La dinamica del Carbonio nei suoli MESCOSAGR: aspetti biochimici

Marco Trevisan
Edoardo Puglisi
Attilio A. M. Del Re

Istituto di Chimica Agraria ed Ambientale Università Cattolica del Sacro Cuore
Piacenza

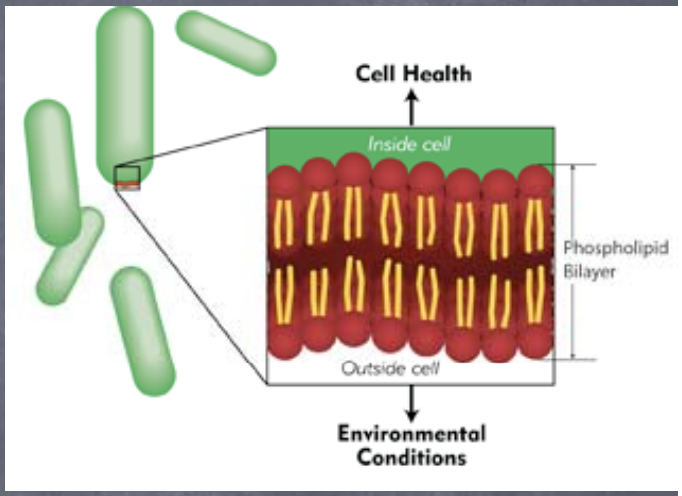
marco.trevisan@unicatt.it

Attività enzimatiche come indici di qualità del suolo:

- Misure di attività microbica strettamente legate ai cicli dei nutrienti
- Rispondono rapidamente a cambiamenti dello status del suolo dovuti a fattori naturali o antropici
- Sono considerati indicatori affidabili di alterazioni a carico della microflora del suolo
- Sono stati sviluppati indici di alterazione basati su enzimi del suolo

Acidi Grassi di Fosfolipidi (PLFA) e qualità del suolo:

- Presenti in tutti gli organismi del suolo
- Si decompongono rapidamente alla morte delle cellule



- marker specifici di gruppi tassonomici all'interno della comunità microbica
- indicatori dello status nutrizionale delle cellule (p.e., aumento di ciclo propanici in condizioni di stress)
- indicatori di cambiamenti fenotipici indotti da eventi di alterazione

Obiettivi

- Valutazione degli effetti di strategie agronomiche per il sequestro del Carbonio sulle proprietà biochimiche del suolo :

- attività enzimatiche
- struttura delle comunità microbica mediante PLFA

Strategie per il sequestro del Carbonio nei suoli agricoli:

- Minima lavorazione (MIN)

- Protezione della sostanza organica da parte di materiali organici come il compost (COM)

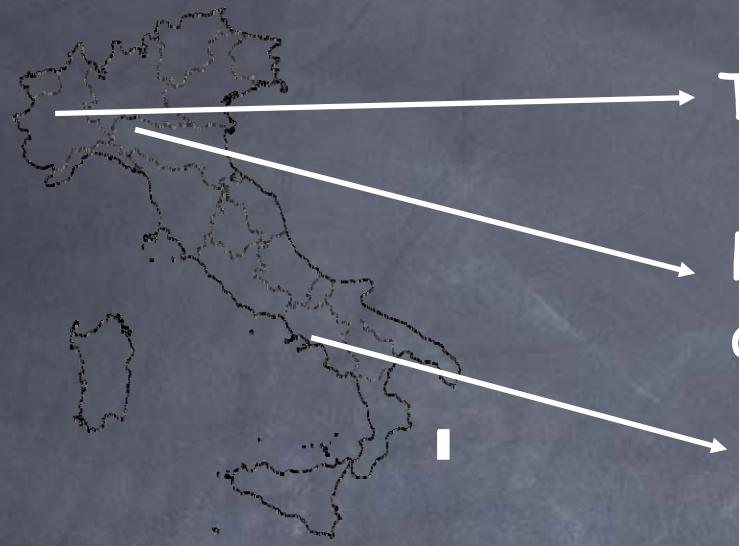
- Polimerizzazione ossidativa per catalisi biomimetica in presenza di metallo porfirine (POR)*

Queste strategie devono essere testate non solo per la loro capacità di riduzione delle emissioni di gas serra a suoli agricoli rispetto a pratiche agronomiche tradizionali (TRA) ma anche per i loro possibili effetti sul ciclo di nutrienti e su proprietà biochimiche indicatrici della qualità del suolo.

*Piccolo A, Conte P. and P. Tagliatesta. 2005. Increased conformational rigidity of humic substances by oxidative biomimetic catalysis. Biomacromolecules, 6: 351-358

MATERIALI & METODI

Siti sperimentali



TORINO: suolo sabbioso-limoso

PIACENZA: suolo sabbioso-limoso-argilloso

NAPOLI: suolo limoso-argilloso

Conduzioni agronomiche (4 parcelle per trattamento in ciascun sito):

TRA: urea (N 130 Kg ha^{-1}) + aratura a 30 cm
MIN: urea (N 130 Kg ha^{-1}) + minima lavorazione
COM: compost (N 260 Kg ha^{-1}) + aratura a 30 cm
POR : come TRA +1 g m^{-2} di Fe-porfirina

MIN, COM e TRA sempre coltivati a mais; POR ed il suo controllo TRA (NO-POR) coltivati a frumento a Napoli e Torino, a mais a Piacenza

Esperimenti condotti per 3 annate agronomiche successive; analisi condotte su suoli campionati post-raccolta

Attività enzimatiche

Analisi dell'attività di 4 enzimi del suolo:

B-glucosidasi (GLU, E.C. 3.2.1.21)

Ciclo del C, idrolisi del legame ß-1,4 in molecole glucosidiche

Fosfatasi (PHO, E.C. 3.1.3.2)

Liberazione di P inorganico con produzione di energia

Ureasi (UR, 3.5.1.5)

Ciclo del N, Idrolisi dell'urea

Invertasi (INV, E.C. 3.2.1.26)

Ciclo del C, Idrolisi del saccarosio in glucosio e fruttosio

Applicazione di un indice di alterazione in grado generalmente di discriminare correttamente tra suoli con diversi livelli di alterazione:

AI = 36.18 * ß-glucosidase – 8.72 * phosphatase – 0.48 * urease - 4.19 * invertase

*Puglisi E., Del Re A.A.M., Rao M.A., Gianfreda L. 2006. Development and validation of numerical indexes integrating enzymatic activities of soils. Soil Biology and Biochemistry 38, 1673-1681.

Acidi grassi di fosfolipidi (PLFA)

Identificazione e quantificazione in GC/MS di metil esteri di acidi grassi di fosfolipidi dopo loro estrazione, idrolisi ed esterificazione per saponificazione

Analisi di PLFA delle seguenti classi:

- saturi
- insaturi
- metilati
- idrossilati
- ciclopropanici

Correlazione con gruppi microbici (funghi, gram-, gram+, protozoi) tramite analisi statistiche uni- e multi-variate di specifici PLFA

PLFA e gruppi microbici

GRAM +	i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0
GRAM -	cy17:0, cy19:0, 18:1ω9c, 16:1ω9c, 18:1ω9c, 15:1ω4c, 18:1ω7c
Funghi	18:2ω6c
Biomassa microbica totale	16:0
stress	cy17:0/16:1ω7c, cy19:0/18:1ω7c

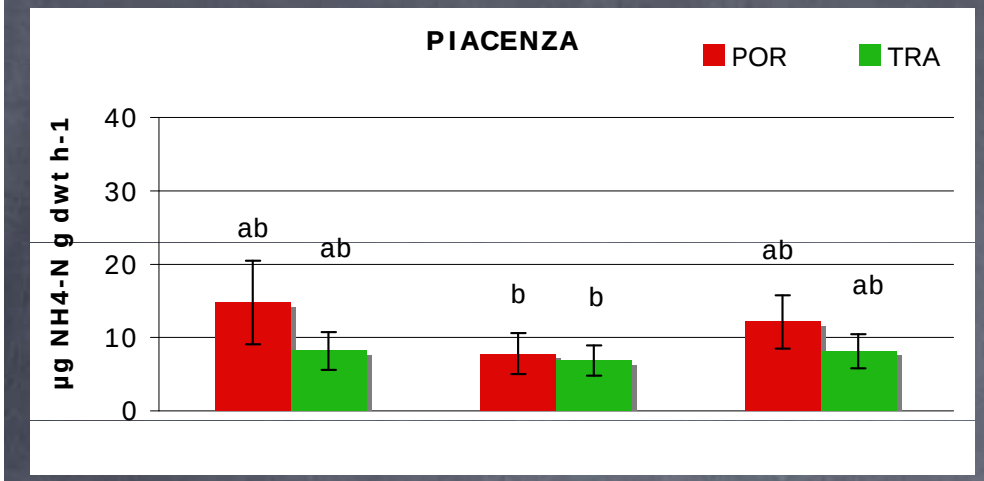
Analisi statistiche

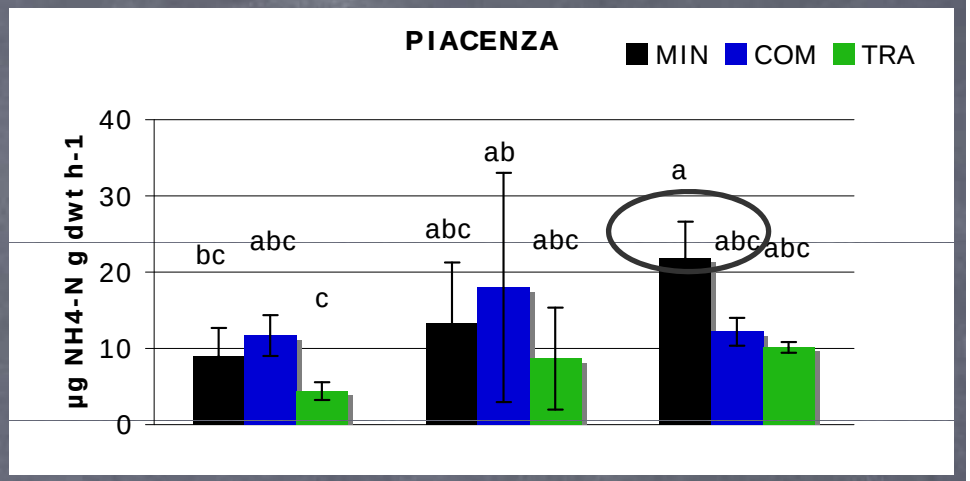
ANOVA e test di Tukey per confronti tra medie

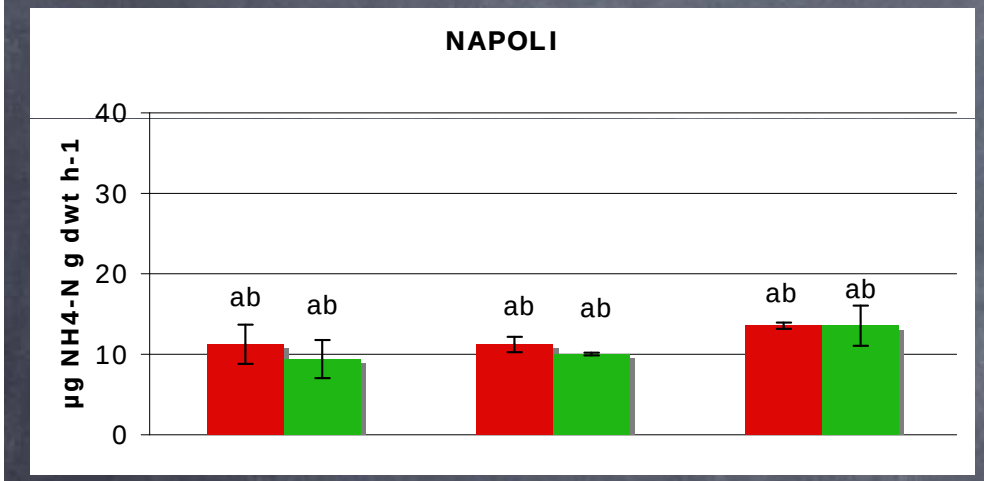
Analisi delle componenti principali (PCA) con rotazione degli assi per massimizzare la discriminazione tra gruppi

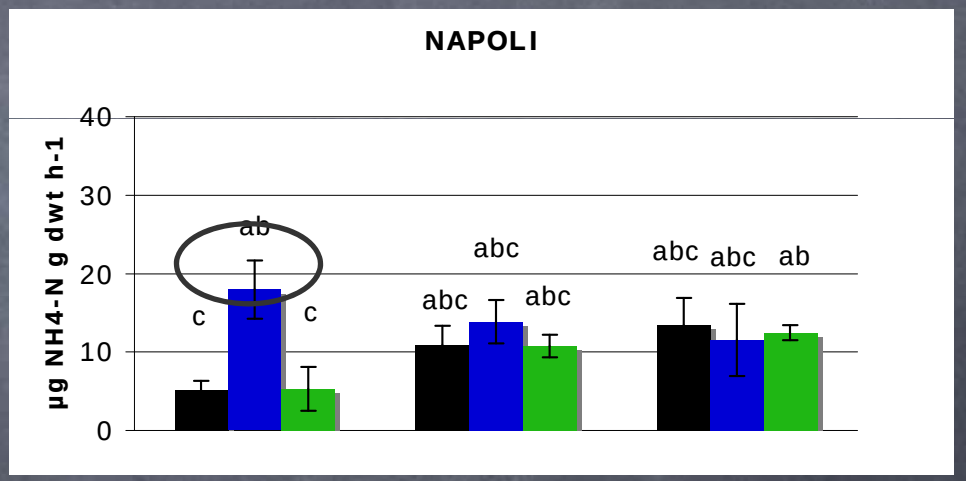
RISULTATI

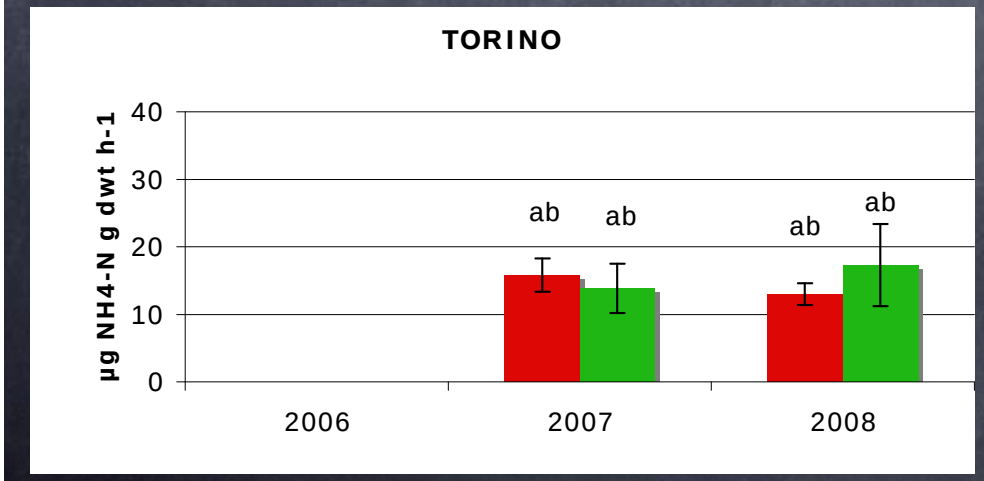
UREASI

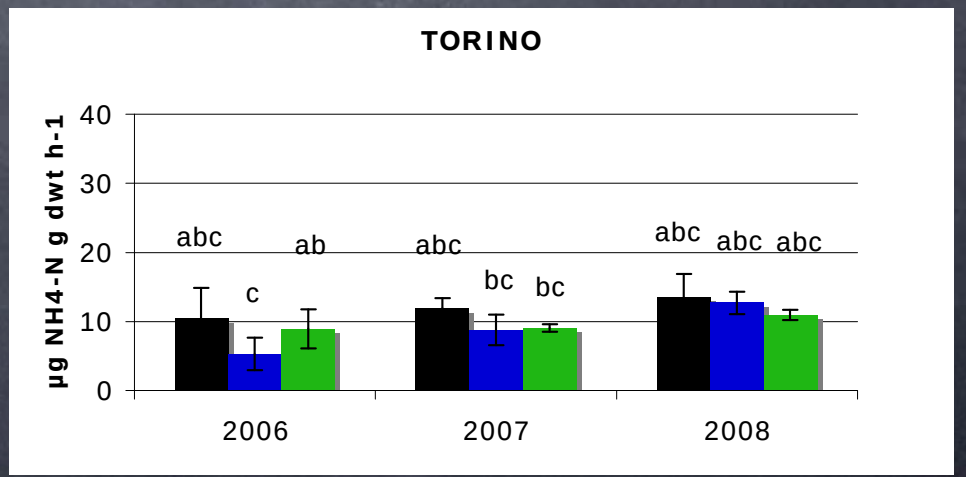

PIACENZA
POR
TRA
µg NH4-N g dwt h-1
40
30
20
10
0
ab
ab
b
b
ab
ab


PIACENZA
MIN
COM
TRA
µg NH4-N g dwt h-1
40
30
20
10
0
bc
abc
c
abc
ab
abc
a
abc
abc

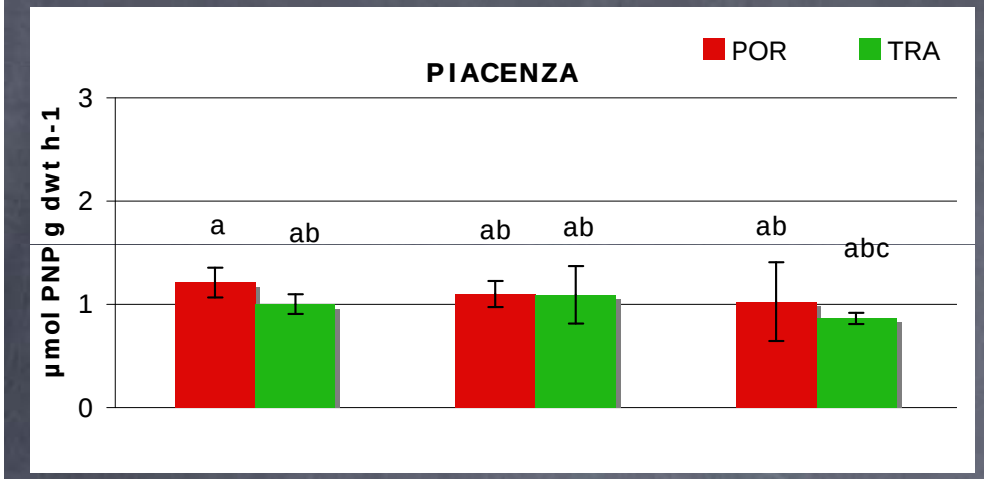

NAPOLI
µg NH4-N g dwt h-1
40
30
20
10
0
ab
ab
ab
ab
ab
ab

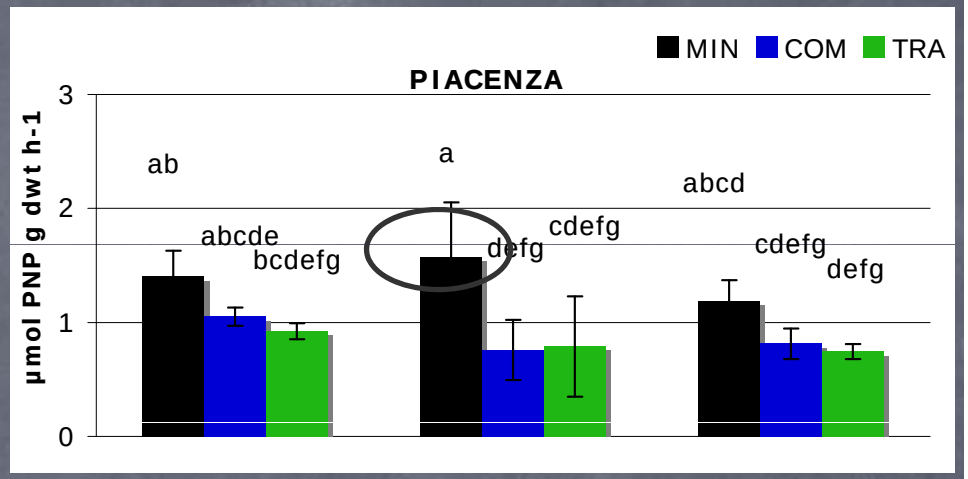

NAPOLI
µg NH4-N g dwt h-1
40
30
20
10
0
c
ab
c
abc
abc
abc
abc
abc
ab

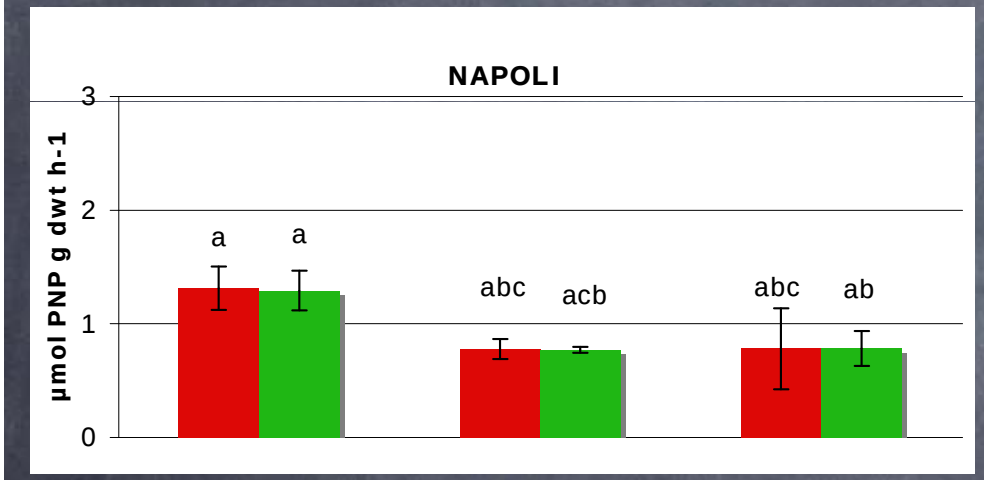

TORINO
µg NH4-N g dwt h-1
40
30
20
10
0
ab
ab
ab
ab
2006
2007
2008

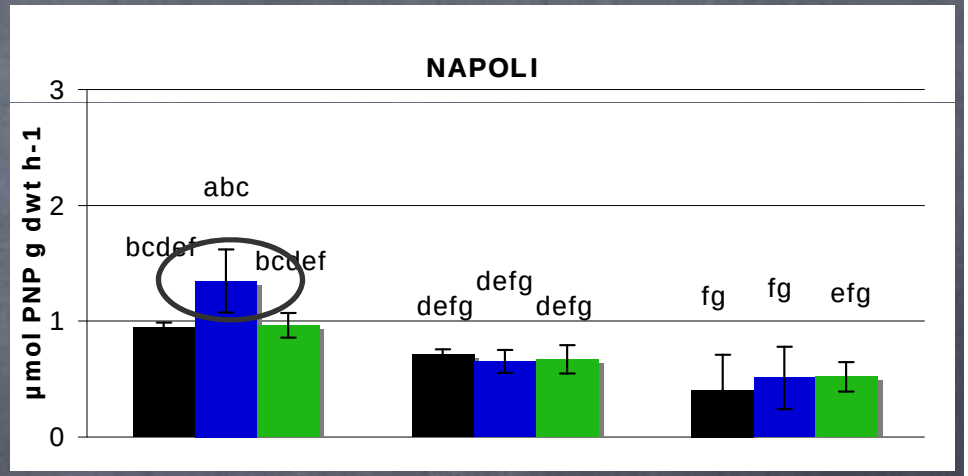

TORINO
µg NH4-N g dwt h-1
40
30
20
10
0
abc
c
ab
abc
bc
bc
abc
abc
abc
2006
2007
2008

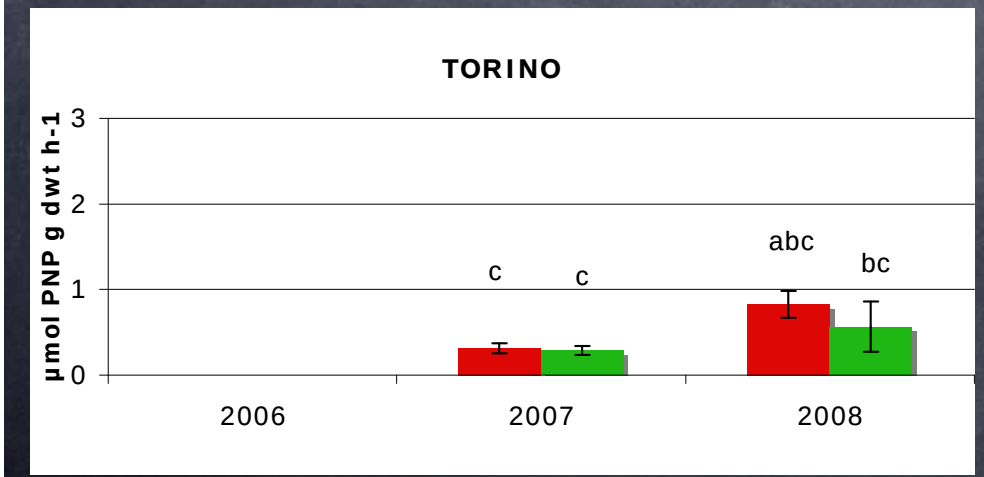
FOSFATASI

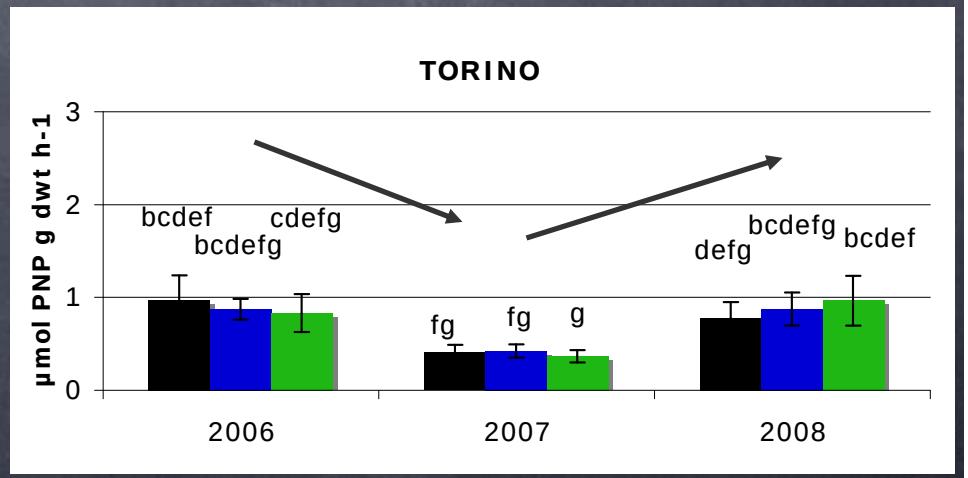

POR
TRA
PIACENZA
µmol PNP g dwt h-1
0
1
2
3
a
ab
ab
ab
ab
abc


MIN
COM
TRA
PIACENZA
µmol PNP g dwt h-1
0
1
2
3
ab
abcde
bcdefg
a
defg
cdefg
abcd
cdefg
defg

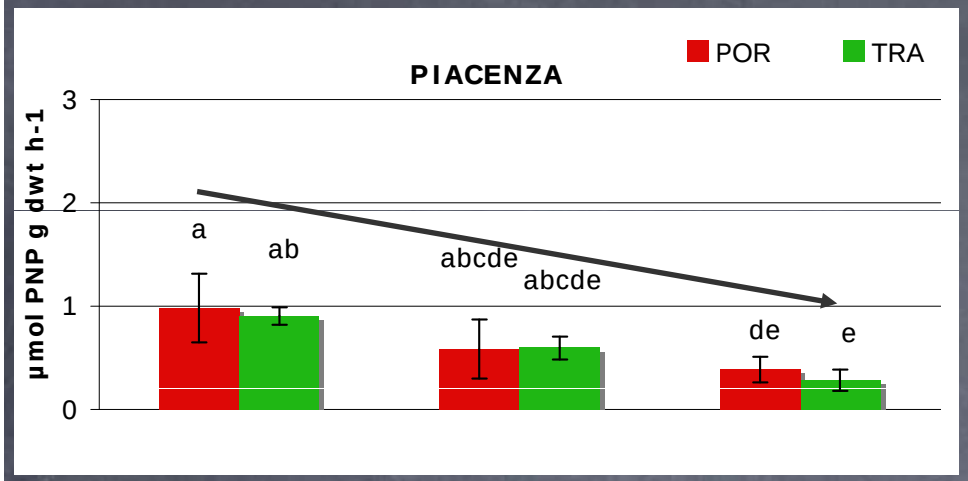

NAPOLI
µmol PNP g dwt h-1
0
1
2
3
a
a
abc
acb
abc
ab

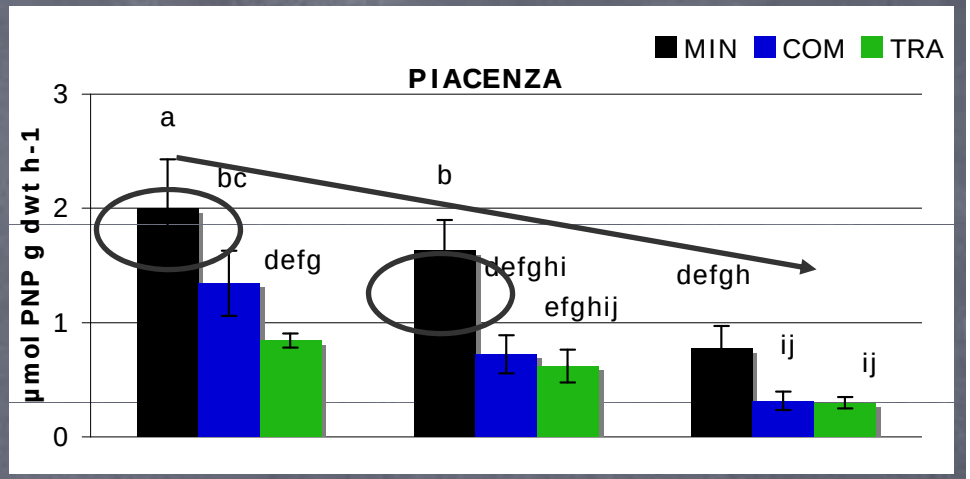

NAPOLI
µmol PNP g dwt h-1
0
1
2
3
abc
bcdef
bcdef
defg
defg
defg
fg
fg
efg

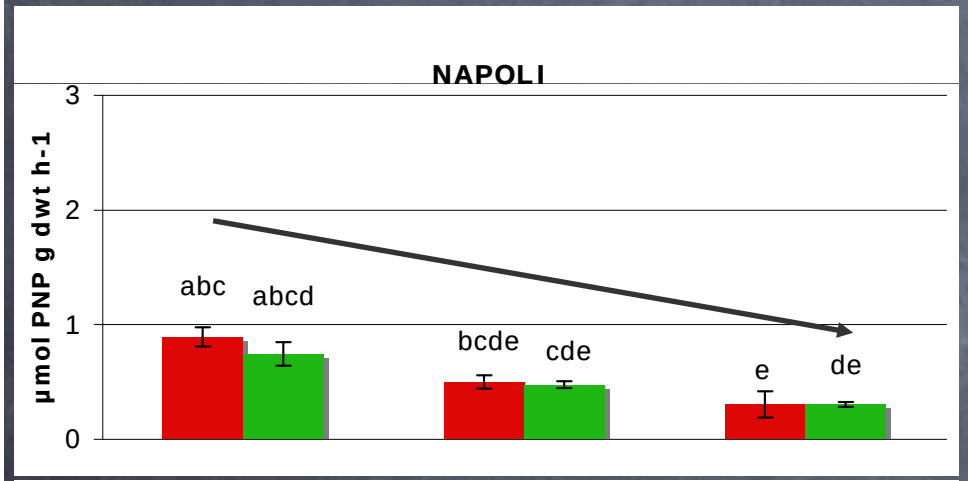

TORINO
µmol PNP g dwt h-1
0
1
2
3
c
c
abc
bc
2006
2007
2008

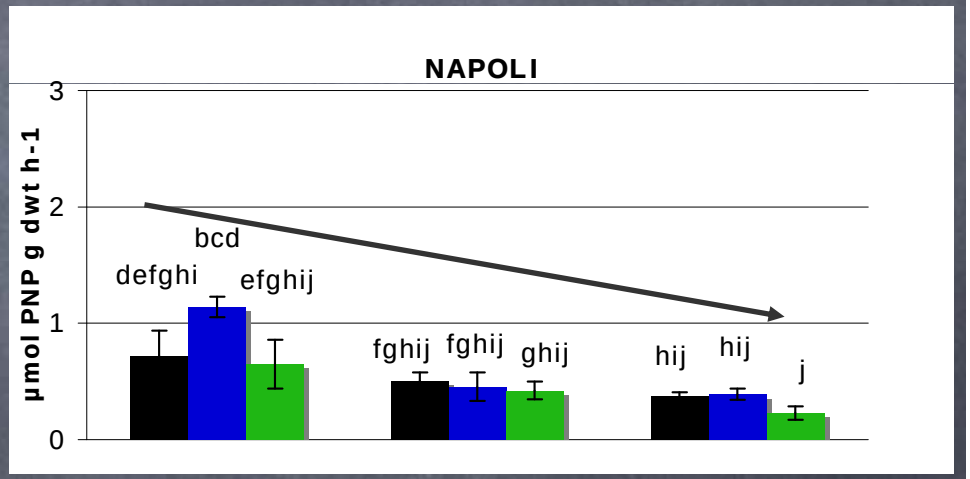

TORINO
µmol PNP g dwt h-1
0
1
2
3
bcdef
bcdefg
cdefg
fg
fg
g
defg
bcdefg
bcdef
2006
2007
2008

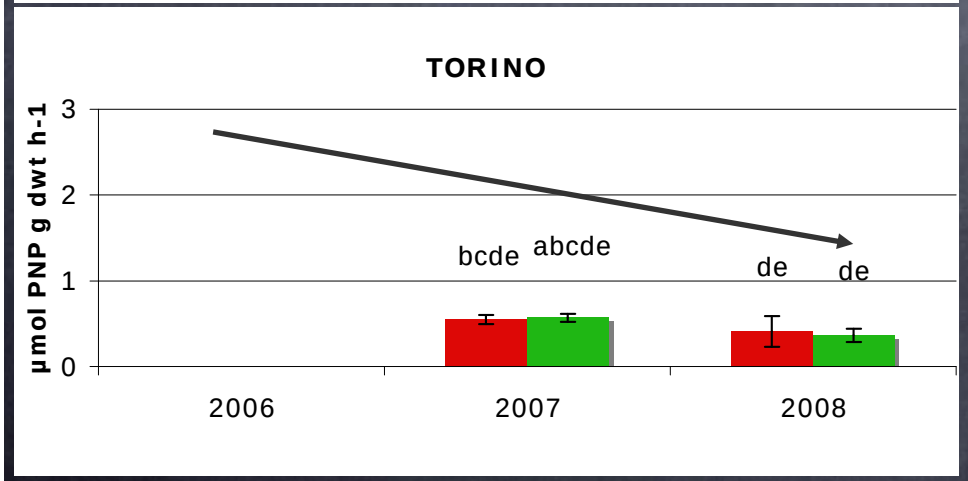
GLUCOSIDASI

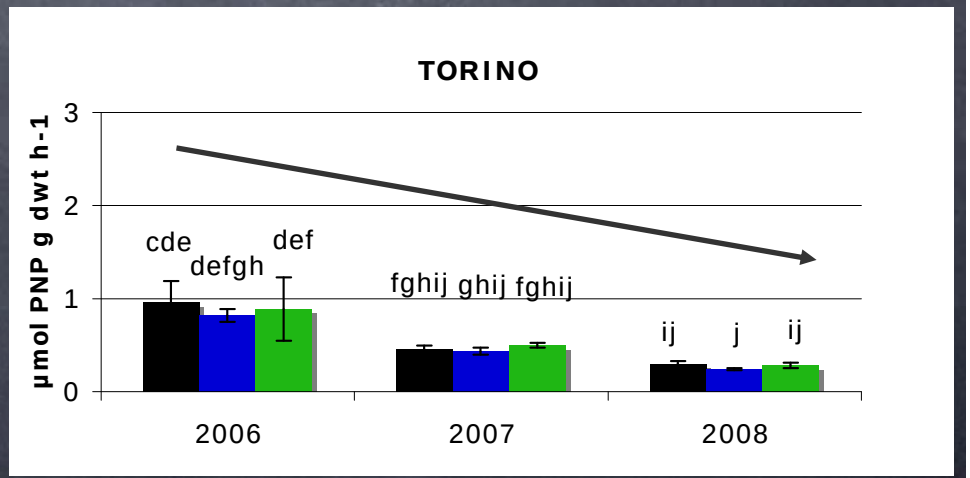




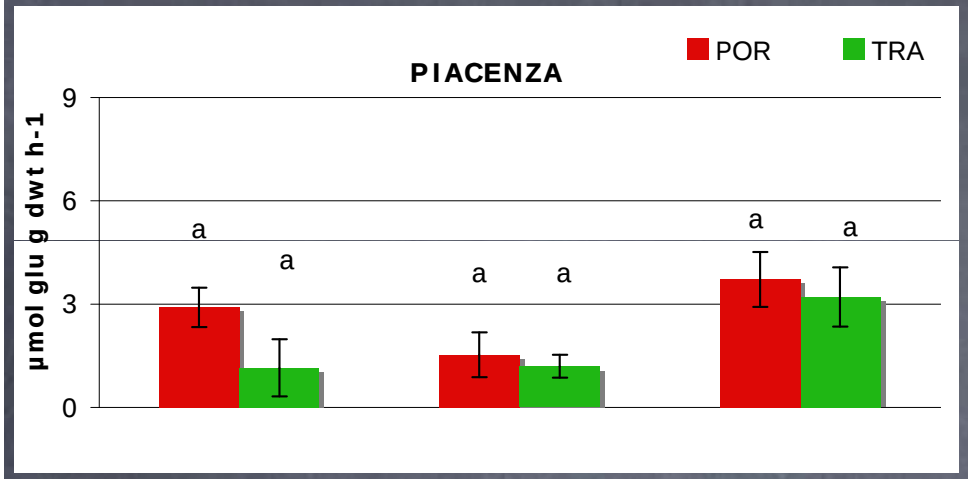


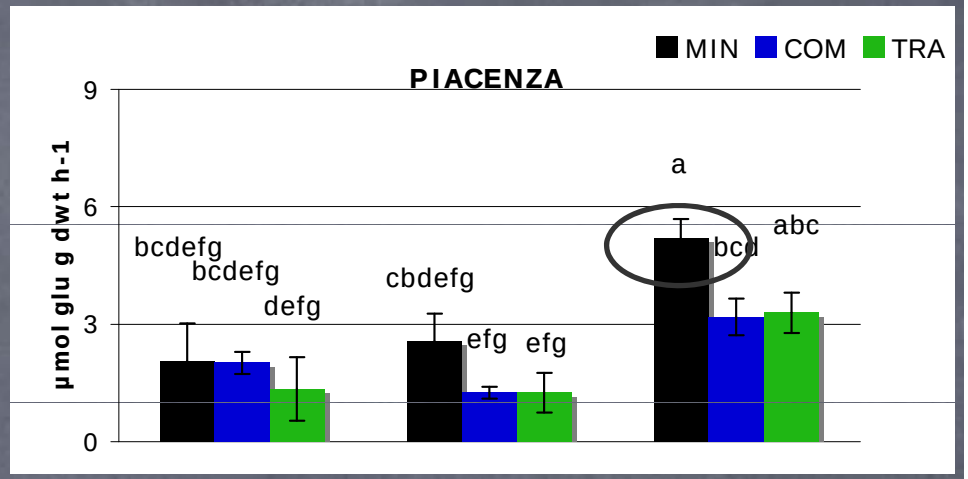


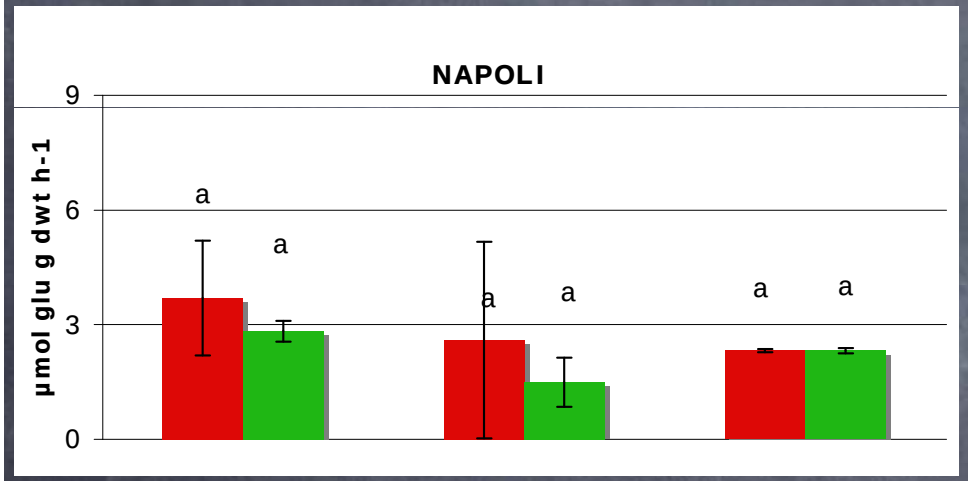


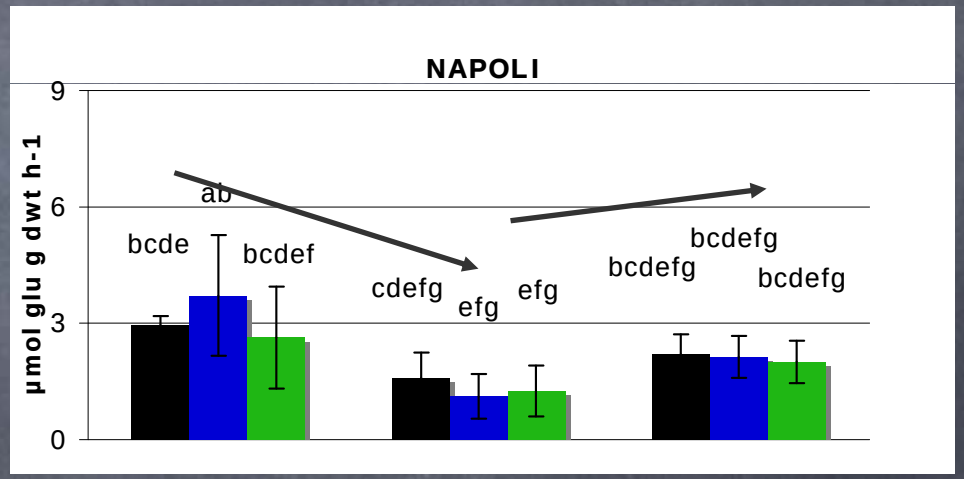


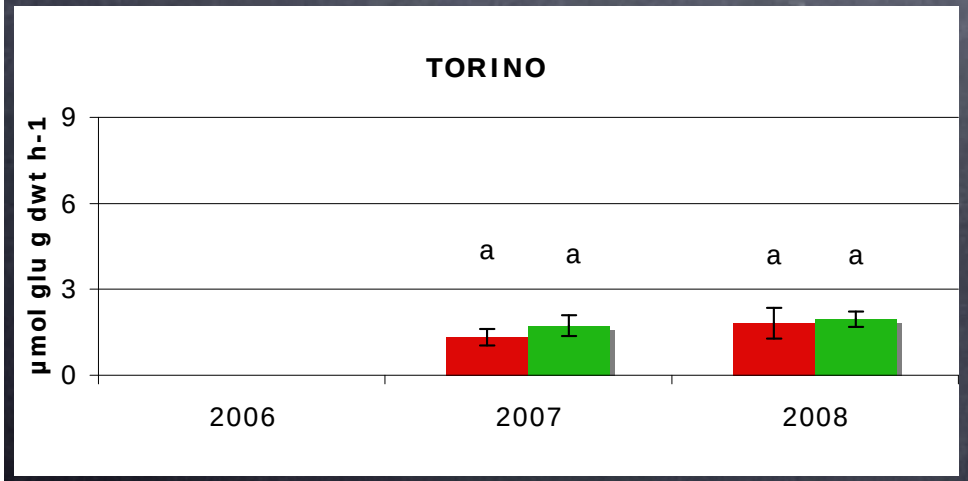
INVERTASI

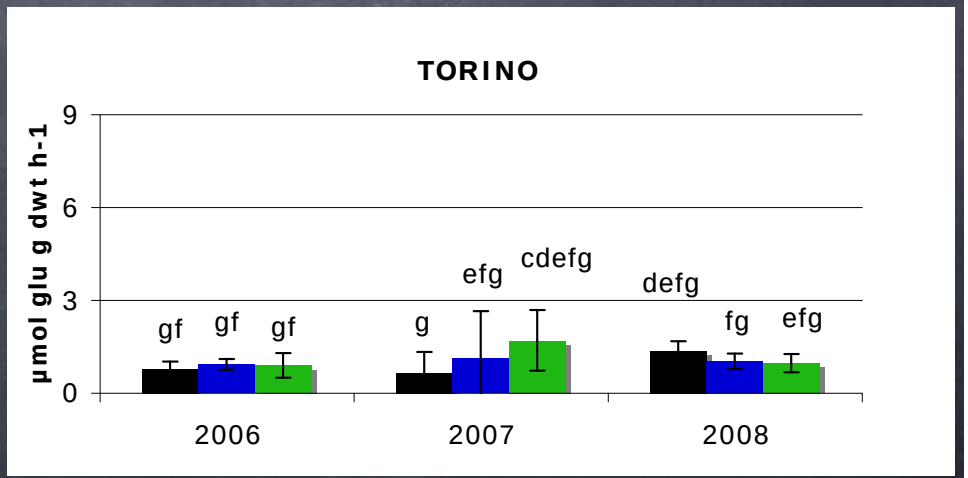

POR
TRA
PIACENZA
µmol glu g dwt h-1
9
6
3
0
a
a
a
a
a
a


MIN
COM
TRA
PIACENZA
µmol glu g dwt h-1
9
6
3
0
bcdefg
bcdefg
defg
cbdefg
efg
efg
a
bcd
abc


NAPOLI
µmol glu g dwt h-1
9
6
3
0
a
a
a
a
a
a


NAPOLI
µmol glu g dwt h-1
9
6
3
0
ab
bcde
bcdef
cdefg
efg
efg
bcdefg
bcdefg
bcdefg


TORINO
µmol glu g dwt h-1
9
6
3
0
a
a
a
a
2006
2007
2008


TORINO
µmol glu g dwt h-1
9
6
3
0
gf
gf
gf
g
efg
cdefg
defg
fg
efg
2006
2007
2008

•L'applicazione di metallo-porfirine non causa cambiamenti significativi nell'attività degli enzimi studiati, indipendentemente dalla coltura.

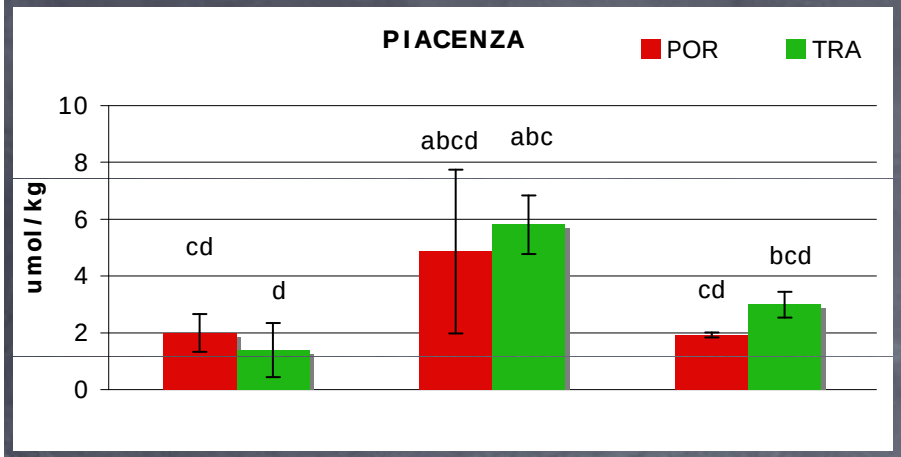
•Variazioni sito e stagione dipendenti nel livello dei singoli enzimi, con generalmente un aumento nelle prove MIN e COM. Nello specifico:

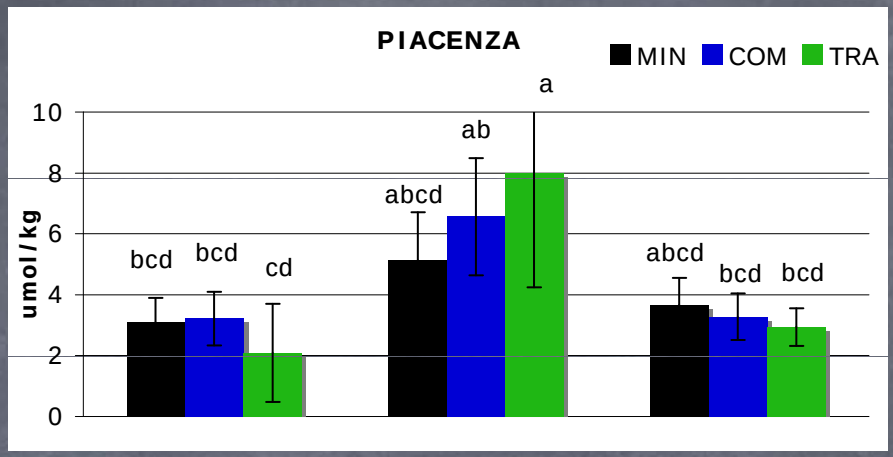
• Aumento dell'ureasi in tutti i siti dopo il primo anno

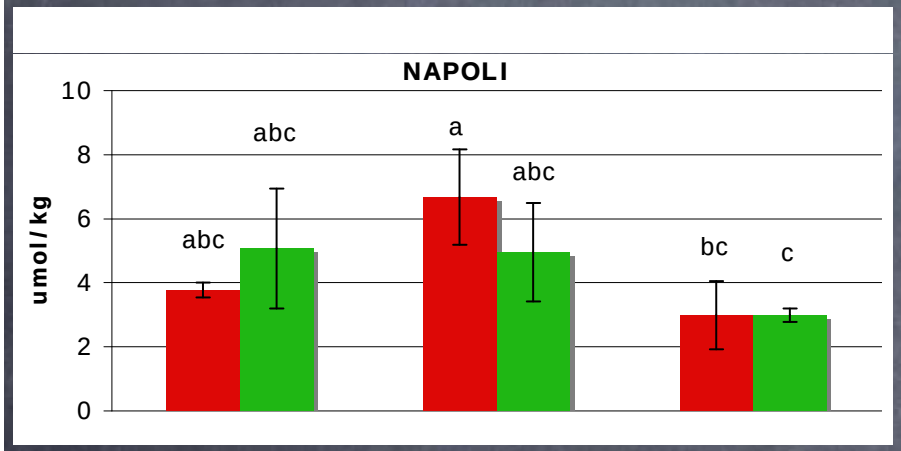
• Fosfatasi ed invertasi più alte in MIN a Piacenza e con variazioni stagionali a Piacenza.

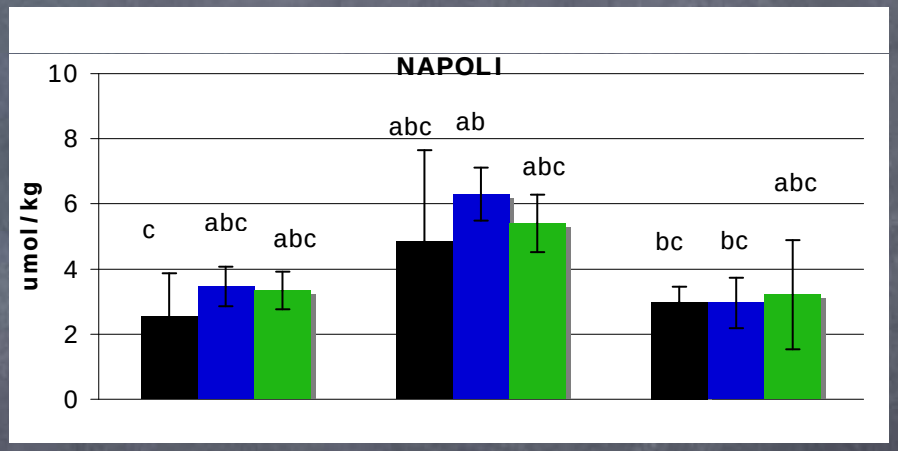
• Glucosidasi generalmente ridotta nel tempo nei 3 siti; livelli più alti nei suoli MIN a Piacenza

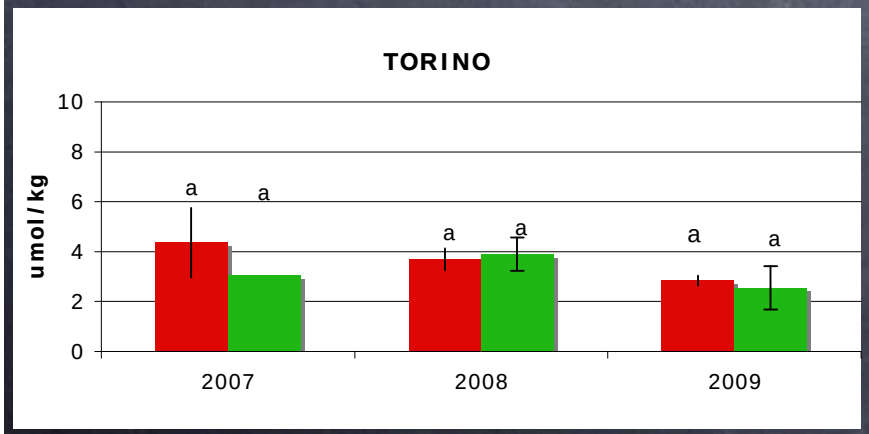
PLFA 16:0 - biomassa microbica totale

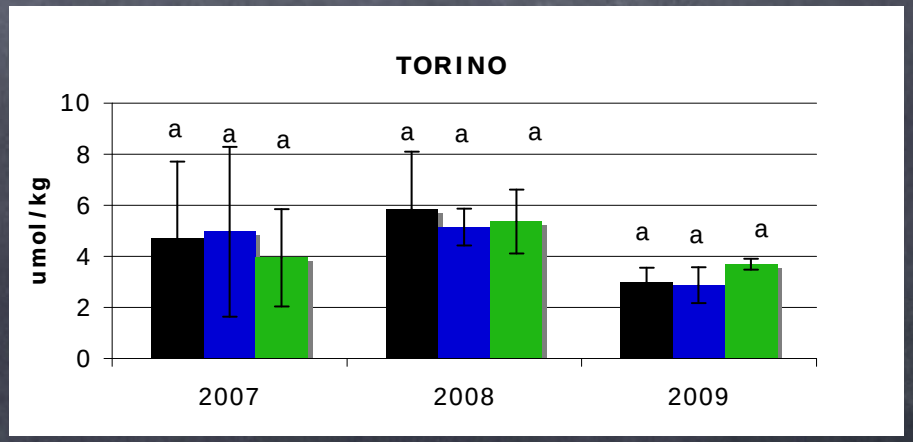




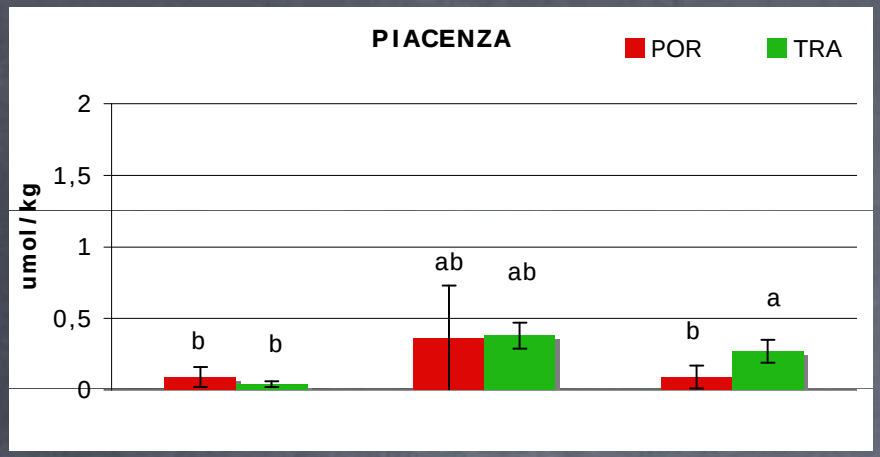


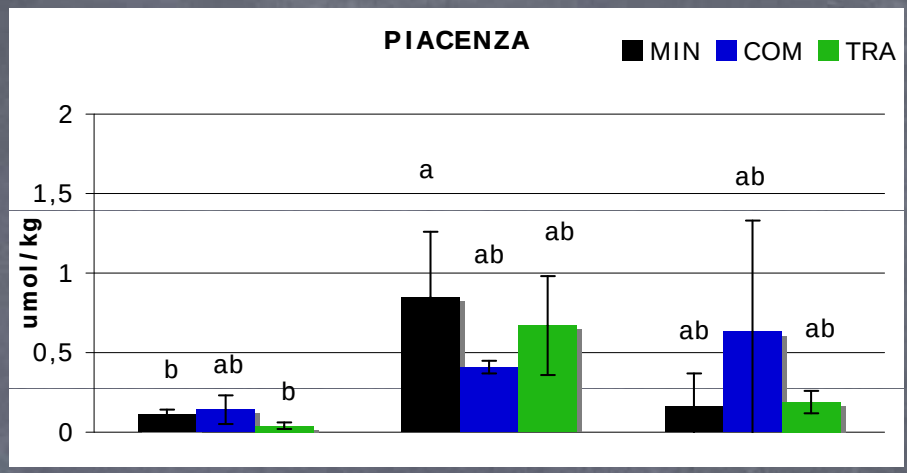


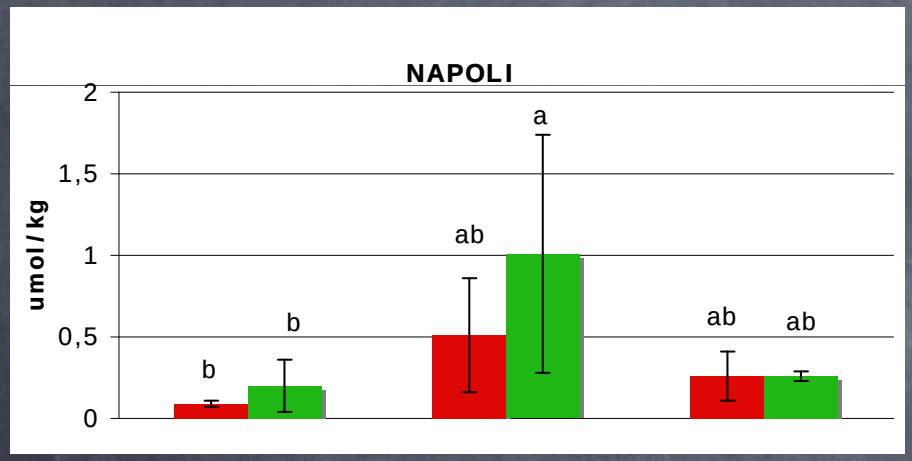


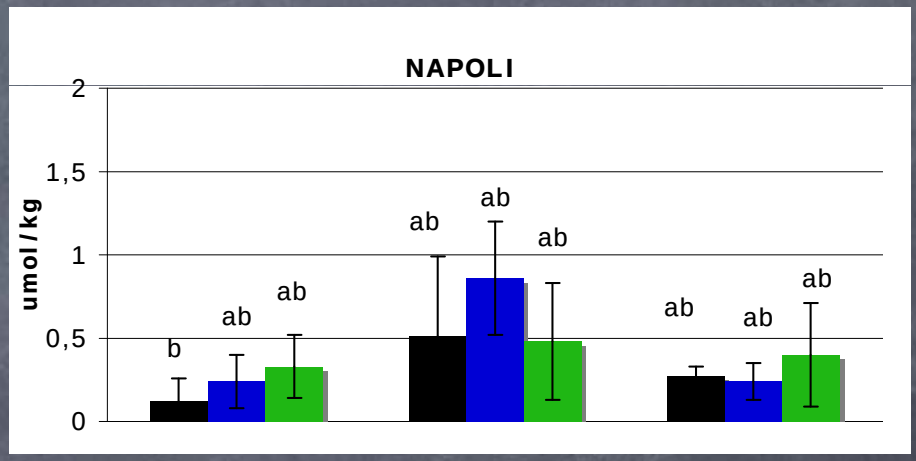


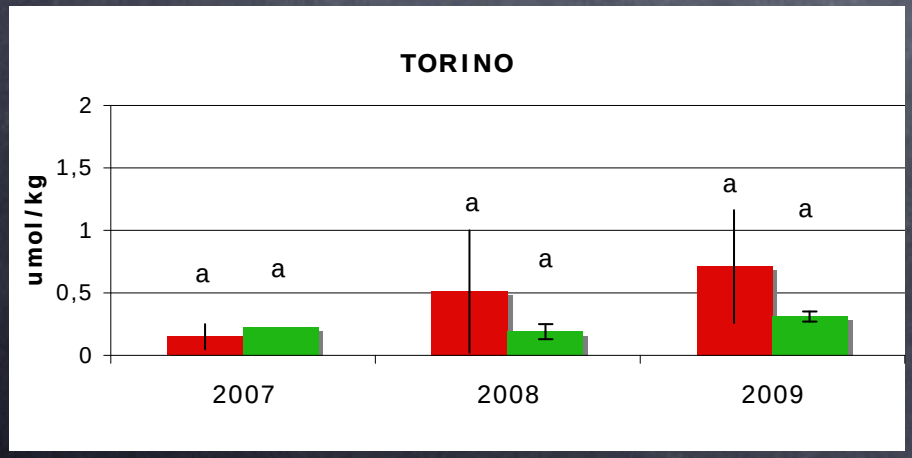
PLFA 18:2ω6c - biomassa fungina

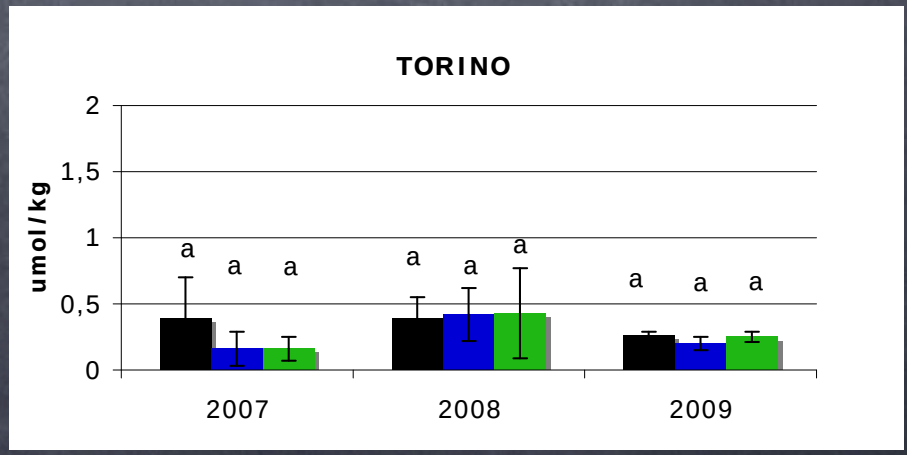




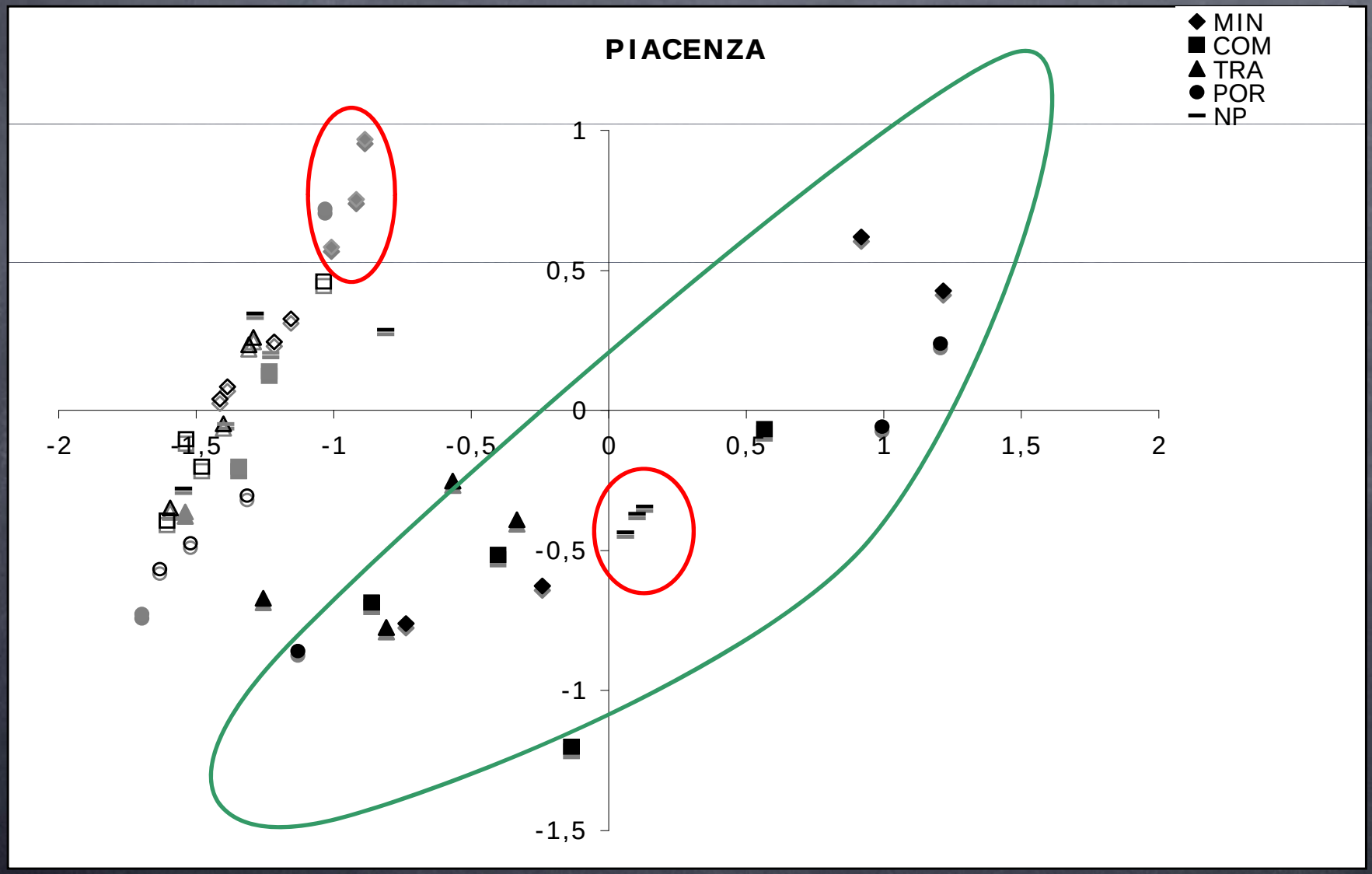




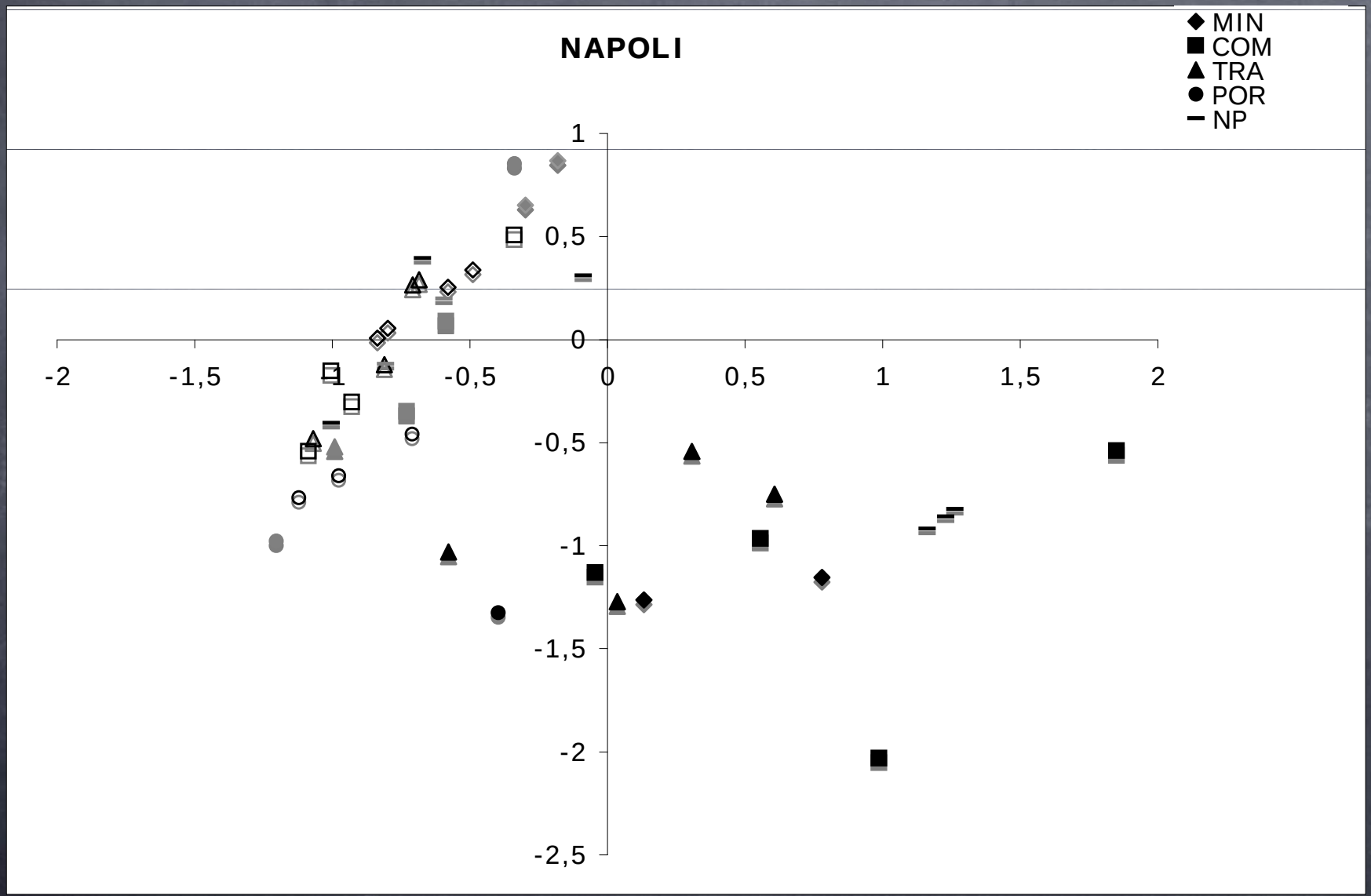




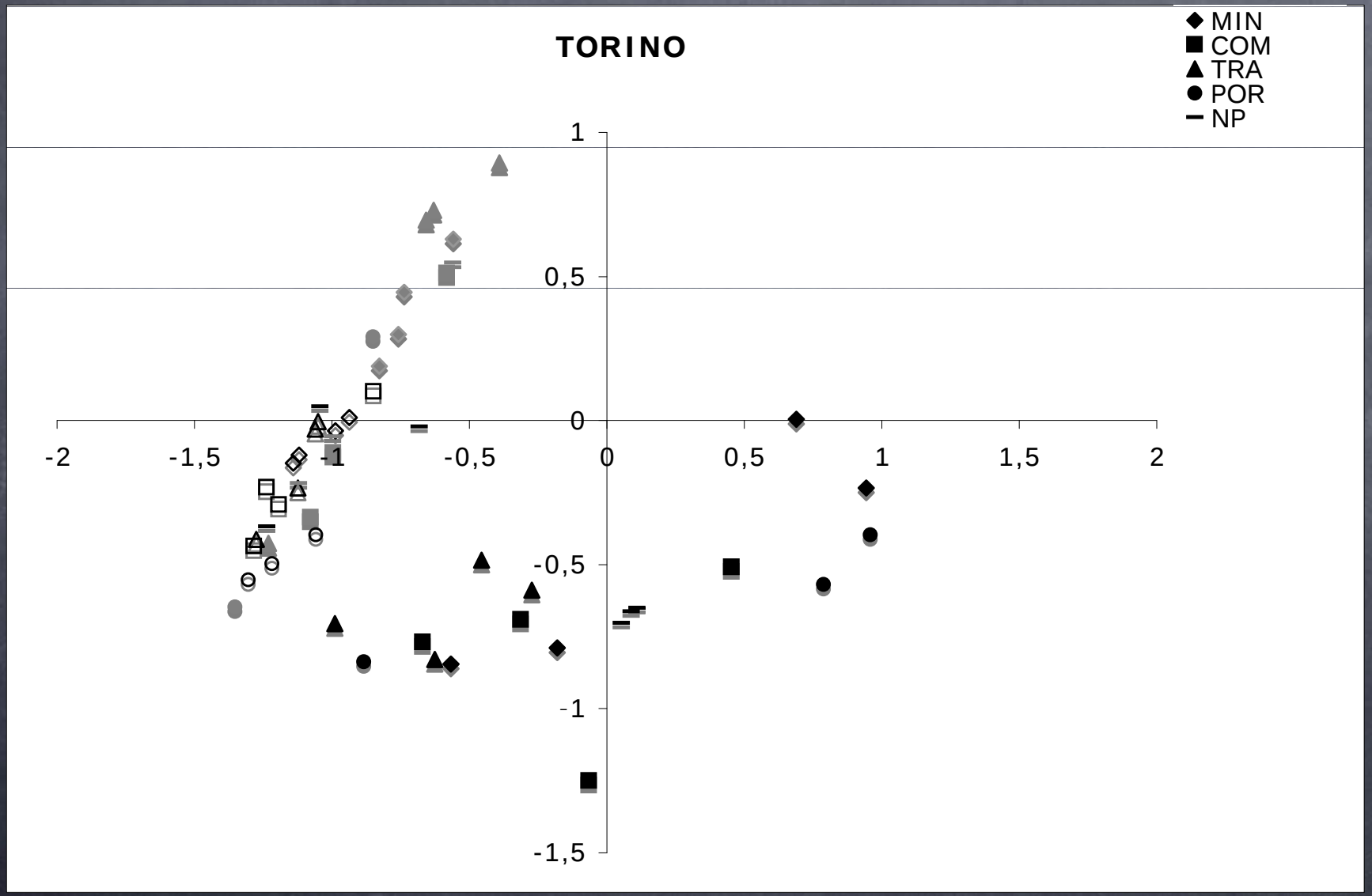
Batteri GRAM +
- somma di i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a 17:0



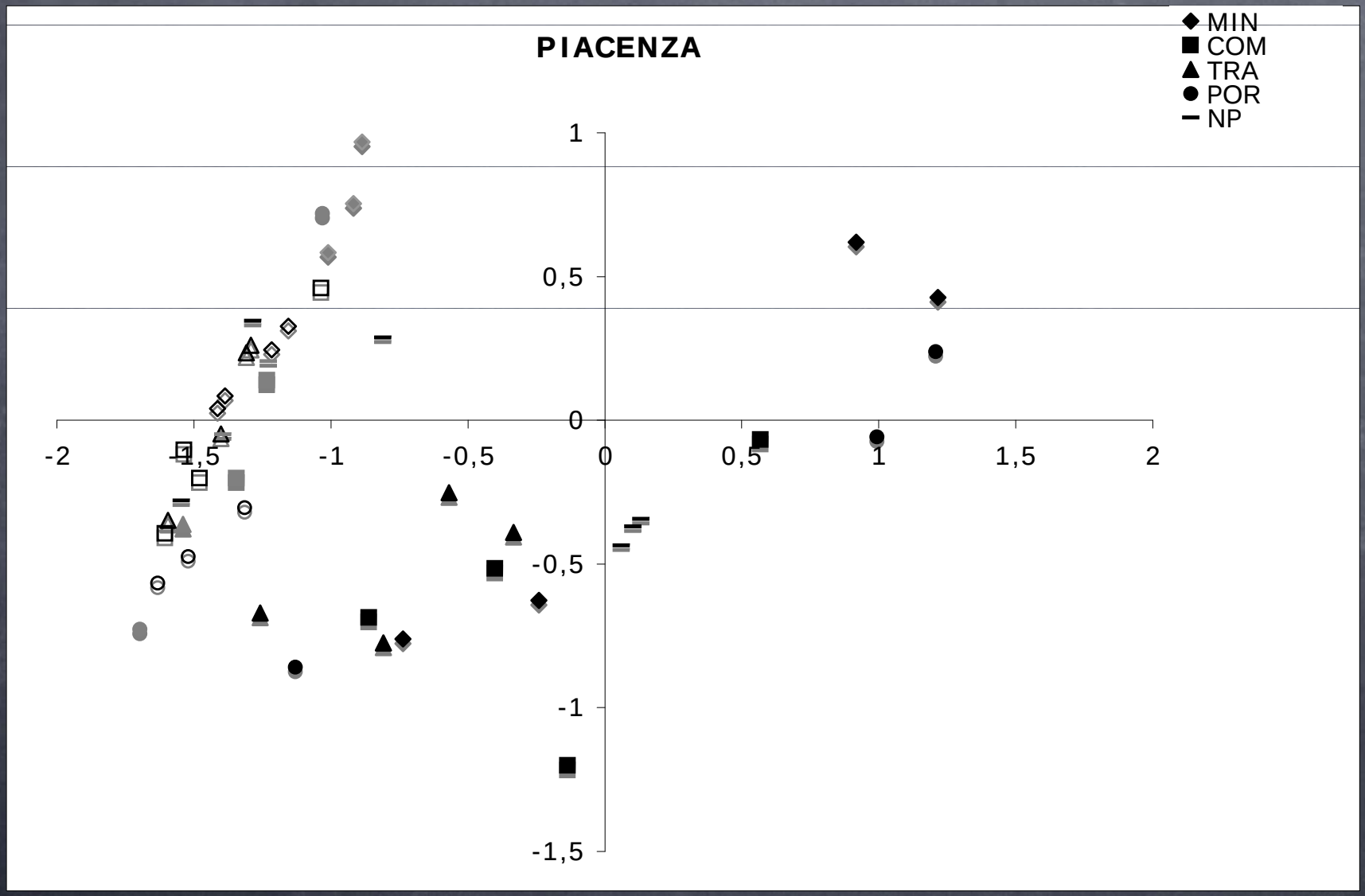
Batteri GRAM +
- somma di i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a 17:0



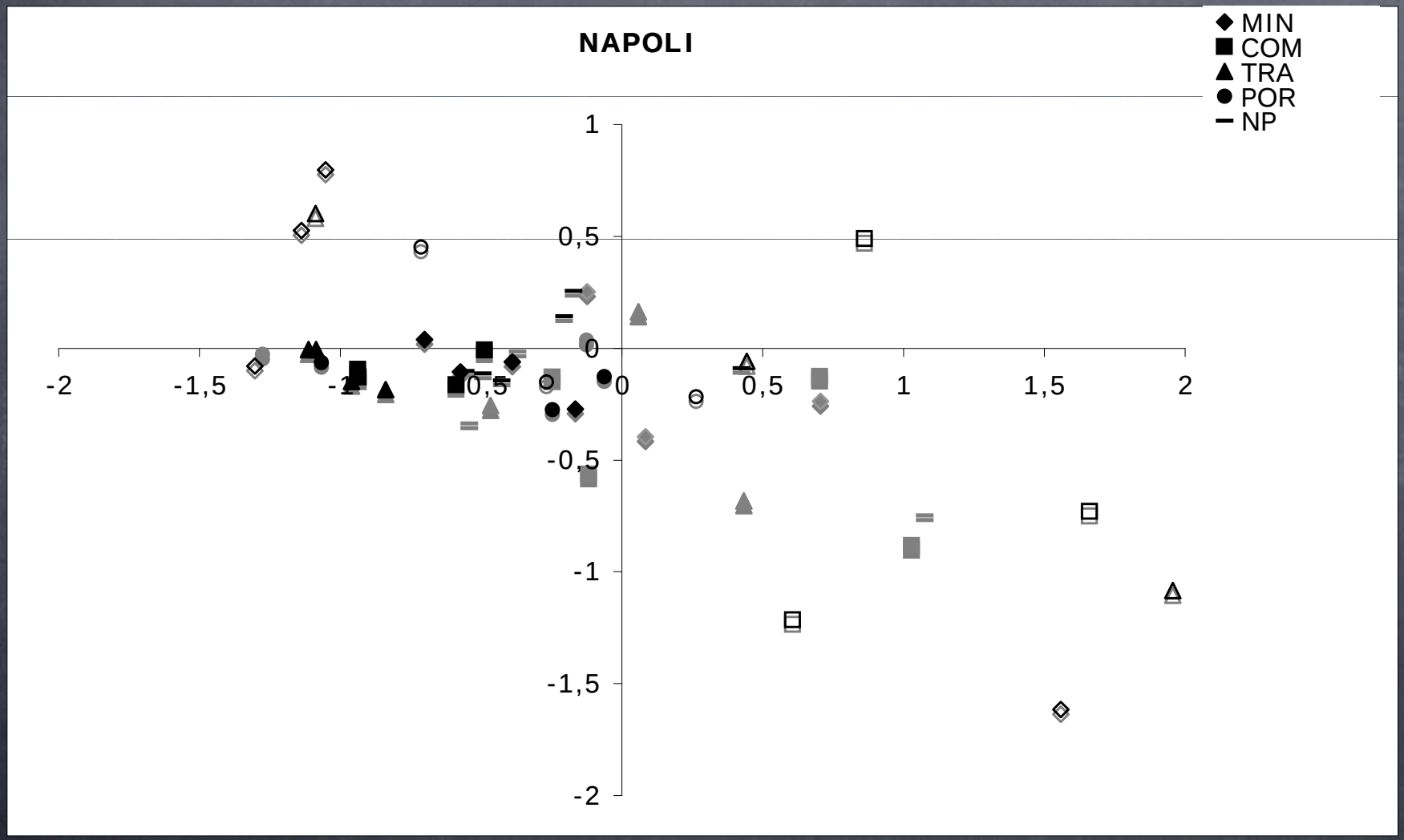
Batteri GRAM +
- somma di i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a 17:0



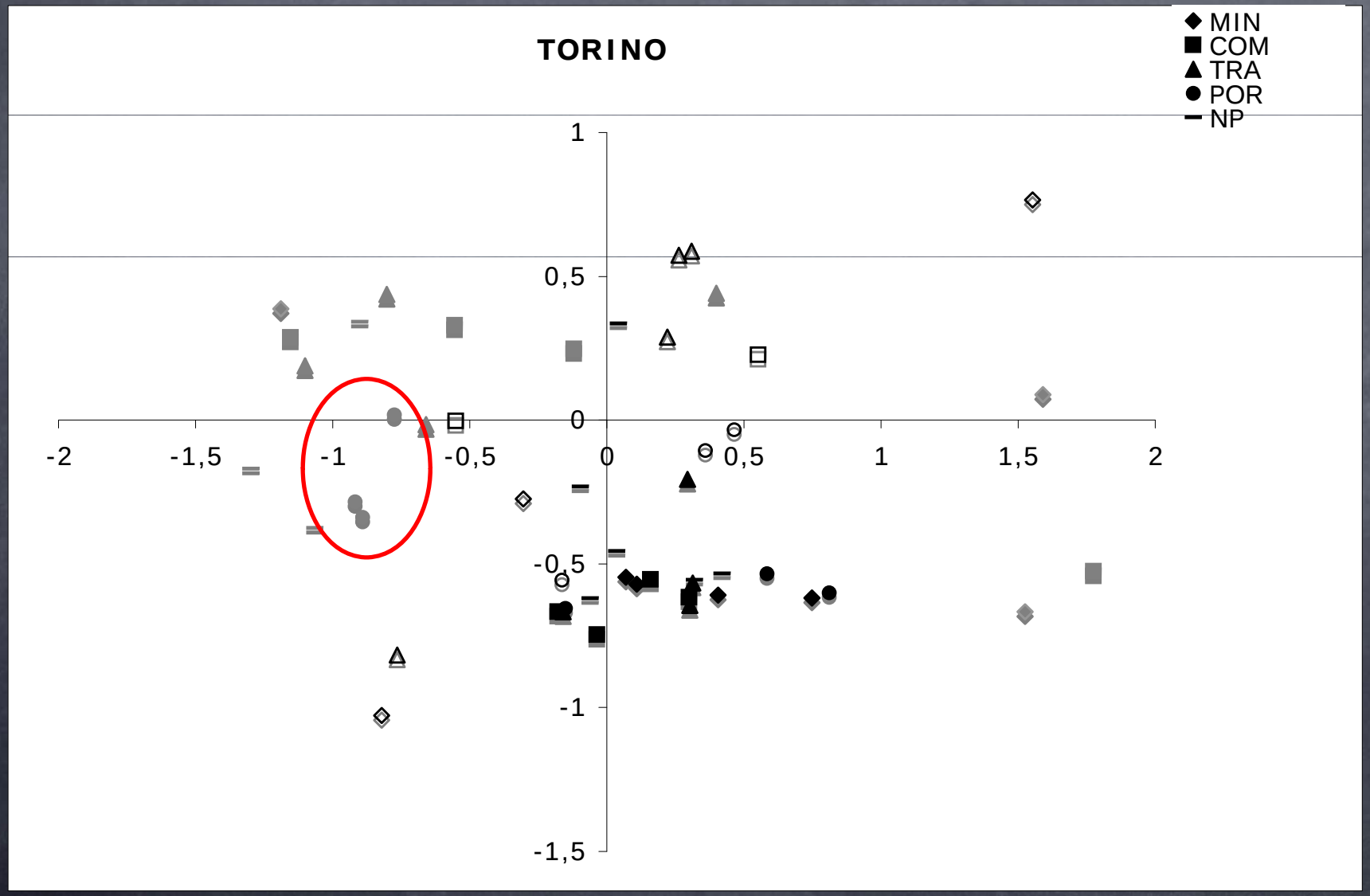
Batteri GRAM -
-somma di cy17:0, cy19:0, 18:1ω9c, 16:1ω9c, 18:1ω9c, 15:1ω4c, 18:1ω7c



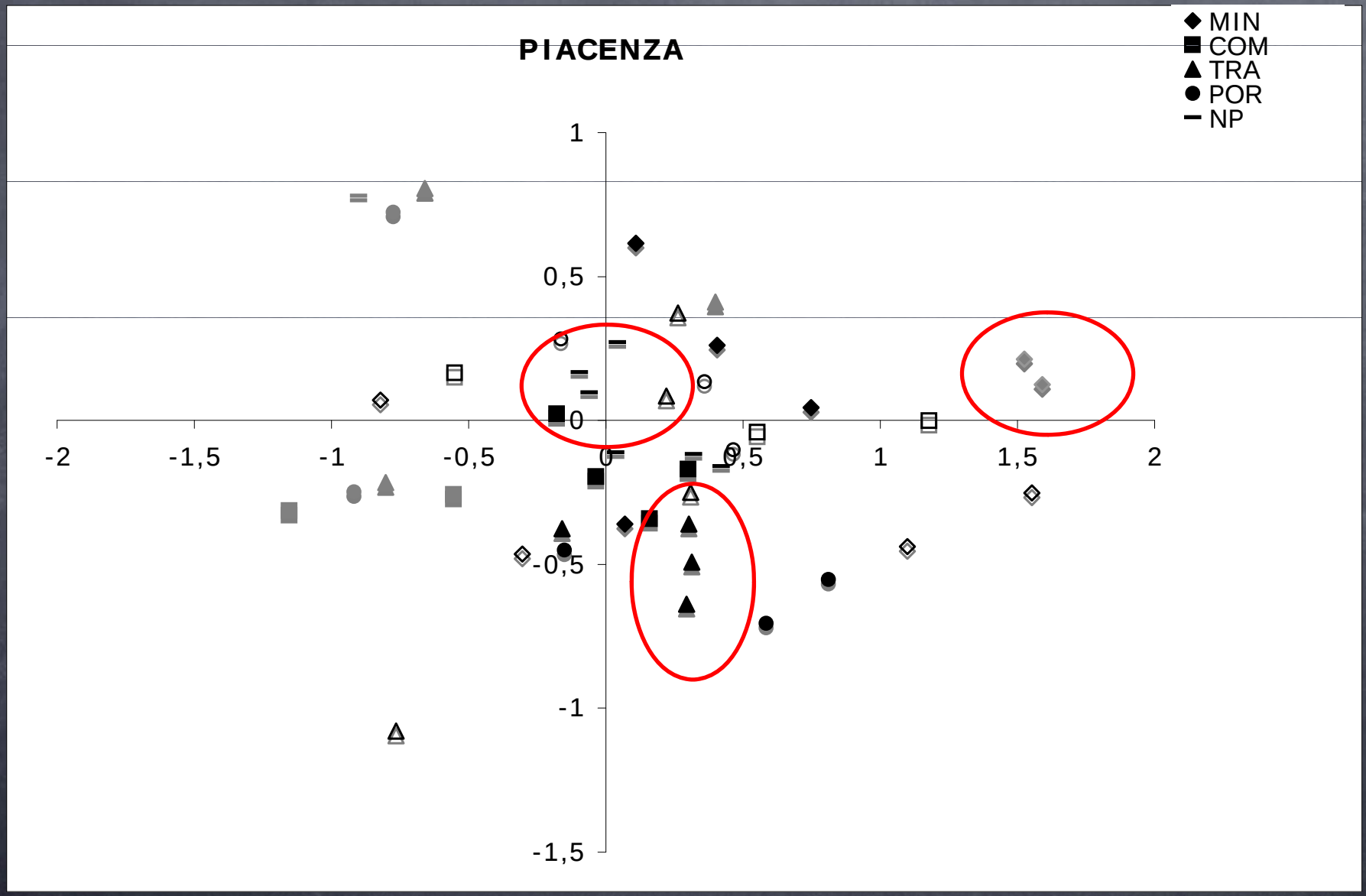
Batteri GRAM -
-somma di cy17:0, cy19:0, 18:1ω9c, 16:1ω9c, 18:1ω9c, 15:1ω4c, 18:1ω7c



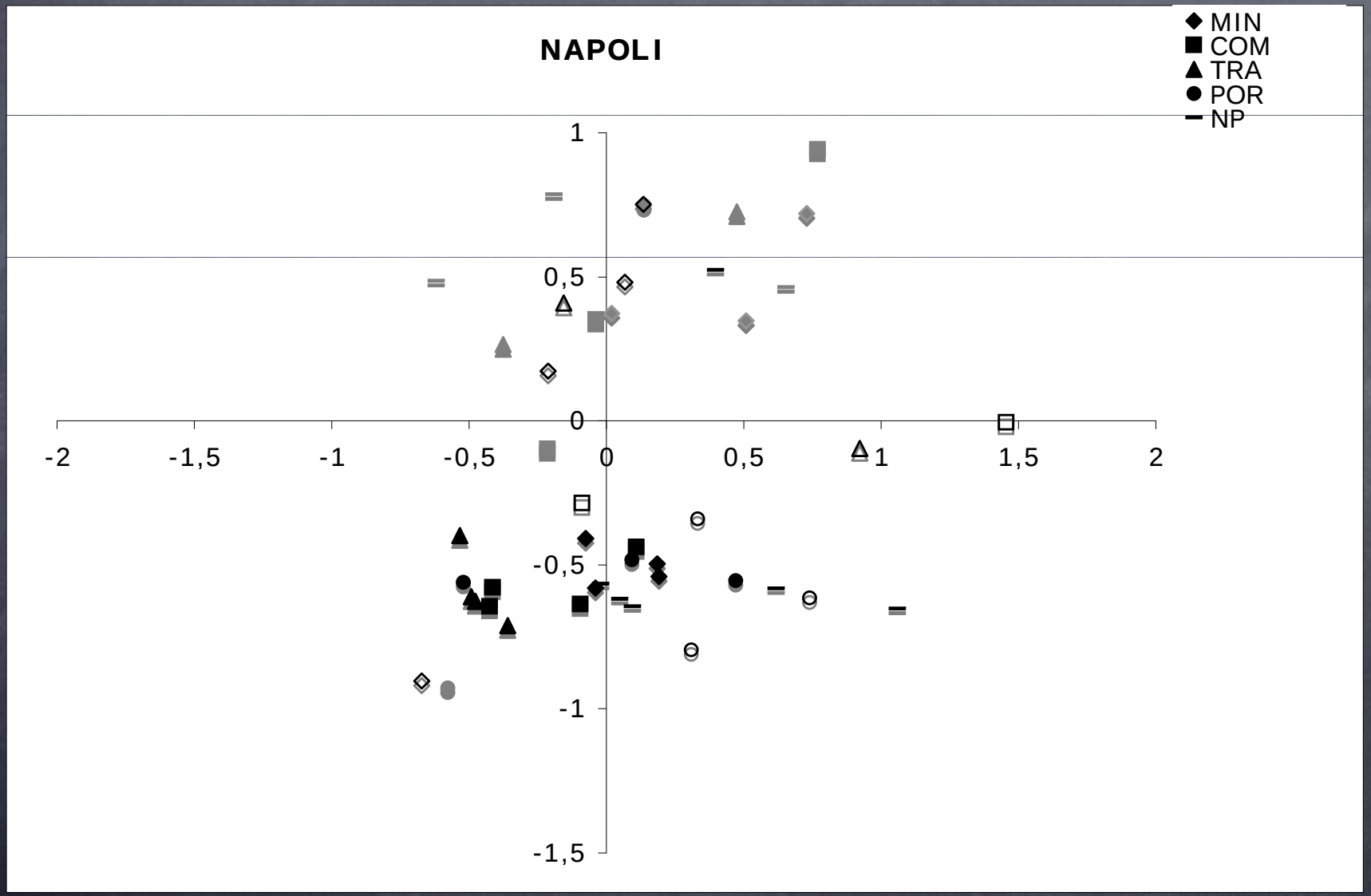
Batteri GRAM -
-somma di cy17:0, cy19:0, 18:1ω9c, 16:1ω9c, 18:1ω9c, 15:1ω4c, 18:1ω7c



Protozoi
somma di 20:2w6,9,c, 20:3w6,9,12c, 20:4w6,9,12,15c

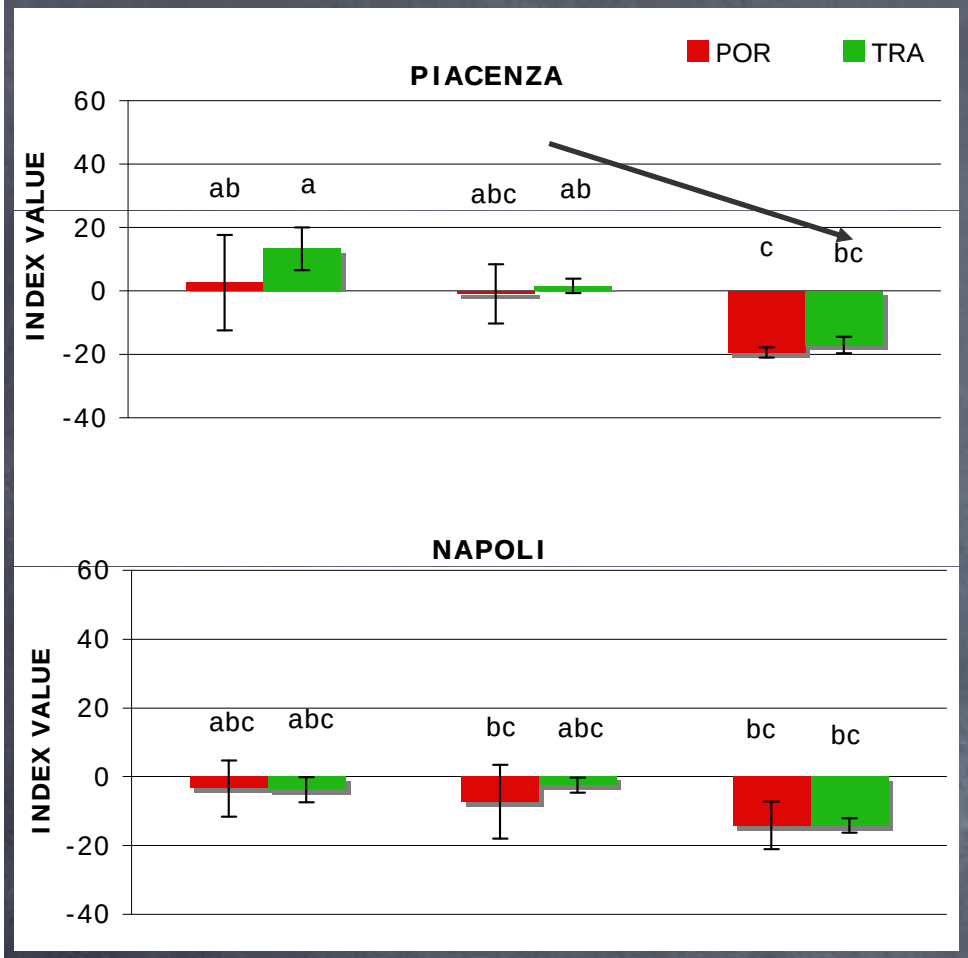


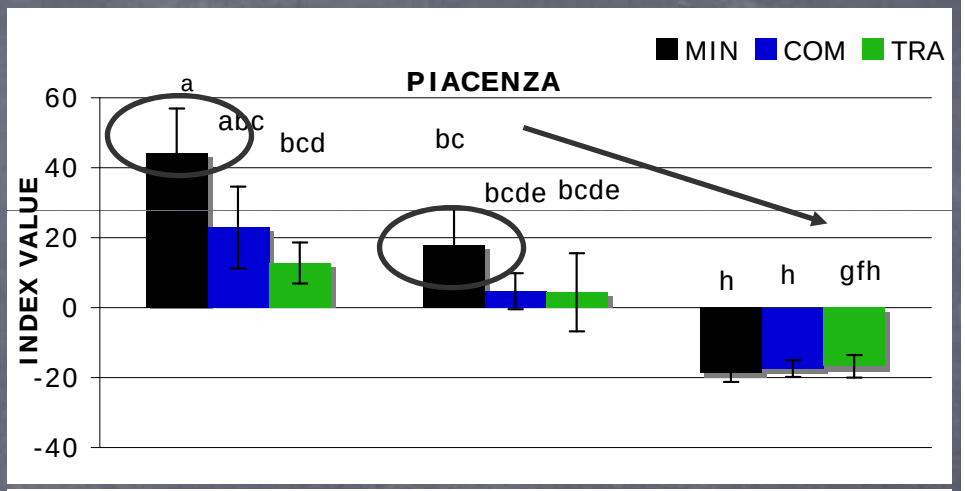
Protozoi
somma di 20:2w6,9,c, 20:3w6,9,12c, 20:4w6,9,12,15c

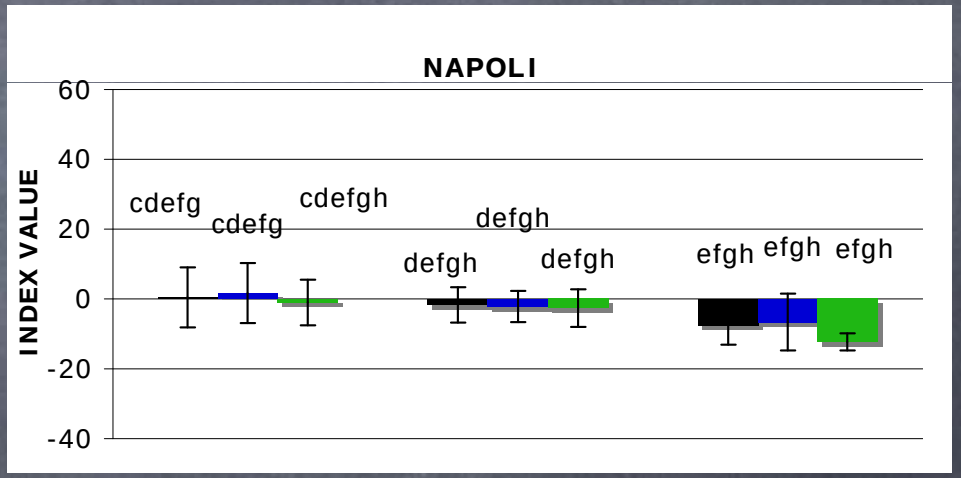


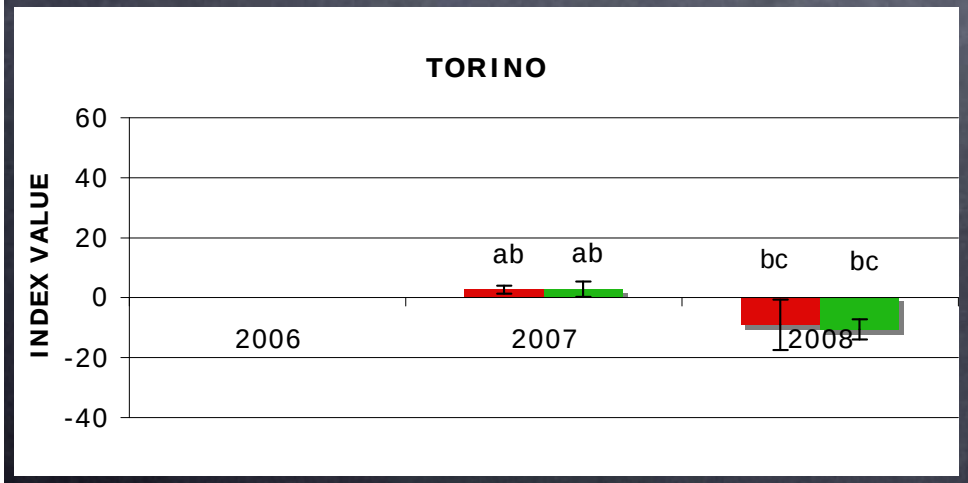
La valutazione della struttura delle comunità microbiche valutata con i PLFA ha dato risultati coerenti con le analisi enzimatiche: variazioni sito-specifiche e stagionali nella biomassa fungina e nella struttura di alcuni gruppi microbici. Nessuna variazione di biomassa totale.

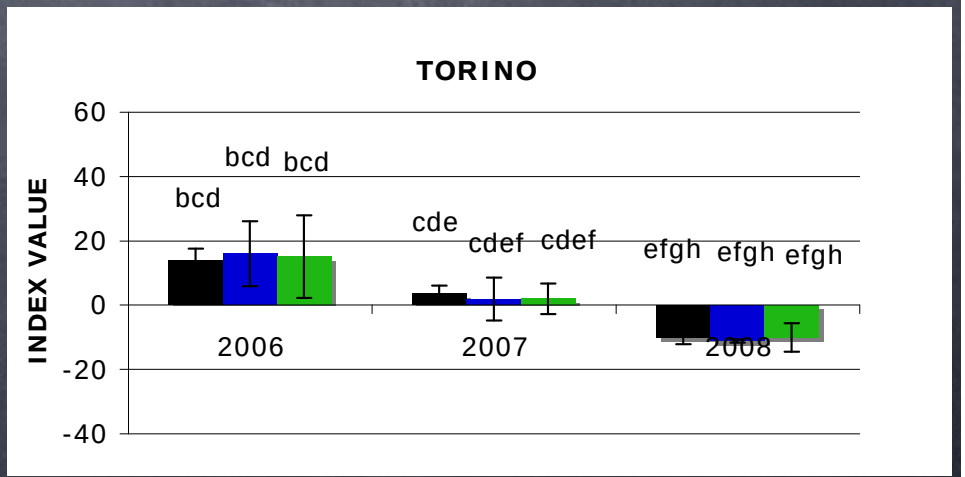
INDICE DI ALTERAZIONE



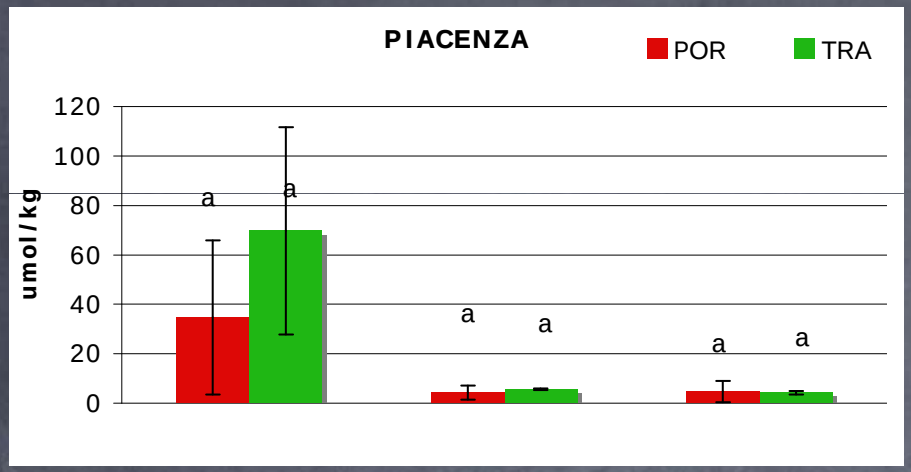


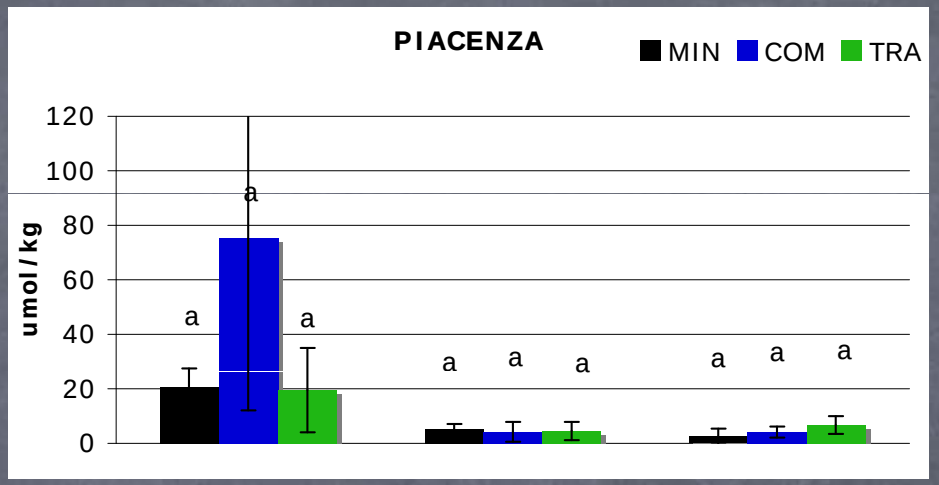


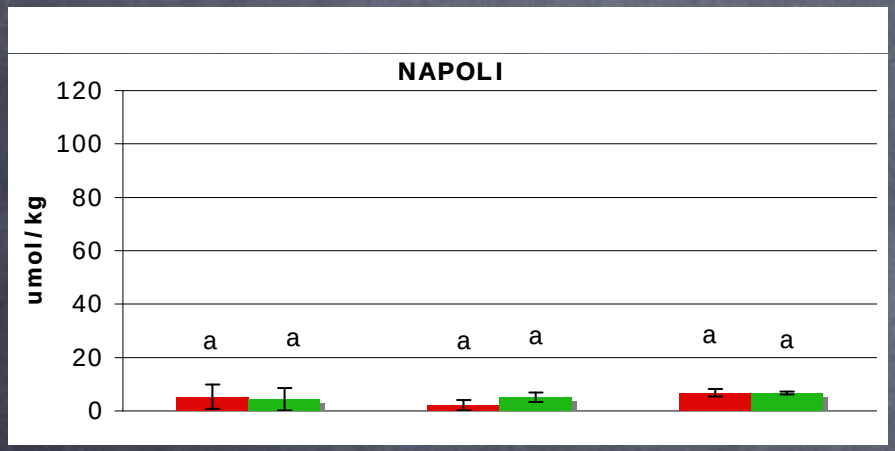


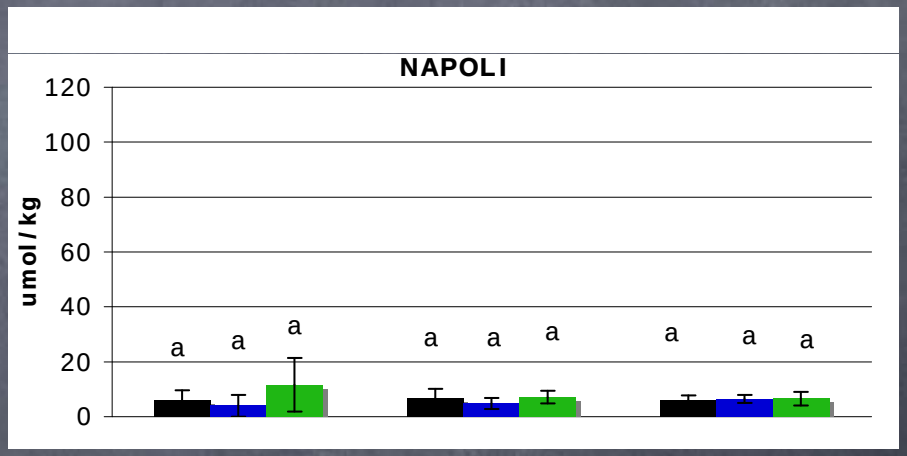


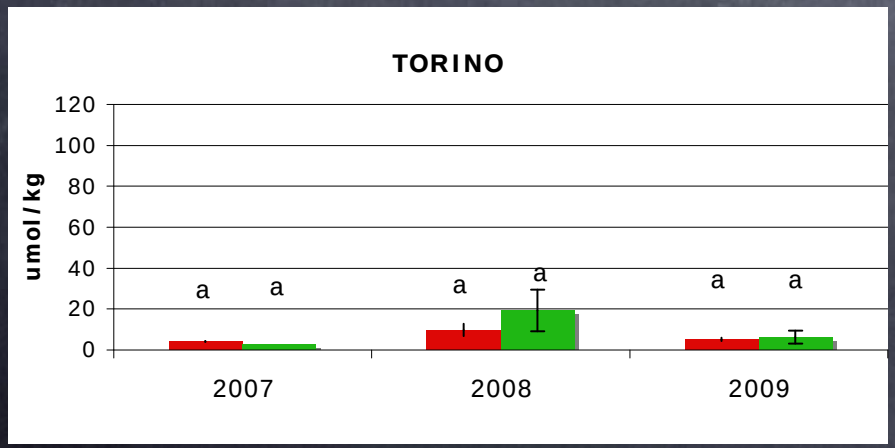
Rapporto cy19:0/18:1ω7c - indice di stress

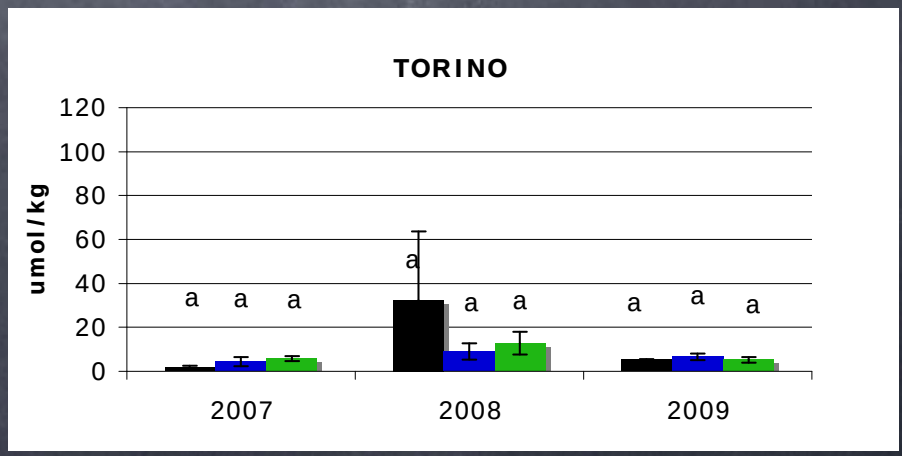












Conclusioni

- L'applicazione di un indice di alterazione basato sui 4 enzimi studiati così come il rapporto cy19:0/18:1ω7c (indice di stress) indicano che nessuna della pratiche agronomiche testate induce alterazioni a carico delle attività biochimiche del suolo.

- Gli effetti della località e della stagione sono generalmente più marcati di quelli del trattamento.