



APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Le proprietà biochimiche del suolo come indicatori della diversità funzionale

Sara Marinari





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Le proprietà biochimiche possono essere utilizzate come **"indicatori precoci"** delle perturbazioni che degradano il suolo in quanto risultano maggiormente sensibili alle variazioni indotte dall'attività antropica e dall'ambiente rispetto alle proprietà chimico-fisiche del suolo come il contenuto di sostanza organica (Dick, 1994).

Le attività enzimatiche del suolo sono importanti **"sensori"**, forniscono indicazioni sullo stato metabolico della popolazione microbica e sulle condizioni chimico-fisiche del suolo. **Indicatori del grado di alterazione del suolo** (van Beelen & Doelman, 1997; Trasar-Cepeda *et al.*, 2000)





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

• Relazioni tra le variazioni delle proprietà chimico-fisiche e la biodiversità microbica

Enzimi extracellulari

Complessi umo-enzimatici

Complessi argillo-enzimatici



Le attività persistono in
condizioni inibitorie per il
metabolismo microbico

Enzimi intracellulari

Fauna

Radici

Funghi

Batteri



Rispondono alle variazioni dell'attività
microbiologica
Esprimono la diversità funzionale





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

• Relazione tra la diversità tassonomica, genetica e l'attività enzimatica

(Kandeler *et al.*, 1996)



- Le attività enzimatiche uno strumento per valutare l'influenza delle tecniche di gestione e dell'uso del suolo sulla biodiversità funzionale.





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

**Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale**

• Enzimi idrolitici ed il ciclo degli elementi

ENZIMA	SUBSTRATO	CICLO
β -glucosidasi	Cellulosa	C
α -glucosidasi	Amido	
Cellulasi	Cellulosa	
Xilanasi	Emi-cellulosa	
β -xilosidasi	Emi-cellulosa	
Leucina a.peptidasi (leu)	Peptidi	N
N-acetyl β -glucosaminidasi (NAG)	Chitina	
Proteasi	Proteine	
Fosfatasi acida	Esteri fosforici	P
Arilsolfatasi	Esteri solforati	S





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Range di attività enzimatica nel suolo (Nannipieri *et al.*, 2002)

	$\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$
Cellulase	0,4 - 80
β -glucosidase	0,09 - 405
Fosfatasi acida	0,05 - 86,33
Fosfatasi alcalina	6,72 - 27,34
Arilsulfatasi	0,01 - 42,50

I *range* molto ampi sono dovuti all'elevata sensibilità alle condizioni ambientali in cui si trova il suolo





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

• Le criticità

- Individuazione della metodologia appropriata. Le metodologie adottate sono molteplici ed è necessario stabilirne l'applicabilità per il monitoraggio del suolo
- Assenza di valori soglia universali che identificano la condizione di normalità in un sistema complesso come il suolo. Questa limitazione non consente l'immediata individuazione di una perturbazione intesa come scostamento dalla "condizione normale".
- La determinazione di una singola attività enzimatica non fornisce alcuna indicazione sulla qualità e sullo stato di salute del suolo. La diversità funzionale dipende da molteplici reazioni metaboliche e interazioni microbiche, pertanto è necessario determinare simultaneamente molteplici attività per un adeguato monitoraggio.





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

**Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale**

• Effetto dell'uso del suolo sulle proprietà biochimiche del suolo: un caso di studio

Progetto nazionale: Soilsink

Serie vegetazionale

Berchidda (SS) - Sardegna

**Vigneto
non lavorato**



**Vigneto
lavorato**



**Erbaio
lavorato**



Pascolo



Sughereta



Obiettivo dello studio:
relazione tra diversità vegetazionale e diversità funzionale del suolo





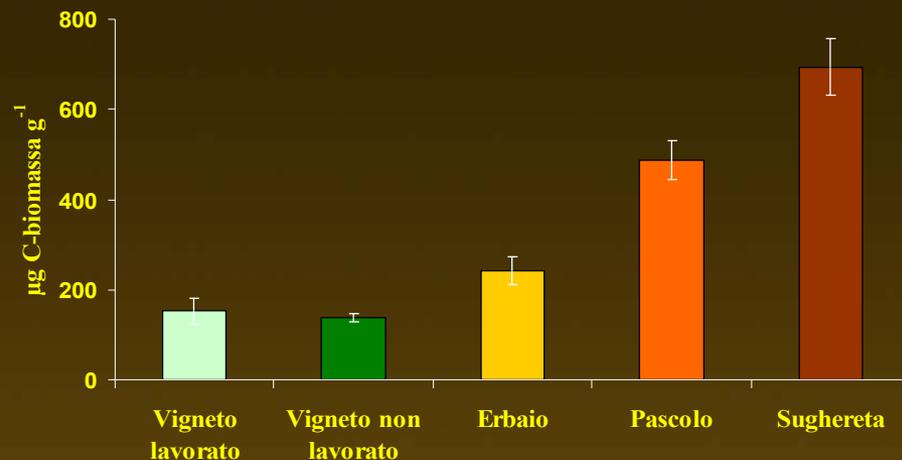
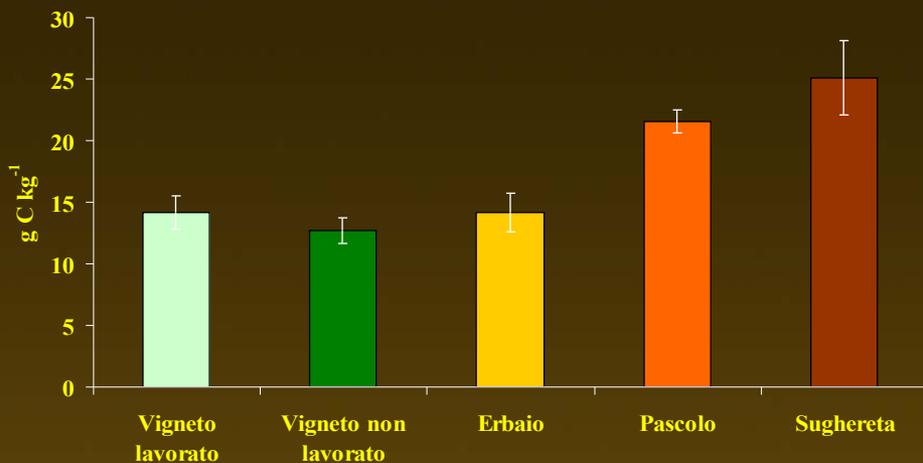
APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Contenuto di carbonio organico e della biomassa microbica nei suoli della serie vegetazionale



Lungo la serie vegetazionale aumenta la disponibilità di substrato
per i microrganismi del suolo





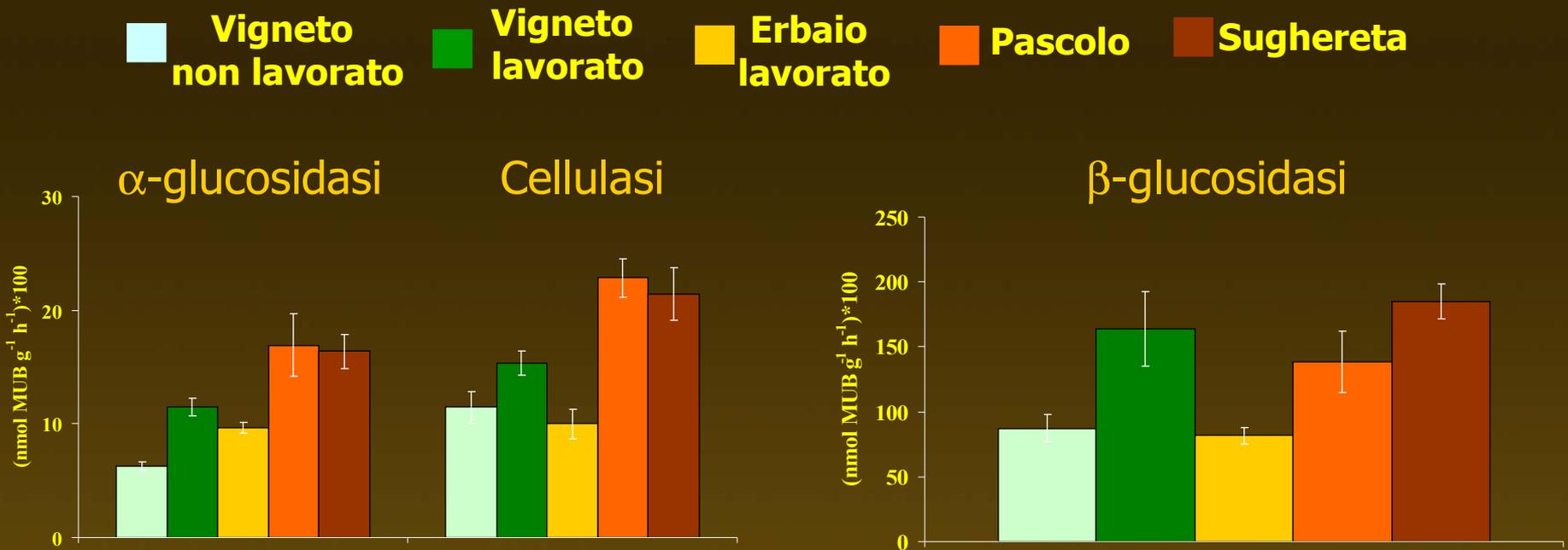
APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Attività degli enzimi nel suolo lungo la serie vegetazionale



Gli enzimi che partecipano alla degradazione della cellulosa sono fortemente influenzati dalle lavorazioni del suolo





APAT

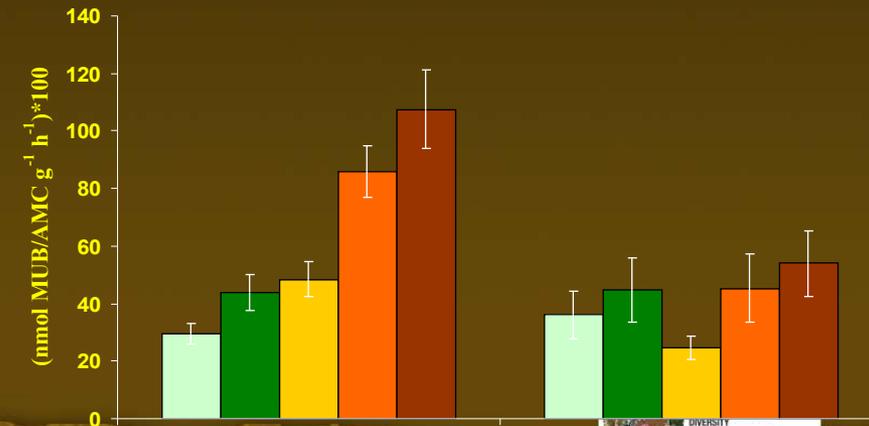
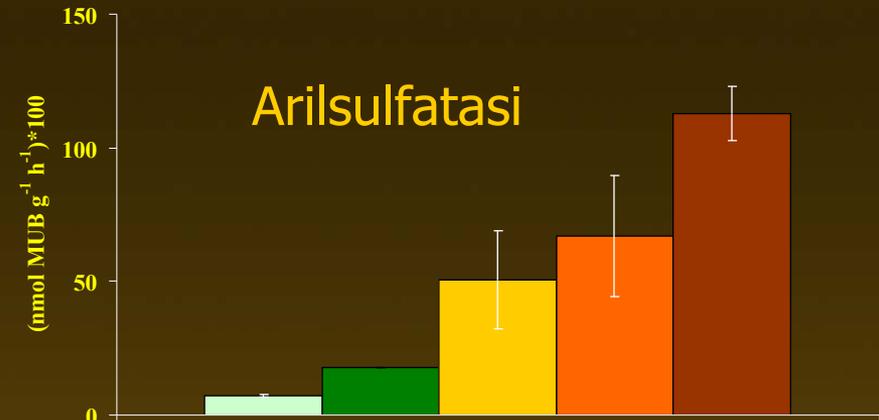
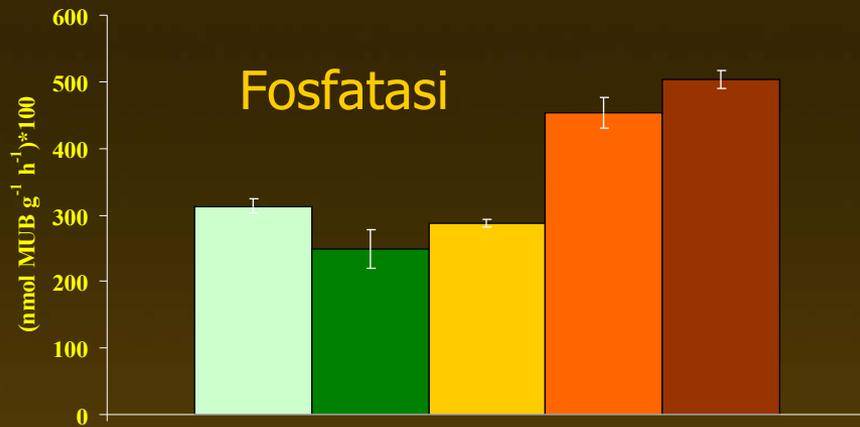
Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Attività degli enzimi nel suolo lungo la serie vegetazionale

■ Vigneto non lavorato ■ Vigneto lavorato ■ Erbaio lavorato ■ Pascolo ■ Sughereta



Gli enzimi coinvolti nel ciclo di N, P, e S hanno un andamento simile mostrando un incremento progressivo dell'attività nei suoli lungo la serie vegetazionale



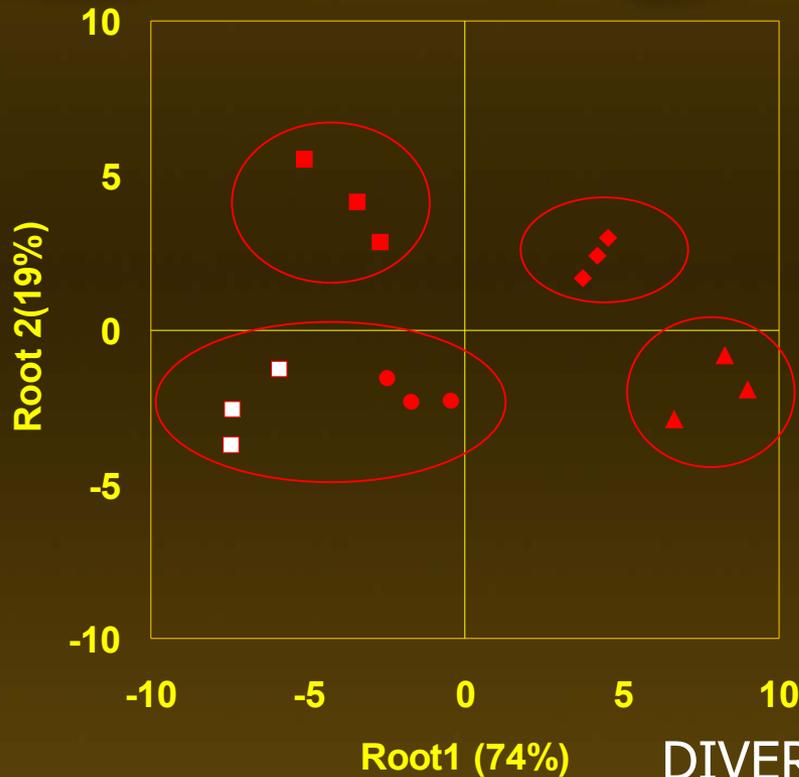


APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

**Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale**



Enzimi	Root	Root
Fosfatasi acida	1**	n.s.
β -glucosidasi	*	n.s.
α -glucosidasi	***	n.s.
Cellulasi	***	n.s.
NAG	***	n.s.
Arilsulfatasi	***	n.s.
LAP	n.s.	n.s.

DIVERSITÀ FUNZIONALE:

le attività enzimatiche hanno discriminato le diverse tipologie d'uso del suolo

Rodríguez-Loinaz et al. (2008) hanno giustificato la relazione tra diversità vegetazionale e funzionale del suolo con l'aumento dell'eterogeneità degli habitat nel suolo all'aumentare delle specie vegetali presenti





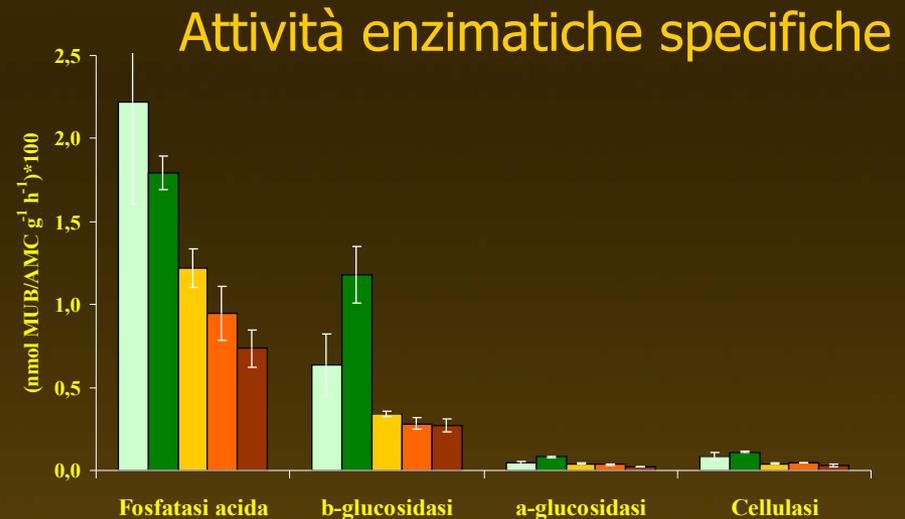
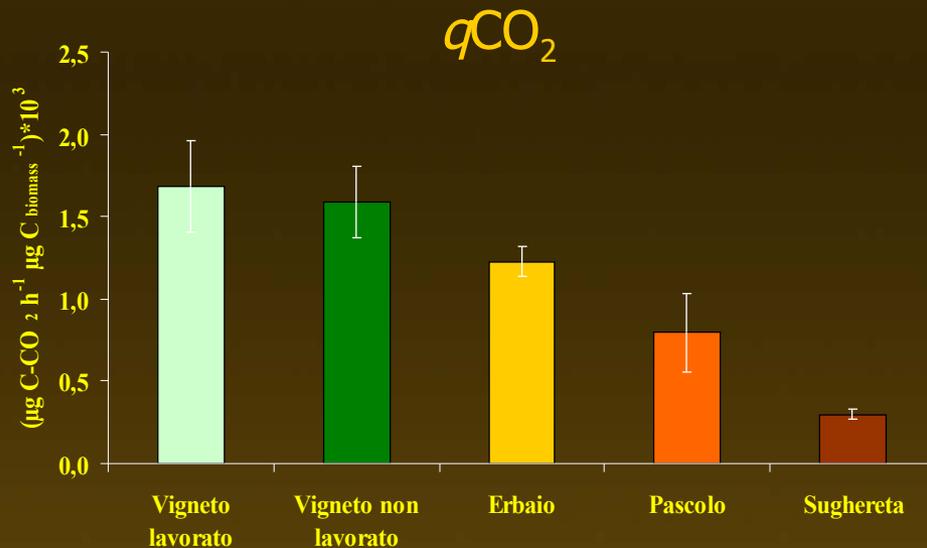
APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Attività specifica degli enzimi e qCO_2



La popolazione microbica del suolo lungo la serie vegetazionale aumenta
l'efficienza di uso delle risorse disponibili





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

**Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale**

Conclusioni del caso di studio

Le attività degli enzimi nel suolo
aumentano sensibilmente con:

- ∇ ↑ input di sostanza organica e disponibilità di substrati
- ∇ ↓ disturbo antropico (e.g. lavorazioni)

Possono fornire indicazioni sulle variazioni della
diversità funzionale indotte dai substrati disponibili





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

• Applicazioni delle attività enzimatiche come indicatori biochimici del suolo

Sono validi strumenti per monitorare

- il risanamento dei suoli a seguito della fitoestrazione (Epelde *et al.*, 2008)
- il risanamento dei suoli inquinati da idrocarburi e metalli pesanti (Maila e Cloete, 2005; Mora *et al.*, 2005; Lorenz *et al.*, 2006)
- il grado di alterazione del suolo attraverso la formulazione di indici biochimici (Puglisi *et al.*, 2006).





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Indici biochimici applicati per la valutazione degli effetti della gestione del suolo (Saviozzi *et al.*, 2001; Riffaldi *et al.*, 2002)

Biological Index of Fertility
(Stefanic *et al.*, 1984):

$$\text{BIF} = (\text{DA} + \text{KCA}) / 2$$

DA = deidrogenasi

KCA = catalasi

Enzymatic
Activity Number
(Beck, 1984):

$$\text{EAN} = 0.2 (\text{DA} + \text{CAT}/10 + \text{FA}/40 + \text{PRO}/2 + \text{AM}/20)$$

DA = deidrogenasi

CAT = catalasi

FA = fosfatasi alcalina

PRO = proteasi

AM = amilasi





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Indici biochimici applicati per la valutazione degli effetti della gestione del suolo (Puglisi *et al.*, 2006)

AI1 = -21,30 arilsulfatasi + 35,2 β -glucosidasi
– 10,20 fosfatasi – 0,52 ureasi - 4,53 invertasi
+ 14,3 deidrogenasi + 0.003 fenolossidasi

AI2 = 36,18 β -glucosidasi – 8,72 fosfatasi – 0,48 ureasi
– 4,19 invertasi

AI3 = 7,87 β -glucosidasi – 8,22 fosfatasi + 0,49 ureasi





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

Undisturbed soil: 229.9 Rockwood site
Reforested soil: 343.5 No till following forage shoulder 98.4
Eroded soil 1: 38.6 Tillage following corn shoulder 8.3
Eroded soil 2: 67.4 No till following forage midslope 36.1
Eroded soil 3: 318.5 Tillage following corn midslope 20.0
Eroded soil 4: 86.2 No till following forage footslope 69.1
Eroded soil 5: 129.3 Tillage following corn footslope 20.9
Eroded soil 6: 43.1 Clinton site
Eroded soil 7: 22.8 Fine texture no till 1 33.1
Eroded soil 8: 180.1 Fine texture till 1 40.6
Eroded soil 9: 152.4 Fine texture no till 2 38.3
Eroded soil 10: 107.9 Fine texture till 2 36.7
Eroded soil 11: 108.2 Coarse texture no till 1 34.4
Eroded soil 12: 34.2 Coarse texture till 1 33.3
Eroded soil 13: 10.6 Coarse texture no till 2 23.3
Eroded soil 14: 55.0 Coarse texture till 2 20.3
Eroded soil 15: 5.9 Hinojosa et al. (2004)
Eroded soil 16: 93.9 Non-polluted (NP) 36.6
Eroded soil 17: 84.9 Reclaimed (PR) 24.4
Eroded soil 18: 167.3 Polluted (P) 3.1
Eroded soil 19: 99.2
Eroded soil 20: 26.8
Eroded soil 21: 4.8

Dall'applicazione di AI3
ad un ampio *range* di suoli,
Puglisi *et al.* (2006) hanno
dedotto una scala di valori
dell'indice in funzione del
grado di alterazione





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale

I margini di miglioramento

- Individuazione della metodologia appropriata. **Analisi comparativa dei metodi disponibili: costi, semplicità, sensibilità e ripetibilità.**
- Assenza di valori soglia universali che identificano la condizione di normalità in un sistema complesso come il suolo. **(a) Analisi comparativa di un suolo con un suo controllo di riferimento, (b) normalizzazione delle attività enzimatiche sulla base delle caratteristiche chimico-fisiche del suolo (creazione di indici).**
- La determinazione di una singola attività enzimatica non fornisce alcuna indicazione sulla qualità e sullo stato di salute del suolo. **(a) Integrare le molteplici attività enzimatiche determinate simultaneamente in un singolo indice, (b) analizzare i risultati utilizzando appropriate elaborazioni statistiche per valutare la diversità funzionale.**





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

**Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale**

Grazie per l'attenzione



Dipartimento Difesa della Natura
Servizio Tutela della Biodiversità
Settore Bioindicatori ed Ecotossicologia





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

**Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale**

Contesto scientifico di riferimento

- » Dick, R.P., 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: Doran, J.W. (Ed.), *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. SSSA Special Publication no. 35, Madison, WI, pp. 107–124.
- » Nannipieri, P., Kandeler, E., Ruggiero, P., 2002. Enzyme activities and Microbiological and biochemical Processes in Soil. In: Burns, R., Dick, R. (Eds.), *Enzymes in the environment*. Marcel Dekker, NY, pp.1-33.
- » Riffaldi, R., Saviozzi, A., Levi-Minzi, R., Cardelli, R., 2002. Biochemical properties of a Mediterranean soil as affected by long-term crop management systems. *Soil Tillage & Research* 67, 109-114.
- » Saviozzi, A., Levi-Minzi, R., Cardelli, R., Riffaldi, R., 2001. A comparison of soil quality in adjacent cultivated, forest and native grassland soils. *Plant and Soil* 233, 251-259.
- » Rodríguez-Loinaz, G., Onaindia, M., Amezaga I., Mijangos I., Garbisu C., 2008. Relationship between vegetation diversity and soil functional diversity in native mixed. *Soil Biology & Biochemistry* 40, 49-60.





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

**Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale**

Contesto scientifico di riferimento

- Puglisi, E., Del Re A.A.M., Rao, M.A., Gianfreda, L., 2006. Development and validation of numerical indexes integrating enzyme activities of soils. *Soil Biology & Biochemistry* 38, 1673-1681.
- Epelde, L., Becerril, J. M., Hernández-Allica, J., Barrutia, O., 2008. Functional diversity as indicator of the recovery of soil health derived from *Thlaspi caerulescens* growth and metal phytoextraction . *Applied Soil Ecology* 39, 299-310 .
- van Beelen, P.V., Doelman, P., 1997. Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediments. *Chemosphere* 43, 455-499.
- Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Seoane, S., Gil-Sotres, F., 2000. Limitation of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology & Biochemistry* 32, 1867-1875
- Maila, M.P., Cloete T.E., 2005. The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants—perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. *International Biodeterioration and Biodegradation* 55, 1-8.





APAT

Agenzia per la protezione
dell'ambiente e per i servizi tecnici

Workshop tematico:

**Biodiversità dei suoli italiani:
indicatori ed applicazioni verso
una normativa nazionale**

Contesto scientifico di riferimento

- Mora, A. P., Ortega-Calvo, J. J., Cabrera, F., Madejón, E., 2005. Changes in enzyme activities and microbial biomass after "in situ" remediation of a heavy metal-contaminated soil. *Applied Soil Ecology* 28, 125-137.
- Lorenz, N., Hintemann, T., Kramarewa, T., Katayama, A., Yasuta, T., Marschner, P., et. al., 2006. Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure. *Soil Biology & Biochemistry* 38, 1430-1437.

