottenere il dato di crescita effettiva, si è sottratta l'area iniziale dell'inoculo, uguale in tutte le prove e pari a 0.38 cm².

3.6 Attività di sintesi ed organizzazione dei dati

3.6.1 Stima della densità fungina

Il MPN (Most Probable Number) è una forma specializzata del metodo dei tubi multipli ;utilizzata per stimare statisticamente senza conte dirette, la densità di organismi in un liquido. Questa proprietà lo rende idoneo all' impiego nei casi in cui è difficile rilevare direttamente la numerosità (numero di propaguli, CFU, numero di colonie, ecc.) del microrganismo mentre è facile rilevarne la presenza. Nella forma più semplice, il metodo fornisce quindi un'informazione del tipo presenza – assenza.

Il metodo fu ideato da W. G. Cochran (1950) e si basa su due assunzioni principali:

- che il liquido sia completamente miscelato, in modo che gli organismi siano distribuiti nel liquido stesso in modo completamente casuale;
- la certezza che se nel campione del liquido da analizzare sia presente almeno un individuo, questo, appositamente incubato, si sviluppi in modo evidente.

La tecnica dell'MPN è ritenuta idonea per l'analisi di acque con particolato in sospensione, di fanghi, sedimenti e sabbie (ISTISAN, 2004; Amador *et al.*, 2007).

In questo lavoro si è inizialmente adottato il calcolo sviluppato da Fisher & Yeates, ma una verifica eseguita nel corso del secondo anno di sperimentazione, ha evidenziato la presenza di errori riconducibili principalmente all'elevata incertezza nella determinazione dei valori tabellari da parte dell'operatore.

Calcolo secondo Fisher & Yeates

A partire dal numero di tubi fertili (positivi) per ciascun livello di diluizione, si è provveduto a calcolare il livello medio di fertilità, il livello medio di sterilità e da questi,(facendo riferimento alle tabelle di Fisher & Yates), si sono ricavati i valori delle costanti k da inserire nella formula, contenuta in un apposito foglio di calcolo (da tempo in uso presso il nostro laboratorio), per il calcolo del valore MPN vero e proprio e dei suoi limiti fiduciali. Quest'ultimo passaggio si è rivelato critico, sia per le difficoltà di estrapolazione del valore delle costanti da parte dell'operatore, sia per la presenza di nuove e più aggiornate tabelle per il calcolo.

Calcolo secondo Hurley & Roscoe

Tale metodo prevede, a partire dal numero di tubi fertili (positivi) per ciascun livello di diluizione, il calcolo del livello medio di fertilità, del livello medio di sterilità e da questi la stima della densità di microorganismi. Non prevede l'uso di valori tabulati ma il valore MPN viene calcolato iterativamente sino al raggiungimento di un valore costante, secondo il criterio di massima verosimiglianza.

Si è deciso di seguire il metodo di calcolo proposto da Hurley & Roscoe (1983) che in appendice, riporta il codice sorgente del programma BASIC. Si è provveduto quindi alla conversione del programma in linguaggio R ed alla sua verifica mediante riscontro con i risultati originalmente pubblicati.

3.6.2 Compilazione della check-list

Ad ogni campionamento è stata compilata una check-list di presenza delle specie determinate. I dati sono stati riepilogati per mezzo del software OpenOffice Calc, un foglio elettronico incluso nel pacchetto OpenOffice 3.1.1 (Copyright 2000 - 2009 Sun Microsystems Inc.).

Per l'analisi dei dati semi-quantitativi (MPN) si è inizialmente compilata una tabella globale che riporta, per ciascun campionamento, il numero di tubi fertili per diluizione per genere.

Successivamente i dati sono stati suddivisi in quattro tabelle, una per genere (*Fusarium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Gliocladium*), raggruppando i dati per data di campionamento e inserendo nuove variabili per riportare le informazioni relative alla coltura, al tipo di pratica agronomica (biologica o convenzionale) e alla parcella.

Queste tabelle sono state utilizzate come base per il calcolo degli MPN.

La valutazione dell' eventuale differenza tra tipo di pratica colturale (biologica e convenzionale), tra le diverse parcelle (tre per il biologico e tre per il convenzionale) tra diverse colture (mais, frumento, soia), tra i diversi anni e tra le stagioni è stata condotta mediante l'analisi dei valori di densità fungina, espressa come MPN calcolato con il metodo di Hurley-Roscoe. La valutazione è avvenuta a due livelli, per ciascuno dei quali è stata compilata una matrice:

- valutazione complessiva effettuata prendendo in considerazione, per ciascun campionamento, la somma dei valori MPN calcolati per i generi *Fusarium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*. Questa operazione è stata condotta assumendo che i tre generi siano

contemporaneamente presenti nel terreno alla densità rilevata e che quindi la somma di tali valori costituisca una stima, pur molto approssimativa, della densità fungina nel suolo. Da questa fase è stato escluso il genere *Gliocladium* perché non presente in tutti i campionamenti, essendo stato rilevato a partire dall'inverno 2008.

- valutazione per singolo genere, che vede incluso anche il genere *Gliocladium* in cui le variabili sono costituite da: genere, campionamento, parcella, densità fungina, coltura, pratica colturale, anno, stagione.

Per l'analisi delle comunità, poiché le specie sono state rilevate in forma qualitativa di presenza - assenza, i dati sono stati strutturati in una tabella in cui le specie sono riportate in riga e i rilievi in colonna.

I dati ottenuti dai censimenti sono stati inseriti in una serie di matrici così compilate:

matrice di 54 righe (casi, rilievi) per 104 colonne (5 variabili fattore e 99 gruppi sistematici, taxa)

Le variabili fattore considerate sono state: Stagione, Anno, Campionamento, Parcella, Tipo. Poiché i taxa sono stati rilevati come presenza/assenza, il dato è stato ricodificato rispettivamente in 1/0.

3.6.3 Analisi dei dati

Per la prima esplorazione dei dati si è fatto uso delle funzioni incluse in OpenOffice Calc; tutti i calcoli statistici successivi sono state effettuati mediante il software R, versione 2.9.2 (2009-08-24) e successive (R Development Core Team, 2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.), progettando ed eseguendo appositi script. Si è cercato, in tal modo, di applicare gli stessi calcoli su insiemi di dati analoghi in modo rapido ed evitando lunghe sessioni di lavoro al terminale.

In particolare:

- per il calcolo degli MPN secondo il metodo di Hurley-Roscoe è stato realizzato uno script che traduce in linguaggio R il listato riportato in appendice all'articolo in cui viene descritto il metodo;
- per il confronto fra i dati di stima della densità dei microorganismi ottenuti con il metodo di Fisher-Yeates e quello di Hurley-Roscoe è stato realizzato uno script che calcola le statistiche di base e l'analisi della concordanza fra metodi;

- per la valutazione della differenza tra tipo di coltivazione (biologico e convenzionale), tra diverse colture (mais, frumento, soia), tra i diversi anni e tra le stagioni è stato realizzato uno script che calcola le analisi statistiche di base, la verifica dell'applicabilità e, in caso di esito positivo, l'applicazione della classica ANOVA parametrica ad un fattore considerando la densità (MPN) come variabile dipendente dei diversi fattori (genere, parcella, coltura, pratica colturale, anno, stagione). Nel caso i vincoli di utilizzo di ANOVA non fossero rispettati si è fatto uso della Kruskal – Wallis ANOVA non parametrica;
- per l'analisi delle comunità è stato realizzato uno script che calcola le analisi statistiche di base, la cluster analysis con diverse misure di distanza / somiglianza abbinate a diversi algoritmi di legame e due tecniche di ordinamento multivariato, l'analisi delle coordinate principali (PCoA) e l'analisi delle corrispondenze (CA).

3.7 Metodi Statistici

Statistiche descrittive

Per ciascuna variabile è stato rilevato numero di casi validi, non validi e il totale; successivamente sono stati tracciati i diagrammi a barre delle classi di frequenza e calcolati gli opportuni indici statistici secondo la scala di misura:

- ambito di variazione: valore massimo, valore minimo, range di variazione.
- indici di posizione: media, mediana.
- indici di dispersione: deviazione standard, varianza, coefficiente di variazione.

In particolare per i fattori si è calcolata la frequenza assoluta, relativa e relativa cumulata di ogni livello e si è individuata la classe più frequente (moda). Ciascun fattore è stato considerato indipendentemente dagli altri.

Per le variabili misurate su scala ad intervalli o rapporti sono stati applicati i comuni metodi descrittivi, sia grafici (boxplots, istogrammi, barplots) che numerici (indici di posizione, di dispersione) e si è verificata l'aderenza alla distribuzione normale mediante gli opportuni test (es. Shapiro - Wilk, D'agostino) (Shapiro and Wilk, 1965).

Analisi della concordanza

Per confrontare due metodi di misura per una stessa quantità, o la comparabilità di due osservatori, generalmente si procede a confrontare i due metodi o serie di osservazioni eseguite da ciascun

operatore. Un coefficiente di concordanza misura l'accordo fra due variabili e serve per valutare la riproducibilità o l'affidabilità inter-sperimentatore o, ancora, l'affidabilità intra-sperimentatore. Attualmente sono in uso diverse tecniche, basate sul tracciamento di opportuni diagrammi, sul calcolo di indici numerici o di entrambi.

Tecniche grafiche:

1) diagramma di dispersione

Si disegna un diagramma di dispersione delle due serie di valori utilizzate come assi, tracciandone le rispettive medie e (opzionalmente) una retta a 45 gradi come riferimento. Se i punti sono ben allineati lungo la retta a 45 gradi, non vi sono differenze di accuratezza tra i due osservatori. Questo metodo ha lo svantaggio di non evidenziare differenze sistematiche fra i due osservatori, senza fornire indicazioni sulla direzione o sull'entità dell'inaccuratezza.

2) diagramma di dispersione delle coppie di osservazioni

Si disegna un diagramma di dispersione ponendo sull'asse delle ascisse il 'progressivo' dell'osservazione e sull'asse delle ordinate il valore dell'osservazione, differenziando le osservazioni effettuate da ciascun osservatore o con ciascun metodo. A supporto della valutazione può essere tracciata la media delle osservazioni e la zona compresa nell'intervallo delle deviazioni standard.

3) diagramma di Bland-Altman (metodo "Limits of Agreement" (LoA)).

Il metodo "Limits of Agreement" (LoA) di J. M. Bland e D. G. Altman (Altman and Bland 1983; Bland and Altman, 1986, 1995) è finalizzato alla verifica della comparabilità di due tecniche di misura. Il Bland-Altman plot nasce per confrontare due misure della stessa natura; è un diagramma di dispersione in cui sulle ordinate viene riportata la differenza delle due misure e sulle ascisse la misura di riferimento, ottenuta come media aritmetica delle due misure. Le linee orizzontali rappresentano la media delle differenze, e la media delle differenze ± 1.96 SD. La media delle differenze permette di stimare se una delle due metodiche sottostima o sovrastima l'indice rispetto all'altra, mentre le altre due righe costituiscono l'intervallo di confidenza. Se i punti del grafico sono all'interno delle due linee si considera che le due metodiche forniscano risultati congruenti, mentre i punti fuori dalle due linee sono casi in cui i due metodi non sono congruenti. In particolare, si può verificare che se la distribuzione delle differenze è gaussiana il 95% dei dati cade nell'area indicata. Questa tecnica si fonda sul principio che se le misure effettuate dai due operatori (o mediante i due metodi) sono equivalenti, la miglior stima della dimensione effettiva è rappresentata dalla media aritmetica delle due misure. Inoltre presenta il vantaggio che differenza e media delle misure sono grandezze tra loro indipendenti (nel senso di non correlate), pertanto se le differenze (valori y) si dispongono in modo casuale intorno alle medie (valori x), la media delle differenze fornisce una

stima della componente costante di inaccuratezza.

Tecniche numeriche

1) Krippendorff's Alpha

(ndr. reliability = attendibilità) Il coefficiente alfa di Krippendorff è una misura statistica dell'accordo raggiunto nella codifica di una variabile in una serie di unità. Fin dagli anni '70 è utilizzato nell'analisi dei contenuti testuali o nel counseling. Il coefficiente alfa di Krippendorff è l'estensione di alcune statistiche generalmente chiamate misure di accordo inter-osservatore, affidabilità inter-sperimentatore, affidabilità della codifica.

Il coefficiente alfa di Krippendorff è applicabile ad ogni numero di sperimentatori, ciascuno dei quali assegna un valore ad una unità sperimentale e si adatta a diverse numerosità campionarie. Le concordanze calcolate rendono comparabili osservazioni eseguite da diversi osservatori, con diverse metriche e dimensioni campionarie.

Test di ipotesi

Le metodologie di confronto fra le serie di dati sono state opportunamente scelte in funzione del tipo di variabili e della numerosità dei campioni.

Preliminarmente ad ogni test di confronto, in particolare per quelli di confronto fra medie di variabili continue si sono verificate le condizioni di applicabilità di analisi parametriche, (es. ANOVA, test t, ecc.) che devono essere:

- 1 - le osservazioni devono essere indipendenti;
- 2 - le osservazioni devono appartenere a popolazioni distribuite normalmente
- 3 - le popolazioni di origine devono avere la stessa varianza
- 4 - le variabili devono essere state misurate almeno su una scala ad intervalli.

Se questi requisiti non sono rispettati è più prudente applicare metodologie di analisi che non si basino sull'assunto che la distribuzione della variabile sia normale come i test non parametrici.

In tutti i test il livello di significatività alfa è stato prefissato a 0.05.

Verifica della normalità della distribuzione

Questo requisito si verifica mediante i test di normalità di una distribuzione (distribution fit). In questa sede è stato applicato il test di Shapiro-Wilk per verificare la normalità della distribuzione dei diversi gruppi in cui la variabile dipendente risulta divisa dal fattore di raggruppamento.

Test di Shapiro – Wilk

Il test di Shapiro-Wilk è un test per la verifica di ipotesi statistiche ed è considerato in letteratura uno dei test più potenti per la verifica della normalità, soprattutto per piccoli campioni. Venne introdotto nel 1965 da Samuel Shapiro e Martin Wilk.

La verifica della normalità avviene confrontando due stimatori alternativi della varianza: uno stimatore non parametrico basato sulla combinazione lineare ottimale della statistica d'ordine di una variabile aleatoria normale al numeratore, e il consueto stimatore parametrico, ossia la varianza campionaria, al denominatore.

Omogeneità delle varianze

Test di Levene

Il test di Levene è utilizzato per verificare l'uguaglianza statistica delle varianze di due campioni differenti. Infatti molti metodi di analisi statistica, soprattutto parametrici, assumono che le varianze delle popolazioni da cui provengono i campioni sono uguali.

Il test verifica l'ipotesi nulla che le varianze delle due popolazioni siano uguali.

Confronto fra mediane

Test di Kruskal – Wallis (ANOVA non parametrica)

Il test di Kruskal-Wallis confronta le mediane di due o più campioni per determinare se i campioni provengono da popolazioni differenti. Trova applicazione quando le distribuzioni dei campioni si rivelano non essere normali e/o le varianze campionarie sono differenti. Qualora venga utilizzato per il confronto fra le mediane di due gruppi, il risultato ottenuto è identico a quello restituito dal test U di Mann – Whitney.

Se si confrontano più di due gruppi, nel caso in cui si riscontrasse una differenza significativa, analogamente a quanto avviene per ANOVA, il test non consente di individuare quale coppia di gruppi la produca, constatando solo che c'è differenza fra il valore maggiore e quello minore delle mediane dei gruppi considerati. L'indagine può essere approfondita determinando quali coppie di mediane differiscono significativamente mediante un test di confronto multiplo non parametrico.

Nel presente lavoro tale test è stato utilizzato per il confronto fra le mediane delle serie di dati relativi ai due metodi di calcolo delle densità fungine, poiché la loro distribuzione non è normale e la varianza non si presenta omogenea.

Confronto fra medie

ANOVA

L'analisi della varianza (ANOVA) è un insieme di tecniche statistiche facenti parte della statistica inferenziale che permettono di confrontare due o più gruppi di dati di una variabile dipendente individuati da uno o più fattori, le variabili indipendenti, solitamente di tipo nominale od ordinale. Il confronto avviene rapportando la variabilità interna a questi gruppi con la variabilità tra i gruppi. Se il rapporto non è statisticamente diverso da uno si può concludere che i gruppi di dati provengono dalla stessa popolazione e che quindi anche le loro medie non differiscono significativamente.

L'ipotesi nulla solitamente prevede che i dati di tutti i gruppi abbiano la stessa origine, ovvero la stessa distribuzione normale e le loro varianze siano confrontabili e che le differenze osservate tra i gruppi siano dovute solo al caso.

Analisi multivariata

Per analisi multivariata s'intende un'analisi in cui diverse variabili descrivono in termini quantitativi o qualitativi una serie di oggetti o entità rappresentati da rilievi.

Questo tipo di analisi è in grado di fornire un quadro descrittivo della realtà consentendo interpretazioni valide dal punto di vista probabilistico. Tali interpretazioni individuano una realtà che si riferisce all'universo dei dati raccolti, e non all'universo reale. Aumentando le variabili descrittive e il numero dei campionamenti, ci si avvicina sempre più ad una rappresentazione verosimile della realtà che si desidera indagare.

Le interpretazioni servono perciò all'individuazione di relazioni funzionali che possono esistere tra le varie componenti del sistema ambientale e che possono essere successivamente formalizzate al fine di creare modelli per la simulazione degli eventi reali in vista di una gestione ottimale dei sistemi ambientali.

L'analisi multivariata introduce concetti come somiglianza e differenza tra oggetti, correlazione tra le variabili. I dati stessi, ricavati dai campionamenti, devono essere organizzati in strutture matriciali di m righe per n colonne, in cui il valore sulla i -esima riga e sulla j -esima colonna indica la quantità della i -esima variabile nel j -esimo oggetto.

Le metodologie utilizzate nell'analisi multivariata si basano su concetti di classificazione e di ordinamento degli oggetti e delle variabili esaminate (Feoli *et al.*, 1982).

Tali concetti partono dai presupposti che seguono:

- la classificazione impone un ordine della struttura dei dati al fine di definire delle tipologie e ricercare diversità tra le tipologie stesse;

- l'ordinamento parte da un'esaltazione del caos della struttura dei dati per ricercare un ordine reciproco tra i componenti del sistema.

La classificazione dei dati viene indicata con il termine “cluster analysis”, di cui il dendrogramma o diagramma ad albero è la soluzione grafica. Il metodo consiste nel calcolare la somiglianza tra gli oggetti o le variabili della matrice, presi a coppie per ottenere una matrice di distanze da cui ottenere il dendrogramma.

L'ordinamento si propone di disporre gli oggetti che definiscono la struttura dei dati in uno spazio analitico in modo da stabilire i reciproci rapporti di vicinanza / distanza nello spazio e di identificare delle probabili tendenze di variazione della struttura dei dati stessi. I metodi di ordinamento si basano su uno spazio di dimensioni ridotte definito mediante un sistema di assi, che sono combinazioni lineari di tutte le variabili originarie.

3.8 Metodi di classificazione

Per il calcolo della distanza fra coppie di rilievi si è preferito far uso di coefficienti di distanza asimmetrici, il cui uso è da preferirsi nel caso di liste di specie derivate da osservazioni di campo in cui la rappresentatività del campione non è del tutto certa. In questi casi, zero si deve intendere come mancanza di informazione piuttosto che come assenza o come valore nullo di una variabile.

Distanza di Jaccard

il coefficiente di Jaccard non tiene conto delle assenze. La distanza tra due rilievi è calcolata per mezzo della seguente formula:

$$S_{jk} = a / (a+b+c)$$

a = numero di specie in comune; b = specie presenti solo nel rilievo j; c = specie presenti solo nel rilievo k;

e corrisponde quindi al rapporto fra concordanze e numero di elementi non nulli dei vettori-osservazione.

Distanza di Sørensen

Rispetto al coefficiente di Jaccard, il coefficiente di Sørensen attribuisce un peso doppio alle concordanze. Nel caso del confronto fra liste di specie, che rappresenta il tipico ambito di applicazione di queste misure di similarità, esso enfatizza il criterio di asimmetria assegnando un

peso doppio ai casi di co-presenza. Questi ultimi rappresentano, come è evidente, i soli casi certi di concordanza a causa della natura aleatoria del dato di assenza, che spesso è dovuto al sottodimensionamento del campione prelevato.

La distanza tra due rilievi è calcolata per mezzo della formula :

$$S_{jk} = 2a / (2a + b + c)$$

a = numero di specie in comune; b = specie presenti solo nel rilievo j; c = specie presenti solo nel rilievo k;

Somiglianza fra specie

Coefficiente di associazione di Pearson per dati binari. È la trasformazione del coefficiente di correlazione. Su ciascuna matrice triangolare delle distanze fra rilievi sono state applicate le tecniche in cui il dendrogramma di classificazione è stato determinato in base a diversi algoritmi di legame: *legame completo*, *legame medio*, *legame di Ward*, scegliendo di volta in volta quello che presenta una più evidente separazione fra i gruppi.

Sulla matrice triangolare di somiglianza fra le specie, costruita applicando il coefficiente di associazione di Pearson per dati binari, sono state applicate le tecniche in cui il dendrogramma di classificazione è stato determinato in base a diversi algoritmi di legame: *legame completo*, *legame medio*, scegliendo di volta in volta quello che presenta una più evidente separazione fra i gruppi.

3.9 Metodi di ordinamento

E' stato utilizzato il metodo delle coordinate principali o PCoA (Principal Coordinates Analysis), che consente di rappresentare gli oggetti, nello spazio degli autovalori calcolati in base alle variabili, anche se queste sono espresse in forma binaria come nel presente caso. Nel campo della ricerca ecologica, infatti, non sempre gli insiemi di dati posseggono le proprietà necessarie ad una corretta applicazione della più potente Analisi delle Componenti Principali (Scardi, 2009).

Un caso tipico è quello di una lista di specie osservate in un certo numero di campioni: spesso l'informazione è espressa mediante una codifica binaria (presenza/assenza) ed anche nei casi in cui sono disponibili le abbondanze, queste ultime non sono certamente distribuite in modo normale.

Inoltre, il numero di zeri, cioè di assenze di specie dai campioni esaminati, è molto spesso superiore al numero dei valori non nulli. In questi casi esistono numerose misure di similarità e/o di distanza che si prestano a rappresentare al meglio le relazioni fra gli oggetti (campioni) (Legendre and

Legendre, 1998).

L'ordinamento degli oggetti viene rappresentato nello spazio definito da una qualsiasi matrice di distanza o di similarità, calcolata sui dati originari, a condizione che essa goda di tutte le proprietà metriche. Tale tecnica ha la proprietà di preservare meglio le distanze originali fra gli oggetti nello spazio ridotto definito dagli assi principali (Legendre and Legendre, 1998).

4 RISULTATI DELLA COMUNITA'

4.1 Analisi della comunità – visione di insieme

Complessivamente sono stati rilevati 99 taxa.

Il totale di rilievi in cui compare ciascuna specie esprime la frequenza con cui la specie è stata rinvenuta assumendo che rispecchi la sua abbondanza.

Per ciascun taxon è stata calcolata la frequenza assoluta, la frequenza relativa (espressa in %) e l'appartenenza ad una specifica classe di frequenza.

Frequenza Relativa	Classe di frequenza
$80 < Fr \leq 100$	Molto alta
$60 < Fr \leq 80$	alta
$40 < Fr \leq 60$	media
$20 < Fr \leq 40$	scarsa
$0 < Fr \leq 20$	rara

N.B. Si assume che frequenza zero rappresenti la specie assente.

Si riporta la tabella della frequenza nei rilievi di ciascuna specie.

Taxa	Freq Ass.	Freq Rel (%)	Classe Freq
<i>Trichoderma hamatum</i> (Bonorden) Bainier	51	94.44	molto alta
<i>Trichoderma virens</i> Rifai	48	88.89	molto alta
<i>Mucor circinelloides</i> (Hagem) Schipper	47	87.04	molto alta
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresenius) de Vries	42	77.78	alta
<i>Gliocladium roseum</i> (Link) Schroes	42	77.78	alta
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	40	74.07	alta
<i>Fusarium solani</i> (Berk. & Broome) Samuels & Rossman	37	68.52	alta
<i>Mortierella elongata</i> Linnem	34	62.96	alta
<i>Paecilomyces inflatus</i> Burnside) Carmichael	34	62.96	alta
<i>Trichoderma viride</i> Pers. Ex S.F. Gray	34	62.96	alta
<i>Cylindrocarpon destructans</i> (Zinssm.) Scholten	32	59.26	media
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze:Fries	31	57.41	media
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	31	57.41	media
<i>Scytalidium lignicola</i> Pesante	31	57.41	media
<i>Alternaria alternata</i> (Fries) von Kessler	29	53.70	media
<i>Humicola tainanensis</i> Watanabe	28	51.85	media
<i>Aspergillus niger</i> van Tiegham	27	50.00	media
<i>Cylindrocladium camelliae</i> Venkataram	27	50.00	media
<i>Fusarium oxisporum</i> Schlecht	25	46.30	media
<i>Verticillium dahliae</i> Würzburg	24	44.44	media
<i>Chaetomium funicola</i> Cooke	20	37.04	scarsa
<i>Aspergillus flavus</i> Link:Fries	19	35.19	scarsa
<i>Fusarium culmorum</i> Saccardo	17	31.48	scarsa
<i>Fusarium verticillioides</i> Nirenberg	17	31.48	scarsa
<i>Penicillium oxalicum</i> Currie & Thom	17	31.48	scarsa
<i>Aspergillus clavatus</i> Desmazières	16	29.63	scarsa
<i>Cladosporium herbarum</i> (Persoon) Link	16	29.63	scarsa
<i>Pythium echinulatum</i> Matthews	16	29.63	scarsa
<i>Oidiodendron cerealis</i> (Thüm.) G.L. Barron	15	27.78	scarsa
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	15	27.78	scarsa
<i>Scopulariopsis asperula</i> (Saccardo) S. Hughes	14	25.93	scarsa
<i>Mortierella isabellina</i> Qudemans	13	24.07	scarsa
<i>Phytophthora capsici</i> Leonian	13	24.07	scarsa
<i>Gliocladium catenulatum</i> Gilman and Abbot	12	22.22	scarsa
<i>Penicillium glaucum</i> Link	12	22.22	scarsa

<i>Aureobasidium sp.</i>	11	20.37	scarsa
<i>Chaetomium torulosum</i> Bainier	11	20.37	scarsa
<i>Phoma sp.</i>	11	20.37	scarsa
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	10	18.52	rara
<i>Fusarium graminearum</i> Schwabe	10	18.52	rara
<i>Penicillium corylophilum</i> Thom	10	18.52	rara
<i>Phomopsis phaseoli</i> (Desmazières) Saccardo	10	18.52	rara
<i>Myrothecium cinctum</i> (Corda) Saccardo	9	16.67	rara
<i>Pythium sp.</i>	8	14.81	rara
<i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn	8	14.81	rara
<i>Stachybotrys elegans</i> (Pidoplichko) W. Gams	8	14.81	rara
<i>Bipolaris sp</i>	7	12.96	rara
<i>Cladosporium macrocarpon</i> Preuss	7	12.96	rara
<i>Fusarium roseum</i> Link	7	12.96	rara
<i>Paecilomyces farinosus</i> Samson	7	12.96	rara
<i>Phialophora atrovirens</i> Schol-Schwarz	7	12.96	rara
<i>Aspergillus melleus</i> Yukawa	6	11.11	rara
<i>Chrysosporium sp.</i>	6	11.11	rara
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	6	11.11	rara
<i>Trichoderma atroviride</i> Rifai	6	11.11	rara
<i>Wiesneriomyces cfr. javanicus</i>	6	11.11	rara
<i>Acremonium strictum</i> W. Gams	5	9.26	rara
<i>Fusarium subglutinans</i> Wollenw. & Reinking	5	9.26	rara
<i>Phytophthora megasperma</i> Drechsler	5	9.26	rara
<i>Pyrenochaeta sp.</i>	5	9.26	rara
<i>Acremonium sp.</i>	4	7.41	rara
<i>Nigrospora sp.</i>	4	7.41	rara
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> Wize	4	7.41	rara
<i>Paecilomyces roseolus</i> Samson	4	7.41	rara
<i>Rhizopus sp.</i>	4	7.41	rara
<i>Sthemphylium sp.</i>	4	7.41	rara
<i>Trichoderma pseudokoningii</i> Rifai	4	7.41	rara
<i>Verticillium lecanii</i> (Zimm.) Viègas	4	7.41	rara
<i>Verticillium nigrescens</i> Pethybridge	4	7.41	rara
<i>Volutella sp</i>	4	7.41	rara
<i>Fusarium proliferatum</i> (Matsush.) Nirenberg	3	5.56	rara
<i>Fusarium pseudograminearum</i> O'Donnell	3	5.56	rara
<i>Humicola dimorphospora</i> Roxon & S.C. Jong	3	5.56	rara

<i>Microsphaeropsis cfr. hohn</i>	3	5.56	rara
<i>Spiromyces sp.</i>	3	5.56	rara
<i>Verticillium nubilum</i> Pethybridge	3	5.56	rara
<i>Verticillium tenerum</i> Nees	3	5.56	rara
<i>Aspergillus awamori</i> Nakazawa	2	3.70	rara
<i>Fusarium tricinctum</i> (Corda) Sacc.	2	3.70	rara
<i>Gonatobotrys s.p</i>	2	3.70	rara
<i>Monilia pruinosa</i> Cooke & Massee	2	3.70	rara
<i>Mucor microsporus</i> Cooke & Massee	2	3.70	rara
<i>Oedocephalum sp.</i>	2	3.70	rara
<i>Paecilomyces variabilis</i> G.L. Barron	2	3.70	rara
<i>Paecilomyces victoriae</i> Szilvinyi	2	3.70	rara
<i>Pythium ultimum</i> Trow	2	3.70	rara
<i>Syncephalastrum sp.</i>	2	3.70	rara
<i>Anixiella reticulata</i> (C. Booth & Ebben) Cain	1	1.85	rara
<i>Aspergillus caespitosus</i> Raper & Thom	1	1.85	rara
<i>Cylindrocladium sp.</i>	1	1.85	rara
<i>Fusarium sporotrichioides</i> Sherb.	1	1.85	rara
<i>Heterocephalum sp.</i>	1	1.85	rara
<i>Hyphodiscosia radicicola</i> Ts. Watan.	1	1.85	rara
<i>Kickxella sp.</i>	1	1.85	rara
<i>Paecilomyces cfr. javanicus</i>	1	1.85	rara
<i>Phialophora malorum</i> McColloch	1	1.85	rara
<i>Pythium afertile</i> Kanouse & T. Humphrey	1	1.85	rara
<i>Ulocladium sp.</i>	1	1.85	rara
<i>Zopfiella cfr latipes</i>	1	1.85	rara

Tab. 4.1 Ordinamento discendente delle specie in base alla frequenza relativa con cui sono state rinvenute.

La maggior frequenza assoluta appartiene alla specie *Trichoderma hamatum*.

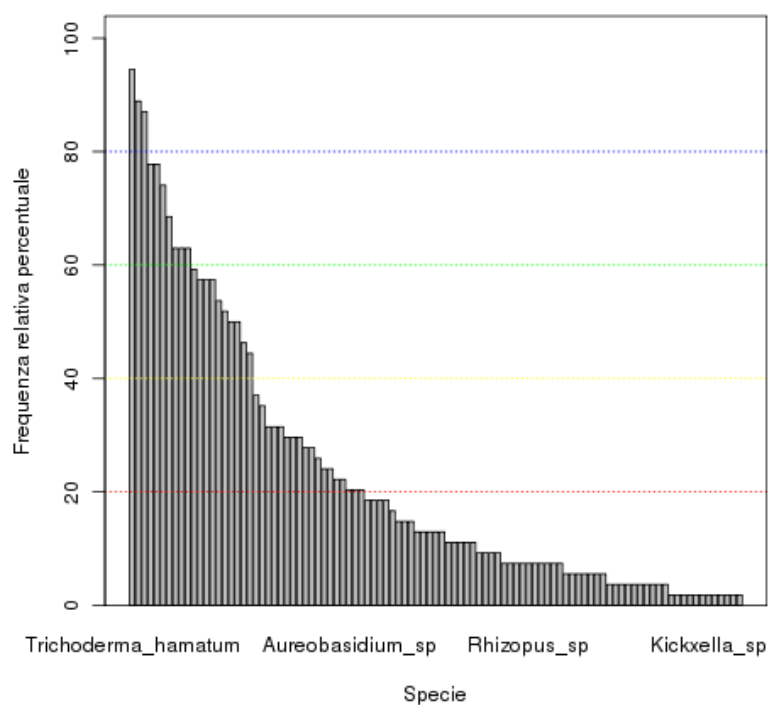


Grafico 4.1. Diagramma a barre della frequenza relativa percentuale delle specie.

La maggior frequenza 93.33 % appartiene alla specie *Trichoderma hamatum*.

Classe di presenza	Numero di taxa	Frequenza relativa
molto alta	3	3.03
alta	7	7.07
media	10	10.10
scarsa	18	18.18
rara	61	61.62
Totale	99	100.00

Tab. 4.2: sintetica della frequenza dei taxa per classe di presenza.

$$\text{Frequenza_relativa} = (\text{Numero_taxa} / \text{totale dei taxa individuati})$$

Odum (1988) afferma che “... *Del numero totale di specie in una struttura trofica od in una comunità, soltanto una percentuale relativamente piccola di specie è abbondante o dominante (caratterizzata da un notevole numero d’individui, da un’elevata biomassa o da elevato valore di un*

altro carattere che ne definisce l'“importanza”), mentre una percentuale piuttosto elevata è costituita da specie rare (che hanno un piccolo valore di “importanza”). ... Avere poche specie dominanti o comuni con un grosso numero di individui assieme a specie rare, che hanno un piccolo numero di individui ciascuna, è un modello caratteristico delle comunità alle più alte latitudini e nelle zone tropicali con periodicità stagionale (stagioni umide – secche) ”.

Assumendo che la frequenza con cui è stata rilevata una certa specie fungina rispecchi la sua abbondanza, in altre parole che una specie abbondante abbia, nel presente studio, avuto effettivamente maggiori probabilità di essere trovata in un campione di terreno rispetto ad una poco abbondante, la tabella sintetica della frequenza dei taxa per classe di presenza mostra come la distribuzione delle specie nella comunità aderisca al modello illustrato da Odum.

4.1.1 Numero di specie per stagione

	Autunno	Inverno	Primavera
Numero di contatti	400	309	501

Il maggior numero di specie è stato riscontrato in primavera (501), il minore in inverno (309).

La differenza tra la mediana del numero di specie in ciascuna stagione è stata testata statisticamente mediante Kruskal – Wallis ANOVA, con ipotesi H0 di uguaglianza. L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi individuati dal fattore Stagione non sono significativamente differenti ($p = 0.3679$).

4.1.2 Numero di specie per anno

	2007	2008	2009
Numero di contatti	430	468	312

La differenza tra la mediana del numero di specie in ciascuna annata è stata testata statisticamente mediante Kruskal – Wallis ANOVA, con ipotesi H0 di uguaglianza. L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi individuati dal fattore Anno non sono significativamente differenti ($p = 0.3679$).

4.1.3 Numero di specie per campionamento

	<i>01_Pri_2007</i>	<i>02_Au_t_2007</i>	<i>03_Inv_2007</i>	<i>04_Pri_2008</i>	<i>05_Au_t_2008</i>	<i>06_Inv_2008</i>	<i>07_Pri_2009</i>	<i>08_Au_t_2009</i>	<i>09_Inv_2009</i>
Numero contatti	178	142	110	178	142	148	145	116	51

Il maggior numero di specie è stato riscontrato nel campionamento 01_Pri_2007 (178) il minore nel campionamento 09_Inv_2009 (51).

La differenza tra la mediana del numero di specie in ciascun campionamento è stata testata statisticamente mediante Kruskal – Wallis ANOVA, con ipotesi H0 di uguaglianza. L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 9 gruppi individuati dal fattore Campionamento non sono significativamente differenti ($p = 0.4335$).

4.1.4 Numero di specie per parcella

	<i>51</i>	<i>52</i>	<i>53</i>	<i>d</i>	<i>e</i>	<i>f</i>
Numero contatti	182	153	202	201	224	248

Il maggior numero di specie è stato riscontrato nella parcella 'f' (248) il minore nella parcella '52' (153). La differenza tra la mediana del numero di specie in ciascuna parcella è stata testata statisticamente mediante Kruskal – Wallis ANOVA, con ipotesi H0 di uguaglianza. L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 6 gruppi individuati dal fattore parcella non sono significativamente differenti ($p = 0.4159$).

4.1.5 Numero di specie per pratica agronomica

	<i>biologico</i>	<i>convenzionale</i>
Numero contatti	673	537

La differenza tra la mediana del numero di specie in ciascuna tipologia colturale è stata testata statisticamente mediante Kruskal – Wallis ANOVA, con ipotesi H0 di uguaglianza. L'ipotesi H0

viene accettata. Le mediane dei 2 gruppi individuati dal fattore pratica agronomica non sono significativamente differenti ($p = 0.3173$).

	Complessivo (54 ril)		Biologico (27 ril)		Convenzionale (27 ril)	
Classe di presenza	Numero di taxa	Frequenza relativa	Numero di taxa	Frequenza relativa	Numero di taxa	Frequenza relativa
molto alta	3	3.03	4	4.34	4	5.13
alta	7	7.07	3	3.26	6	7.69
media	10	10.10	17	18.48	12	15.38
scarsa	18	18.18	23	25.00	8	10.26
rara	61	61.62	45	48.92	48	61.54
Totale	99	100.00	92	100.00	78	100.00

Tab. 4.3: Riepilogativo dei taxa e loro frequenze nei due sistemi di conduzione

Dalla tabella 4.3 si nota il diverso numero di taxa nei due tipi di conduzione, maggiore e non molto diverso dal valore complessivo (92) nel biologico; decisamente inferiore (78) nel convenzionale.

Il test chi quadrato di Pearson eseguito sul numero di taxa complessivo, biologico e convenzionale non evidenzia differenze significative fra le classi di presenza delle specie.

Anche ripetendo l'analisi considerando solo biologico e convenzionale non si evidenziano differenze significative ($p=0.080$) ma in questo caso il valore di probabilità è prossimo alla soglia di significatività. Ciò è dovuto alla differente numerosità delle due classi intermedie.

Nessun confronto ha dato esito statisticamente significativo. Il numero di contatti non è sufficiente a far emergere differenze fra le comunità. E' necessario cercare di individuare tali differenze sulla base della conoscenza della biologia delle singole specie. In questa sede, tenuto conto degli scopi del lavoro, si è scelto di indagare per prime le specie caratterizzanti le diverse pratiche agronomiche.

Nei rilievi riguardanti le parcelle coltivate secondo la pratica biologica le specie riscontrate con maggior frequenza (26 su 27) sono *G. roseum*, *Mucor circinelloides*, *Trichoderma hamatum*. Nei rilievi riguardanti le parcelle coltivate secondo la pratica convenzionale le specie con maggior frequenza (26 su 27) sono *Trichoderma virens* e *Cladosporium cladosporioides*.

4.2 Specie caratterizzanti le due tipologie agronomiche

Nel biologico sono state rilevate 21 specie esclusive, mentre nel convenzionale 7; inoltre la pratica colturale di tipo biologico presenta un numero di specie caratterizzanti tre volte superiore al convenzionale, anche se trovate sporadicamente.

Nella tabella 4.4 si riportano le specie, (con il rispettivo numero di volte in cui ciascuna specie è stata rinvenuta), presenti nel convenzionale ma non nel biologico e viceversa.

Specie	Frequenza nei rilievi	
	biologico	convenzionale
<i>Anaxiella reticulata</i>	0	1
<i>Aspergillus awamori</i>	0	2
<i>Fusarium proliferatum</i>	0	3
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	0	3
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	0	1
<i>Pythium ultimum</i>	0	2
<i>Zopfiella cfr. latipes</i>	0	1
<i>Paecilomyces farinosus</i>	7	0
<i>Trichoderma atroviride</i>	6	0
<i>Wiesneriomyces cfr. javanicus</i>	6	0
<i>Nigrospora sp</i>	4	0
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	4	0
<i>Rhizopus sp.</i>	4	0
<i>Verticillium nigrescens</i>	4	0
<i>Humicola dimorphospora</i>	3	0
<i>Verticillium tenerum</i>	3	0
<i>Mucor microsporus</i>	2	0
<i>Oedocephalum sp.</i>	2	0
<i>Syncephalastrum sp.</i>	2	0
<i>Aspergillus caespitosus</i>	1	0
<i>Cylindrocladium sp.</i>	1	0
<i>Heterocephalum sp.</i>	1	0
<i>Hyphodiscosia radicicola</i>	1	0
<i>Kickxella sp.</i>	1	0
<i>Paecilomyces cfr. javanicus</i>	1	0
<i>Phialophora malorum</i>	1	0
<i>Pythium afertile</i>	1	0
<i>Ulocladium sp.</i>	1	0
Numero di specie	21	7

Tab. 4.4 Frequenze delle specie caratterizzanti per i due sistemi di conduzione

4.3 Frequenza delle specie di interesse

Specie	Frequenza relativa	
	Biologico	Convenzionale
<i>Gliocladium roseum</i>	96,30	59,26
<i>Trichoderma hamatum</i>	96,30	92,59
<i>Trichoderma virens</i>	81,48	96,30
<i>Fusarium solani</i>	51,85	85,19
<i>Fusarium oxysporum</i>	51,85	40,74
<i>Trichoderma viride</i>	59,26	66,67
<i>Aspergillus niger</i>	48,15	51,85
<i>Trichoderma harzianum</i> **	48,15	7,41
<i>Aspergillus flavus</i>	29,63	40,70
<i>Aspergillus terreus</i>	29,63	7,41
<i>Fusarium culmorum</i>	25,93	37,04
<i>Aspergillus clavatus</i>	22,22	37,04
<i>Fusarium graminearum</i>	22,22	14,81
<i>Fusarium culmorum</i>	25,93	37,04
<i>Gliocladium catenulatum</i>	22,22	22,22
<i>Trichoderma atroviride</i> **	22,22	0,00
<i>Aspergillus melleus</i>	18,52	3,70
<i>Fusarium verticillioides</i>	18,52	44,44
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	11,11	3,70
<i>Fusarium subglutinans</i>	7,41	11,11
<i>Fusarium proliferatum</i> **	0,00	11,11
<i>Fusarium pseudograminearum</i> **	0,00	11,11

Tab. 4.5: Frequenze delle specie appartenenti ai quattro genere di interesse

* differenza altamente significativa ($p < 0.05$), ** differenza altamente significativa ($p < 0.01$)

4.4 Frequenza di patogeni, antagonisti e saprofiti non d'interesse

	Patogeni			Antagonisti	
	Frequenza rel.			Frequenza rel.	
Specie	Biol	Conv	Specie	Biol	Conv
<i>Mucor circinelloides</i>	96,30	77,78	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	59,26	96,30
<i>Mucor hiemalis</i>	74,07	74,07	<i>Epicoccum nigrum</i>	59,26	55,56
<i>Cylindrocarpon destructans</i>	59,26	59,26	<i>Scytalidium lignicola</i>	59,26	55,56
<i>Alternaria alternata</i>	59,26	48,15	<i>Chaetomium globosum</i>	51,85	62,96
<i>Verticillium dahliae</i>	48,15	40,74	<i>Penicillium oxalicum</i>	44,44	18,52
<i>Cladosporium herbarum</i>	44,44	14,81	<i>Chaetomium funicola</i>	48,15	25,93
<i>Pythium echinulatum</i>	29,63	29,63	<i>Chaetomium torulosum</i> *	33,33	7,41
<i>Aureobasidium sp.</i>	25,93	14,81	<i>Paecilomyces farinosus</i> **	25,93	0,00
<i>Penicillium corylophilum</i>	25,93	11,11	<i>Stachybotrys elegans</i> **	25,93	3,70
<i>Phoma sp.</i>	25,93	14,81	<i>Myrothecium cinctum</i>	22,22	11,11
<i>Penicillium glaucum</i>	22,22	22,22	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> **	14,81	0,00
<i>Phomopsis phaseoli</i>	22,22	14,81	<i>Acremonium strictum</i>	11,11	7,41
<i>Phytophthora capsici</i>	22,22	25,93	<i>Phialophora atrovirens</i>	11,11	14,81
<i>Bipolaris sp</i>	18,52	7,41	<i>Verticillium tenerum</i> **	11,11	0,00
<i>Rhizoctonia solani</i>	18,52	11,11	<i>Acremonium sp.</i>	7,41	7,41
<i>Nigrospora sp.</i> **	14,81	0,00	<i>Microsphaeropsis cfr. hohn</i>	7,41	3,70
<i>Pyrenocheta sp.</i>	14,81	3,70	<i>Sthempylum sp.</i>	7,41	7,41
<i>Verticillium nigrescens</i> **	14,81	0,00			
<i>Penicillium chrysogenum</i>	11,11	11,11			
<i>Verticillium lecanii</i>	11,11	3,70			
<i>Phytophthora megasperma</i>	7,41	11,11			
<i>Verticillium nubilum</i>	7,41	3,70			
<i>Pythium ultimum</i> **	0,00	7,41			

Tab. 4.6: Frequenze delle specie riconosciute patogene o antagoniste, non appartenenti ai generi di interesse

* differenza altamente significativa ($p < 0.05$), ** differenza altamente significativa ($p < 0.01$)

	Saprofiti	
	Frequenza relativa	
Specie	Biol	Conv
<i>Mortierella elongata</i>	62,96	62,96
<i>Paecilomyces inflatus</i>	62,96	62,96
<i>Humicola tainanensis</i>	59,26	44,44
<i>Cylindrocladium camelliae</i>	44,44	55,56
<i>Mortierella isabellina</i>	37,04	11,11
<i>Scopulariopsis asperula</i>	37,04	14,81
<i>Oidiodendron cerealis</i>	33,33	22,22
<i>Wiesneriomyces cfr.javanicus</i> **	22,22	0,00
<i>Chrysosporium</i> sp.	18,52	3,70
<i>Pythium debaryanum</i>	18,52	11,11
<i>Cladosporium macrocarpon</i>	14,81	11,11
<i>Rhizopus</i> sp. **	14,81	0,00
<i>Humicola dimorphospora</i> **	11,11	0,00
<i>Paecilomyces roseolus</i>	11,11	3,70
<i>Volutella</i> sp.	7,41	7,41
<i>Mucor microsporus</i> **	7,41	0,00
<i>Oedocephalum</i> sp. **	7,41	0,00
<i>Syncephalastrum</i> sp. **	7,41	0,00
<i>Spiromyces</i> sp.	3,70	7,41

Tab. 4.7: Frequenze delle specie saprofiti non appartenenti ai quattro genere di interesse

* differenza altamente significativa ($p < 0.05$), ** differenza altamente significativa ($p < 0.01$)

4.5 Analisi multivariata

Cluster analysis dei rilievi (Distanza di Sørensen e legame di Ward)

Si notano 4 gruppi (a partire da sinistra)

- gruppo 1: parte dei rilievi del 2007 e parte del 2008, in particolare quelli primaverili, distinti da un elevato numero di specie (da 18 a 37 specie rilevate, con dominanza di valori alti);
- gruppo 2: tutti i rilievi di questo gruppo appartengono all'inverno 2009, contraddistinto da

un numero di specie molto basso (da 6 a 9, solo valori bassi);

- gruppo 3: rilievi autunno vernini degli anni 2007 – 2008, con numero di specie intermedio (da 12 a 29);
- gruppo 4: tutti restanti rilievi dell'anno 2009, e qualche rilievo del 2007 e del 2008 (da 15 a 31).

Esaminando il dendrogramma ad un livello superiore, maggiormente descrittivo, i gruppi si riducono a 3: rilievi con alto, basso e intermedio numero di specie.

4.5.1 Cluster analysis delle specie

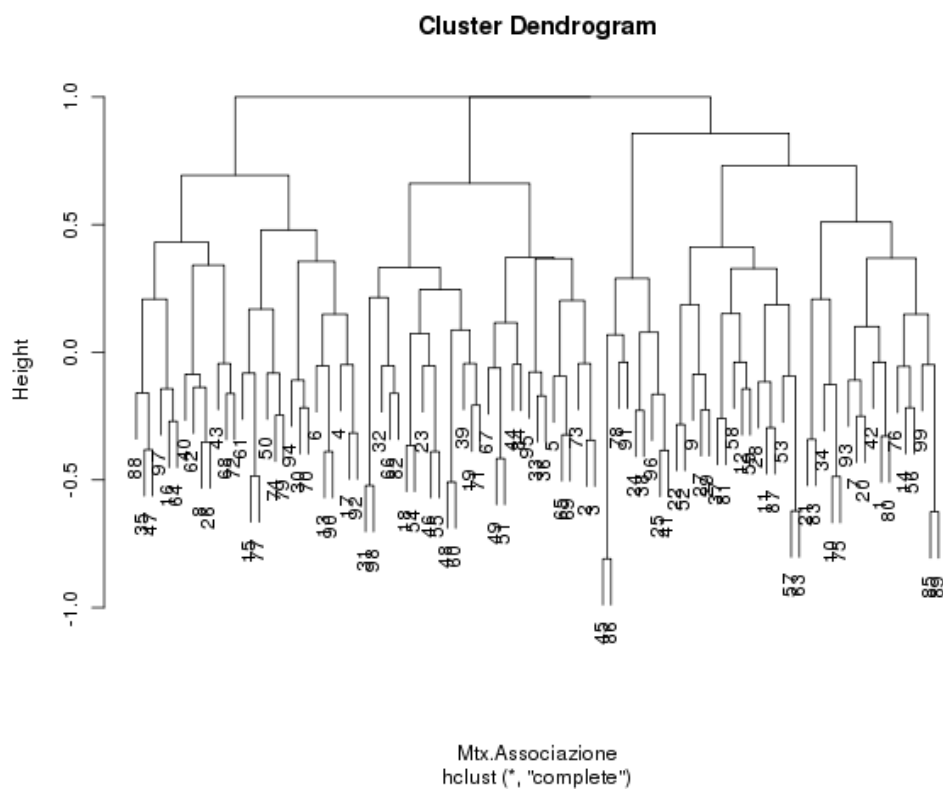


Grafico 4.2: Calcolo del cluster delle specie (associazione di Pearson per dati binari) e legame completo.

Il cluster non evidenzia associazioni fra specie di particolare rilievo: si notano 3 gruppi (a partire da sinistra)

- gruppo 1: specie completamente assenti nel campionamento dell'inverno 2009;
- gruppo 2: specie rare nel campionamento dell'inverno 2009;
- gruppo 3: specie presenti nel campionamento dell'inverno 2009;

Dall'ordinamento della matrice di partenza secondo le classificazioni dei rilievi e delle specie, si nota che sia le specie molto presenti che quelle più rare si distribuiscono omogeneamente fra i gruppi. L'unica osservazione importante riguarda l'anno 2009, che si distingue per i rilievi invernali in cui si è riscontrato un numero di specie decisamente basso.

4.5.2 Analisi delle coordinate principali (PCoA)

L'analisi è stata eseguita partendo dalla matrice triangolare delle distanze di Jaccard e di Sorensen. La descrizione fornita utilizzando le distanze di Sorensen, anche se di poco, è risultata migliore in termini di varianza spiegata.

Nome Elemento	Valore (Jaccard)	Valore (Sorensen)
Numero di autovalori	54.000	54.000
Numero di autovalori maggiori di zero	36.000	31.000
Indice di bonta' R2-like (proporzione di varianza spiegata dai 2 assi)	0.269	0.331
Bonta' della rappresentazione 2 assi	2.000	2.000
Indice di bonta' R2-like (proporzione di varianza spiegata dai 3 assi)	0.357	0.432
Bonta' della rappresentazione 3 assi	2.000	3.000

Tab. 4.8: Descrizione della varianza per ciascun elemento

Bonta' della rappresentazione: 1 = scarsa, 2 = discreta, 3 = moderata, 4 =buona, 5 = ottima

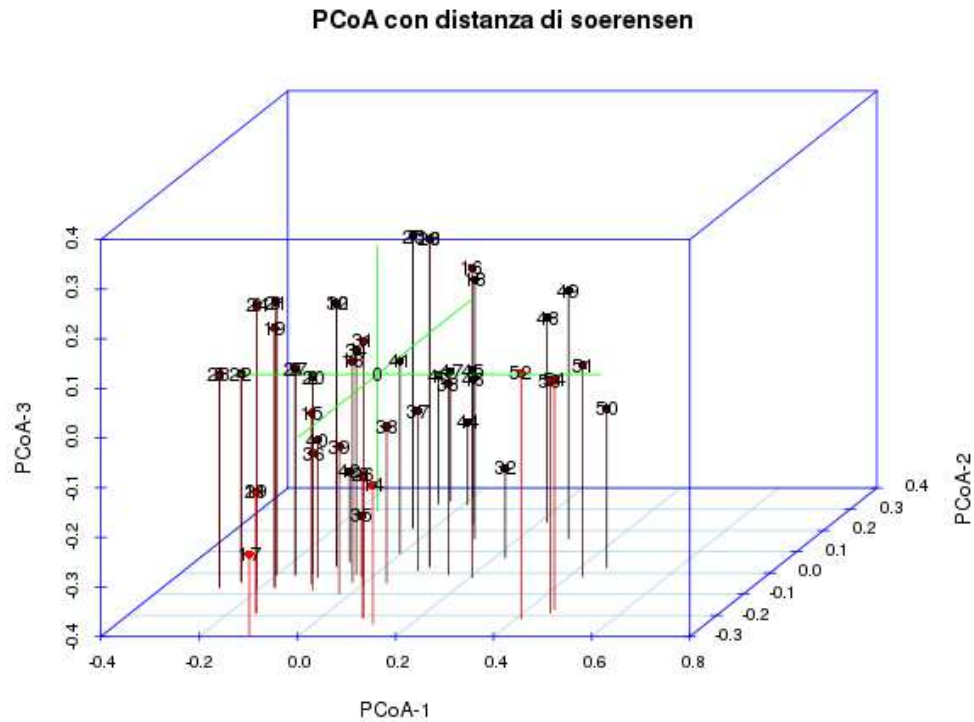


Grafico 4.3: Rappresentazione della PCoA a tre assi

Varianza spiegata dagli autovalori

Si nota l'assenza di autovalori in grado di spiegare una frazione elevata di varianza o, in altre parole, come sia necessario un elevato numero di autovalori per raggiungere una frazione consistente di varianza spiegata.

4.5.3 Analisi delle corrispondenze

Si ricorda che l'Analisi delle Corrispondenze consente di rappresentare graficamente le posizioni sia delle variabili che dei rilievi e che richiede che tutte le variabili siano espresse come fattori. Per questa analisi si sono perciò utilizzate le variabili fattore e si è opportunamente ricodificato il numero di specie per rilievo secondo quattro classi di frequenza, secondo la tabella riportata. Gli intervalli sono stati stabiliti sui valori del numero di specie massimo e minimo di tutti i rilievi.

Numero Specie	Classe
1 - 10	basso
11 - 20	medio
21 - 30	alto
31 - 40	molto alto

Ne è risultata la seguente ripartizione del numero di rilievi in base alla classe di frequenza con cui sono state rintracciate le specie.

	<i>Classe di frequenza</i>			
	<i>molto alto</i>	<i>alto</i>	<i>medio</i>	<i>basso</i>
Num rilievi	6	30	13	5
Freq. Relativa	0.111	0.556	0.241	0.093
Freq. Cumulata	0.111	0.667	0.908	1.000

Tab. 4.9: Numero di specie per rilievo secondo quattro classi di frequenza

Il biplot dell' Analisi delle Corrispondenze sotto riportato conferma quanto riscontrato dalle precedenti analisi. L'inerzia (varianza) spiegata dai primi due assi è piuttosto scarsa, risultando pari al 39.4 %. Si può comunque individuare lungo l'asse principale (25.3 % di varianza spiegata) la tendenza a passare da un alto ad un basso numero di specie come quello dell'inverno 2009. L'asse secondario (14.1 % di varianza spiegata) si associa al tipo di coltivazione passando dalle parcelle a coltivazione biologica (D, E, F) a quelle di tipo convenzionale (51, 52, 53).

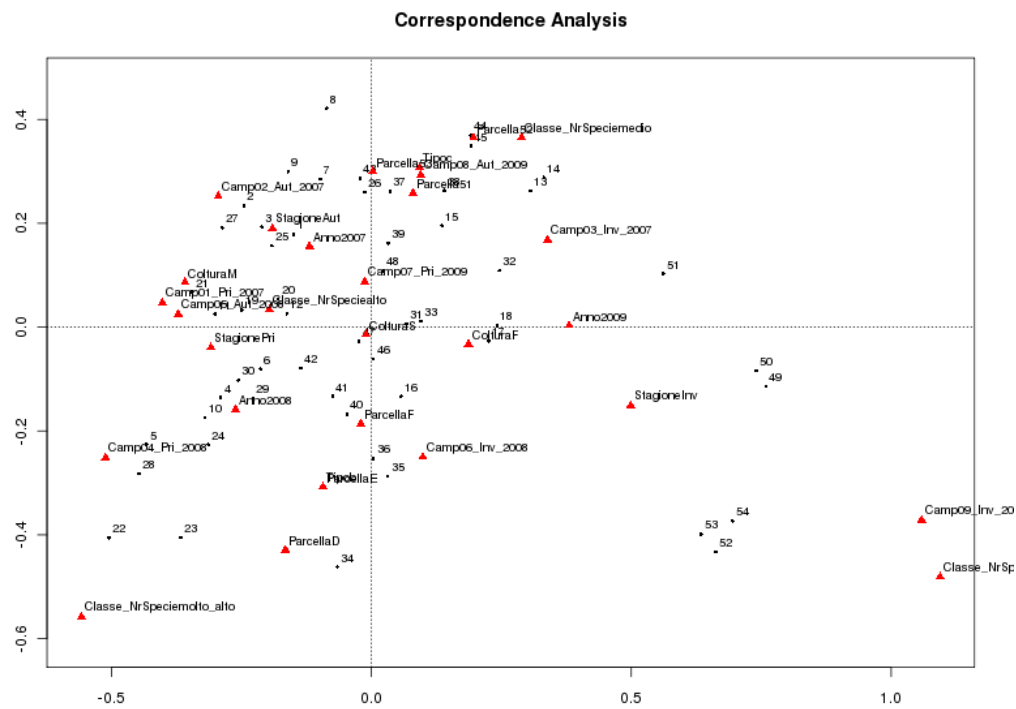


Grafico 4.4: Biplot delle Analisi delle Corrispondenze

5 RISULTATI GENERI DI INTERESSE

5.1 Densità fungina

Richiamando brevemente quanto illustrato nel cap. 3, la valutazione della eventuale differenza tra tipo di coltivazione (biologico e convenzionale), tra diverse colture (mais, frumento, soia), tra i diversi anni, tra le stagioni e tra i diversi campionamenti (date) è stata condotta mediante l'analisi dei valori di densità fungina, espressa come MPN calcolato con il metodo di Hurley-Roscoe. La valutazione è avvenuta a due livelli:

- una valutazione complessiva che prende in considerazione tutti i dati, senza distinzione tra i quattro diversi generi.
- una valutazione per singolo genere, che vede incluso anche *G. roseum*;

In entrambe i casi l'elaborazione statistica ha previsto il calcolo delle statistiche di base, la verifica dell'applicabilità e, in caso di esito positivo, l'applicazione della classica ANOVA parametrica ad un fattore considerando la densità (MPN) come variabile dipendente. Nel caso in cui i vincoli di utilizzo di ANOVA non fossero rispettati si è fatto uso della Kruskal – Wallis ANOVA non parametrica.

La prima considerazione riguarda il bilanciamento dei fattori: nella comune terminologia statistica un fattore è detto bilanciato quando i suoi livelli hanno pari numerosità. È la condizione migliore in cui eseguire un'analisi tra fattori, anche se in fase di analisi il vantaggio del bilanciamento può essere inficiato dalla mancanza di dati. Si nota che il fattore coltura risulta sbilanciato; dall'esame della tabella dei dati grezzi si riscontra che la causa è riconducibile alla presenza nel terreno dei residui colturali, considerati al pari della piena coltura, al momento dei campionamenti, incentrati sulla stagione.

	Fattore	Bilanciamento
1	Campionamento	bilanciato
2	Anno	bilanciato
3	Stagione	bilanciato
4	Parcella	bilanciato
5	Coltura	non bilanciato
6	Tipo	bilanciato

Tab 5.1 Bilanciamento dei fattori

Per ciascun genere, per ciascun campionamento, è stato calcolato il 'peso' percentuale della propria densità MPN sulla densità totale.

Fusarium e *Trichoderma* variano dalla completa assenza alla totale rappresentanza del campione, mentre *Aspergillus* non raggiunge mai il 100%

	<i>Fusarium</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Trichoderma</i>
massimo	100	67,61	100
minimo	0	0	0
media	44,62	12,47	42,91

Tab. 5.2: Tabella sintetica del peso percentuale dei tre generi (per campionamento).

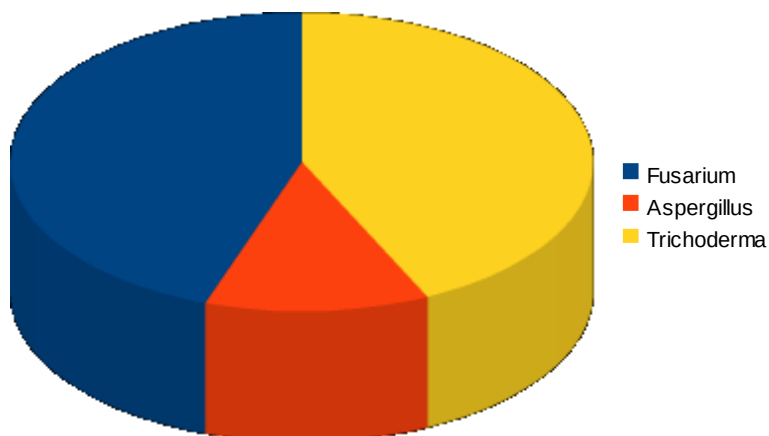


Grafico 5.1: Rappresentazione del peso percentuale medio dei tre generi

5.1.1 Differenza tra campionamenti

<i>Campionamento</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
01_Pri_2007	35350	1934	33416	10633	5602	12901	121.3	1.66e+08	0.0219
02_Aut_2007	47194	794	46400	20190	11075	21178	104.9	4.49e+08	0.0592
03_Inv_2007	5356	820	4536	2861	3098	1780	62.2	3.17e+06	0.5642
04_Pri_2008	14351	3217	11134	6878	5202	4071	59.2	1.66e+07	0.1001
05_Aut_2008	1850	767	1083	1468	1532	367	25.0	1.35e+05	0.0656
06_Inv_2008	17275	1180	16095	6904	3219	6996	101.3	4.89e+07	0.0419
07_Pri_2009	6631	575	6056	2436	863	2691	110.5	7.24e+06	0.0139
08_Aut_2009	11631	1739	9892	6214	4926	3820	61.5	1.46e+07	0.4088
09_Inv_2009	5556	156	5400	1319	488	2094	158.8	4.39e+06	0.0007

Tab. 5.3 Indici statistici dei nove livelli del fattore campionamento.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: i campionamenti si possono suddividere in due gruppi, a seconda che il valore superi o meno la soglia del 100:

- 01_Pri_2007, 02_Aut_2007, 06_Inv_2008, 07_Pri_2009, 09_Inv_2009;
- 03_Inv_2007, 04_Pri_2008, 05_Aut_2008, 08_Aut_2009.

Medie e mediane presentano un andamento simile e altalenante, anche se non chiaramente ciclico. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In particolare in 4 casi su 9 (01_Pri_2007, 06_Inv_2008, 07_Pri_2009, 09_Inv_2009) la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica.

Questo risultato è corroborato anche dall'esito del test di Levene per l'omogeneità delle varianze sotto riportato.

Ipotesi H0: la differenza fra la varianza dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non è significativamente diversa da 0. Come specificato in materiali e metodi, per tutti i test (cfr. cap. 3) il livello di significatività alfa è stato prefissato al valore 0.05.

L'ipotesi H0 viene rigettata. La varianza fra i 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento è significativamente differente.

Si è quindi eseguita la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore sotto la seguente ipotesi H0: la differenza fra la mediana dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento

non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene rigettata. C'è almeno una mediana dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento significativamente differente dalle altre con $p = 0.0035$.

La ricerca dei confronti con differenze significative (Tab. 5.4) evidenzia una sola differenza significativa, quella tra le mediane dei livelli 02_Aut_2007 e 09_Inv_2009 (autunno 2007, 11075 – inverno 2009, 488).

	01_Pri_2007	02_Aut_2007	03_Inv_2007	04_Pri_2008	05_Aut_2008	06_Inv_2008	07_Pri_2009	08_Aut_2009	09_Inv_2009
01_Pri_2007	NA	4.67	11.20	2.83	19.70	3.33	17.20	0.17	25.00
02_Aut_2007	29.04	NA	15.80	1.83	24.30	8.00	21.80	4.83	29.67 *
03_Inv_2007	29.04	29.04	NA	14.00	8.50	7.83	6.00	11.00	13.83
04_Pri_2008	29.04	29.04	29.04	NA	22.50	6.17	20.00	3.00	27.83
05_Aut_2008	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	16.33	2.50	19.50	5.33
06_Inv_2008	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	13.80	3.17	21.67
07_Pri_2009	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	17.00	7.83
08_Aut_2009	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	24.83
09_Inv_2009	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA

Tab. 5.4: Ricerca dei confronti con differenze significative.

*Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.*

5.1.2 Differenza tra anni

Anno	max	min	range	media	mediana	sd	cv	varianza	P_Shapiro
2007	47194	794	46400	11228	4219	15329	137	2.35e+08	4.16e-05
2008	17275	767	16508	5083	2880	5121	101	2.62e+07	4.18e-04
2009	11631	156	11475	3323	1345	3515	106	1.24e+07	3.36e-03

Tab. 5.5: Indici statistici dei tre livelli del fattore anno.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia valori piuttosto costanti al di sopra del valore 100.

Medie e mediane presentano un andamento simile e decrescente con il tempo.

La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati

sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli non sono omogenee. La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H_0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non sono significativamente differenti ($p = 0.0712$), anche se il valore di probabilità è molto prossimo alla soglia di significatività.

5.1.3 Differenza tra stagioni

<i>Stagione</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Aut	47194	767	46427	9291	4283	14252	153	2.03e+08	6.98e-06
Inv	17275	156	17119	3694	2359	4742	128	2.25e+07	7.77e-05
Pri	35350	575	34775	6649	4859	8237	124	6.78e+07	5.15e-05

Tab. 5.6 Indici statistici dei tre livelli del fattore stagione.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia valori piuttosto costanti al di sopra del valore 100. Medie e mediane presentano un andamento simile, con il minimo in corrispondenza della stagione invernale. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli non sono omogenee. La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H_0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione non sono significativamente differenti ($p = 0.1918$).

5.1.4 Differenza tra parcelle

<i>Parcella</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
51	13025	408	12617	3822	1739	4032	105.5	1.63e+07	0.0238
52	47194	775	46419	9951	4653	14679	147.5	2.15e+08	0.0004
53	17275	794	16481	5689	4658	5567	97.9	3.10e+07	0.0767
D	10097	156	9941	3561	2544	3063	86.0	9.38e+06	0.2160
E	46400	569	45831	12327	3894	16953	137.5	2.87e+08	0.0035
F	15600	275	15325	3918	2475	4661	119.0	2.17e+07	0.0020

Tab. 5.7: Indici statistici dei sei livelli del fattore parcella.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: le parcelle si possono suddividere in due gruppi, a seconda che il valore superi o meno la soglia del 100:

- 51, 52, E, F;
- 53, D.

Medie e mediane presentano un andamento simile e altalenante, anche se non chiaramente ciclico. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In 4 casi su 6 (51, 52, E, F) la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei sei livelli non sono omogenee. La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non sono significativamente differenti ($p = 0.8405$).

5.1.5 Differenza tra colture

<i>Coltura</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Frumento	17275	156	17119	6519	5209	5325	81.7	2.84e+07	0.0276
Mais	47194	623	46570	13155	4312	18347	139.5	3.37e+08	0.0005
Soia	5200	569	4631	2172	1573	1663	76.6	2.77e+06	0.0031

Tab. 5.8 Indici statistici dei tre livelli del fattore coltura.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: le colture si possono suddividere in due gruppi, a seconda che il valore superi o meno la soglia del 100:

- Mais;
- Frumento, Soia.

Medie e mediane mostrano che nei terreni coltivati con soia la densità fungina è minore rispetto a quelli con frumento e mais, che presenta il valore maggiore. Da notare che la densità fungina media del frumento è inferiore a quella del mais, mentre la situazione è opposta per quanto riguarda la mediana. Questo comportamento è spiegabile dall'influenza che esercitano, innalzandola, i pochi valori eccezionalmente alti sulla media del mais. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, come mostrato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli non sono omogenee. La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore coltura non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H_0 viene rigettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella sono significativamente differenti con $p = 0.0164$.

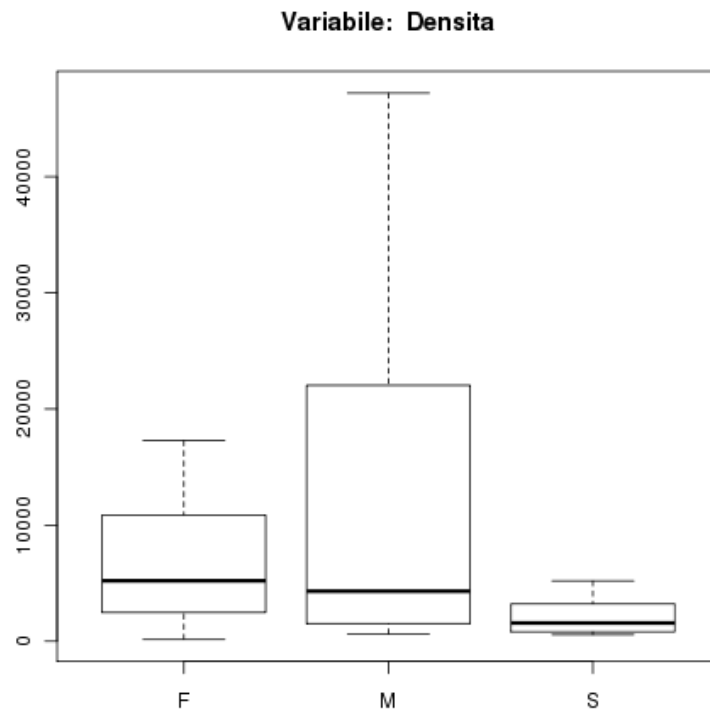


Grafico 5.2: Boxplot dei tre livelli del fattore coltura.

La ricerca dei confronti con differenze significative (Tab. 5.8) evidenzia una sola differenza significativa, quella tra le mediane dei livelli F e S (frumento, 5209 – soia, 1573).

	<i>Frumento</i>	<i>Mais</i>	<i>Soia</i>
<i>Frumento</i>	NA	0.88	13.30 *
<i>Mais</i>	13.30	NA	12.40
<i>Soia</i>	11.70	14.04	NA

Tab. 5.9: Ricerca dei confronti con differenze significative.

* Valore significativo $p < 0.05$.

5.1.6 Differenza tra pratiche agronomiche

<i>Pratica agronomica</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
biologica	46400	156	46244	6602	3217	10726	162	1.15e+08	1.21e-07
convenzionale	47194	408	46786	6487	3714	9363	144	8.77e+07	2.35e-07

Tab. 5.10: Indici statistici dei due livelli del fattore pratica agronomica.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: entrambe le pratiche superano la soglia del 100.

Medie e mediane mostrano che la media della pratica biologica si presenta inferiore a quella della pratica convenzionale, mentre la situazione è opposta per quanto riguarda la mediana. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, come mostrato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei due livelli non sono omogenee. La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H_0 viene accettata. Le mediane dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non sono significativamente differenti ($p = 0.5506$)

5.2 Valutazione per singolo genere

Analogamente a quanto fatto per la valutazione complessiva (cfr. par. 5.1), la prima considerazione, valida per tutti i generi qui considerati, riguarda il bilanciamento dei fattori. Un fattore si dice bilanciato quando i suoi livelli hanno pari numerosità. È la condizione migliore in cui eseguire un'analisi tra fattori, anche se in fase di analisi il vantaggio del bilanciamento può essere inficiato dalla mancanza di dati.

Si nota che il fattore coltura risulta sbilanciato; dall'esame della tabella dei dati grezzi si riscontra che la causa è riconducibile alla presenza nel terreno dei residui colturali, considerati al pari della piena coltura, al momento dei campionamenti, incentrati sulla stagione.

	<i>Fattore</i>	<i>Bilanciamento</i>
1	Campionamento	bilanciato
2	Anno	bilanciato
3	Stagione	bilanciato
4	Parcella	bilanciato
5	Coltura	non bilanciato
6	Tipo	bilanciato

Tab 5.11: Bilanciamento dei fattori

5.2.1 Fusarium

5.2.1.1 Differenza tra campionamenti

	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
01_Pri_2007	33800	1862.5	31938	9056.2	4306	12417.9	137.1	1.54e+08	0.0028
02_Aut_2007	46400	793.8	45606	20057.3	11075	20977.1	104.6	4.40e+08	0.0544
03_Inv_2007	931	276.6	655	521.4	488	265.8	51.0	7.06e+04	0.2535
04_Pri_2008	4300	396.9	3903	1207.8	623	1528.8	126.6	2.34e+06	0.0006
05_Aut_2008	975	81.2	894	599.2	655	374.6	62.5	1.40e+05	0.4066
06_Inv_2008	1594	343.8	1250	865.0	738	525.3	60.7	2.76e+05	0.3328
07_Pri_2009	3375	81.2	3294	767.2	280	1283.2	167.3	1.65e+06	0.0003
08_Aut_2009	10750	207.8	10542	3379.9	2331	3937.0	116.5	1.55e+07	0.0867
09_Inv_2009	234	0.0	234	84.4	68	99.2	117.5	9.84e+03	0.0889

Tab. 5.12: Indici statistici dei nove livelli del fattore campionamento.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: i campionamenti si possono suddividere in due gruppi, a seconda che il valore superi o meno la soglia del 100:

- 01_Pri_2007, 02_Aut_2007, 04_Pri_2008, 07_Pri_2009, 08_Aut_2009, 09_Inv_2009;
- 03_Inv_2007, 05_Aut_2008, 06_Inv_2008.

Medie e mediane presentano un andamento simile e altalenante, anche se non chiaramente ciclico. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In particolare in 3 casi su 9 (01_Pri_2007, 04_Pri_2008, 07_Pri_2009) la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità e in altri 3 (02_Aut_2007, 08_Aut_2009, 09_Inv_2009) è molto prossima alla soglia di significatività, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito del test di Levene per l'omogeneità delle varianze sotto riportato. Ipotesi H0: la differenza fra la varianza dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non è significativamente diversa da 0. Come specificato in materiali e metodi, per tutti i test (cfr. cap 3) il livello di significatività alfa è stato prefissato al valore 0.05. L'ipotesi H0 viene rigettata. La varianza fra i 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore Campionamento è significativamente differente con $p < 0.0001$.

Si è quindi eseguita la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore sotto la seguente ipotesi H0: la differenza fra la mediana dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene rigettata. C'è almeno una mediana dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento significativamente differente dalle altre con $p < 0.0001$.

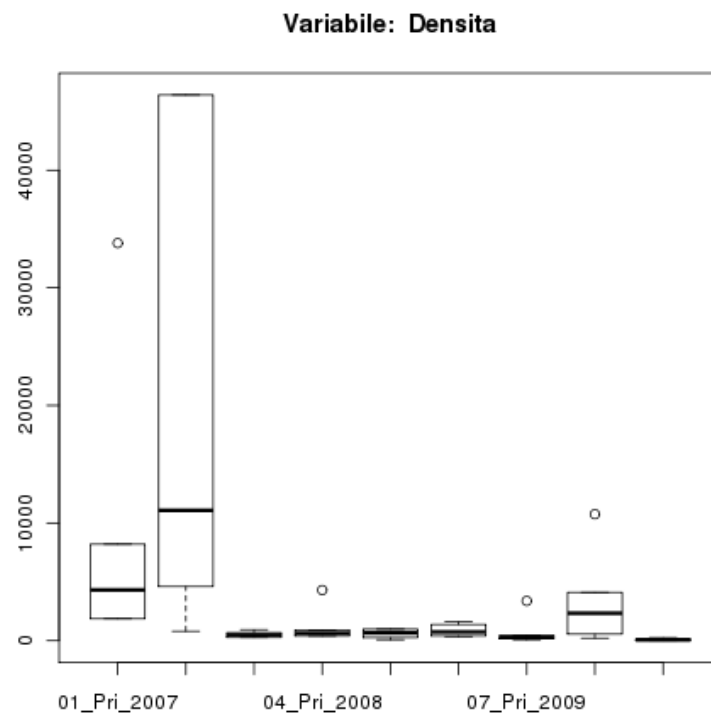


Grafico 5.3 Boxplot dei nove livelli del fattore campionamento

La ricerca dei confronti con differenze significative (Tab. 5.12) evidenzia quattro differenze significative: quella tra le mediane dei livelli 01_Pri_2007 e 09_Inv_2009 (primavera 2007: 4306 – inverno 2009: 68), 02_Aut_2007 e 07_Pri_2009 (autunno 2007: 11075 – primavera 2009: 280), 02_Aut_2007 e 09_Inv_2009 (autunno 2007: 11075 – inverno 2009: 68), 08_Aut_2009 e 09_Inv_2009 (autunno 2009: 2331 – inverno 2009: 68).

	01_Pri_2007	02_Aut_2007	03_Inv_2007	04_Pri_2008	05_Aut_2008	06_Inv_2008	07_Pri_2009	08_Aut_2009	09_Inv_2009
01_Pri_2007	NA	2.33	23.10	17.25	22.00	16.92	27.58	10.17	39.8 *
02_Aut_2007	29.04	NA	25.40	19.58	24.33	19.25	29.92*	12.50	42.2 *
03_Inv_2007	29.04	29.04	NA	5.83	1.08	6.17	4.50	12.92	16.8
04_Pri_2008	29.04	29.04	29.04	NA	4.75	0.33	10.33	7.08	22.6
05_Aut_2008	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	5.08	5.58	11.83	17.8
06_Inv_2008	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	10.67	6.75	22.9
07_Pri_2009	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	17.42	12.2
08_Aut_2009	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	29.7 *
09_Inv_2009	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA

Tab. 5.13: Ricerca dei confronti con differenze significative.

Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.

5.2.1.2 Differenza tra anni

	max	min	range	media	mediana	sd	cv	varianza	P_Shapiro
2007	46400	276.6	46123	9878	2000	15573	158	2.43e+08	2.00e-05
2008	4300	81.2	4219	891	659	936	105	8.76e+05	1.63e-05
2009	10750	0.0	10750	1411	253	2680	190	7.18e+06	3.89e-06

Tab. 5.14: Indici statistici dei tre livelli del fattore anno.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia valori piuttosto costanti al di sopra del valore 100. Medie e mediane presentano un andamento simile e decrescente con il tempo. Da notare che la media presenta il minimo nel 2008, mentre la mediana è minima nel 2009.

La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro–Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica.

Questo risultato è corroborato anche dall'esito del test di Levene per l'omogeneità delle varianze sotto riportato. Ipotesi H0: la differenza fra la varianza dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non è significativamente diversa da 0.

Come specificato in materiali e metodi, per tutti i test (cfr. cap. 3) il livello di significatività alfa è stato prefissato al valore 0.05. L'ipotesi H0 viene rigettata. La varianza fra i 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno è significativamente differente con $p < 0.0001$.

Si è quindi eseguita la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore sotto la seguente ipotesi H0: la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene rigettata. C'è almeno una mediana dei 3 gruppi significativamente differente dalle altre con $p = 0.0013$.

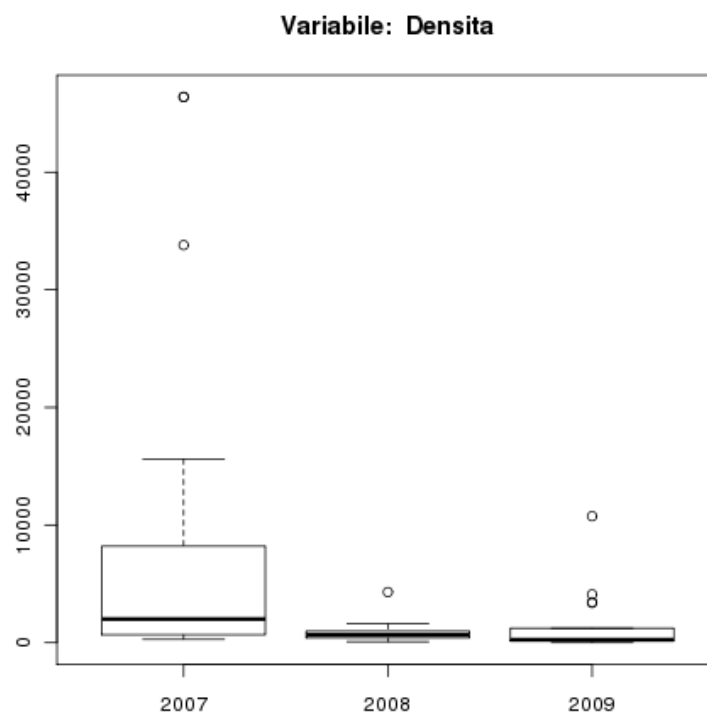


Grafico 6.4 Boxplot dei tre livelli del fattore anno.

La ricerca dei confronti con differenze significative (Tab. 5.15) evidenzia una sola differenza significativa, quella tra le mediane dei livelli 2007 e 2009 (anno 2007: 2000 – anno 2009: 253).

	2007	2008	2009
2007	NA	11.80	18.94 *
2008	12.60	NA	7.14
2009	12.60	12.60	NA

Tab. 5.15: Ricerca dei confronti con differenze significative.

*Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.*

5.2.1.3 Differenze tra stagioni

	max	min	range	media	mediana	sd	cv	varianza	P_Shapiro
Autunno	46400	81.2	46319	8012	1100	14567	181.8	2.12e+08	3.70e-06
Inverno	1594	0.0	1594	490	344	461	94.1	2.13e+05	2.64e-02
Primavera	33800	81.2	33719	3677	834	7866	213.9	6.19e+07	4.91e-07

Tab. 5.16: Indici statistici dei sei livelli del fattore stagione.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia valori variabili da un minimo di circa 94 ad un massimo di circa 214.

Medie e mediane presentano un andamento simile, con il minimo in corrispondenza della stagione invernale.

La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito del test di Levene per l'omogeneità delle varianze sotto riportato.

Ipotesi H0: la differenza fra la varianza dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione non è significativamente diversa da 0. Come specificato in materiali e metodi, per tutti i test (cfr. cap. 3) il livello di significatività alfa è stato prefissato al valore 0.05. L'ipotesi H0 viene rigettata. La varianza fra i 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione è significativamente differente con $p = 0.0013$. Si è quindi eseguita la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore sotto la seguente ipotesi H0: la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H_0 viene rigettata. C'è almeno una mediana dei 3 gruppi significativamente differente dalle altre con $p = 0.0049$.

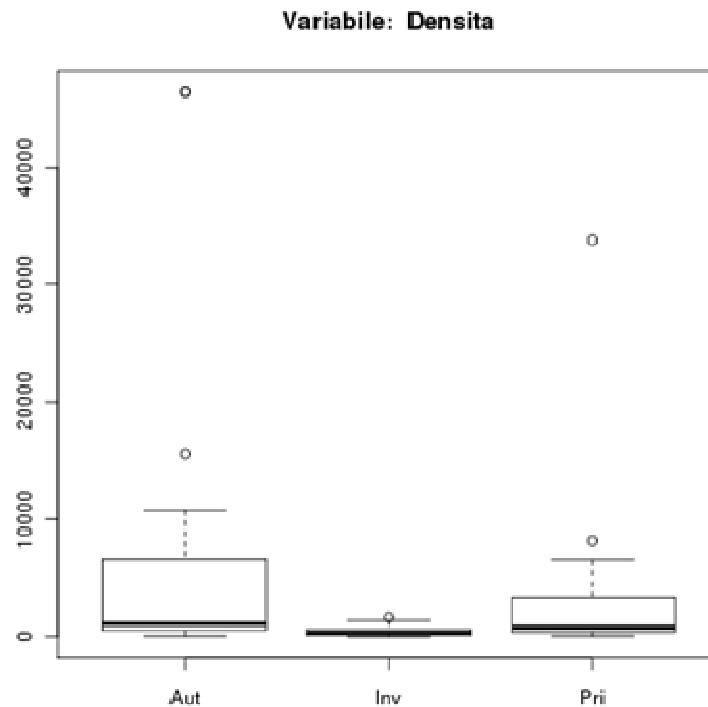


Grafico 5.5: Boxplot dei tre livelli del fattore stagione.

La ricerca dei confronti con differenze significative (Tab. 5.16) evidenzia una sola differenza significativa, quella tra le mediane dei livelli autunno e inverno (autunno: 1100 – inverno: 344).

	<i>autunno</i>	<i>inverno</i>	<i>primavera</i>
<i>autunno</i>	NA	16.7 *	5.0
<i>inverno</i>	12.6	NA	11.7
<i>primavera</i>	12.6	12.6	NA

Tab. 5.17: Ricerca dei confronti con differenze significative.

*Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.*

5.2.1.4 Differenze tra parcelle

<i>Parcella</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
51	6550	135.9	6414	1931	900	2623	136	6.88e+06	4.44e-04
52	46400	81.2	46319	7213	931	14951	207	2.24e+08	1.76e-05
53	10750	0.0	10750	1859	794	3397	183	1.15e+07	3.72e-05
D	4600	0.0	4600	1363	769	1611	118	2.59e+06	2.08e-02
E	46400	135.9	46264	9310	559	17742	191	3.15e+08	6.37e-05
F	15600	0.0	15600	2683	669	4961	185	2.46e+07	3.65e-05

Tab. 5.18: Indici statistici dei sei livelli del fattore parcella.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali nonostante tutti i valori superino la soglia di 100 mostrando una discreta variabilità.

Medie e mediane presentano un andamento simile e altalenante, anche se non chiaramente ciclico. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei sei livelli non sono omogenee. La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non sono significativamente differenti ($p = 0.9859$).

5.2.1.5 Differenza tra colture

<i>Coltura</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Frumento	15600	0	15600	2360	555	3908	166	1.53e+07	2.50e-06
Mais	46400	288	46112	11924	1100	18648	156	3.48e+08	2.81e-04
Soia	4600	136	4464	1083	555	1294	120	1.68e+06	6.33e-05

Tab. 5.19: Indici statistici dei tre livelli del fattore coltura.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: tutti i valori superano la soglia del 100. Medie e mediane mostrano che nei terreni coltivati con soia o frumento la densità fungina è minore rispetto a quelli coltivati con mais. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, come mostrato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei sei livelli non sono omogenee. La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore coltura non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore coltura non sono significativamente differenti ($p = 0.1025$).

5.2.1.6 Differenza tra pratiche agronomiche

<i>Pratica agronomica</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
biologica	46400	0	46400	4452	631	10853	244	1.18e+08	4.82e-09
convenzionale	46400	0	46400	3668	900	8999	245	8.10e+07	2.38e-09

Tab. 5.20 Indici statistici dei due livelli del fattore pratica agronomica.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: entrambe le pratiche superano la soglia del 200, indicando una variabilità alta.

Medie e mediane mostrano che la media della pratica biologica si presenta superiore a quella della pratica convenzionale, mentre la situazione è opposta per quanto riguarda la mediana. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, come mostrato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato, a differenza degli altri casi, non è supportato anche dall'esito del test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli sono omogenee. È stata quindi eseguita la classica ANOVA ad un fattore con la seguente ipotesi H_0 : la differenza fra la media dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H_0 viene accettata. La media fra i 2 gruppi della variabile non è risultata significativamente differente ($p=0.7737$).

Per accertare eventuali discrepanze nel risultato è stata eseguita anche la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H_0 viene accettata. Le mediane dei 2 gruppi non sono significativamente differenti ($p = 0.8220$).

5.2.2 Aspergillus

5.2.2.1 Differenza tra campionamenti

<i>Campionamento</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>Varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
01_Pri_2007**	0	0.0	0	0.0	0.0	0.0	NaN	0	NA
02_Aut_2007	794	0.0	794	132.3	0.0	324.0	244.9	105007	2.07e-05
03_Inv_2007	2550	0.0	2550	604.2	209.4	986.3	163.2	972714	6.33e-03
04_Pri_2008	136	0.0	136	53.3	37.5	46.6	87.5	2170	2.92e-01
05_Aut_2008	975	431.2	544	692.7	656.2	238.1	34.4	56678	1.87e-01
06_Inv_2008	975	81.2	894	371.4	213.3	371.5	100.1	138048	1.03e-01
07_Pri_2009	136	0.0	136	92.4	100.8	51.7	55.9	2671	1.42e-01
08_Aut_2009	250	0.0	250	89.3	64.1	89.7	100.4	8046	3.21e-01
09_Inv_2009	186	0.0	186	114.1	156.2	89.3	78.3	7983	1.55e-02

Tab. 5.21: Indici statistici dei due livelli del fattore campionamento.

*** In questa data non è stato rilevato alcun tubo fertile.*

Da notare che nel campione 01_Pri_2007 non è stato rilevato alcun tubo fertile e che in tutti i campionamenti, ad eccezione di 05_Aut_2008 e 06_Inv_2008, è stata rilevata almeno una serie di tubi non fertili, come mostrato dai valori minimi pari a zero.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia nel campionamento 02_Aut_2007 un valore decisamente elevato rispetto a tutti gli altri, i restanti si possono suddividere in due gruppi, a seconda che il valore superi o meno la soglia del 100:

- 03_Inv_2007, 06_Inv_2008, 08_Aut_2009;
- 04_Pri_2008, 05_Aut_2008, 07_Pri_2009, 09_Inv_2009.

Medie e mediane presentano un andamento simile e altalenante, anche se non chiaramente ciclico. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In particolare in 4 casi su 9 (01_Pri_2007, 06_Inv_2008, 07_Pri_2009, 09_Inv_2009) la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito del test di

Levene per l'omogeneità delle varianze sotto riportato. Ipotesi H0: la differenza fra la varianza dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non è significativamente diversa da 0. Come specificato in materiali e metodi, per tutti i test (cfr. cap. 3) il livello di significatività alfa è stato prefissato al valore 0.05.

L'ipotesi H0 viene rigettata. La varianza fra i 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento è significativamente differente ($p < 0.0006$).

Si è quindi eseguita la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore sotto la seguente ipotesi H0: la differenza fra la mediana dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene rigettata. C'è almeno una mediana dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento significativamente differente dalle altre con $p = 0.0010$.

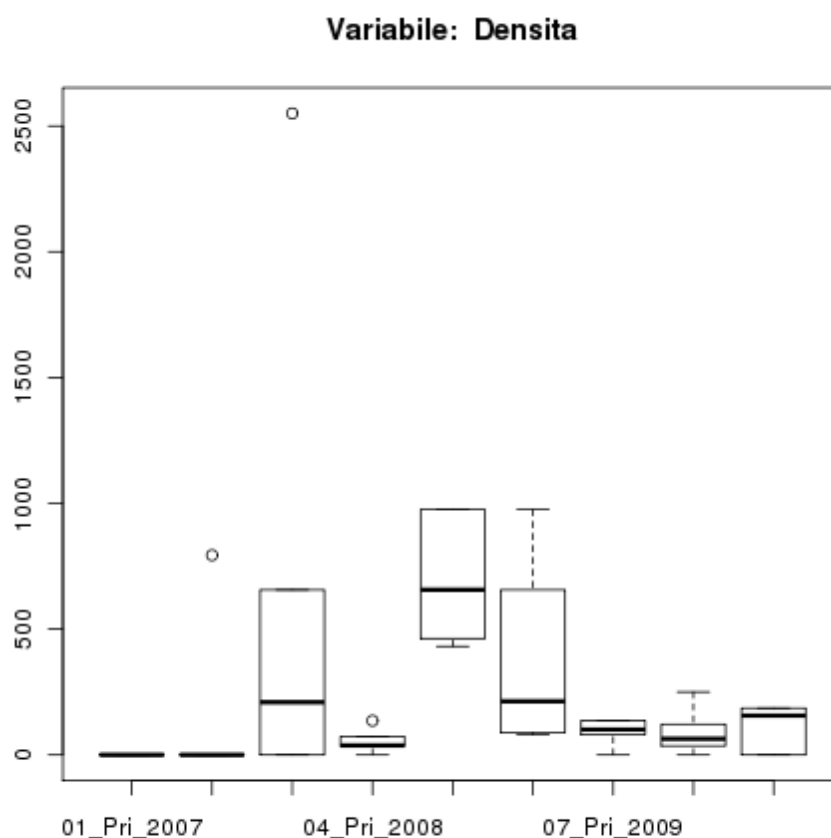


Grafico 5.6: Boxplot dei nove livelli del fattore campionamento.

La ricerca dei confronti con differenze significative evidenzia due differenze significative, quella tra le mediane dei livelli 01_Pri_2007 e 05_Aut_2008 (primavera 2007, 0 – autunno 2008, 656) e 02_Aut_2007 e 05_Aut_2008 (autunno 2007, 37.5 - autunno 2008, 656).

	01_Pri_2007	02_Aut_2007	03_Inv_2007	04_Pri_2008	05_Aut_2008	06_Inv_2008	07_Pri_2009	08_Aut_2009	09_Inv_2009
01_Pri_2007	NA	6.75	22.10	12.33	38.50 *	28.58	17.92	16.50	19.33
02_Aut_2007	29.04	NA	15.30	5.58	31.80 *	21.83	11.17	9.75	12.58
03_Inv_2007	29.04	29.04	NA	9.75	16.40	6.50	4.17	5.58	2.75
04_Pri_2008	29.04	29.04	29.04	NA	26.20	16.25	5.58	4.17	7.00
05_Aut_2008	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	9.92	20.58	22.00	19.17
06_Inv_2008	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	10.67	12.08	9.25
07_Pri_2009	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	1.42	1.42
08_Aut_2009	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	2.83
09_Inv_2009	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA

Tab. 5.22: Ricerca dei confronti con differenze significative.

*Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.*

5.2.2.2 Differenza tra anni

Anno	max	min	range	media	mediana	sd	cv	varianza	P_Shapiro
2007	2550	0	2550	245.5	0	623	253.8	388175	4.08e-07
2008	975	0	975	372.4	237	361	96.8	130070	5.12e-03
2009	250	0	250	98.6	105	75	76.1	5628	2.65e-01

Tab. 5.23: Indici statistici dei due livelli del fattore anno.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia due valori piuttosto bassi al di sotto del valore 100 ed uno molto più elevato, superiore a 250.

Le medie presentano un picco nel 2008, mentre le mediane sono caratterizzate dal valore zero del 2007. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica.

Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli non sono omogenee ($p < 0.0073$). La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H_0 viene rigettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno sono significativamente differenti ($p = 0.0046$).

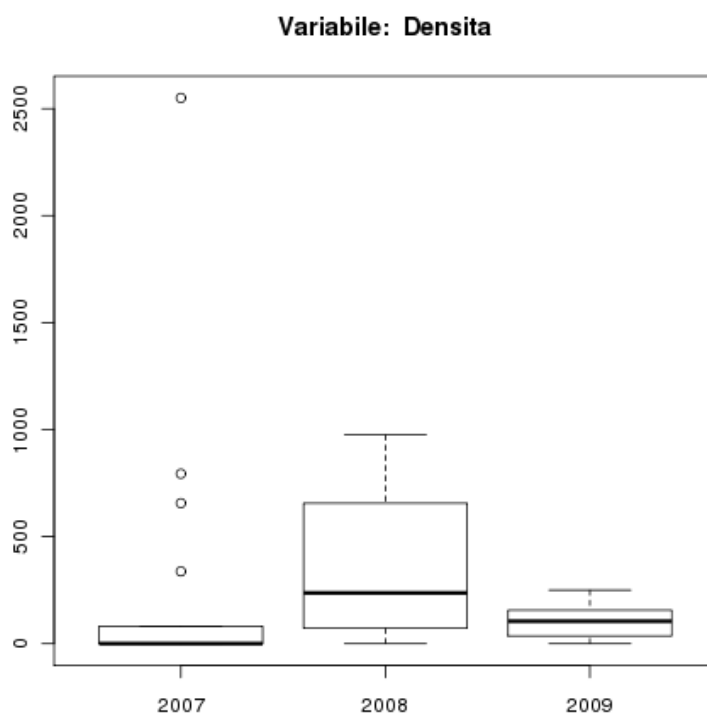


Grafico 5.7: Boxplot dei nove livelli del fattore anno.

La ricerca dei confronti con differenze significative (Tab. 5.23) evidenzia una differenza significativa, quella tra le mediane dei livelli 2007 e 2008 (anno 2007, 0 – anno 2008, 237).

<i>Anno</i>	<i>2007</i>	<i>2008</i>	<i>2009</i>
<i>2007</i>	NA	16.9 *	8.31
<i>2008</i>	12.6	NA	8.56
<i>2009</i>	12.6	12.6	NA

Tab. 6.4 Ricerca dei confronti con differenze significative. Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.

5.2.2.3 Differenza tra stagioni

<i>Stagione</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Autunno	975	0	975	304.8	105.5	360.4	118	129919	1.75e-03
Inverno	2550	0	2550	363.2	156.2	609.5	168	371466	6.88e-06
Primavera	136	0	136	48.6	35.9	54.3	112	2944	1.63e-03

Tab. 5.24: Indici statistici dei tre livelli del fattore stagione.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia valori piuttosto costanti al di sopra del valore 100. Medie e mediane presentano un andamento simile, con il minimo in corrispondenza della stagione primaverile ed il massimo nella stagione invernale. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli non sono omogenee ($p < 0.00277$). La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H_0 viene rigettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione sono significativamente differenti ($p = 0.0248$).

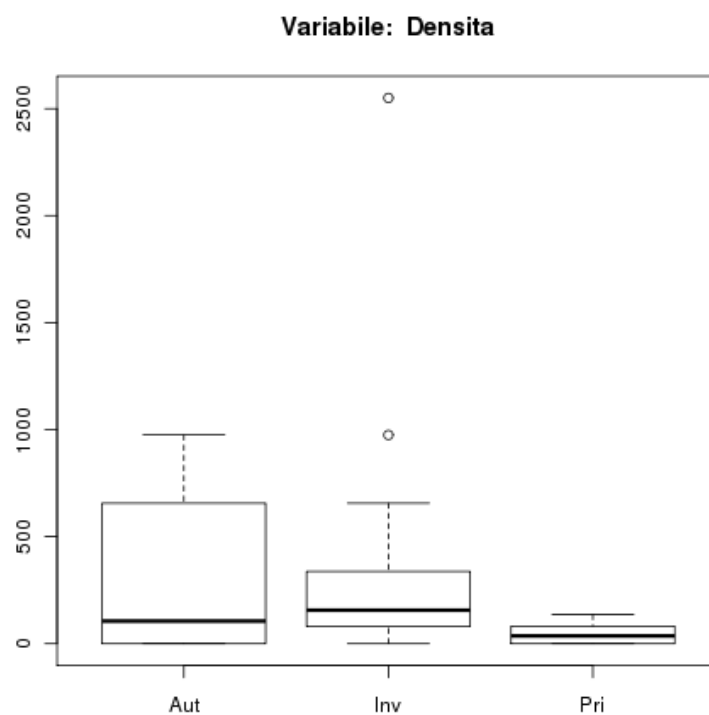


Grafico 5.8: Boxplot dei tre livelli del fattore stagione.

La ricerca dei confronti con differenze significative (Tab. 5.24) evidenzia una differenza significativa, quella tra le mediane dei livelli inverno e primavera (inverno, 156 – primavera, 35.9).

Stagione	Autunno	Inverno	Primavera
Autunno	NA	2.75	10.5
Inverno	12.6	NA	13.3 *
Primavera	12.6	12.55	NA

Tab. 5.25 Ricerca dei confronti con differenze significative.

*Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.*

5.2.2.4 Differenze tra parcelle

<i>Parcella</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
51	656	0	656	102	0.0	214	210	45612	3.12e-05
52	975	0	975	254	89.1	365	144	133361	1.47e-03
53	462	0	462	119	81.2	154	130	23596	2.04e-02
D	656	0	656	188	135.9	219	117	48150	5.06e-02
E	656	0	656	233	81.2	273	118	74800	1.33e-02
F	2550	0	2550	538	120.3	855	159	730721	1.46e-03

Tab. 5.26: Indici statistici dei due livelli del fattore parcella.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia un solo valore che si discosta dagli altri: quello relativo alla parcella 51 (210). Tutte le altre parcelle presentano valori compresi tra 100 e 200. Medie e mediane presentano un andamento simile e altalenante, anche se non chiaramente ciclico. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei sei livelli non sono omogenee ($p < 0.0004$). La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H_0 viene accettata. Le mediane dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non sono significativamente differenti ($p = 0.6387$).

5.2.2.5 Differenza tra colture

<i>Coltura</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Frumento	2550	0	2550	279	85.2	548	196	300505	1.82e-07
Mais	794	0	794	198	78.1	279	141	77996	1.92e-03
Soia	975	0	975	212	81.2	320	151	102370	3.71e-05

Tab. 5.27 Indici statistici dei tre livelli del fattore coltura.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: tutte le colture presentano valore superiore a 100.

Medie e mediane mostrano che nei terreni coltivati con mais la densità fungina è minore rispetto a quelli con frumento, che presenta il valore maggiore, e soia. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, come mostrato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. A differenza dei precedenti, questo risultato non è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli sono omogenee. È stata quindi eseguita ANOVA parametrica ad un fattore con la seguente ipotesi H0: la differenza fra la media dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore coltura non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene accettata. La media fra i 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore coltura non è significativamente differente ($p=0.8250$).

Per verificare eventuali discrepanze nel risultato è stata eseguita anche la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore con l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore coltura non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore coltura non sono significativamente differenti ($p = 0.9753$).

5.2.2.6 Differenza tra pratiche agronomiche

<i>Pratica agronomica</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Biologica	2550	0	2550	320	120.3	537	168	287850	3.64e-07
Convenzionale	975	0	975	158	81.2	259	164	67123	8.49e-07

Tab. 5.28 Indici statistici dei due livelli del fattore pratica agronomica.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: entrambe le pratiche superano la soglia del 100. Medie e mediane mostrano che media e mediana della pratica biologica si presenta maggiore di quella della pratica convenzionale. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, come mostrato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di

analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei due livelli non sono omogenee ($p = 0.0492$). La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H_0 viene accettata. Le mediane dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non sono significativamente differenti ($p = 0.2337$).

5.2.3 Trichoderma

5.2.3.1 Differenza tra campionamenti

<i>Campionamento</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>Varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
01_Pri_2007	6550	71.9	6478	1577	475.0	2489	157.9	6193531	0.0022
02_Aut_2007 **	0	0.0	0	0	0.0	0	NaN	0	NA
03_Inv_2007	3438	276.6	3161	1736	1843.8	1225	70.6	1501053	0.7404
04_Pri_2008	13800	2775.0	11025	5617	4300.0	4054	72.2	16435917	0.0007
05_Aut_2008	794	0.0	794	177	77.3	306	173.1	93459	0.0010
06_Inv_2008	15600	337.5	15262	5667	1862.5	7049	124.4	49688392	0.0150
07_Pri_2009	6550	71.9	6478	1577	475.0	2489	157.9	6193531	0.0022
08_Aut_2009	9800	431.2	9369	2745	579.7	3823	139.3	14617746	0.0074
09_Inv_2009	5400	89.1	5311	1120	274.2	2102	187.6	4418214	0.0002

Tab. 5.29 Indici statistici dei sei livelli del fattore campionamento.

**** In questa data non è stato rilevato alcun tubo fertile.**

Da notare che nel campione 02_Aut_2007 non è stato rilevato alcun tubo fertile e nel campionamento 05_Aut_2008 è stata rilevata almeno una serie di tubi non fertili, come mostrato dal valore minimo pari a zero.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia che, con l'eccezione del campionamento 02_Aut_2007, i valori si possono suddividere in due gruppi, a seconda che il valore superi o meno la soglia del 100:

1. 03_Inv_2007, 04_Pri_2008;
2. 05_Aut_2008,, 06_Inv_2008, 07_Pri_2009, 08_Aut_2009, 09_Inv_2009.

Medie e mediane presentano un andamento simile e altalenante, anche se non chiaramente ciclico. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. Infatti in tutti i casi tranne 03_Inv_2007 la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito del test di Levene per l'omogeneità delle varianze sotto riportato. Ipotesi H0: la differenza fra la varianza dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non è significativamente diversa da 0. Come specificato in materiali e metodi, per tutti i test (cfr. cap. 3) il livello di significatività alfa è stato prefissato al valore 0.05. L'ipotesi H0 viene rigettata. La varianza fra i 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento è significativamente differente ($p < 0.0001$).

Si è quindi eseguita la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore sotto la seguente ipotesi H0: la differenza fra la mediana dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene rigettata. C'è almeno una mediana dei 9 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento significativamente differente dalle altre con $p < 0.0001$. La ricerca dei confronti con differenze significative evidenzia quattro differenze significative, fra le seguenti coppie di livelli:

- 02_Aut_2007 e 04_Pri_2008 (autunno 2007, 0 – primavera 2008, 5617);
- 02_Aut_2007 e 06_Inv_2008 (autunno 2007, 0 – inverno 2008, 1862.5);
- 02_Aut_2007 e 08_Aut_2009 (autunno 2007, 0 – autunno 2009, 579.7);
- 04_Pri_2008 e 05_Aut_2008 (primavera 2008, 5617 – autunno 2008, 77.3).

Da notare che in tutte le coppie di confronti appena elencate, c'è sempre un elemento in cui è presente almeno una serie di tubi non fertili. Infatti nel campione 02_Aut_2007 non è stato rilevato alcun tubo fertile e nel campionamento 05_Aut_2008 è stata rilevata almeno una serie di tubi non fertili, come mostrato dal valore minimo pari a zero.

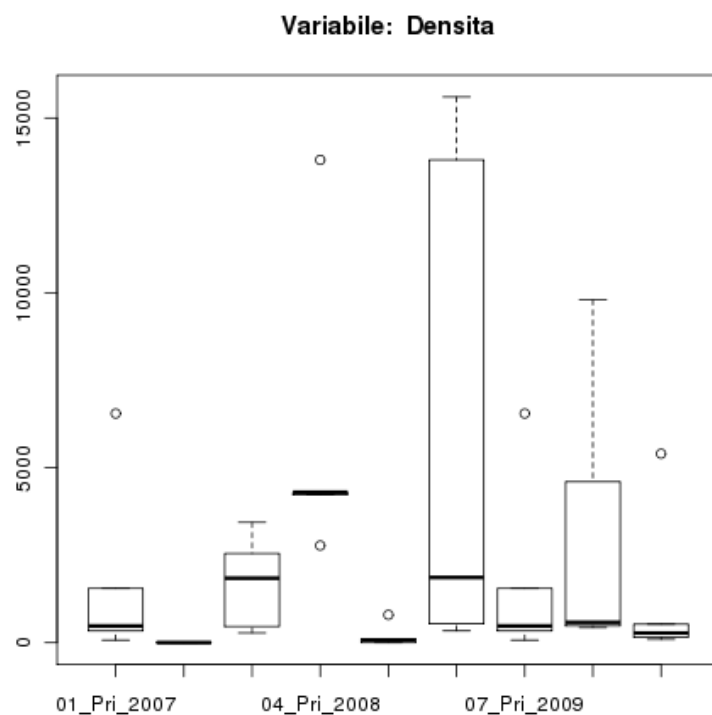


Grafico 5.9: Boxplot dei nove livelli del fattore campionamento.

	<i>01_Pri_2007</i>	<i>02_Aut_2007</i>	<i>03_Inv_2007</i>	<i>04_Pri_2008</i>	<i>05_Aut_2008</i>	<i>06_Inv_2008</i>	<i>07_Pri_2009</i>	<i>08_Aut_2009</i>	<i>09_Inv_2009</i>
<i>01_Pri_2007</i>	NA	23.00	5.58	17.80	14.33	11.25	0.00	7.25	4.50
<i>02_Aut_2007</i>	29.04	NA	28.58	40.80 *	8.67	34.25 *	23.00	30.25 *	18.50
<i>03_Inv_2007</i>	29.04	29.04	NA	12.20	19.92	5.67	5.58	1.67	10.08
<i>04_Pri_2008</i>	29.04	29.04	29.04	NA	32.08 *	6.50	17.75	10.50	22.25
<i>05_Aut_2008</i>	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	25.58	14.33	21.58	9.83
<i>06_Inv_2008</i>	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	11.25	4.00	15.75
<i>07_Pri_2009</i>	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	7.25	4.50
<i>08_Aut_2009</i>	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA	11.75
<i>09_Inv_2009</i>	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	29.04	NA

Tab. 5.30: Ricerca dei confronti con differenze significative fra i livelli del fattore campionamento.

Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.

5.2.3.2 Differenza tra anni

<i>Anno</i>	<i>massimo</i>	<i>minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
2007	6550	0.0	6550	1104	380	1707	155	2912930	7.74e-05
2008	15600	0.0	15600	3820	1862	5148	135	26504546	1.38e-04
2009	9800	71.9	9728	1814	503	2814	155	7915950	1.99e-05

Tab. 5.31: Indici statistici dei tre livelli del fattore anno.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia che tutti i valori sono al di sopra del valore 100. Medie e mediane presentano andamento simile con un picco nel 2008 e negli anni 2007 e 2008 è stata rilevata almeno una serie di tubi non fertili, come mostrato dal valore minimo pari a zero. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli non sono omogenee ($p < 0.0079$). La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H_0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non sono significativamente differenti ($p = 0.1183$).

5.2.3.3 Differenza tra stagioni

<i>Stagione</i>	<i>massimo</i>	<i>minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Autunno	9800	0.0	9800	974	77.3	2448	251	5992806	3.26e-07
Inverno	15600	89.1	15511	2841	1045.3	4544	160	20650431	1.06e-05
Primavera	13800	71.9	13728	2923	1550.0	3510	120	12317920	6.02e-04

Tab. 5.31 Indici statistici dei tre livelli del fattore stagione.

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia due valori superiori al valore 100 ed uno molto più elevato, superiore a 250. Medie e mediane presentano un andamento simile con il massimo in primavera ed il minimo in autunno. Nella stagione autunno è stata rilevata almeno una serie di tubi non fertili, come mostrato dal valore minimo pari a zero. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato, tuttavia, non è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli sono omogenee. È stata quindi eseguita la classica ANOVA ad un fattore con la seguente ipotesi H0: la differenza fra la media dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene accettata. La media fra i 3 gruppi della variabile non è risultata significativamente differente ($p=0.1956$).

Per accertare eventuali discrepanze nel risultato è stata condotta anche la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene rigettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione sono significativamente differenti ($p = 0.0038$).

La ricerca dei confronti con differenze significative (Tab. 5.31) evidenzia due differenze significative: quella tra le mediane dei livelli autunno e inverno (autunno, 77.3 – inverno, 1045.3) e autunno e primavera (autunno, 77.3 – primavera, 1550,0).

	<i>Autunno</i>	<i>Inverno</i>	<i>Primavera</i>
<i>Autunno</i>	NA	14.1 *	15.94 *
<i>Inverno</i>	12.6	NA	1.81
<i>Primavera</i>	12.6	12.6	NA

Tab. 5.32: Ricerca dei confronti con differenze significative fra i livelli del fattore stagione.

*Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.*

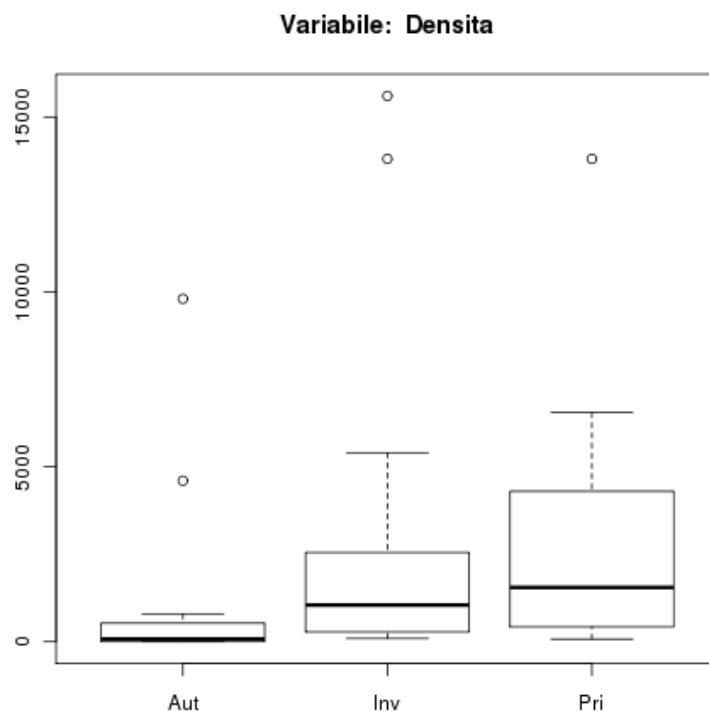


Grafico 5.10: Boxplot dei tre livelli del fattore stagione.

5.2.3.4 Differenza tra parcelle

<i>Parcelle</i>	<i>massimo</i>	<i>minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
51	6550	0	6550	1790	528	2379	133	5657395	8.05e-03
52	13800	0	13800	2484	528	4435	179	19670790	7.12e-05
53	15600	0	15600	3711	631	5125	138	26264129	6.62e-03
D	9800	0	9800	2010	277	3243	161	10518679	1.12e-03
E	13800	0	13800	2784	1550	4393	158	19300615	6.64e-04
F	2775	0	2775	697	338	1025	147	1051513	1.77e-03

Tab. 5.33 Indici statistici dei sei livelli del fattore parcella.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: tutte le parcelle superano la soglia del 100. Medie e mediane presentano un andamento simile e altalenante, anche se non chiaramente ciclico. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati

all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato, tuttavia, non è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli sono omogenee. È stata quindi eseguita la classica ANOVA ad un fattore con la seguente ipotesi H0: la differenza fra la media dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene accettata. La media fra i 6 gruppi della variabile non è risultata significativamente differente ($p=0.6443$). Per accertare eventuali discrepanze nel risultato è stata condotta anche la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non sono significativamente differenti ($p = 0.6031$).

5.2.3.5 Differenza tra colture

<i>Coltura</i>	<i>massimo</i>	<i>Minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>Varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Frumento	15600	0	15600	3880	1862	4793	124	22973288	1.24e-04
Mais	4300	0	4300	1033	503	1568	152	2457357	3.43e-04
Soia	4600	0	4600	877	380	1440	164	2072212	6.01e-06

Tab. 5.34 Indici statistici dei tre livelli del fattore coltura.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: tutte le parcelle superano la soglia del 100. Medie e mediane mostrano che nei terreni coltivati con soia la densità fungina è decisamente inferiore rispetto a quelli con frumento, mentre nei terreni coltivati con mais la situazione è intermedia, che presenta il valore maggiore. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze. Si è quindi eseguita la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore sotto la seguente ipotesi H0: la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore coltura non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0

viene rigettata. C'è almeno una mediana dei 3 gruppi della variabile densità significativamente differente dalle altre con $p = 0.0216$. La ricerca dei confronti con differenze significative evidenzia una differenza significativa, fra le colture frumento e soia (mediana frumento: 1862 – mediana soia: 380).

	Frumento	Mais	Soia
Frumento	NA	10.9	12.47*
Mais	13.3	NA	1.56
Soia	11.7	14.0	NA

Tab. 5.35: Ricerca dei confronti con differenze significative fra i livelli del fattore coltura.

*Differenze osservate sopra la diagonale, valore critico sotto la diagonale. * Valore significativo $p < 0.05$.*

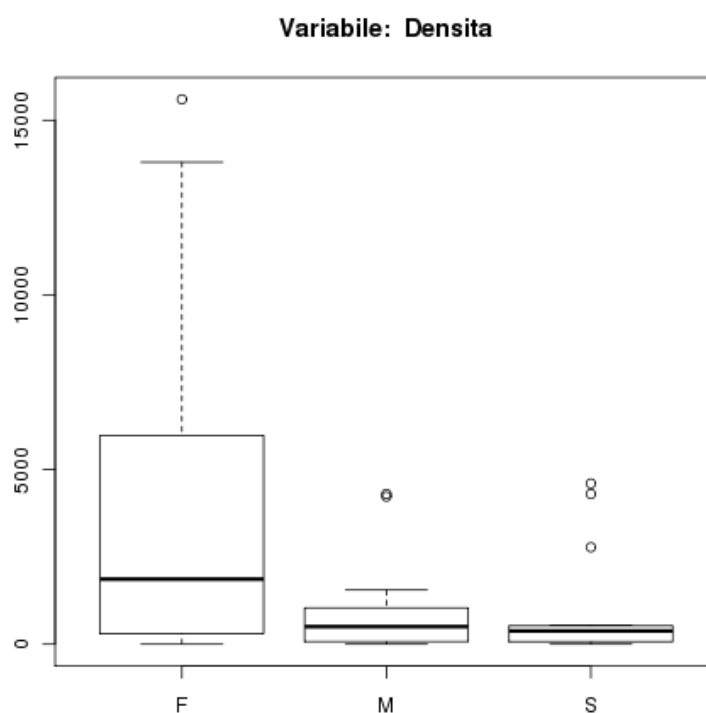


Grafico 5.11 Boxplot dei tre livelli del fattore coltura.

5.2.3.6 Differenza tra pratiche agronomiche

<i>Pratica agronomica</i>	<i>max</i>	<i>min</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
biologica	13800	0	13800	1831	338	3205	175	10269150	2.76e-07
convenzionale	15600	0	15600	2662	528	4066	153	16530143	1.59e-06

Tab. 5.36: Indici statistici dei due livelli del fattore pratica agronomica.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: tutte le parcelle superano la soglia del 100.

Medie e mediane mostrano che nei terreni coltivati con pratica biologica la densità fungina di questo genere è inferiore rispetto a quelli coltivati con pratica convenzionale. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato non è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei due livelli sono omogenee. La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non sono significativamente differenti ($p = 0.2337$). È stata quindi eseguita la classica ANOVA ad un fattore con la seguente ipotesi H0: la differenza fra la media dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene accettata. La media fra i 2 gruppi della variabile non è risultata significativamente differente ($p=0.4081$). Per accertare eventuali discrepanze nel risultato è stata condotta anche la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non sono significativamente differenti ($p = 0.2216$).

5.2.4 Gliocladium

Si ricorda che i dati relativi a questo genere sono incompleti, poiché la registrazione è iniziata dal campionamento dell'inverno 2008.

5.2.4.1 Differenza tra campionamenti

<i>Campionamento</i>	<i>massimo</i>	<i>minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
06_Inv_2008	631	0	631	294.5	252.3	306	104	93566	0.06866
07_Pri_2009	1375	0	1375	499.5	103.9	680	136	461908	0.00516
08_Aut_2009	2138	0	2138	510.7	247.7	814	159	662895	0.00371
09_Inv_2009	272	0	272	58.3	19.5	106	182	11311	0.00113

Tab. 5.37 Indici statistici dei quattro livelli del fattore campionamento.

Da notare che in ciascun campionamento è stata rilevata almeno una serie di tubi non fertili, come mostrato dal valore minimo pari a zero. L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia situazioni particolari con la totalità dei valori che supera la soglia del 100. Medie e mediane presentano un andamento simile e altalenante, anche se non chiaramente ciclico. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. Infatti in due casi su quattro (08_Aut_2009, 08_Inv_2009) la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, mentre i restanti due sono prossimi ad una deviazione significativa, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito del test di Levene per l'omogeneità delle varianze sotto riportato. Ipotesi H0: la differenza fra la varianza dei 4 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non è significativamente diversa da 0. Come specificato in materiali e metodi, per tutti i test (cfr. cap. 3) il livello di significatività alfa è stato prefissato al valore 0.05. L'ipotesi H0 viene rigettata. La varianza fra i 4 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento è significativamente differente ($p < 0.0280$). Si è quindi eseguita la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore sotto la seguente ipotesi H0: la differenza fra la mediana dei 4 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 4 gruppi della variabile densità individuati dal fattore campionamento non sono significativamente differenti ($p = 0.386$).

5.2.4.2 Differenza tra anni

<i>Anno</i>	<i>massimo</i>	<i>minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
2008 *	631	0	631	295	252.3	306	104	93566	6.87e-02
2009	2138	0	2138	356	55.5	617	173	381134	1.49e-05

Tab. 5.38 Indici statistici dei due livelli del fattore anno.

* = *un solo campionamento*

L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia che tutti i valori sono al di sopra del valore 100.

Medie e mediane presentano valori opposti: la media è più alta nel 2008 e più bassa nel 2009, mentre per la mediana è l'inverso. In entrambi gli anni è stata rilevata almeno una serie di tubi non fertili, come mostrato dal valore minimo pari a zero. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato, tuttavia, non è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli sono omogenee. È stata quindi eseguita la classica ANOVA ad un fattore con la seguente ipotesi H0: la differenza fra la media dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene accettata. La media fra i 2 gruppi della variabile non è risultata significativamente differente ($p=0.8182$). Per accertare eventuali discrepanze nel risultato è stata condotta anche la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H0 viene accettata. Le mediane dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non sono significativamente differenti ($p = 0.6584$).

5.2.4.3 Differenza tra stagioni

<i>Stagione</i>	<i>massimo</i>	<i>minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Autunno*	2138	0	2138	511	247.7	814	159	662895	0.00371
Inverno	631	0	631	176	39.1	251	142	62887	0.00138
Primavera *	1375	0	1375	499	103.9	680	136	461908	0.00516

Tab. 5.39 Indici statistici dei due livelli del fattore stagione.

** un solo campionamento*

L'esame dei coefficienti di variazione mostra tutti i valori superiore al valore 100.

Medie e mediane presentano un andamento simile con il minimo invernale. In tutte le stagioni è stata rilevata almeno una serie di tubi non fertili, come mostrato dal valore minimo pari a zero. La distribuzione dei dati all'interno dei livelli si presenta fortemente asimmetrica, come evidenziato dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli non sono omogenee ($p < 0.0339$). La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H_0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore stagione non sono significativamente differenti ($p = 0.5326$).

5.2.4.4 Differenza tra parcelle

<i>Parcella</i>	<i>massimo</i>	<i>minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
51	71.9	0.0	71.9	18.0	0.0	35.9	200.0	1292	0.00124
52	218.8	0.0	218.8	64.5	19.5	104.5	162.1	10920	0.03932
53	73.4	0.0	73.4	18.4	0.0	36.7	200.0	1348	0.00124
D	2137.5	271.9	1865.6	1103.9	1003.1	828.1	75.0	685826	0.78300
E	431.2	39.1	392.2	220.7	206.2	170.9	77.4	29210	0.89736
F	1375.0	39.1	1335.9	619.1	531.2	560.7	90.6	314422	0.77656

Tab. 5.40: Indici statistici dei sei livelli del fattore parcella.

I campi di variazione sono (bassi o elevati? In fondo sono microorganismi), da rilevare che in tre parcelle su sei (51, 52, 53) è stata rilevata almeno una serie di tubi non fertili, come mostrato dal valore minimo pari a zero. L'esame dei coefficienti di variazione evidenzia due gruppi di valori:

- al di sotto del valore 100 (parcelle D, E, F);
- al di sopra del valore 100 (parcelle 51, 52, 53).

Indicando che le parcelle del gruppo 1 presentano valori piuttosto costanti e più elevati rispetto alle parcelle del gruppo 2. Anche medie e mediane si presentano in due gruppi: il primo con medie e mediane al di sopra del 200, l'altro con valori decisamente inferiori.

Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tre casi su sei (parcelle 51, 52, 53) la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei sei livelli non sono omogenee ($p < 0.0017$).

La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 6 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H_0 viene accettata.

5.2.4.5 Differenza tra colture

<i>Coltura</i>	<i>massimo</i>	<i>minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
Frumento	2138	0	2138	413	56.2	679	164	461382	0.000664
Mais	1375	0	1375	470	251.6	632	135	399975	0.199355
Soia	631	0	631	168	87.5	214	128	45670	0.030095

Tab. 5.41: Indici statistici dei tre livelli del fattore coltura.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: tutte le parcelle superano la soglia del 100.

Medie e mediane mostrano andamenti discordanti: le medie evidenziano il minimo nei terreni coltivati con soia, mentre secondo le mediane la densità fungina è inferiore nei terreni in cui è coltivato frumento; in entrambe i casi nei terreni coltivati con mais la situazione è intermedia. Dal

confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In due casi su tre (frumento, soia) la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato, tuttavia, non è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei tre livelli sono omogenee. Non è stato possibile eseguire la classica ANOVA ad un fattore per il mancato bilanciamento dei livelli del fattore, che si traduce in mancanza di dati utili all'analisi. È stata quindi condotta la Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con l'ipotesi H_0 per la quale la differenza fra la mediana dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore coltura non è significativamente diversa da 0. L'ipotesi H_0 viene accettata. Le mediane dei 3 gruppi della variabile densità individuati dal fattore anno non sono significativamente differenti ($p = 0.8348$).

5.2.4.6 Differenza tra pratiche agronomiche

1) Variabile: Densità

<i>Pratica colturale</i>	<i>massimo</i>	<i>minimo</i>	<i>range</i>	<i>media</i>	<i>mediana</i>	<i>sd</i>	<i>cv</i>	<i>varianza</i>	<i>P_Shapiro</i>
biologica	2138	39.1	2098	647.9	431	650	100	423041	0.025451
convenzionale	219	0.0	219	33.6	0	65	193	4218	0.000113

Tab. 5.42: Indici statistici dei due livelli del fattore pratica agronomica.

L'esame dei coefficienti di variazione non evidenzia valori anomali: tutte le parcelle superano la soglia del 100.

Medie e mediane mostrano che nei terreni coltivati con pratica convenzionale la densità fungina di questo genere è inferiore rispetto a quelli coltivati con pratica biologica. Dal confronto dei rispettivi valori si intuisce che la distribuzione dei dati all'interno dei livelli presenta asimmetrie, indicazione confermata dalle probabilità legate al test di Shapiro – Wilk. In tutti e due i casi la distribuzione dei valori devia significativamente dalla normalità, indicando che i metodi di analisi più appropriati sono quelli di statistica non parametrica. Questo risultato è corroborato anche dall'esito dal test di Levene per l'omogeneità delle varianze, dal quale risulta che le varianze dei valori dei due livelli non sono omogenee ($p < 0.0009$). La Kruskal - Wallis ANOVA a un fattore è stata eseguita con

l'ipotesi H0 per la quale la differenza fra la mediana dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore pratica agronomica non è significativamente diversa da 0.

L'ipotesi H0 viene rigettata. La mediana dei 2 gruppi della variabile densità individuati dal fattore parcella significativamente differente dalle altre con $p < 0.0001$.

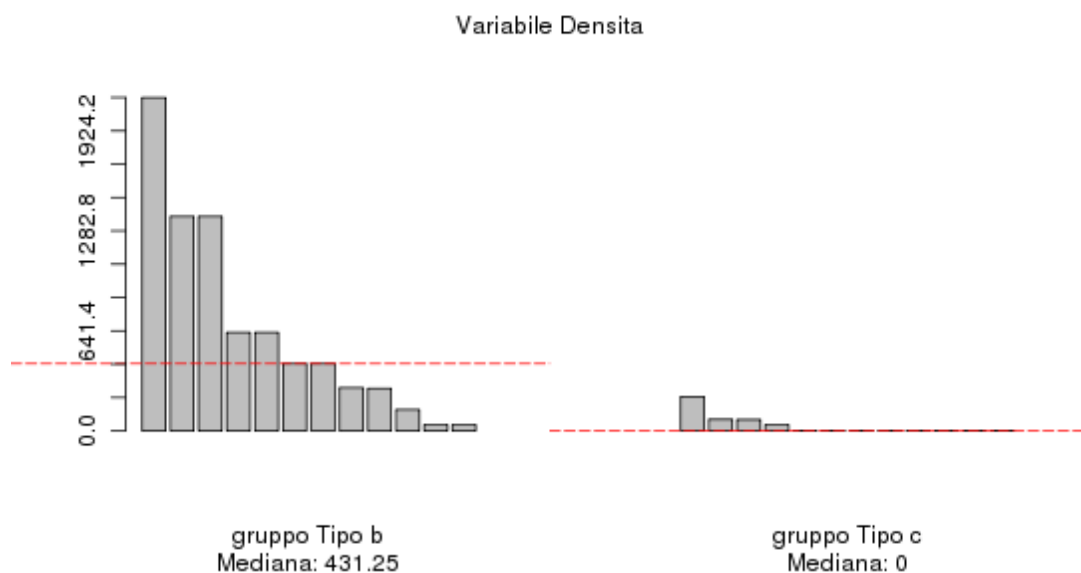


Grafico 5.13 Diagramma a barre dei due livelli del fattore pratica agronomica.

La linea tratteggiata rossa indica la mediana.

5.3 Prove di sviluppo degli antagonisti *in vitro*

Su ciascuno dei 15 ceppi di *G. roseum* selezionati, sono state effettuate 5 misure di crescita a 6 diverse temperature 6, 12, 18, 24, 30, 36 gradi centigradi.

Dalle registrazioni giornaliere della crescita dei funghi, mantenuti alle diverse temperature, è stato possibile valutare le temperature ottimali di accrescimento.

In questo modo è stato possibile individuare le migliori condizioni di crescita per i funghi antagonisti e valutare il loro sviluppo alla temperatura che rappresenta l'*optimum* di crescita del patogeno contro il quale devono determinare antagonismo. I dati raccolti sono stati analizzati mediante ANOVA a due fattori con repliche, considerando come fattori il ceppo (codificati da c_01 a c_15) e la temperatura (codificata da T_06 a T_36) e come variabile dipendente la crescita (cm²).

	<i>T_06</i>	<i>T_12</i>	<i>T_18</i>	<i>T_24</i>	<i>T_30</i>	<i>T_36</i>
c_01	0.29 ± 0.09	4.03 ± 0.28	11.66 ± 0.94	19.3 ± 1.02	36.27 ± 2.56	1.72 ± 0.56
c_02	0.38 ± 0.06	5.89 ± 0.50	15.12 ± 0.83	29.94 ± 6.73	49.13 ± 1.88	4.06 ± 0.56
c_03	0.67 ± 0.02	6.00 ± 0.37	15.39 ± 0.94	22.58 ± 1.26	35.52 ± 3.17	-0.02 ± 0.02
c_04	0.45 ± 0.14	5.46 ± 0.21	18.98 ± 0.86	32.8 ± 1.20	51.05 ± 1.41	0.02 ± 0.02
c_05	0.37 ± 0.05	5.33 ± 0.16	19.62 ± 0.58	33.13 ± 0.67	43.57 ± 1.47	1.34 ± 0.23
c_06	0.56 ± 0.04	6.86 ± 0.21	25.41 ± 0.29	40.00 ± 1.07	33.88 ± 0.50	0.40 ± 0.13
c_07	-0.04 ± 0.02	1.12 ± 0.19	4.97 ± 0.28	10.34 ± 0.21	18.11 ± 0.81	3.16 ± 0.45
c_08	0.36 ± 0.12	5.29 ± 0.35	20.16 ± 0.68	31.53 ± 1.30	36.98 ± 1.43	0.31 ± 0.11
c_09	0.10 ± 0.02	6.24 ± 0.38	21.27 ± 1.20	29.66 ± 0.84	35.69 ± 4.26	3.98 ± 0.41
c_10	0.60 ± 0.18	5.21 ± 0.26	13.33 ± 0.42	21.44 ± 0.94	25.44 ± 1.67	1.91 ± 0.25
c_11	0.39 ± 0.06	6.76 ± 0.32	22.72 ± 1.27	38.63 ± 1.35	44.38 ± 2.19	1.55 ± 0.54
c_12	0.49 ± 0.07	5.35 ± 0.17	19.67 ± 0.33	35.36 ± 0.78	39.14 ± 2.36	1.34 ± 0.91
c_13	0.35 ± 0.05	6.31 ± 0.21	19.46 ± 0.64	29.6 ± 2.43	25.31 ± 3.31	0.09 ± 0.14
c_14	0.34 ± 0.03	7.18 ± 0.14	27.8 ± 0.67	41.13 ± 1.40	32.79 ± 1.50	0.36 ± 0.17
c_15	0.38 ± 0.03	5.28 ± 0.22	16.08 ± 0.39	33.6 ± 1.33	35.98 ± 1.32	0.53 ± 0.11

Tab. 43: Crescita dei ceppi di *G. roseum*. alle diverse temperature, espressa in cm² (media ± sd)

Temperatura C per Ceppo Gliocladium

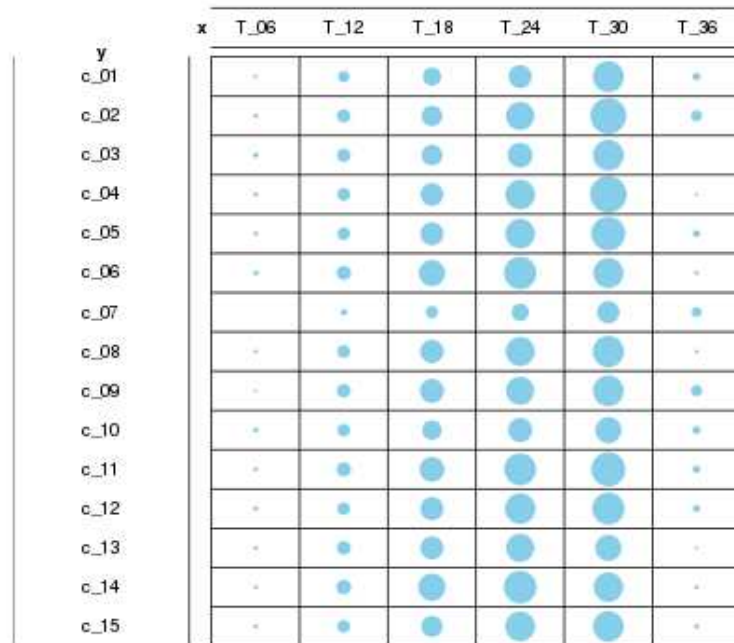


Grafico 5.14: Sintetico della crescita media (cm²) per ceppo e temperatura. L'area di ciascun cerchio è proporzionale al valore medio.

L'Analisi della varianza (ANOVA) indica un effetto altamente significativo sia dei singoli fattori che della loro interazione.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
ceppo	14	4889	349	206.8	< 0.0001 ***
temperatura	5	87911	17582	10412.0	< 0.0001 ***
ceppo:temperatura	70	8068	115	68.3	< 0.0001 ***
Residuals	360	608	2		

Tab. 44: Indici statistici dei singoli fattori e loro interazione

All'ANOVA è seguita la ricerca, per ciascun fattore, delle coppie di medie con differenze significative mediante test HSD di Tukey.

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15
01	NA	5.21	1.15	5.92	5.02	5.64	-5.93	3.56	3.95	-0.89	6.86	4.68	1.31	6.06	3.10
02	<0.01	NA	-4.07	0.77	-0.19	0.43	11.15	-1.65	-1.27	-6.10	1.65	-0.53	-3.90	0.85	2.11
03	0.050	<0.01	NA	4.77	3.87	4.50	-7.08	2.42	2.80	-2.03	5.72	3.54	0.16	4.91	1.95
04	<0.01	0.732	<0.01	NA	-0.90	-0.28	11.85	-2.36	-1.97	-6.80	0.95	-1.24	-4.61	0.14	2.82
05	<0.01	1.000	<0.01	0.324	NA	0.62	10.95	-1.46	-1.07	-5.91	1.84	-0.34	-3.71	1.04	1.92
06	<0.01	0.994	<0.01	1.000	0.874	NA	11.57	-2.08	-1.69	-6.53	1.22	-0.96	-4.33	0.42	2.54
07	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	NA	9.49	9.88	5.05	12.80	10.62	7.24	11.99	9.03
08	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.002	<0.01	<0.01	NA	0.39	-4.45	3.30	1.12	-2.25	2.50	0.46
09	<0.01	0.016	<0.01	<0.01	0.095	<0.01	<0.01	0.998	NA	-4.83	2.92	0.74	-2.64	2.11	0.85
10	0.342	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	NA	7.75	5.57	2.20	6.95	3.99
11	<0.01	<0.01	<0.01	0.241	<0.01	0.024	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	NA	-2.18	-5.56	-0.81	3.76
12	<0.01	0.963	<0.01	0.021	1.000	0.222	<0.01	0.062	0.670	<0.01	<0.01	NA	-3.37	1.38	1.58
13	0.01	<0.01	1.000	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	NA	4.75	1.79
14	<0.01	0.425	<0.01	1.000	0.124	0.996	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.518	0.004	<0.01	NA	-2.96
15	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.989	0.424	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	NA

Tab. 5.45: differenze delle coppie di medie per ciascun fattore.

Differenze fra medie sopra la diagonale, valore di probabilità del confronto sotto la diagonale, in rosso le differenze significative.

Sono stati contati 81 confronti significativi su 105 pari al 77.14 %.

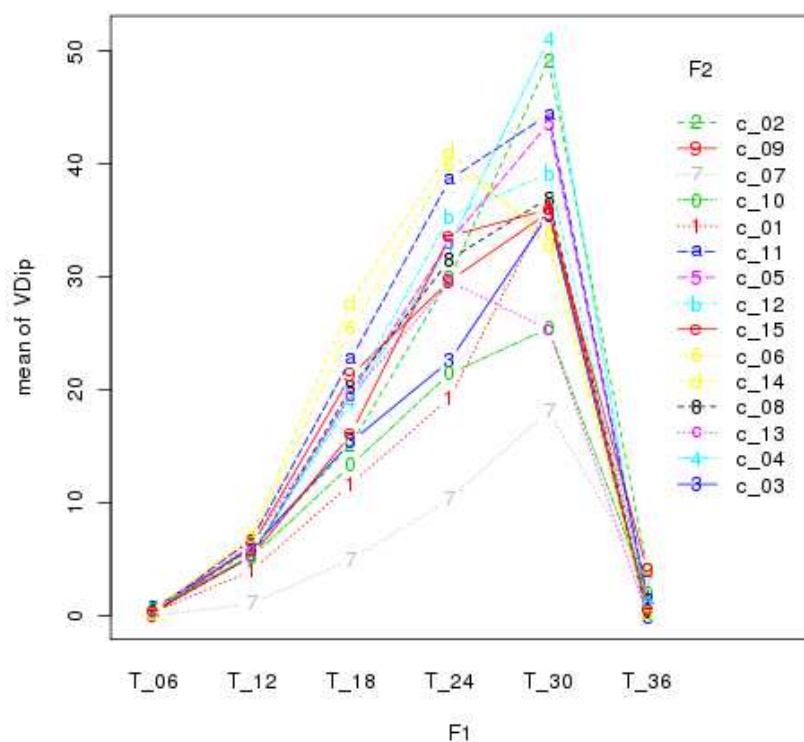


Grafico 5.15: Rappresentazione grafica della crescita dei diversi ceppi alle diverse temperature
Le linee di raccordo sono tracciate all'unico fine di migliorare la leggibilità, non intendendo in alcun modo rappresentare un andamento.

	T_06	T_12	T_18	T_24	T_30	T_36
T_06	NA	5.11	17.73	29.56	35.84	1.00
T_12	<0.001	NA	12.62	24.45	30.73	-4.11
T_18	<0.001	<0.001	NA	11.82	18.10	-16.73
T_24	<0.001	<0.001	<0.001	NA	6.28	-28.55
T_30	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	NA	-34.83
T_36	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	NA

Tab. 5.46: Indici statistici dei confronti delle crescite.

Differenze fra medie sopra la diagonale, valore di probabilità del confronto sotto la diagonale, in rosso le differenze significative.

Come si può notare dalla tabella 5.45

- il ceppo c_07 cresce significativamente meno degli altri a tutte le temperature;
- i ceppi c_06, c_13, c_14 presentano il massimo della crescita a 24 C°, tutti gli altri a 30 C°;
- le differenze più marcate si hanno per le temperature di 18, 24, 30 C°;

5.4 Saggi di antagonismo in vitro

5.4.1 Antagonismo *Gliocladium roseum* – *Fusarium graminearum*

Dei 15 ceppi di *G. roseum* sottoposti alle prove di crescita ne sono stati selezionati 8, con procedura di randomizzazione, che sono stati sottoposti a prove di antagonismo contro 5 ceppi di *Fusarium graminearum* di testata virulenza.

Per ciascuna coppia di ceppi sono state effettuate 5 misure di crescita in diversi tempi di incubazione, 7, 11, 14 giorni, a parità di substrato e condizioni. Per cause tecniche sono disponibili le serie di dati complete relativamente a 7 giorni. Si è convenzionalmente stabilito che quando il micelio giungeva al bordo della piastra Petri, senza ulteriore possibilità di crescita, prima dell'intervallo di tempo prestabilito, la serie di dati veniva codificata come finale.

I dati raccolti sono stati analizzati mediante ANOVA a due fattori con repliche, considerando come fattori il ceppo di *G. roseum* (codifica: Gl_01, Gl_05, Gl_06, Gl_07, Gl_09, Gl_11, Gl_12, Gl_14) e il ceppo di *F. graminearum* (codificata da A a E) e come variabile dipendente la crescita (cm²).

	A	B	C	D	E
Ctrl_Fu	14.22 ± 4.57	21.40 ± 6.86	55.70 ± 4.71	52.34 ± 10.39	60.05 ± 3.43
Gl_01	30.07 ± 11.18	30.38 ± 6.96	49.52 ± 2.41	54.75 ± 2.95	51.16 ± 2.83
Gl_05	30.71 ± 12.72	37.99 ± 6.33	51.07 ± 1.80	50.68 ± 1.41	52.22 ± 1.04
Gl_06	30.61 ± 14.45	47.85 ± 6.18	46.00 ± 2.27	49.00 ± 5.57	50.51 ± 2.53
Gl_07	28.89 ± 11.29	43.03 ± 13.70	50.78 ± 1.90	48.18 ± 4.92	54.17 ± 2.64
Gl_09	14.59 ± 5.66	50.19 ± 10.48	54.26 ± 1.46	48.59 ± 2.00	54.32 ± 1.46
Gl_11	22.13 ± 7.25	38.16 ± 10.23	46.31 ± 3.24	43.00 ± 5.01	51.68 ± 2.65
Gl_12	32.40 ± 6.72	47.25 ± 4.70	44.64 ± 3.94	48.01 ± 7.24	53.93 ± 1.45
Gl_14	19.03 ± 9.33	29.43 ± 10.11	48.82 ± 1.25	51.53 ± 3.01	53.61 ± 1.54

Tab. 5.47: Aree di crescita di *F. graminearum* (tutti i ceppi) in cm² rilevata dopo 7 giorni di incubazione in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*. (media ± SD).

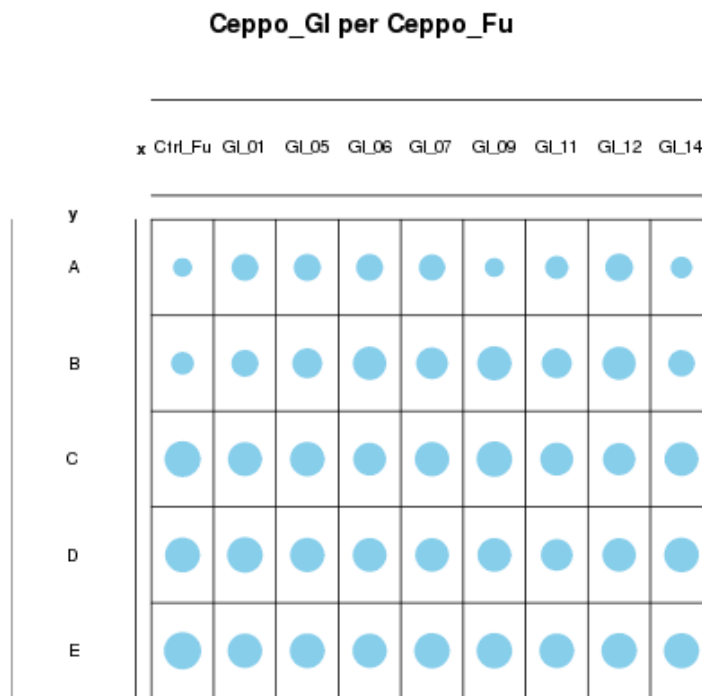


Grafico 5.16: Grafico sintetico della crescita media (cm²) di *F. graminearum* rilevata dopo 7 giorni di incubazione in presenza di diversi *G. roseum*. L'area di ciascun cerchio è proporzionale al valore medio.

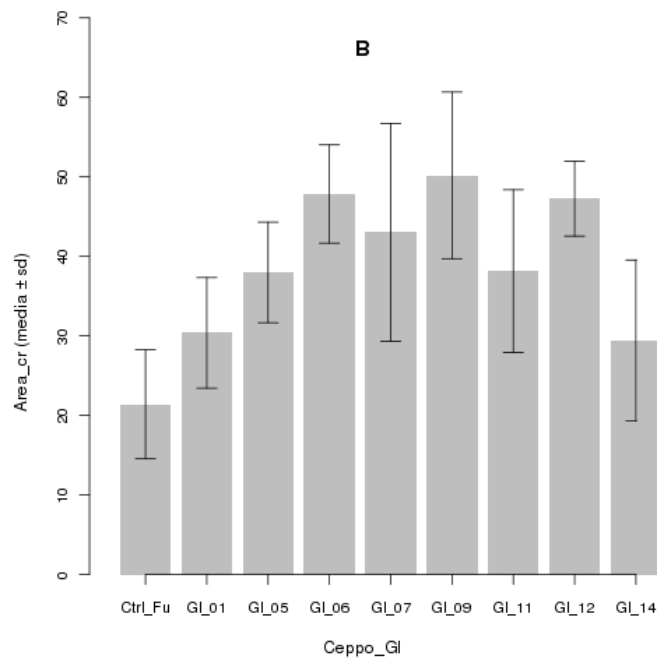


Grafico 5.17: Esempificazione grafica dell'assenza di antagonismo: *F. graminearum* (ceppo B) cresce maggiormente in presenza di *G. roseum* rispetto al controllo.

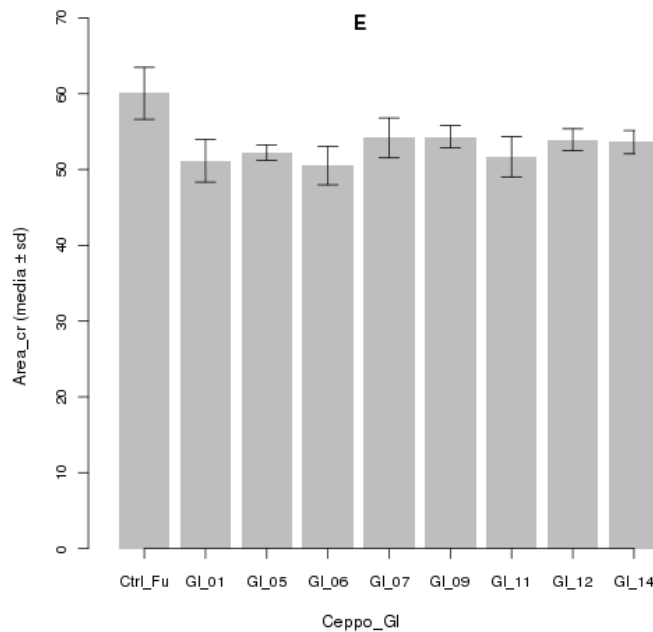


Grafico 5.18: Esemplificazione grafica di antagonismo: il controllo di *F. graminearum* (ceppo E) cresce maggiormente in presenza di *G. roseum*.

ANOVA a due fattori *F. graminearum* – *G. roseum* dopo 7 giorni di incubazione

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere comunque data la loro scarsa entità.

Ipotesi H0

H0₁ – Le crescite dei ceppi di *F. graminearum* sono uguali fra loro.

H0₂ – La crescita dei ceppi di *F. graminearum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;

H0₃ - La crescita di *F. graminearum* non dipende dal ceppo di *G. roseum*.

Variabile indipendente 1: ceppo di *F. graminearum*; Variabile indipendente 2: ceppo di *G. roseum*;

Variabile dipendente: crescita di *F. graminearum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
ceppi <i>F. graminearum</i>	4	24870	6218	143.99	< 0.0001	***
ceppi <i>G. roseum</i>	8	882	110	2.55	0.012	*
Interazione	32	6384	199	4.62	< 0.0001	***
Residuals	180	7772	43			

Tab. 5.48: Indici statistici della crescita duale *F. graminearum*-*G. roseum*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *F. graminearum* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *G. roseum*);
- La crescita di *F. graminearum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;
- La crescita di *F. graminearum* dipende dal ceppo di *G. roseum*;

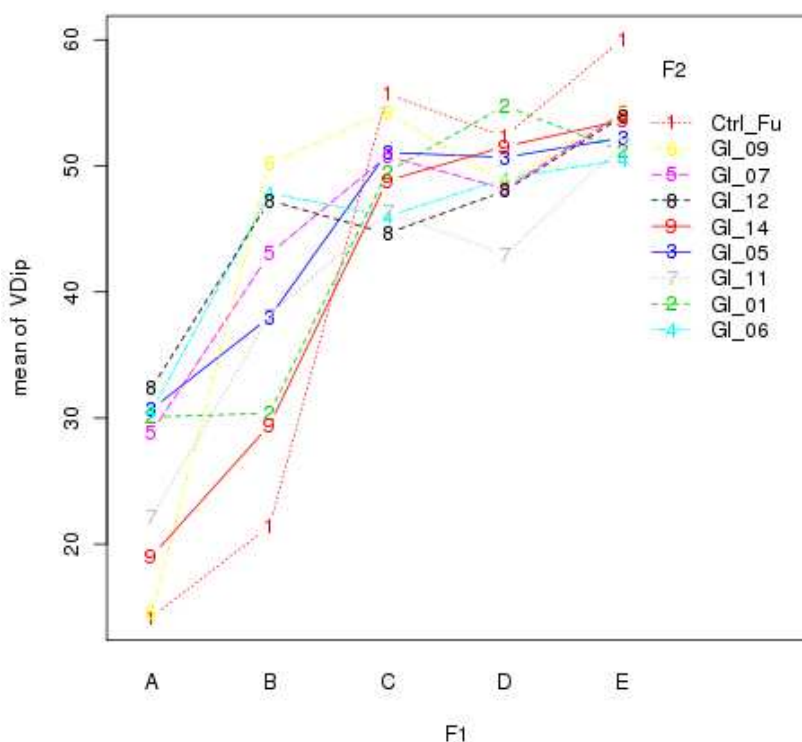


Grafico 5.19: Rappresentazione grafica della crescita di *F. graminearum* in presenza di *G. roseum*

I ceppi A e B crescono maggiormente con *G. roseum*. rispetto al controllo;

I ceppi B e C crescono in modo leggermente inferiore con *G. roseum* rispetto al controllo, con l'eccezione del ceppo Gl_01 abbinato al ceppo D;

Il ceppo E cresce in modo decisamente inferiore con *G. roseum* rispetto al controllo.

Crescita di *G. roseum* in presenza di *F. graminearum*

	0_Ctrl_Gl	A	B	C	D	E
Gl_01	7.03 ± 0.36	9.19 ± 0.46	8.18 ± 0.81	6.76 ± 0.93	6.63 ± 0.45	6.94 ± 1.02
Gl_05	12.61 ± 0.45	11.73 ± 0.52	11.19 ± 0.95	10.21 ± 0.53	10.61 ± 1.06	10.37 ± 0.67
Gl_06	13.27 ± 0.62	12.29 ± 0.97	11.19 ± 1.31	11.86 ± 0.65	11.11 ± 0.61	10.29 ± 0.44
Gl_07	3.13 ± 0.09	2.5 ± 0.28	2.86 ± 0.34	2.54 ± 0.25	2.66 ± 0.59	2.42 ± 0.35
Gl_09	12.15 ± 0.89	11.34 ± 0.31	10.3 ± 0.83	9.43 ± 0.57	10.68 ± 0.94	8.81 ± 0.60
Gl_11	13.74 ± 0.36	12.99 ± 0.62	12.73 ± 1.25	12.38 ± 0.48	12.55 ± 0.26	11.35 ± 0.94
Gl_12	12.02 ± 0.25	9.58 ± 0.52	10.24 ± 0.95	9.89 ± 0.94	10.32 ± 0.94	8.99 ± 0.43
Gl_14	13.58 ± 0.38	11.67 ± 0.91	11.82 ± 0.95	11.15 ± 0.60	10.85 ± 0.78	10.25 ± 0.54

Tab. 5.49: Aree di crescita di *G. roseum* in cm² rilevata dopo 7 giorni di incubazione in presenza dei diversi ceppi di *F. graminearum* (media ± SD).

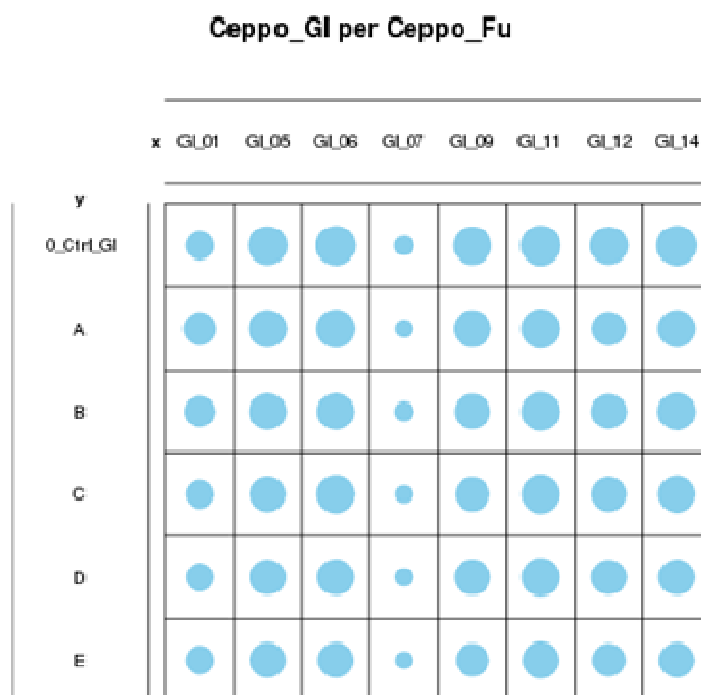


Grafico 5.20: Grafico sintetico della crescita media (cm²) di *G. roseum* rilevata dopo 7 giorni di incubazione in presenza dei diversi ceppi di *Fusarium*. L'area di ciascun cerchio è proporzionale al valore medio.

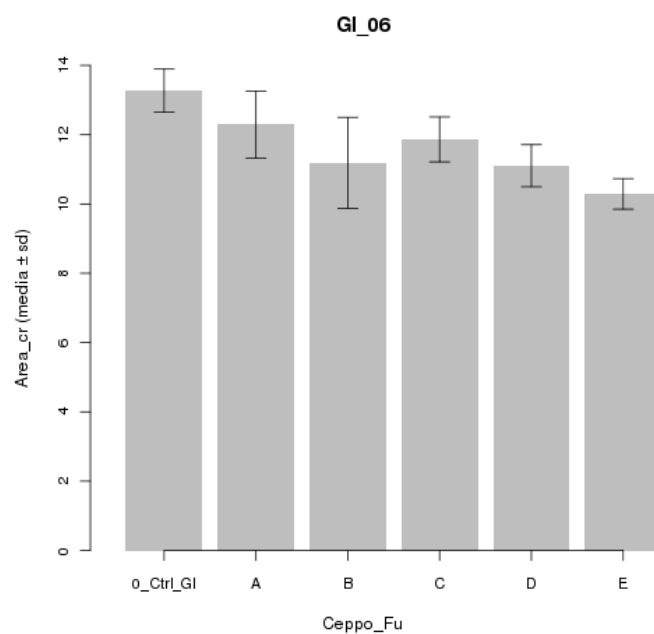


Grafico 5.21: Esempificazione grafica di interazione: *G. roseum*- *F. graminearum*

La crescita del ceppo *G. roseum* 06 risulta inibito dalla presenza di *F. graminearum*

ANOVA a due fattori *G. roseum* – *F. graminearum* dopo 7 giorni di incubazione

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità.

Ipotesi H0

H0₁ – Le crescite dei ceppi di *G. roseum* sono uguali fra loro.

H0₂ – La crescita dei ceppi di *G. roseum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;

H0₃ – La crescita di *G. roseum* non dipende dal ceppo di *Fusarium*.

Variabile indipendente 1: ceppo di *G. roseum*; Variabile indipendente 2: ceppo di *F. graminearum*;

Variabile dipendente: crescita di *G. roseum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
ceppi <i>F. graminearum</i>	5	123	25	49.41	< 0.0001	***
ceppi <i>G. roseum</i>	7	2187	312	629.69	< 0.0001	***
Interazione	35	65	2	3.76	< 0.0001	***
Residuals	192	95	0.5			

Tab. 5.50: Indici statistici della crescita duale *F. graminearum*-*G. roseum*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *G. roseum* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *Fusarium*);
- La crescita di *G. roseum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *Fusarium*;
- La crescita di *G. roseum* dipende dal ceppo di *Fusarium*;

Tutti i ceppi di *G. roseum* ad eccezione di Gl_01 e Gl_07 risentono della presenza di *Fusarium*;

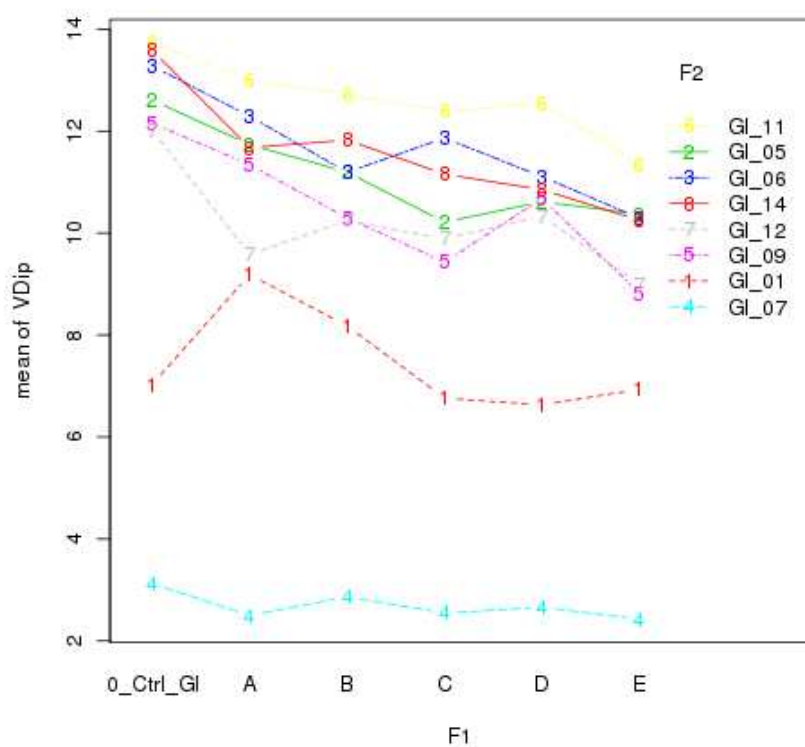


Grafico 5.22: Rappresentazione grafica della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. graminearum*

Il ceppo Gl_01 mostra un incremento della crescita in presenza dei ceppi di *Fusarium* A e B, mentre Gl_07 mostra una crescita decisamente inferiore a quella degli altri ceppi e indifferenza rispetto al ceppo di *Fusarium* a cui si abbina

5.4.2 Antagonismo *G. roseum* - *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*

Tra tutti i ceppi di *G. roseum* saggiati contro *F. graminearum*, i tre ceppi che hanno manifestato una seppur minima attività inibitoria e sono risultati anche i meno inibiti sono stati testati contro: *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum* e *F. sporotrichioides*.

I tre ceppi selezionati, Gl_1, Gl_06 e Gl_12 per praticità operativa sono stati rinominati rispettivamente Gl_A, Gl_B, Gl_C. Per ciascun ceppo di *G. roseum* sono state effettuate 5 misure di crescita in diversi tempi di incubazione, 8, 12, 13, 14, 18, 22 giorni, a parità di substrato e condizioni. Per ciascuna coppia di ceppi sono state effettuate 5 misure di crescita in diversi tempi di incubazione a 7 giorni a parità di substrato e condizioni.

I dati raccolti sono stati analizzati mediante ANOVA a due fattori con repliche, considerando di volta in volta come fattori il ceppo di *G. roseum* (codifica: Gl_A, Gl_B, Gl_C) e la specie di *Fusarium* opportunamente codificata, mentre come variabile dipendente è stata considerata la crescita (cm²).

Area crescita dei ceppi di *G. roseum*, diverse durate del periodo di incubazione

	08_gg	12_gg	13_gg	14_gg	18_gg	22_gg
Gl_A	7.95 ± 0.42	16.28 ± 0.75	18.64 ± 0.95	21.39 ± 0.98	33.84 ± 1.95	45.40 ± 3.41
Gl_B	14.36 ± 0.62	25.37 ± 0.85	28.35 ± 1.00	31.74 ± 1.14	44.07 ± 1.45	55.86 ± 2.24
Gl_C	14.85 ± 0.69	25.54 ± 1.19	28.77 ± 1.20	32.09 ± 1.45	45.22 ± 2.09	56.40 ± 3.03

Tab. 5.51: Aree di crescita dei diversi ceppi di *G. roseum* (media ± SD) in cm² rilevata dopo 8, 12, 13, 14, 18 e 22 gg di incubazione.

ANOVA a due fattori *G. roseum* x tempo di incubazione

Ipotesi H0:

H0₁ – Le crescite dei ceppi di *G. roseum* sono uguali fra loro.

H0₂ – La crescita dei ceppi di *G. roseum* è costante nel tempo;

H0₃ - La crescita di *G. roseum* non dipende dal tempo.

Variabile indipendente 1: ceppo di *G. roseum*; Variabile indipendente 2: tempo; Variabile dipendente: crescita di *G. roseum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>G. roseum</i>	2	1860,5	930,27	352,09	< 0.0001	***
Tempo	5	15344,2	3068,85	1161,50	< 0.0001	***
Interazione	10	43,2	4,32	1,63	0,114	ns
Residuals	72	190,2	2,64	NA	NA	

Tab. 5.52: Indici statistici della crescita di *G. roseum* rispetto al tempo

Le ipotesi H0₁ e H0₂ vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *G. roseum* mostrano crescite differenti;
- La crescita di *G. roseum* cambia in funzione del tempo;
- L'ipotesi H0₃ viene invece accettata: non c'è effetto di interazione

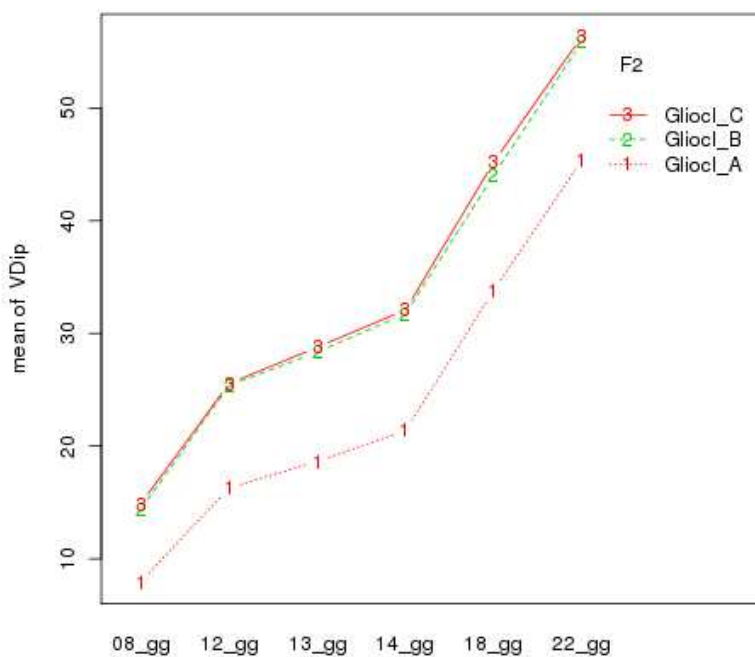


Grafico 5.23: Rappresentazione della crescita di *G. roseum* in funzione del tempo

5.4.2.1 Antagonismo *G. roseum* – *F. verticillioides*

Area crescita *F. verticillioides* in presenza di *G. roseum*

	controllo	GI_A	GI_B	GI_C
<i>Fvert_1</i>	55.25 ± 1.47	45.60 ± 0.73	43.75 ± 0.37	43.53 ± 0.40
<i>Fvert_2</i>	58.00 ± 1.03	47.06 ± 0.79	43.96 ± 0.84	45.45 ± 1.10
<i>Fvert_3</i>	56.38 ± 1.56	44.97 ± 1.71	41.22 ± 0.78	42.10 ± 0.22

Tab. 5.53: Aree di crescita di 3 ceppi di *F. verticillioides* in cm² in presenza di *G. roseum* (media ± SD).

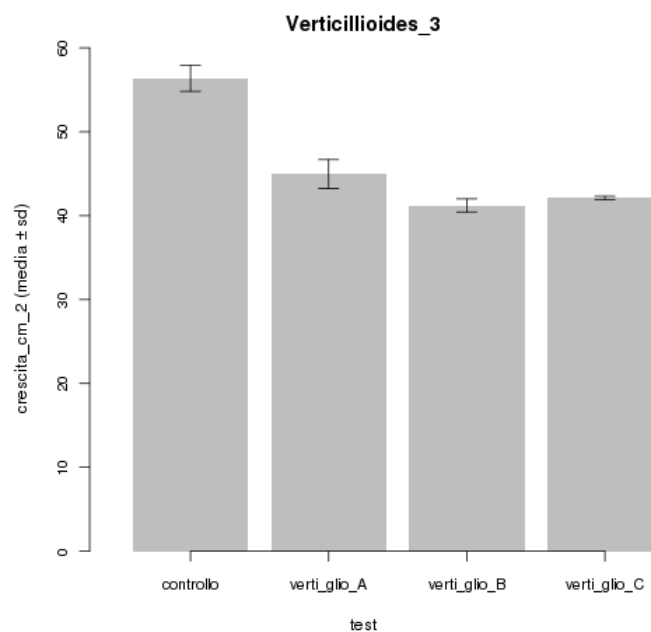


Grafico 5.24: Esempificazione grafica di antagonismo: il *F. verticillioides* ceppo 3 risulta inibito dalla presenza di *G. roseum*.

Tutti i ceppi di *F. verticillioides* risentono della presenza dei ceppi di *G. roseum*, si può notare infatti che crescono meno rispetto al controllo.

ANOVA a due fattori *F. verticillioides* – *G. roseum*

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità'.

Ipotesi H0

H0₁ – Le crescite dei ceppi di *F. verticillioides* sono uguali fra loro.

H0₂ – La crescita dei ceppi di *F. verticillioides* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;

H0₃ – La crescita di *F. verticillioides* non dipende dal ceppo di *G. roseum*.

Variabile indipendente 1: ceppo di *F. verticillioides*; Variabile indipendente 2: ceppo di *G. roseum*;

Variabile dipendente: crescita di *F. verticillioides* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>F. verticillioides</i>	2	61,8	30,90	29,41	< 0.0001	***
Ceppi <i>G. roseum</i>	3	1787,0	595,65	566,91	< 0.0001	***
Interazione	6	20,4	3,41	3,24	0.009	***
Residuals	48	50,4	1,05	NA	NA	

Tab. 5.54: Indici statistici della crescita di *F. verticillioides* in presenza di *G. roseum*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

I diversi ceppi di *F. verticillioides* mostrano crescite differenti. La crescita di *F. verticillioides* cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;

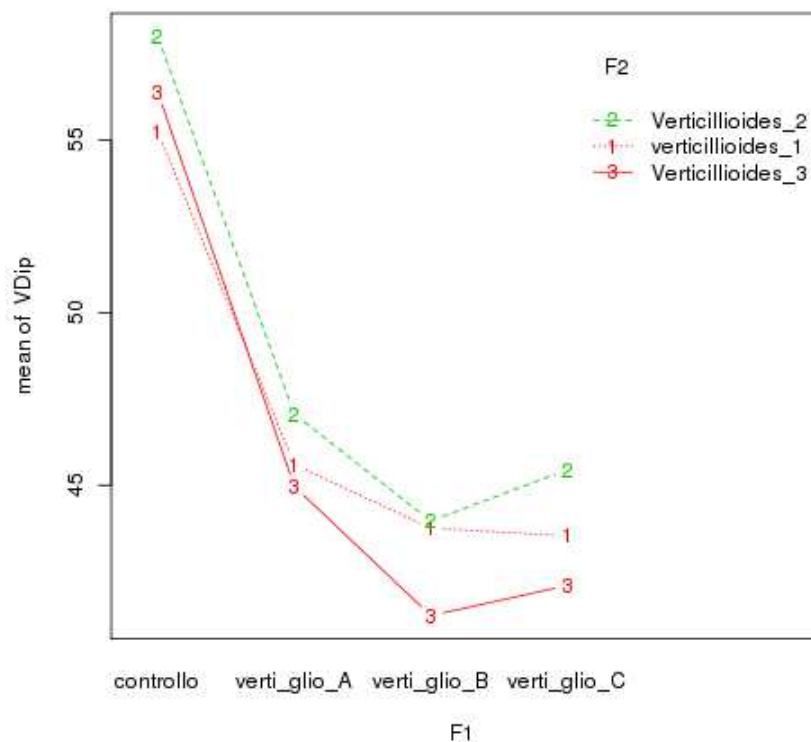


Grafico 5.25 Rappresentazione della crescita di *F. verticillioides* in presenza di *G. roseum*;

Tutti i ceppi di *F. verticillioides* risentono della presenza di *G. roseum*;

Area crescita *G. roseum* in presenza di *F. verticillioides*

	controllo_1_3	controllo_2	Fvert_1	Fvert_2	F vert_3
GL_A	18.64 ± 0.95	16.28 ± 0.75	17.67 ± 1.31	14.3 ± 1.70	22.02 ± 2.50
GL_B	28.35 ± 1.0	25.37 ± 0.85	28.26 ± 1.51	25.74 ± 0.92	33.54 ± 3.51
GL_C	28.77 ± 1.2	25.54 ± 1.19	30.27 ± 1.19	25.66 ± 1.69	31.89 ± 2.78

Tab. 5.56: Aree di crescita di *G. roseum* in cm² in presenza di *F. verticillioides* (media ± SD).

ANOVA a due fattori *G. roseum* – *F. verticillioides* dopo 7 giorni di incubazione

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità'.

Ipotesi H0

H0₁ – Le crescite dei ceppi di *G. roseum* sono uguali fra loro.

H0₂ – La crescita dei ceppi di *G. roseum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. verticillioides*;

H0₃ - La crescita di *G. roseum* non dipende dal ceppo di *F. verticillioides*.

Variabile indipendente 1: ceppo di *G. roseum*; Variabile indipendente 2: ceppo di *F. verticillioides*;

Variabile dipendente: crescita di *G. roseum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>G. roseum</i>	2	1858,0	928,98	314,1	< 0,0001	***
Ceppi <i>F. verticillioides</i>	4	505,1	126,27	42,7	< 0,0001	***
Interazione	8	30,8	3,85	1,3	0,261	ns
Residuals	60	177,5	2,96	NA	NA	

Tab. 5.57: Indici statistici della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. verticillioides*

Le ipotesi H0₁ e H0₂ vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *G. roseum* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *F. verticillioides*);
- La crescita di *G. roseum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. verticillioides*;

L'ipotesi H0₃ viene accettata, la crescita di *G. roseum* non dipende dal ceppo di *F. verticillioides*.

5.4.2.2 Antagonismo *G. roseum* – *F. proliferatum*

Area crescita *F. proliferatum* in presenza di *G. roseum*

	controllo	GL_A	GL_B	GL_C
<i>Fprol_1</i>	55.67 ± 1.45	44.52 ± 0.81	41.02 ± 1.22	40.83 ± 0.41
<i>Fprol_2</i>	62.01 ± 1.07	41.42 ± 1.93	36.70 ± 0.98	37.33 ± 1.43
<i>Fprol_3</i>	55.35 ± 2.79	45.58 ± 1.07	40.32 ± 0.36	40.44 ± 0.41

Tab. 5.58: Aree di crescita di *F. proliferatum* in cm² in presenza di *G. roseum* (media ± SD).

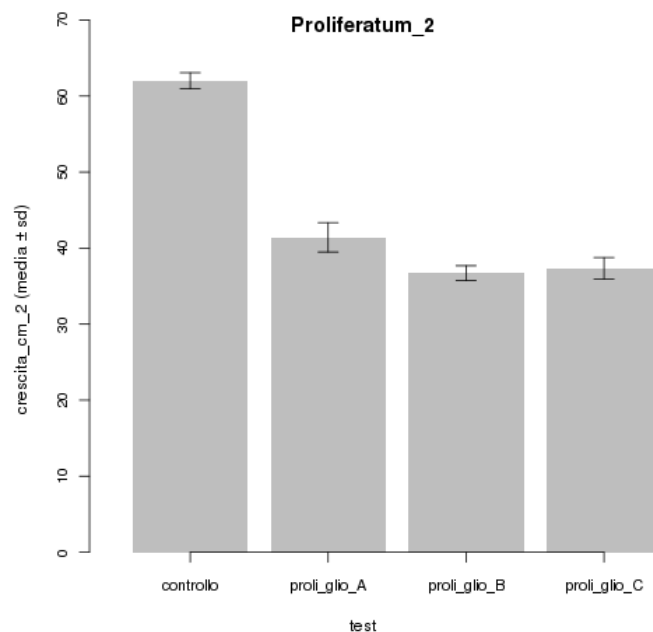


Grafico 5.26: Esempificazione grafica di antagonismo; *F. proliferatum* ceppo 2 risulta inibito dalla presenza di *G. roseum*.

ANOVA a due fattori *F. proliferatum* – *G. roseum* dopo 7 giorni di incubazione

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità'.

Ipotesi H0

H0₁ – Le crescite dei ceppi di *F. proliferatum* sono uguali fra loro.

H0₂ – La crescita dei ceppi di *F. proliferatum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;

H0₃ – La crescita di *F. proliferatum* non dipende dal ceppo di *G. roseum*.

Variabile indipendente 1: ceppo di *F. proliferatum* ; Variabile indipendente 2: ceppo di *G. roseum*;

Variabile dipendente: crescita di *F. proliferatum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>F. proliferatum</i>	2	16,2	8,10	4,52	0,0159	*
Ceppi <i>G. roseum</i>	3	3357,7	1119,24	624,26	< 0.0001	***
Interazione	6	262,2	43,70	24,38	< 0.0001	***
Residuals	48	86,1	1,79	NA	NA	

Tab. 5.59: Indici statistici della crescita di *F. proliferatum* in presenza di *G. roseum*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *F. proliferatum* mostrano crescite differenti ;
- La crescita di *F. proliferatum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;
- La crescita di *F. proliferatum* dipende dal ceppo di *G. roseum*;

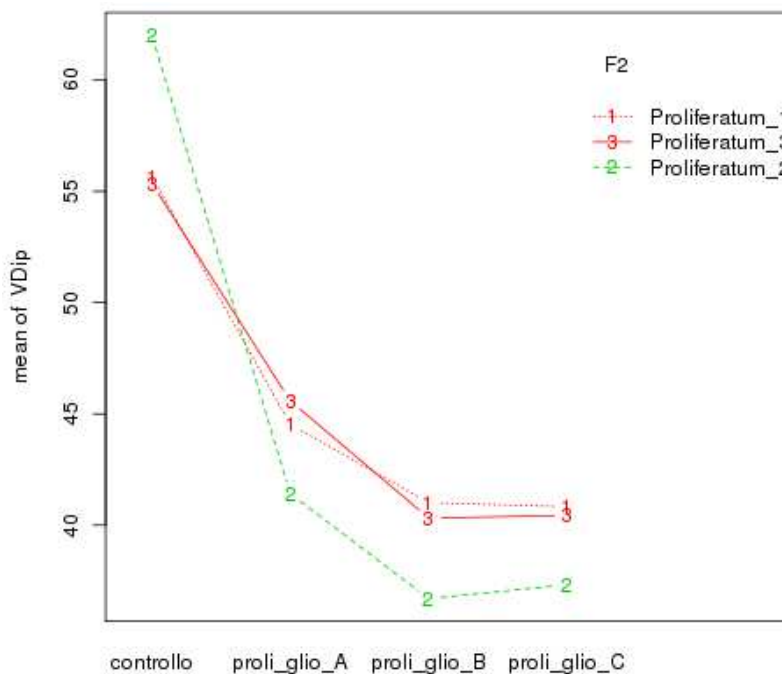


Grafico 5.27: Rappresentazione grafica della crescita di *F. proliferatum* in presenza di *G. roseum*

Area crescita *G. roseum* in presenza di *F. proliferatum*

	control1o_1,3	controllo_2	Fprol_1	Fprol_2	Fprol_3
GL_A	21.39 ± 0.98	33.84 ± 1.95	22.98 ± 1.89	32.77 ± 0.66	22.54 ± 2.73
GL_B	31.74 ± 1.14	44.07 ± 1.45	33.2 ± 1.97	39.29 ± 2.43	30.75 ± 1.15
GL_C	32.09 ± 1.45	45.22 ± 2.09	32.81 ± 1.9	39.87 ± 1.49	31.14 ± 0.52

Tab. 5.60: Aree di crescita di *G. roseum* in cm² in presenza di *F. proliferatum* (media ± SD).

ANOVA a due fattori *G. roseum* – *F. proliferatum* dopo 7 giorni di incubazione

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità.

Ipotesi H0

H0₁ – Le crescite dei ceppi di *G. roseum* sono uguali fra loro.

H0₂ – La crescita dei ceppi di *G. roseum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. proliferatum*;

H0₃ - La crescita di *G. roseum* non dipende dal ceppo di *F. proliferatum*.

Variabile indipendente 1: ceppo di *G. roseum* ; Variabile indipendente 2: ceppo di *F. proliferatum*;

Variabile dipendente: crescita di *G. roseum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>G. roseum</i>	2	1447,9	723,93	251,22	< 0.0001	***
Ceppi <i>F. proliferatum</i>	4	2085,6	521,39	180,94	< 0.0001	***
Interazione	8	40,8	5,09	1,77	0,101	ns
Residuals	60	172,9	2,88	NA	NA	

Tab. 5.61: Indici statistici della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. proliferatum*

Le ipotesi H0 1 e 2 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *G. roseum* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *F. proliferatum*);
- La crescita di *G. roseum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. proliferatum*;

L'ipotesi H0₃ viene accettata, la crescita di *G. roseum* non dipende dal ceppo di *F. proliferatum*;

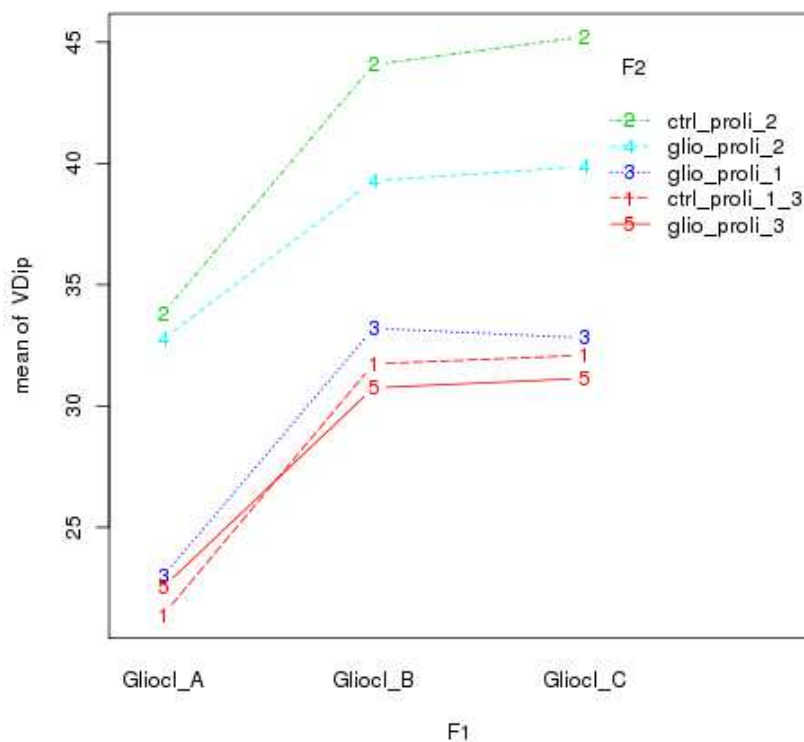


Grafico 5.28: Rappresentazione grafica della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. proliferatum*

5.4.2.3 Antagonismo *G. roseum* – *F. oxysporum*

Area crescita *F. oxysporum* in presenza di *G. roseum*

	controllo	GL_A	GL_B	GL_C
Foxys_1	38.30 ± 4.99	28.74 ± 0.95	22.81 ± 1.65	21.38 ± 1.25
Foxys_2	60.42 ± 1.09	43.78 ± 1.05	38.75 ± 0.72	38.89 ± 2.65
Foxys_3	57.41 ± 0.73	45.38 ± 1.89	41.95 ± 1.52	43.86 ± 0.60

Tab. 5.62: Aree di crescita di *F. oxysporum* in cm² in presenza di *G. roseum* (media ± SD).

ANOVA a due fattori *F. oxysporum* – *G. roseum*

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità.

Ipotesi H0

H0₁ – Le crescite dei ceppi di *F. oxysporum* sono uguali fra loro.

H0₂ – La crescita dei ceppi di *F. oxysporum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;

H0₃ – La crescita di *F. oxysporum* non dipende dal ceppo di *G. roseum*.

Variabile indipendente 1: ceppo di *F. oxysporum* ; Variabile indipendente 2: ceppo di *G. roseum*;

Variabile dipendente: crescita di *F. oxysporum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>F. oxysporum</i>	2	4592	2295,88	590,10	< 0.0001	***
Ceppi <i>G. roseum</i>	3	3054	1018,01	261,66	< 0.0001	***
Interazione	6	137	22,83	5,87	< 0.0001	***
Residuals	48	187	3,89	NA	NA	

Tab. 5.63: Indici statistici della crescita di *F. oxysporum* in presenza di *G. roseum*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *F. oxysporum* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *G. roseum*);
- La crescita di *F. oxysporum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;
- La crescita di *F. oxysporum* dipende dal ceppo di *G. roseum*;

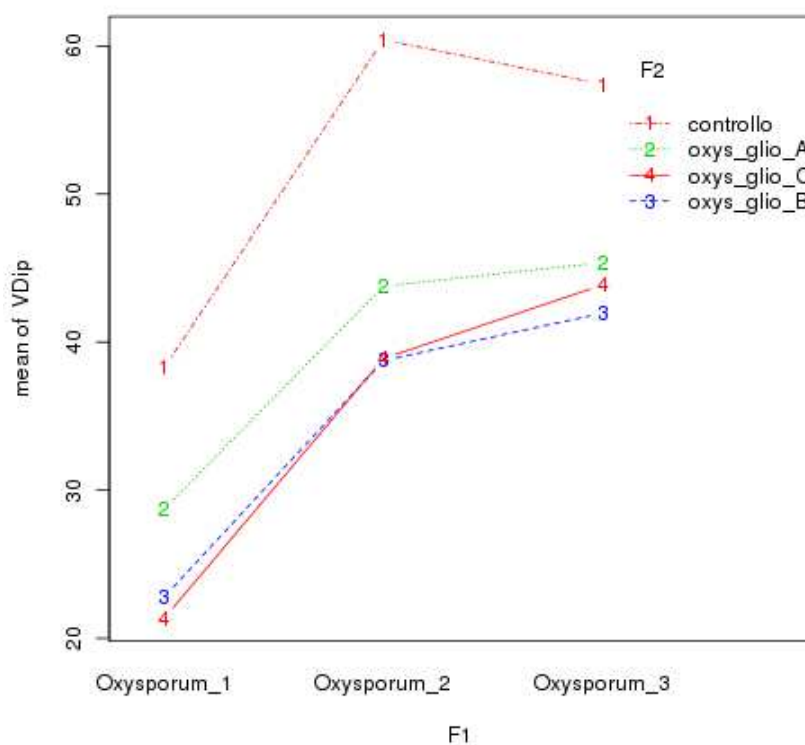


Grafico 5.29: Rappresentazione grafica della crescita di *F. oxysporum* in presenza di *G. roseum*

Area crescita *G. roseum* in presenza di *F. oxysporum*

	controllo_1	controllo_2	controllo_3	Foxys_1	Foxys_2	Foxys_3
<i>Gl_A</i>	45.40 ± 3.41	33.84 ± 1.95	16.28 ± 0.75	36.20 ± 3.71	30.57 ± 1.89	13.12 ± 0.41
<i>Gl_B</i>	55.86 ± 2.24	44.07 ± 1.45	25.37 ± 0.85	53.08 ± 2.58	41.65 ± 1.45	20.90 ± 0.88
<i>Gl_C</i>	56.40 ± 3.03	45.22 ± 2.09	25.54 ± 1.19	55.49 ± 1.43	42.30 ± 1.47	23.13 ± 1.31

Tab. 5.64: Aree di crescita di *G. roseum* in cm² in presenza di *F. oxysporum* (media ± SD).

ANOVA a due fattori *G. roseum* – *F. oxysporum*

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità.

Ipotesi H0

H0₁ – La crescita dei ceppi di *G. roseum* è uguale nel tempo.

H0₂ – La crescita di *G. roseum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. oxysporum*;

H0₃ – La crescita di *G. roseum* non dipende dal tempo.

Variabile indipendente 1: *G. roseum*; Variabile indipendente 2: ceppo di *F. oxysporum*; Variabile dipendente: crescita di *G. roseum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
<i>G. roseum</i>	2	2673	1336,44	335,48	< 0.0001	***
<i>F. oxysporum</i>	5	13827	2765,36	694,16	< 0.0001	***
Interazione	10	200	19,96	5,01	< 0.0001	***
Residuals	72	287	3,98	NA	NA	

Tab. 5.65: Indici statistici della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. oxysporum*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *G. roseum* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *F. oxysporum*);
- La crescita di *G. roseum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. oxysporum*;
- La crescita *G. roseum* di dipende dal ceppo di *F. oxysporum*;

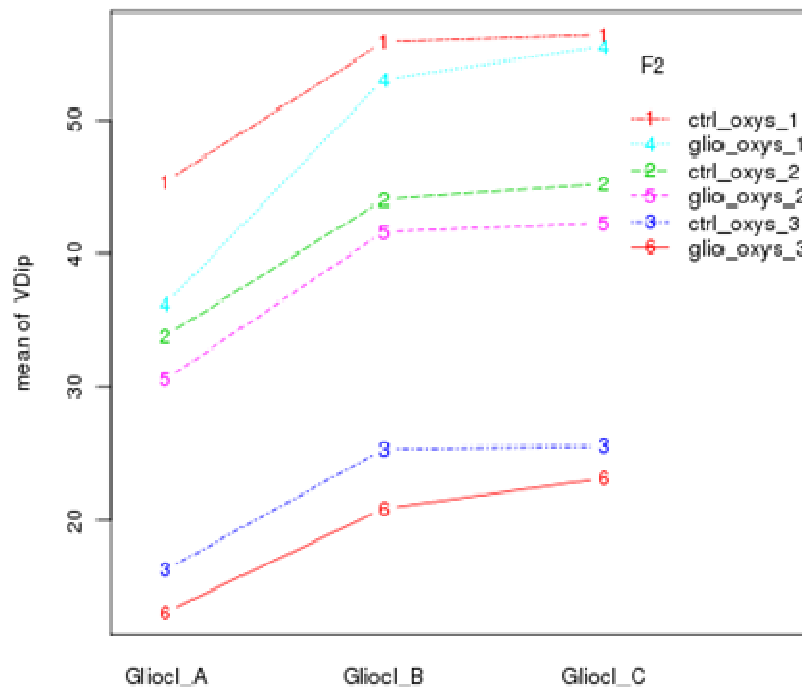


Grafico 5.30: Rappresentazione grafica della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. oxysporum*

5.4.2.4 Antagonismo *G. roseum* – *F. solani*

Area crescita *F. solani* in presenza di *G. roseum*

	controllo	GL_A	GL_B	GL_C
<i>Fsolani_1</i>	57.54 ± 2.19	43.57 ± 1.15	40.87 ± 0.60	42.45 ± 1.44
<i>Fsolani_2</i>	55.43 ± 1.49	46.02 ± 0.83	42.9 ± 0.96	44.65 ± 0.73

Tab. 5.66: Aree di crescita di *F. solani* in cm² in presenza di *G. roseum* (media ± SD).

ANOVA a due fattori *F. solani* – *G. roseum*

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene.

Ipotesi H0

H0₁ – La crescita dei ceppi di *F. solani* resta uguale nel tempo.

H0₂ – La crescita di *F. solani* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;

H0₃ – La crescita di *F. solani* non dipende dal tempo.

Variabile indipendente 1: *F. solani*; Variabile indipendente 2: ceppo di *G. roseum*; Variabile dipendente: crescita di *F. solani* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>F. solani</i>	1	13,0	12,98	8,04	< 0.0001	***
Ceppi <i>G. roseum</i>	3	1324,9	441,64	273,56	< 0.0001	***
Interazione	3	35,4	11,81	7,31	< 0.0001	***
Residuals	32	51,7	1,61	NA	NA	

Tab. 5.67: Indici statistici della crescita di *F. solani* in presenza di *G. roseum*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *F. solani* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *G. roseum*);
- La crescita di *F. solani* cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;
- La crescita di *F. solani* dipende dal ceppo di *G. roseum*;

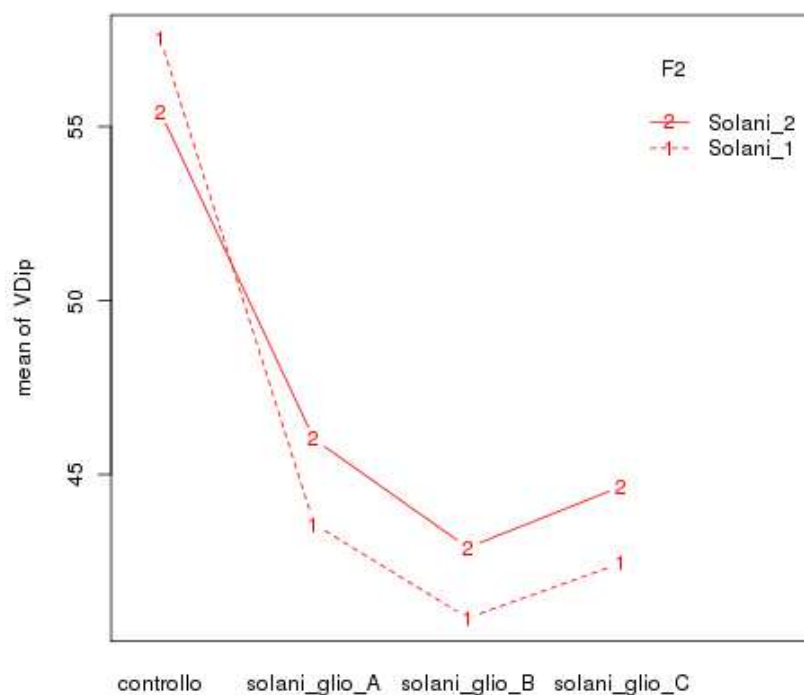


Grafico 5.31: Rappresentazione grafica della crescita di *F. solani* in presenza di *G. roseum*

Area crescita *G. roseum* in presenza di *F. solani*

	controllo_1	controllo_2	<i>Fsolani_1</i>	<i>Fsolani_2</i>
<i>GL_A</i>	18.64 ± 0.95	16.28 ± 0.75	25.14 ± 1.27	14.05 ± 0.96
<i>GL_B</i>	28.35 ± 1	25.37 ± 0.85	28.34 ± 0.61	21.39 ± 0.85
<i>GL_C</i>	28.77 ± 1.2	25.54 ± 1.19	27.7 ± 1.73	22.88 ± 0.82

Tab. 5.68: Aree di crescita di *G. roseum* in cm² in presenza di *F. solani* (media ± SD).

ANOVA a due fattori *G. roseum* – *F. solani*

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità'.

Ipotesi H0

H0₁ – La crescita dei ceppi di *G. Roseum* resta uguale nel tempo.

H0₂ – La crescita di *G. roseum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. solani*;

H0₃ – La crescita di *G. roseum* non dipende dal tempo.

Variabile indipendente 1: *G. roseum*; Variabile indipendente 2: ceppo di *F. solani*; Variabile dipendente: crescita di *G. roseum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>G. roseum</i>	2	754,8	377,39	339	< 0.0001	***
Ceppi <i>F. solani</i>	3	501,8	167,28	150	< 0.0001	***
Interazione	6	106,9	17,81	16	< 0.0001	***
Residuals	48	53,4	1,11	NA	NA	

Tab. 5.69: Indici statistici della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. solani*.

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *G. roseum* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *F. solani*);
- La crescita di *G. roseum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. solani*;
- La crescita *G. roseum* dipende dal ceppo di *F. solani*;

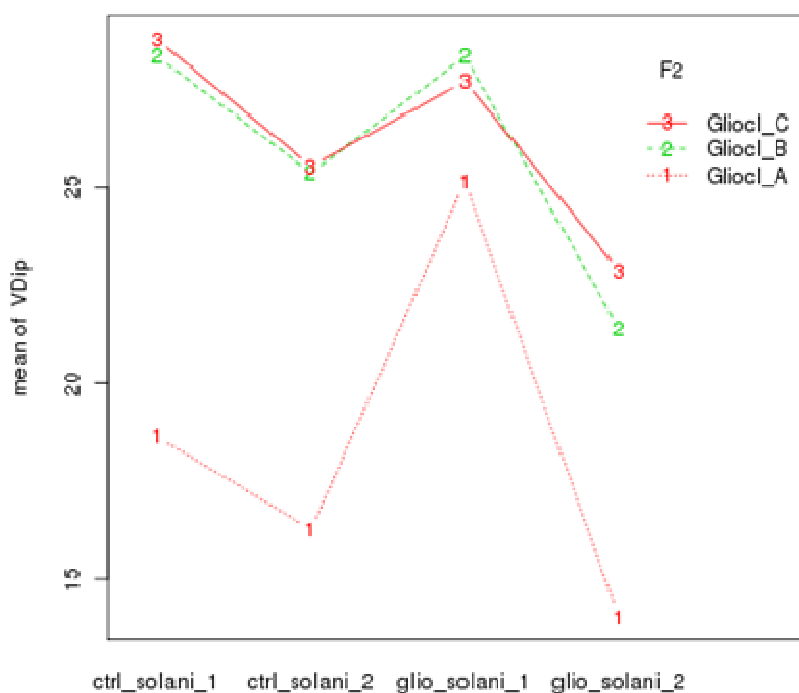


Grafico 5.32: Rappresentazione grafica della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. solani*

5.4.2.5 Antagonismo *G. roseum* – *F. culmorum*

Area crescita *F. culmorum* in presenza di *G. roseum*

	<i>controllo</i>	<i>GL_A</i>	<i>GL_B</i>	<i>GL_C</i>
<i>Fculm</i>	62.39 ± 1.17	53.14 ± 2.12	53.18 ± 1.06	51.44 ± 1.96

Tab. 5.70 Aree di crescita di *F. culmorum* in cm² in presenza di *G. roseum* (media ± SD).

ANOVA ad un fattore *F. culmorum* – *G. roseum* dopo 7 giorni di incubazione

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità'.

Ipotesi H0: la differenza fra la media dei 4 gruppi della variabile crescita_cm_2 individuati dal fattore test non è significativamente diversa da 0.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
<i>F. culmorum</i>	3	370,3	123,4	45,7	< 0.0001	***
Residuals	16	43,2	2,7	NA	NA	

Tab. 5.71: Indici statistici della crescita di *F. culmorum* in presenza di *G. roseum*

L'ipotesi H0 viene rigettata.

- La media della crescita (cm²) dei 4 gruppi individuati dal fattore ceppo è significativamente differente con $p < 0.0001$.

Variabile indipendente: ceppo di *G. roseum*; Variabile dipendente: crescita di *F. proliferatum* (cm²).

Il controllo differisce molto significativamente da tutti i ceppi. I ceppi non differiscono significativamente fra loro

Area crescita *G. roseum* in presenza di *F. culmorum*

	<i>controllo</i>	<i>Fculm_1</i>
GL_A	7.95 ± 0.42	8.36 ± 0.35
GL_B	14.36 ± 0.62	11.85 ± 0.66
GL_C	14.85 ± 0.69	12.35 ± 0.75

Tab 5.72: Aree di crescita di *G. roseum* in cm² in presenza di *F. culmorum* (media ± SD).

ANOVA a due fattori *G. roseum* – *F. culmorum*

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità.

Ipotesi H0

H0₁ – La crescita dei ceppi di *G. roseum* è uguale nel tempo.

H0₂ – La crescita di *G. roseum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. culmorum*;

H0₃ – La crescita di *G. roseum* non dipende dal tempo.

Variabile indipendente 1: *G. roseum*; Variabile indipendente 2: ceppo di *F. culmorum*; Variabile dipendente: crescita di *G. roseum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>G. roseum</i>	2	181,24	90,620	251,2	< 0.0001	***
Ceppi <i>F. culmorum</i>	1	17,73	17,725	49,1	< 0.0001	***
Interazione	2	14,16	7,081	19,6	< 0.0001	***
Residuals	24	8,66	0,361	NA	NA	

Tab. 5.73: Indici statistici della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. culmorum*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *G. roseum* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *F. culmorum*);
- La crescita di *G. roseum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. culmorum*. In realtà si tratta di un solo ceppo e del controllo senza *G. roseum*;
- La crescita *G. roseum* dipende da *F. culmorum*;

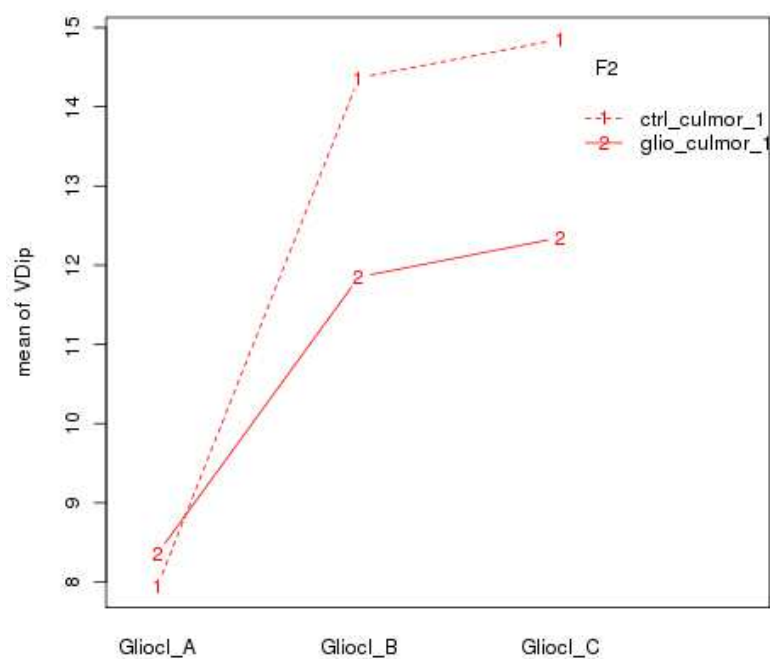


Figura 5.33: Rappresentazione grafica della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. culmorum*

5.4.2.6. Antagonismo *G. roseum* – *F. sporotrichioides*

Area crescita *F. sporotrichioides* in presenza di *G. roseum*

	controllo	GL_A	GL_B	GL_C
<i>Fspor_1</i>	56.71 ± 5.81	38.16 ± 3.54	40.75 ± 3.00	39.06 ± 1.57
<i>Fspor_2</i>	57.78 ± 1.00	48.88 ± 0.82	48.76 ± 1.39	48.42 ± 0.34

Tab. 5.74: Aree di crescita di *F. sporotrichioides* in cm² in presenza di *G. roseum* (media ± SD).

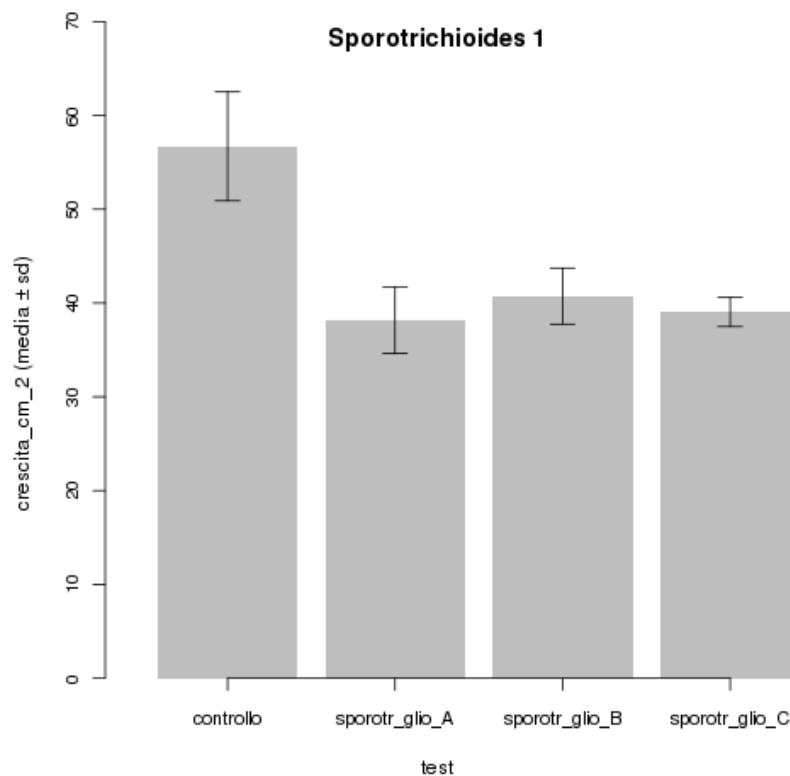


Grafico 5.34: Esempificazione grafica di antagonismo, *F. sporotrichioides* ceppo 1 viene inibito in presenza di *G. roseum*.

ANOVA a due fattori *F. sporotrichioides* – *G. roseum*

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità.

Ipotesi H0

H0₁ – La crescita dei ceppi di *F. sporotrichioides* resta uguale nel tempo.

H0₂ – La crescita di *F. sporotrichioides* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;

H0₃ – La crescita di *F. sporotrichioides* non dipende dal tempo.

Variabile indipendente 1: *F. sporotrichioides*; Variabile indipendente 2: ceppo di *G. roseum*;

Variabile dipendente: crescita di *F. sporotrichioides* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>F. sporotrichioides</i>	1	531	531,44	69,2	< 0.0001	***
Ceppi <i>G. roseum</i>	3	1323	441,11	57,4	< 0.0001	***
Interazione	3	138	46,10	6,0	< 0.0001	***
Residuals	32	246	7,68	NA	NA	

Tab. 5.76: Indici statistici della crescita di *F. sporotrichioides* in presenza di *G. roseum*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *F. sporotrichioides* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *G. roseum*);
- La crescita di *F. sporotrichioides* cambia in presenza dei diversi ceppi di *G. roseum*;
- La crescita di *F. sporotrichioides* dipende dal ceppo di *G. roseum*;

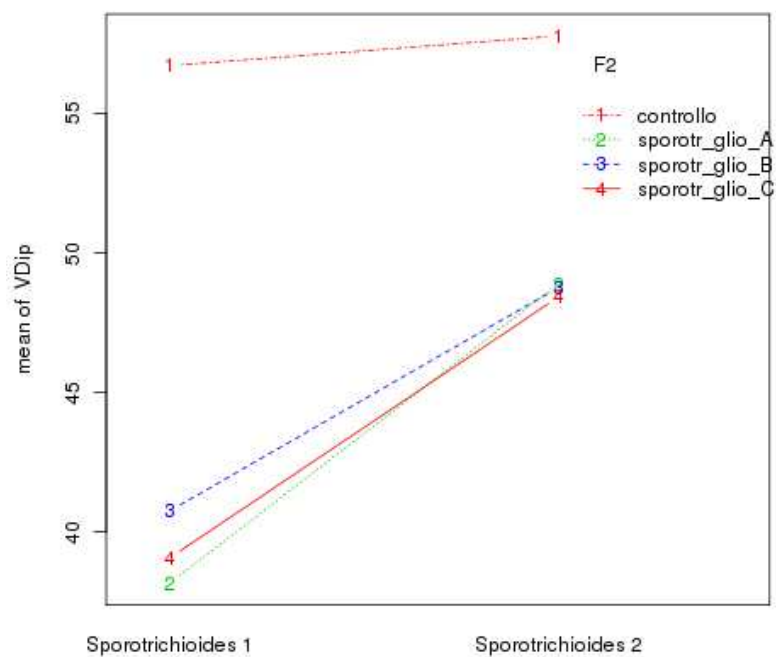


Grafico 5.35: rappresentazione grafica della crescita di *F. sporotrichioides* in presenza di *G. roseum*

Area crescita *G. roseum* in presenza di *F. sporotrichioides*

	controllo_1	controllo_2	<i>Fspor_1</i>	<i>Fspor_2</i>
GL_A	21.39 ± 0.98	7.95 ± 0.42	18.86 ± 0.78	7.31 ± 0.35
GL_B	31.74 ± 1.14	14.36 ± 0.62	22.30 ± 1.18	11.00 ± 0.69
GL_C	32.09 ± 1.45	14.85 ± 0.69	24.20 ± 0.80	11.15 ± 0.29

Tab. 5.77: Aree di crescita di *G. roseum* in cm² in presenza di *F. sporotrichioides* (media ± SD).

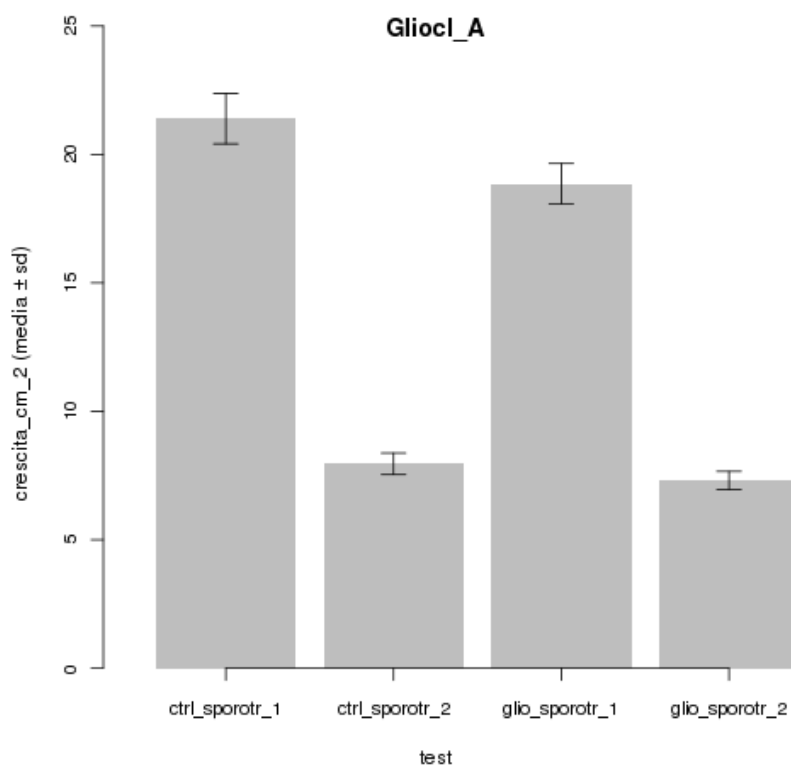


Grafico 3.36: Esempificazione dell'inibizione di *G. roseum* nei confronti di *F. sporotrichioides*

ANOVA a due fattori *G. roseum* – *F. sporotrichioides*

Prima di procedere all'analisi, si sono verificati la normalità della distribuzione dei dati mediante il test di Shapiro – Wilk e l'omogeneità delle varianze mediante il test di Levene. Si è ottenuto qualche caso di non normalità e non omogeneità ma si è deciso di procedere per la loro scarsa entità.

Ipotesi H0

H0₁ – La crescita dei ceppi di *G. roseum* è uguale nel tempo.

H0₂ – La crescita di *G. roseum* non cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. sporotrichioides*;

H0₃ – La crescita di *G. roseum* non dipende dal tempo.

Variabile indipendente 1: *G. roseum*; Variabile indipendente 2: ceppo di *F. sporotrichioides*;

Variabile dipendente: crescita di *G. roseum* (cm²).

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Ceppi <i>G. roseum</i>	2	539,8	269,916	371,5	< 0.0001	***
Ceppi <i>F. sporotrichioides</i>	3	3315,1	1105,028	1520,8	< 0.0001	***
Interazione	6	98,4	16,392	22,6	< 0.0001	***
Residuals	48	34,9	0,727	NA	NA	

Tab. 5.78: Indici statistici della crescita di *G. roseum* in presenza di *F. sporotrichioides*

Le ipotesi H0 vengono rigettate:

- I diversi ceppi di *G. roseum* mostrano crescite differenti (indipendentemente dalla presenza di *F. sporotrichioides*);
- La crescita di *G. roseum* cambia in presenza dei diversi ceppi di *F. sporotrichioides*;
- La crescita *G. roseum* dipende dal ceppo di *F. sporotrichioides*;

6 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Lo scopo di questo studio è stato di confrontare, nell'arco di un ciclo di rotazione colturale completa della durata di tre anni, la struttura della comunità fungina del suolo di due aziende agrarie che, a parità di avvicendamento adottano un differente sistema di conduzione: convenzionale o biologico. L'interesse si è focalizzato inoltre sulla quantificazione di quattro generi fungini, due patogeni e produttori di micotossine, *Fusarium* e *Aspergillus* e due generi *Trichoderma* e *Gliocladium* noti come agenti di biocontrollo delle infezioni da *Fusaria*.

Lo studio della comunità fungina ha portato al rilevamento di 99 taxa, suddivisi in 3 specie a frequenza molto alta, 7 specie a frequenza alta, 10 a frequenza media, 18 a frequenza scarsa e 61 a frequenza rara.

“Avere poche specie dominanti o comuni con un elevato numero di individui assieme a specie rare, che hanno un piccolo numero di individui ciascuna, è un modello caratteristico delle comunità con periodicità stagionale.” Odum (1988).

Assumendo che la frequenza del ritrovamento di una particolare specie possa essere correlata all'abbondanza della stessa, i dati ottenuti sembrerebbero rappresentare una popolazione naturale come descritto da Odum.

Dall'analisi delle frequenze dei taxa non è emersa alcuna differenza statisticamente significativa tra conduzione biologica e convenzionale.

Il numero e la tipologia delle specie, sia per anno che per stagione di campionamento, sebbene molto diversi in termini assoluti non sono risultati statisticamente differenti.

L'omogeneità delle due popolazioni da noi rilevata è in contrasto con quanto riportato da diversi lavori (Ramsay *et al.*, 1986; Girvan *et al.*, 2004) in cui i differenti sistemi di conduzione nel lungo tempo alterano le comunità fungine del suolo. Alcuni autori inoltre (Alvey *et al.*, 2003) osservano notevoli cambiamenti nella comunità in seguito a rotazione cereali-legumi. Tuttavia i nostri dati sono parzialmente in accordo con autori (Schneider *et al.*, 2010) che indicano più che il tipo di gestione, di coltura o concimazione, il tempo come fattore determinante nel cambiamento della struttura di una comunità. A parziale supporto dei nostri risultati diversi autori riportano (Girvan *et al.*, 2004) come le concimazioni chimiche e l'utilizzo di fitofarmaci inducano brevi alterazioni nella comunità microbica del suolo e le stesse influenze stagionali possono divenire poco percettibili in una comunità varia e ben strutturata. A sostegno dei nostri risultati vi sono inoltre le variabili indipendenti come i fattori climatici quali temperatura e precipitazioni. Essendo i due appezzamenti distanti pochi chilometri, le modificazioni (spinte selettive) agiscono allo stesso modo sulla struttura della comunità.

Analizzando la check- list delle specie rinvenute per regime colturale, è possibile notare come la conduzione biologica presenti una maggiore biodiversità rispetto alla convenzionale soprattutto nei funghi in frequenza media e scarsa. Le stesse premesse valgono anche per le specie “esclusive” cioè individuate solo in una tipologia di gestione. Nella conduzione di tipo biologico è stato rinvenuto un numero di specie “caratterizzanti” tre volte superiore al convenzionale, rispettivamente 21 e 7.

Focalizzando l'attenzione sulle frequenze dei generi di nostro interesse, si è riscontrato che oltre che per le specie ubiquitarie, è stato possibile osservare frequenze statisticamente maggiori di due antagonisti quali *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma atroviride* nel regime biologico e di due patogeni come *Fusarium proliferatum* e *Fusarium pseudograminearum*, nella pratica convenzionale.

Tutti i taxa rilevati sono stati in seguito riorganizzati in base alla loro abilità patogenica o di antagonismo. Tra i patogeni, sono state rinvenute come statisticamente significative le presenze di *Nigrospora sp.* e *Verticillium nigrescens* nei terreni a gestione biologica e *Pythium ultimum* nel convenzionale. Tra gli antagonisti, *Chaetomium torulosum*, *Paecilomyces farinosus*, *Stachybotrys elegans*, *Paecilomyces fumosoroseus* e *Verticillium tenerum* sono risultati più frequenti nel biologico.

Al fine di evidenziare aspetti e interazioni non risultanti da un'elaborazione statistica di base, le matrici originarie di presenza-assenza sono state sottoposte a diversi step di analisi multivariata comprendenti analisi dei cluster dei rilievi e delle specie, analisi delle coordinate principali e delle corrispondenze. I risultati delle analisi dei cluster hanno permesso di avvalorare quanto emerso in precedenza.

Questa conferma di omogeneità delle due comunità ci spinge ad attribuire un particolare peso e importanza alle specie caratterizzanti non tanto per il loro valore numerico quanto per il loro valore biologico.

Dalla valutazione complessiva, relativamente alle abbondanze dei quattro generi d' interesse, è emerso che i diversi tipi di conduzione (biologico e convenzionale), di coltura (mais, frumento, soia), i diversi anni, le diverse stagioni e diversi campionamenti (date), non hanno determinato sostanziali cambiamenti nelle popolazioni della comunità. Escludendo l'abbondanza del genere *Gliocladium* la cui quantificazione è stata inserita in corso d'opera, il peso percentuale dei rimanenti generi è risultato essere mediamente del 44,6% per *Fusarium*, 12,5% per *Aspergillus* e il 42,9% per *Trichoderma*. Per tutti i fattori considerati, tranne il fattore coltura, per il quale medie e mediane mostrano che nei terreni coltivati con soia, la densità fungina è risultata minore rispetto a quelli coltivati con frumento e mais, le popolazioni non sono mai risultate significativamente diverse.

Anche il fattore tempo (diversi anni) non ha mostrato variazioni nella popolazione nonostante il valore di probabilità fosse molto prossimo alla soglia di significatività. ($p=0,05$).

Nella valutazione per singolo genere, *Fusarium* presenta popolazioni non differenti tra loro, tranne che per il fattore stagionalità tra i campionamenti autunno/inverno. Questo dato potrebbe risultare fortemente influenzato dal campionamento dell'inverno 2009, caratterizzato da una bassissima densità fungina.

Le stesse considerazioni valgono anche per la densità del genere *Aspergillus*. In questo caso oltre alla stagionalità tra i campionamenti inverno/primavera è risultato significativo anche il fattore anno con il 2008 caratterizzato da un significativo aumento di *Aspergillus*, probabilmente legato all'andamento climatico.

La densità del genere *Trichoderma* è risultata differire per stagionalità, con valori autunnali mediamente inferiori a quelli delle altre stagioni. Inoltre il fattore coltura in questo caso è risultato statisticamente significativo, mostrando come in presenza del frumento, la densità sia maggiore che in presenza della soia.

Infine il genere *Gliocladium* è risultato statisticamente differente per il fattore conduzione, con una densità nettamente superiore nel regime biologico rispetto al convenzionale.

Le densità dei generi considerati non sono quindi risultate essere influenzate dagli stessi fattori.

Alcuni ceppi di *G. roseum*, isolati da campioni di suolo prelevati nel corso della sperimentazione sono stati saggiati per la loro capacità di crescita e inibizione di ceppi di *Fusarium graminearum*, principale causa di FHB in frumento e di ceppi di altre specie di *Fusaria* micotossigene.

Da un pool di oltre cento diversi isolati di *G. roseum* ne sono stati scelti casualmente 15 per valutarne l'accrescimento alle temperature di 6- 24-30-36 °C. Come atteso in una popolazione naturale, i differenti ceppi hanno presentato delle curve di crescita diverse. In particolare alcuni ceppi hanno mostrato l'optimum di crescita media a 30° mentre tutti gli altri sono cresciuti maggiormente a 24°C. Alle temperature estreme (6°C e 36°C) per tutti i ceppi non si è riscontrata alcuna crescita.

Otto tra i ceppi di *G. roseum* saggiati sono stati selezionati in base alla loro crescita e testati in coltura duale contro cinque ceppi di *Fusarium graminearum* di nota virulenza.

I nostri risultati indicano come nell'interazione patogeno-antagonista alcuni ceppi di *F. graminearum* siano risultati inibiti dalla presenza di *G. roseum* mentre altri abbiano mostrato un incremento nella crescita rispetto al controllo. Lo stesso risultato è stato ottenuto dall'analisi della crescita di *G. roseum*. Taluni ceppi sono stati inibiti dalla presenza di *G. roseum*, altri promossi. In un solo caso *G. roseum* e *F. graminearum* sono risultati mutualmente inibiti.

Tra tutti i ceppi di *G. roseum*. selezionati, tre hanno manifestato una minima attività inibitoria contro alcuni ceppi di *F. graminearum* e sono risultati essere anche i meno inibiti dalla crescita in coltura duale.

I tre ceppi di *G. roseum*. che hanno presentato una seppur minima attività antagonista nei confronti di *Fusarium graminearum* sono stati a loro volta testati contro altre specie di *Fusaria* micotossigene quali *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum* e *F. sporotrichioides*. In queste prove tutti i ceppi di *G. roseum* sono riusciti a contenere lo sviluppo del patogeno con diminuzioni dal 15 al 45% a seconda dei ceppi testati, dimostrando una buona attività di biocontrollo. Anche in questo caso la crescita duale ha influenzato lo sviluppo di *G. roseum* sia in termini di promozione che di inibizione della crescita.

Pertanto è possibile affermare che gli isolati di *G. roseum* selezionati per le prove di inibizione non sono in grado di svolgere attività di biocontrollo nei confronti di *F. graminearum* mentre sono abili a rallentare lo sviluppo degli altri *Fusarium* fitopatogeni saggiati. Tuttavia tale interazione ha determinato delle modificazioni anche sulla crescita dei *G. roseum* testati rendendo difficile una stima previsionale dell'efficacia di trattamenti agronomici a base di *G. roseum* sulle specie micotossigene considerate.

In conclusione il nostro studio condotto nell'arco di 3 anni conferma quanto riportato in letteratura a riguardo della omeostasi delle comunità fungine del suolo. Anche se dal confronto tra la struttura delle comunità fungine dei due sistemi considerati non si sono riscontrate differenze statisticamente significative, la conduzione di tipo biologico è stata caratterizzata da una maggior ricchezza in specie e per il genere *Gliocladium*, da abbondanze più elevate come riportato anche da altri autori (Elmholt 2005).

Tuttavia, è da prendere in considerazione che la conversione alla conduzione organica è stata effettuata solo pochi anni prima che questo studio fosse avviato. Pertanto, le variazioni rilevate nella struttura della comunità fungina potrebbero costituire un primo indicatore di cambiamento.

BIBLIOGRAFIA

- AA. VV. Lineamenti di tecniche analitiche nella microbiologia ambientale. Metodi analitici ufficiali per le acque destinate al consumo umano ai sensi del D.Lgs. 31/2001 . Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria . Reparto di Igiene delle Acque Interne . Rapporti ISTISAN 04/xx - Versione on-line su sito www.iss.it, pp. 1 – 6.
- Acton D.F., Gregorich L.J. *Understanding soil health. The health of our soils: toward sustainable agriculture in Canada.* (1995), pp. 5-10
- Altieri M.A. Agroecological basis for sustainable agricultural production. *Agricultura Técnica* 54 (1994) no. 4, pp. 371-386
- Altieri M.A. The ecological role of biodiversity in agroecosystem. *Agriculture, Ecosystems and Environment* (1999) no 74 19-31
- Altman D. G., Bland J. M., Measurement in medicine: the analysis of method comparison studies. *The Statistician* 32 (1983), pp. 307-317.
- Alvey S., Yang C.H., Buerkert A., Crowley D. E. Cereal/legume rotation effects on rhizosphere bacterial community structure in west african soils. *Biology and Fertility of Soils* 37 (2003) no. 2, pp. 73-82.
- Amador J.A., Gorres J.H., Microbiological characterization of the structures built by earthworms and ants in an agricultural field, *Soil Biology & Biochemistry*, 39 (2007), pp. 2070-2077
- Audenaert K., Van Broeck R., Bekaert B., De Witte F., Heremans B., Messens K., Höfte M., Haesaert G.. *Fusarium Head Blight (FHB) in Flanders: population diversity, inter- species association and DON contamination in commercial winter wheat varieties.* *European Journal of Plant Pathology* 125 (2009) pp. 445-458
- Baker K.F., Cook R.J. *Biological control of plant pathogens.* (1974) W.H. Freeman Ed., San Francisco, U.S.A.
- Barnett H.L., Hunter B.B. 1998 *Illustrated Genera of Imperfect Fungi.* Amer Phytopathological Society, IV edition
- Battilani P., Logrieco A., Giorni A., Cozzi G., Bertuzzi T., Pietri A. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* on some grape varieties grown in Italy. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84 (2004), no. 13, pp. 1736–1740.
- Beagle-Ristaino J.E. and Papavizas G.C. Survival and proliferation of propagules of *Trichoderma* spp. And *Gliocladium virens* in soil and in plant rhizospheres. *Phytopathology* 75 (1985), pp. 729-732.

- Belay A., Classens A., Wehner F. Effect of direct nitrogen and potassium and residual phosphorus fertilizers on soil chemical properties, microbial components and maize yield under long-term crop rotation. *Biology and Fertility of Soils* 35 (2002), no. 6, pp. 420-427
- Benitez T., Rincon A.M., Limon M.C., Codon A.C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *INT. MICROBIOL.* 7 (2004), no. 4, pp. 249-260.
- Bennett J.W., Klich M. Mycotoxins. *Clinical Microbiol. Rev.* 16(2003), pp. 497–516
- Birzele B., Meier A., Hindorf H., Kramer J., Dehne H.W. Epidemiology of *Fusarium* infection and deoxynivalenol content in winter wheat in the Rhineland, Germany. *Eur. J. Plant Pathol.* 108 (2002), pp. 667-673
- Bland J. M., Altman D. G., Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1 (1986), pp. 307-310.
- Bland J. M., Altman D. G., Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet*, 346 (1995), pp. 1085-1087.
- Bottalico A, Perrone G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 108 (2002), pp. 611-624
- Brase S., Encinas A., Keck J., Nising C.F. Chemistry and Biology of Mycotoxins and Related Fungal Metabolites. *Chemical. Reviews* 109 (2009), no. 9, pp 3903-3990
- Butt T.M., Jackson C., Magan N., 2001. Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential. In: *Fungi as biocontrol agents: Progress, Problems and Potential*. CABI Publishing, Oxon, UK, 1-8.
- Chu H., Lin X., Fujii T., Morimoto S., Yagi k., Hu J., Zhang J. Soil microbial biomass, dehydrogenase activity, bacterial community structure in response to long-term fertilizer management. *Soil Biology and Biochemistry* 39 (2007), no. 11, pp. 2971-2976.
- Cochran W. G., Estimation of bacterial densities by means of the ‘Most Probable Number’, *Biometrics* 6 (1950), no. 2, pp. 105–116.
- Cole R. J.; Cox R. H. *Handbook of toxic fungal metabolites*. Academic Press Publisher (1981), pp. 937.
- Cooke R.C., Rayner A.D.M. *The Ecology of saprotrophic Fungi* (1984). Longman, London.
- Chet I., Inbar J., Hader Y. Fungal antagonists and mycoparasites. In: *The Mycota IV. Environmental and Microbial Relationship* (1997), pp. 165-184. Springer, Berlin.
- Costanza R. and Folke C. *The structure and function of ecological systems in relation to property-rights regimes. Rights to nature: ecological, economic, cultural, and political principles of institutions for the environment*. (1996) Island Press, Washington, D.C., USA.
- Danielson R.M. and Davey C.B. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of

- species in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 5 (1973), no. 5, pp. 485-494
- Dennis, D., Webster, J.. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non volatile antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 57 (1974), pp. 25-39
- De Wolf E.D., Madden L.V., Lipps P.E. Risk assessment models for wheat Fusarium head blight epidemics based on within-season weather data. *Phytopathology* 93 (2003), 428-435
- Elmholt S., Labouriau R. Fungi in Danish soils under organic and conventional farming. *Agriculture, Ecosystem and Environment*.107 (2005), pp. 65-73
- Evanylo G., Sherony C., Spargo J., Starner D., Brosius M., Haering K. Soil and water environmental effects of fertilizer-, manure-, and compost-based fertility practices in an organic vegetable cropping system. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 27 (2008), no. 1-2, pp. 50-58
- Feoli E., Lagonegro M., Zampar A., Classificazione ed ordinamento della vegetazione. *Metodi e programmi di calcolo*. CNR, AQ/5/35, (1982), Udine: pp. 107.
- Fischer R. A., Santiveri F., Vidal I. R. Crop rotation, tillage and crop residue management for wheat and maize in the sub-humid tropical highlands: I. Wheat and legume performance. *Field Crops Research* 79 (2002), no. 2-3, pp.107-122
- Fischer R. A., Santiveri F., Vidal I. R. Crop rotation, tillage and crop residue management for wheat and maize in the sub-humid tropical highlands: II. Maize and system performance *Field Crops Research* 79 (2002), no. 2-3, pp.123-137
- Franklin R.B. and Mills A.L. Structural and Functional Responses of a Sewage Microbial Community to Dilution-Induced Reductions in Diversity. *Microbial Ecology* 52 (2006), no. 2, pp. 280-288
- Fuentes M., Govaerts B., De León F., Hidalgo C., Dendooven L., Sayre K.D., Etchevers J. Fourteen years of applying zero and conventional tillage, crop rotation and residue management systems and its effect on physical and chemical soil quality. *European Journal of Agronomy* 30 (2009), no. 3, pp. 228-237
- Giardini L. *Productivity and sustainability of different cropping systems (40 years of experiments in Veneto Region-Italy)* (2004), pp. 1-359, Patron Editore BOLOGNA (ITALY).
- Gibson I.A.S. Crown Rot, a seedling disease of groundnuts caused by *Aspergillus niger*. *Transactions of the British Mycological Society* 36 (1953), no. 3, pp. 198-209.235
- Girvan M.S., Bullimore J., Ball A.S., Pretty J.N, Osborn A.M. Responses of Active Bacterial and Fungal Communities in Soils under Winter Wheat to Different Fertilizer and Pesticide Regimens. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (2004), no. 5, pp. 2692-2701.
- Govaerts B., Mezzalama M., Sayre K.D., Crossa J., Lichter K., Troch V., Vanherck K., De Corte P.,

- Deckers Z. Long-term consequences of tillage, residue management, and crop rotation on selected soil micro-flora groups in the subtropical highlands. *Applied Soil Ecology* 38 (2008), no. 3, pp. 197-210
- Haines, J. *Aspergillus* in compost: straw man or fatal flaw. *Biocycle* 6 (1995), pp. 32-35.
- Hanlin R.T. *Illustrated Genera of Ascomycetes, Volume II*, (1998) Amer Phytopathological Society
- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2 (2004), pp. 43-56.
- He Z.H., Liu Z.T., Xu Y.L., Han X.Z., Xu Y.H. Study on the reason reducing production of soybeans planted continuously and the way to get more output-yield and quality. *Heilongjiang Agric Sci* 3 (2003). pp. 1-4
- Hendrix P.F., Crossley D.A., Jr., Blair J.M., Coleman D.C. Soil biota as compounds of sustainable agroecosystems. *Sustainable agricultural systems*. (1990), pp. 637-654
- Hesseltine C.W., Shotwell O.L., Smith M., Shannon G. Production of various aflatoxins by strains of the *Aspergillus flavus* series. *Proceedings of the First U.S.-Japan Conference on Toxic Micro-organisms* (1970).
- Hoitink H.A.J., Boehm M.J. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annu. Rev. Phytopathol.* 37 (1999), pp. 427-46
- Howell C.R. Effect of *Gliocladium virens* on *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, and damping-off of cotton seedlings. *Phytopathology* 72 (1982), pp. 496-498.
- Howell C.R. Relevance of mycoparasitism in the biological control of *Rhizoctonia solani* by *Gliocladium virens*. *Phytopathology* 77 (1987), pp. 992-994.
- Hurley M. A. and Roscoe M. E., Automated statistical-analysis of microbial enumeration by dilution series. *Journal of Applied Bacteriology* 55 (1983), no. 1, pp. 159-164.
- Jenkinson D.S. Microbial biomass in soil :Measurement and turnover. *Soil biochemistry* 5 (1981), pp. 415-472.
- Kennedy A.C. and Papendick R.I. Microbial characteristics of soil quality. *Journal of Soil and Water Conservation* 50 (1995), no. 3, pp. 243-248
- Kubicek C.P., Mach R.L., Peterbauer C.K., Lorito M. *Trichoderma*: From genes to biocontrol. *Journal of Plant Pathology* 83 (2001), no. 2, pp. 11-23.
- Irtwange S.V. 2006. Application of Biological Control Agents in Pre- and Postharvest Operation. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Invited Overview No. 3. Vol. VIII
- Legendre P. & Legendre L. *Numerical ecology*. 2nd English edition (1998). Elsevier Science BV, Amsterdam. xv + pp. 853.

- Lemmens M., Haim K., Lew H., Ruckebauer P. The effect of nitrogen fertilization on *Fusarium* head blight development and deoxynivalenol contamination in wheat. *J. Phytopathol.* 152 (2004), pp. 1–8
- Leps J., Osbornova-Kosinova J., Rejmanek M. Community stability, complexity and species life history strategies. *Vegetatio*. 50 (1982), no. 1, pp. 53-63.
- Leslie J.F. and Summerell B.E. 2006 *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing
- Li F., Luo X., Yoshizawa T. Mycotoxins (trichothecenes, zearalenone and fumonisins) in cereals associated with human red intoxications stored since 1989 and 1991 in China. *Nat. Toxins* 7 (1999), pp. 93-97.
- Liu X.B. and Herbert S.J. Fifteen years of research examining cultivation of continuous soybean in Northeast China. *Field Crops Res.* 79 (2002), pp. 1–7.
- Lockwood J.L. Exploitation competition. In: *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem*. (1992) (Carroll G.C. and Wicklow D.T., eds.), pp. 243-263
- Lumsden R.D., Locke J.C., Adkins S.T., Walter J.F., Ridout C.J. Isolation and localization of the antibiotic gliotoxin produced by *Gliocladium virens* from alginate prill in soil and soilless media. *Phytopathology* 82 (1992), pp. 230-235.
- Luongo L., Galli M., Corazza L., Meekes E., de Haas L., Van Der Plas C.L., Köhl J. Potential of fungal antagonists for biocontrol of *Fusarium spp.* in wheat and maize through competition in crop debris. *Biocontrol Science and Technology* 15 (2005), no. 3, pp. 229-242.
- Lupwayi N.Z., W.A. Rice G.W. Clayton. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry* 30 (1998), no. 13, pp. 1733-1741
- Lupwayi N.Z., Arshad M. A., Rice W. A., Clayton G. W. Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero tillage management. *Applied Soil Ecology* 16 (2001), no. 3, pp. 251-261
- Lynch J.M., Bragg E. Microorganisms and soil aggregate stability. *Advances in Soil Science*, 2 (1985), pp. 134-170
- McGrady-Steed J., Harris P.M., Morin P.J. Biodiversity regulates ecosystem predictability. *Nature* 390 (1997), pp. 162-165.
- Naeem S., Thompson L.J., Lawler S.P., Lawton J.H.. Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. *Nature*, 368 (1994), pp. 734-737
- Nartowicz V.B., Buchanan R.L., Segall S. Aflatoxin production in regular and decaffeinated coffee beans. *Journal of Food Science* 44 (1979), no. 2, pp. 446-448.
- Odum E. P., *Basi di Ecologia*, Edizione italiana a cura di L. Rossi, (1988) Piccin Nuova Libreria

S.p.A., Padova: pp543

- Palencia E.R., Hinton D.M., Bacon C.W. The Black *Aspergillus* Species of Maize and Peanuts and Their Potential for Mycotoxin Production. *Toxins* 2 (2010), no. 4, pp. 399-416.
- Pasquini M., Delogu G., 2003. *Malattie dei cereali a paglia- manuale per la diagnosi delle principali patologie e per il riconoscimento dei relativi agenti patogeni*. Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura- Roma
- Papavizas G.C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology and ecology, and potential for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.* 23 (1985), pp. 23-54.
- Peacock A.D., Mullen M.D., Ringelberg D.B., Tyler D.D., Hedrick D.B., Gale P.M., White D.C. Soil microbial community responses to dairy manure or ammonium nitrate applications. *Soil Biology and Biochemistry* 33 (2001), no. 7-8, pp. 1011-1019
- Pernes-Debuyser A., Tessier D. Soil physical properties affected by long-term fertilization. *European Journal of Soil Science* 55 (2004), no. 3, pp. 505-512.
- Petrini O., Fisher P.J. Fungal endophytes in *Salicornia perennis*. *Transactions of the British Mycological Society* 87 (1986), pp. 647-651 , Exeter, Devon, U.K.
- Postma J. and van Veen J. A. Influence of different initial soil moisture contents on the distribution and population dynamics of introduced *Rhizobium leguminosarum* biovar *Trifolii*. *Soil Biology and Biochemistry* 21 (1989), no. 3, pp. 437-442.
- Poudel D.D., Ferris H., Klonsky K., Horwath W.R., Scow K.M., van Bruggen A.H.C., Lanini W. T., Mitchell J.P., Temple S.R. The sustainable agriculture farming system project in California's Sacramento Valley. *Outlook on Agriculture* 30 (2001), no.2, pp. 109-116.
- Pritsch, C., Muehlbauer, G. J., Bushnell, W. R., Somers, D. A., Vance, C. P. 2000. Fungal development and induction of defense response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*. Minnesota Agricultural Experimental Station 13: 159-169
- R Development Core Team (2011). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Ramsay A.J., Stannard R.E., Churchman G.J. Effect of conversion from ryegrass pasture to wheat cropping on aggregation and bacterial populations in a silt loam soil in New Zealand. *Australian Journal of Soil Research* 24 (1986), no. 2, pp. 253-264.
- Ranjard L., Poly F. and Nazaret S. Monitoring complex bacterial communities using culture-independent molecular techniques: application to soil environment. *Research in Microbiology* 151 (2000), no. 3, pp. 167-177.
- Ranjard L, Richaume A. Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil.

- Research in Microbiology* 152 (2001), no. 8, pp. 707-716.
- Roiger D.J., Jeffers S.N., Caldwell R.W. Occurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 23 (1991), no. 4, pp. 353-359.
- Ruiz-Herrera J. *Fungal cell wall: structure, synthesis and assembly* (1992) Ed. CRC Press, Boca Raton, p 248
- Samson R.A. and Pitt J.I. *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*. (1985) New York, Plenum Press
- Scardi M., *Tecniche di analisi dei dati in ecologia*, Versione 1.5, gennaio 2009. (2009) pp. 80.
- Schirmböck M., Lorito M., Wang Y.L., Hayes C.K. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Appl. Environ. Microbiology* 60 (1994), no. 2, pp. 4364–4370
- Schneider S., Hartmann M., Enkerli J., Widmer F. Fungal community structure in soils of conventional and organic farming systems. *Fungal Ecology* 3 (2010), no. 3, pp. 215-224.
- Schönfeld J., Gelsomino A., van Overbeek L.S., Gorissen A., Smalla K., van Elsas J.D. Effects of compost addition and simulated solarisation on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 43 (2002), pp. 63–74
- Shanmuganathan R.T. and Oades J.M. Modification of soil physical properties by addition of calcium compounds. *Australian Journal of Soil Research* 21 (1983), no. 3, 285 - 300
- Shapiro S. S., Wilk M. B., An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52, (3/4) (1965), pp. 591-611.
- Tilman D. Biodiversity: Population Versus Ecosystem Stability. *Ecology* 77 (1996), pp. 350–363
- Tu J.C. and Vaartaja O. The effect of the hyperparasite (*Gliocladium virens*) on *Rhizoctonia solani* and on *Rhizoctonia* root rot of white beans. *Can. J. Bot.* 59 (1981), pp. 22-27.
- van Bruggen A.H.C., Semenov A.M. A new approach to the search for indicators of root disease suppression. *Aust. J. Plant Pathol.* 28 (1999), pp. 4–10
- van Bruggen A.H.C., Semenov A.M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Appl. Soil Ecol.* 15 (2000), pp. 13–24
- van Diepeningen A.D., de Vos O.J., Zelenev V.V., Semenov A.M., van Bruggen A.H.C. DGGE Fragments Oscillate with or Counter to Fluctuations in Cultivable Bacteria Along Wheat Roots *Microbial Ecology*, 50 (2005), no. 4, pp. 506-517
- Wardle D.A., Parkinson D., Waller J.E. Interspecific competitive interactions between pairs of fungal species in natural substrates. *Oecologia* 94 (1993), no. 2, pp. 165-172.
- Watanabe T. *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to*

species. (2002) CRC Press

- Wertz S., Degrange V., Prosser J.I., Poly F., Commeaux C., Freitag T., Guillaumaud N., Le Roux X. Maintenance of soil functioning following erosion of microbial diversity. *Environmental Microbiology* 8 (2006), no. 12, pp. 2162–2169
- Wertz S., Degrange V., Prosser J.I., Poly F., Commeaux C., Freitag T., Guillaumaud N., Le Roux X. Decline of soil microbial diversity does not influence the resistance and resilience of key soil microbial functional groups following a model disturbance. *Environmental Microbiology* 9 (2009), no. 9, pp. 2211–2219
- Wicklow D.T., Carroll, G.C. *The fungal community; its organization and role in the ecosystem*. Marcel Dekker Inc. Editors (1981), pp. 855.
- Wicklow D.T. Interference competition. In: *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem*. (1992) (Carroll G.C. and Wicklow D.T., eds.), pp. 265-274.
- Zhong W.H. and Cai Z.C. Long-term effects of inorganic fertilizers on microbial biomass and community functional diversity in a paddy soil derived from quaternary red clay. *Applied Soil Ecology* 36 (2007), no. 2-3, pp. 84-91
- Xue A.G., Voldeng H.D., Savard M.E., Fedak G., Tian X and Hsiang T. Biological control of Fusarium head blight of wheat with *Clonostachys rosea* strain ACM941. *Can.J. Plant Pathol.* (2009)31: 169-179