



*Giornata di studio
Dottorandi e giovani ricercatori
6 Ottobre 2010 - Bologna*

I MECCANISMI E LE FONTI DEL PRIMING EFFECT DELLA SOSTANZA ORGANICA

Sara Marinari, Livia Vittori Antisari



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
Tuscia

ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



PRIMING EFFECT

Scoperto da F. Lohnis nel 1926: osservò una maggiore mineralizzazione dell'azoto dell'humus in seguito all'aggiunta di residui organici freschi al suolo.

Broadbent et al. (1940 -1950): l'evoluzione di CO_2 dal suolo può aumentare da 4 a 11 volte in seguito all'aggiunta di residui di piante marcati con ^{13}C .

Bibliografia

Kuzyakov Y., Friedel J.K., Stahr K. (2000) *Review of mechanisms and quantification of priming effects*. Soil Biol & Biochem., 32: 1485-1498.

Fontaine S., Mariotti A., Abbadie L. (2003) *The priming effect of organic matter: a question of microbial competition?* Soil Biol & Biochem, 35: 837-843.

Blagodatskaya, E.V., Kuzyakov, Y., 2008. *Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: critical review*. Biology and Fertility of Soils 45, 115-131.

Kuzyakov, Y., 2010. *Priming effects: Interactions between living and dead organic matter*. Soil Biology & Biochemistry 42, 1363-1371.

PRIMING EFFECT: definizioni

Cambiamento, in genere accelerazione ma anche riduzione (vedi *negative priming*) nei normali processi di mineralizzazione di C, N, P, S ... attraverso uno stimolo

“Forti cambiamenti di breve durata nel turnover della sostanza organica del suolo causati da moderati trattamenti* del suolo”

Kuzyakov et al., 2000

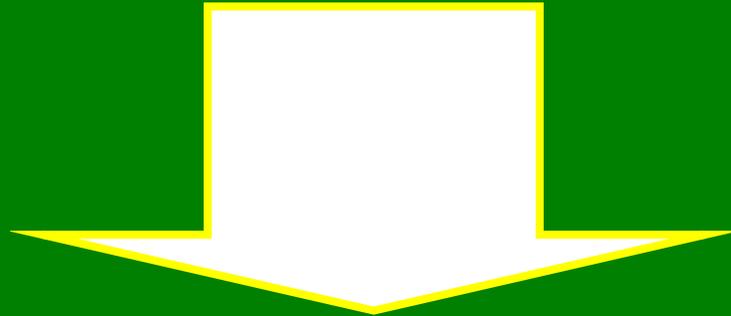
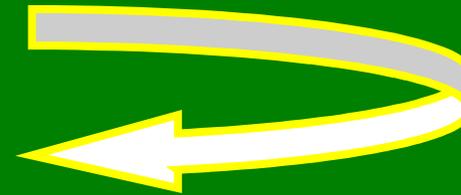
* Aggiunta di fertilizzante organico o inorganico, essudati radicali, trattamenti meccanici del suolo o la procedura “*drying and rewetting*”.

I residui vegetali freschi possono sia stimolare che ritardare la decomposizione di humus nel suolo (priming effect).

Effetto innesco: aumento della decomposizione della sostanza organica nativa

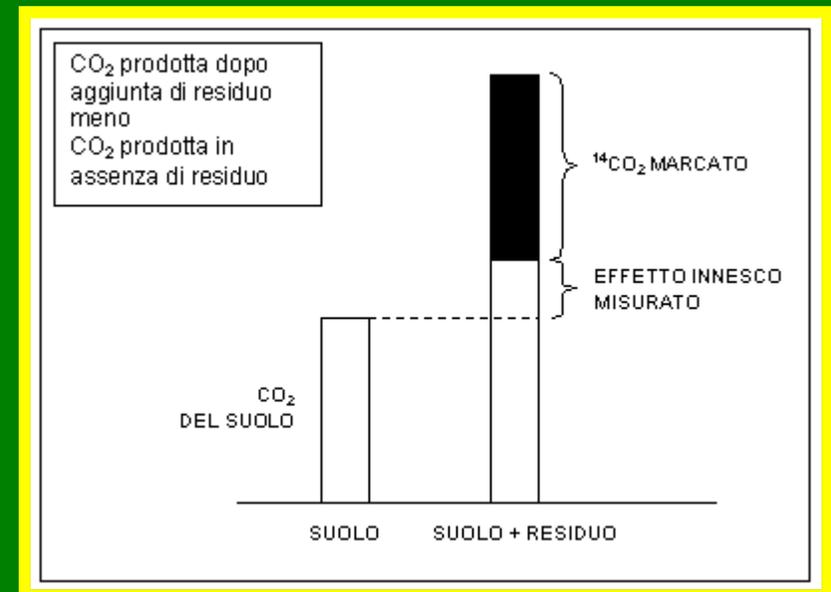
1. Aggiunta di substrati facilmente utilizzabili

2. Crescita vigorosa di microrganismi



3. Surplus di enzimi extra-cellulari

4. Surplus C-CO₂ (mineralizzazione)



Diversi approcci allo studio del *priming effect*

Studi sul C

Decomposizione extra del carbonio organico dopo l'aggiunta di composti organici facilmente decomponibili al suolo

Dalenberger and Jager, 1989

Studi sull'N *

Surplus di N del suolo acquisito dalle piante dopo l'aggiunta di fertilizzanti minerali comparato con piante non trattate.

Jenkinson et al., 1985; Leon et al., 1995

*ANI: Added Nitrogen Interactions

Positive priming effect

Negative priming effect

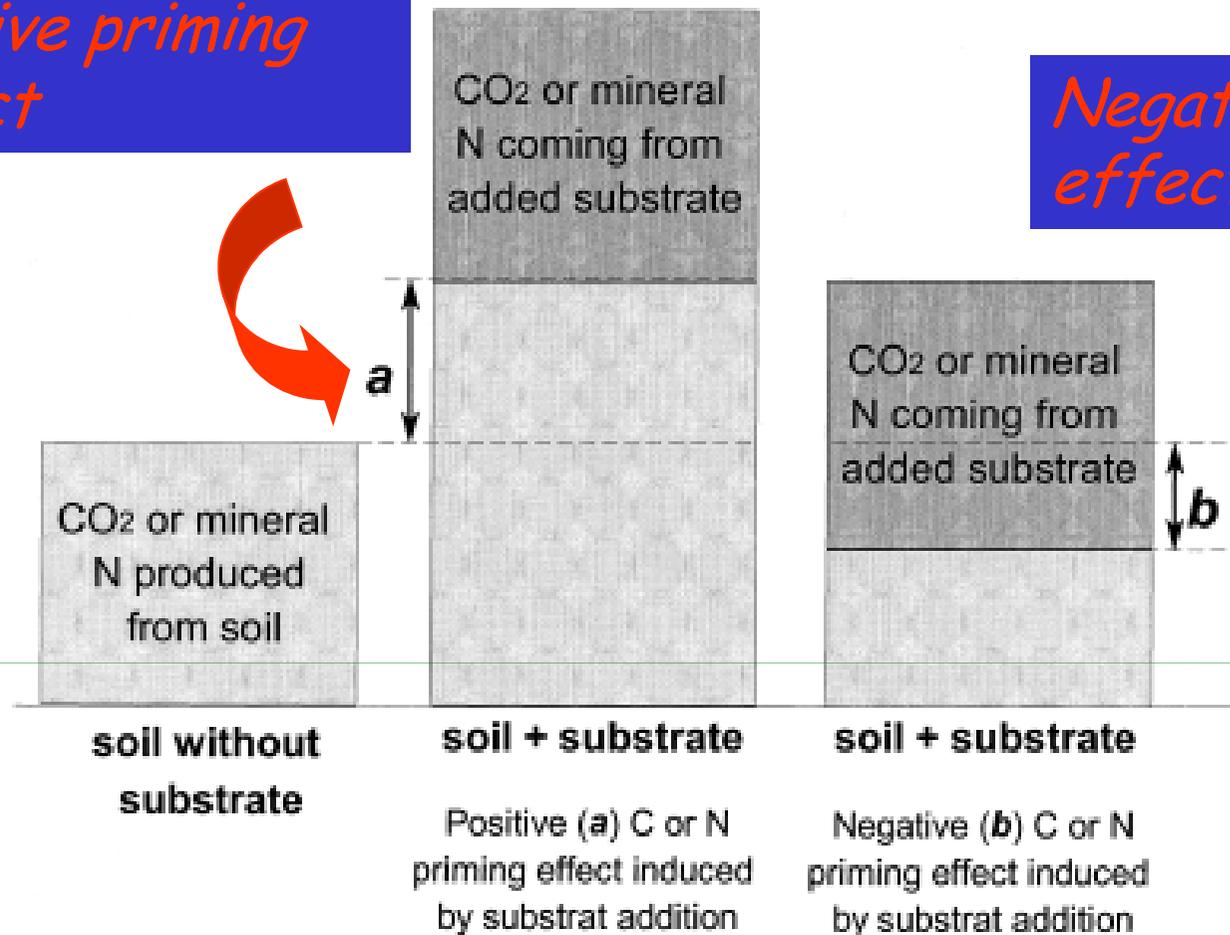


Fig. 1. Schematization of the priming effect — non-additive interactions between decomposition of the added substrate and of soil organic matter (SOM): (a) acceleration of SOM decomposition — positive priming effect; (b) retardation of SOM decomposition — negative priming effect.

Implicazioni e conseguenze del *priming effect*

Una mineralizzazione accentuata comporta:

1. Lisciviazione di nitrati
2. Perdita di azoto a livello gassoso
3. Perdita di carbonio come CO_2

Conoscere e controllare i processi alla base del *priming effect* per:

- 1. Mantenere o ristabilire un certo livello di fertilità**
- 2. Sequestrare il C nel suolo nel contesto del riscaldamento globale del pianeta**

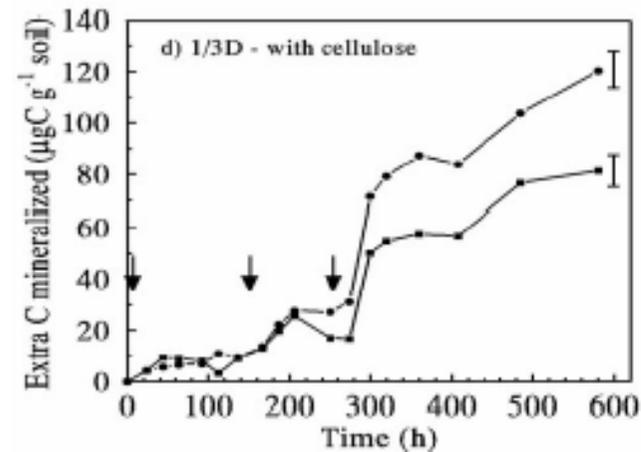
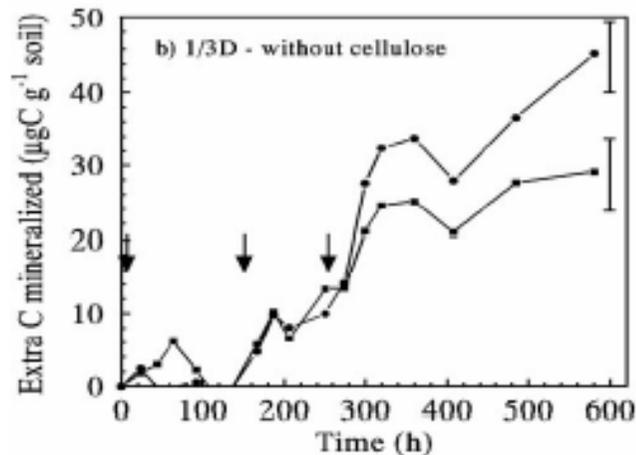


Fig. 3. Extra $\text{CO}_2\text{-C}$ evolved from Soil 3 during incubation of unamended (a,b) and cellulose amended (c,d) soil after addition of glucose solution (■) and root extract (●) as 'trigger solution'. Arrows (↓) show timing of trigger solution addition at 0, 144 and 251 days. Bars show standard errors of the means ($n = 3$). $D = 34 \mu\text{g C g}^{-1}$ soil added at time 0; $1/3 D = 11.3 \mu\text{g C g}^{-1}$ soil added at 3-times indicated.

Aggiunta di trigger solutions (glucosio, aa. ed essudati radicali, concn. di $\mu\text{g g}^{-1}$) al suolo provoca un rilascio di C-CO_2 da 2 a 5 volte maggiore di quello aggiunto con le soluzioni. Accelerazione del turnover del C microbico unito alla mineralizzazione della cellulosa.(fig. 3D)

Soil microbial biomass is triggered into activity by trace amounts of substrate (*De Nobili et al., 2001*)

- Concentrazione di ATP nella biomassa microbica = circa $12 \mu\text{mol ATP g}^{-1}$ biomass C⁻¹
- AEC (adenylate charge ratio) = 0.8 - 0.95 tipica di microrganismi in crescita esponenziale in vitro

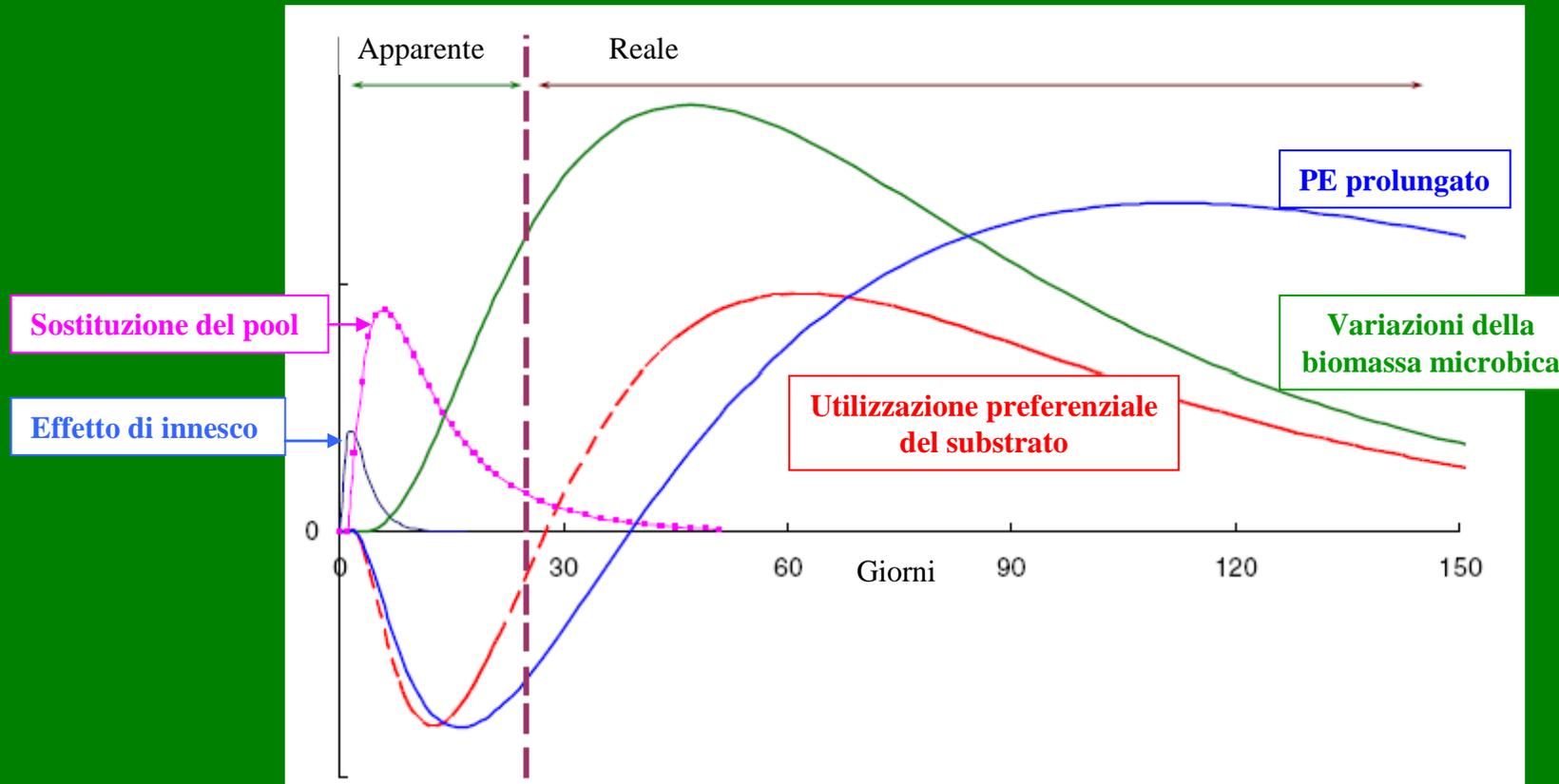
Perché la comunità microbica del suolo utilizza le scarse riserve di energia per mantenere i livelli di ATP e AEC vicini al massimo teorico quando si trova in ambienti "oligotrofici"?

Strategia evolutiva: è meglio mantenere la cellula in uno stato di "allerta metabolica" per trarre immediato vantaggio dalla presenza improvvisa di substrato piuttosto che "risvegliare" una spora ad un livello sufficiente di attività: nel tempo che impiega a riattivarsi un organismo più specializzato e più veloce prende il sopravvento.

Il PE comporta una sequenza di meccanismi:

1. utilizzazione preferenziale del substrato,
2. attivazione della biomassa microbica attraverso il substrato facilmente utilizzabile,
3. incremento dell'utilizzazione dei substrati ottenuti in funzione della loro disponibilità,
4. ritorno allo stato iniziale.

Sequenza dei meccanismi durante il *priming effect* (Blagodatskaya e Kuzyakov, 2008)



1. Nel PE apparente caso si osserva una variazione iniziale del turnover della biomassa microbica senza alcun effetto sulla SO .
2. Nel PE reale l'innesco avviene a carico della SO presente nel suolo.

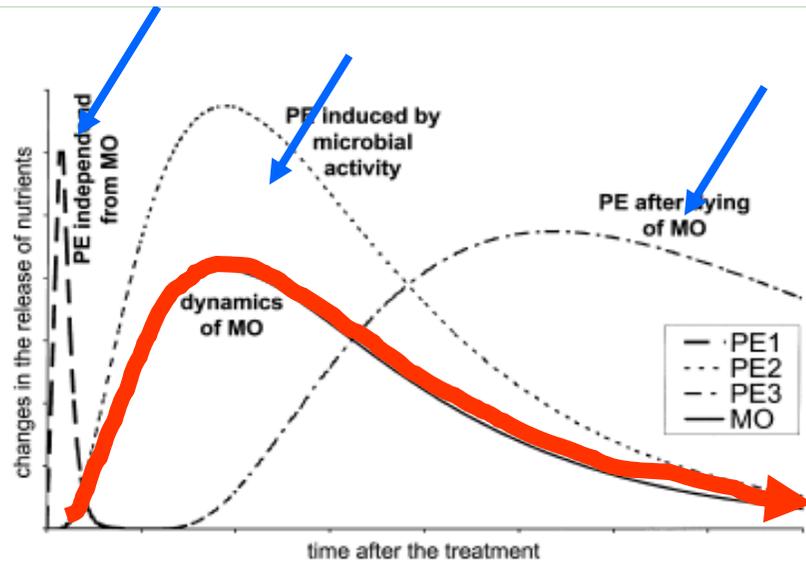


Fig. 3. Different relationships between the dynamics of priming effects and the dynamics of microorganisms after the soil treatment. (PE: priming effect; MO: activity or amount of microorganisms). Explanation in text.

• Il P.E. *apparente* appare subito dopo l'aggiunta di substrato prima che l'attività e/o dimensioni della biomassa microbica cambino, esso è indipendente dai microrganismi. Può essere negativo per la fissazione sui minerali argillosi o l'adsorbimento sulle sostanze umiche

• Il massimo del P.E. appare in concomitanza con il massimo dell'attività o dell'ammontare dei microrganismi: (*reale*). Se negativo per l'immobilizzazione microbica di C e N

• Il massimo del P.E. appare durante la diminuzione della biomassa microbica: (*reale*) rilascio dei nutrienti dalle cellule microbiche morte. Se negativo per l'umificazione delle cellule microbiche

PRIMING EFFECT

- Immediatamente o subito dopo l'aggiunta al suolo di sostanze specifiche
- Più ampio in suoli ricchi di C e N
- Il P.E. REALE non avviene in condizioni di sterilità
- Le dimensioni del P.E. aumentano con l'ammontare della sostanza organica o del fertilizzante aggiunto al suolo
- L'ammonio provoca P.E. più ampi del nitrato

- POSITIVI

accelerazione della decomposizione della SO

- NEGATIVI

riduzione della decomposizione o immobilizzazione del C o N aggiunto

- REALI

Cambia il flusso di CO_2 dal suolo dopo l'aggiunta di fertilizzanti N o di C.

Possono essere più grandi dell'ammontare del C o N aggiunto

- APPARENTI

In genere a seguito dell'aggiunta di NH_4^+

Il turnover del C non viene influenzato

Minore del 50% dell'N aggiunto

REAL POSITIVE PRIMING EFFECT

P.E.
per:

Aggiunta di:

Possibili cause del P.E.:

C
and
N

Mineral-N fertilizers

Acceleration of SOM mineralization
through a lower C-to-N ratio

Easily available organic substances

Increase in MO activity and acceleration of
SOM mineralization by means of co-
metabolism

Plant rhizodeposition

Increase in MO activity and acceleration of
SOM mineralization or microbial biomass
turnover in the rhizosphere

Salts (also mineral fertilizers) or large
amounts of soluble substances
Mechanical treatment

Osmotic stress for MO, release of C and N
through lysis and dying of MO
Acceleration of SOM mineralization
through improved aeration and destruction
of aggregates

No addition; soil drying–rewetting

Dying of MO, flush of C and N from dead
cells after rewetting

Enzyme production

continua →

REAL POSITIVE PRIMING EFFECT

C
only

Mineral-N fertilizers

Acceleration of SOM mineralization as substrate and energy source

Easily decomposable organic substances and mineral-N fertilizers

Acceleration of SOM mineralization and N immobilization through increasing MO activity

Easily decomposable organic substances

Acceleration of MO turnover, CO₂ flush from MO

N
only

Easily available organic substances or C-rich rhizodeposition

Activation of MO, acceleration of SOM mineralization in the rhizosphere, and release of NH₄⁺ in case of predation

Mineral-N fertilizers

Increase in atmospheric N₂-fixation

No addition; soil drying–rewetting

Mineralization of a part of a labile non-biomass soil organic matter N-pool

Origine dell' extra flush di C e N

- Aumento della decomposizione della SOM per la stimolazione dell'attività dei microrganismi (co-metabolismo)
- Rilascio di C e N da parte dei microrganismi (particolarmente nel drying-rewetting o aumento del turnover)
- Interazione tra microrganismi, pedofauna e piante

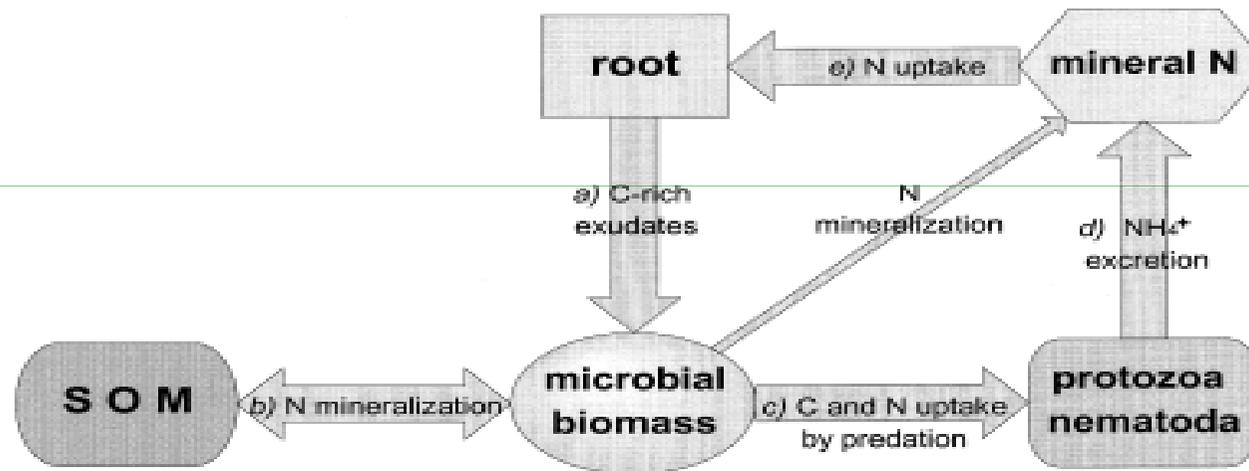


Fig. 2. Schematization of interactions in the rhizosphere caused by exudation of C-rich substrates, which trigger the additional N mineralization from soil organic matter (SOM): (a) release of C-rich substrates from the root, microflora (particularly bacteria) takes up C; (b) microflora starts to grow and increases the decomposition of soil organic matter to receive additional N, (c) protozoa (and other soil fauna) feed on the microbiota, and (d) release mineral N; (e) plants partly take up the mineral N (according to Clarholm, 1985b; Zwart et al., 1994, modified).

REAL NEGATIVE PRIMING EFFECT

Nonostante siano di grande rilevanza ecologica per gli ecosistemi non sono stati studiati a fondo come i *real positive*.

PE for	Addition of	Possible causes
C and N	Easily decomposable C and N sources	Switch of microbial biomass from SOM on the easily available C and N sources
	Living plant roots	Competition between living roots and rhizosphere microorganisms for limited nutrients
	Toxic substances	Direct inhibition of activity of microorganisms or their enzymes
	Mineral-N fertilizers	Preferred uptake of C-rich substrates by MO
C only	Organic substances with C-to-N < 16	Decrease in C-to-N ratio, C-immobilization in MO
	Mineral-N fertilizers	N-immobilization by MO due to sufficient easily available C-rich substrate in the soil
N only	Mineral-N fertilizers	Decrease in atmospheric N ₂ -fixation
	Organic substances with C-to-N > 16	N-immobilization by MO

APPARENT POSITIVE PRIMING EFFECT

Causato principalmente da:

isotopic displacement: meccanismo fisico di diffusione di ioni tra pools in equilibrio isotopico

pool substitution: meccanismo biologico causato da uptake dell' N marcato aggiunto da piante o microrganismi.

PE for	Addition of	Possible causes
N only	$^{15}\text{N}_{\text{min}}$ or salts specially $^{15}\text{NH}_4^+$	Isotopic displacement of $^{15}\text{NH}_4^+$ with unlabelled NH_4^+ , or with some other cations (e.g. K^+) from different pools (e.g. MO, partly with fixed NH_4^+)
	$^{15}\text{N}_{\text{min}}$	Pool substitution through immobilization, N derived from MO or soil organic matter
	$^{15}\text{N}_{\text{min}}$	Fast losses from $^{15}\text{N}_{\text{min}}$ pool through: (a) denitrification in case of a lack of O_2 (b) $^{15}\text{NO}_3^-$ -leaching (c) ^{15}N -plant uptake and the following N_{min} release from SOM
	$^{15}\text{N}_{\text{min}}$ or H_2O	Tapping deeper soil layers through stronger and deeper root system ^f
	NO_3^- fertilizers	Stimulation of N uptake by roots

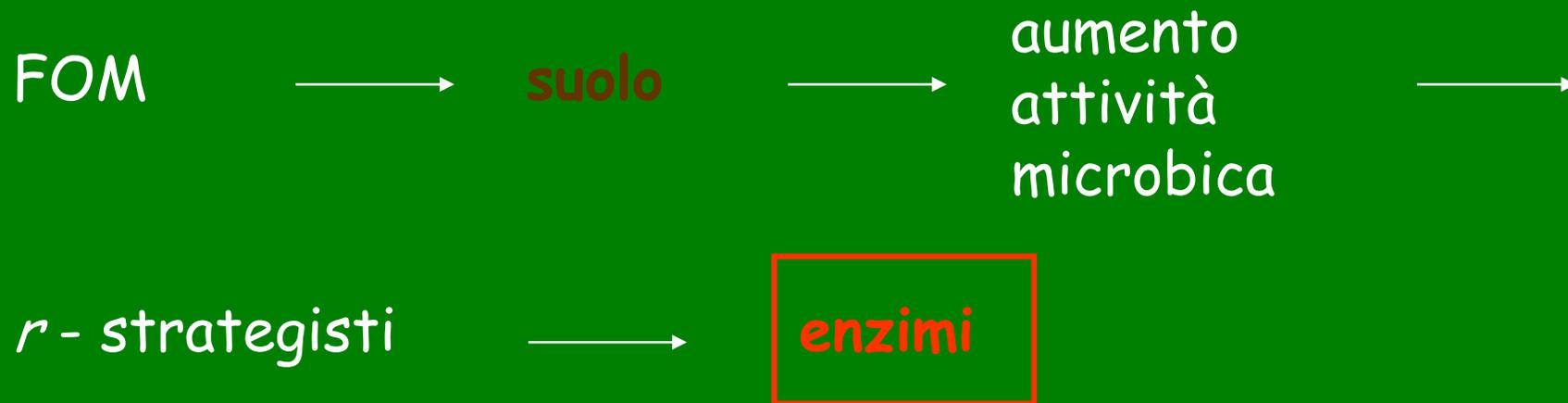
APPARENT NEGATIVE PRIMING EFFECT

PE for	Addition of	Possible causes
C or N	Organic substances ^{14}C or ^{15}N labelled organic substances	Incomplete decomposition of C or N sources during the experiment Non-uniform ^{14}C or ^{15}N labelling
	Sources of C or N	Sorption or physical-chemical protection and immobilization of the added substances
N only	NH_4^+ fertilizers	NH_4^+ fixation by clay minerals

Il P.E. dipende principalmente dalle dinamiche delle popolazioni che degradano la SOM

r - strategisti: rapida crescita. Dipendono dalla disponibilità di substrato fresco (FOM)

K - strategisti: crescita lenta. Continuamente attivi, degradano la SOM. Rendono disponibile l'N. (Lento e regolare rilascio di essudati radicali da parte delle piante)



(Fontaine et al, 2003)

1): Gli enzimi prodotti dagli *r*-strategisti possono anche attaccare la SOM (in funzione della somiglianza biochimica tra FOM e SOM)

2): I *k*-strategisti beneficiano dei substrati che hanno tempi di residenza lunghi. Producono più enzimi e la decomposizione della SOM aumenta

L'intensità dell'effetto priming dipende pertanto da:

1. La caratteristica biochimica della FOM.
2. Competizione per la FOM tra *r* e *K* strategisti (che a sua volta è influenzata dal controllo da parte dei predatori e dai nutrienti del suolo).

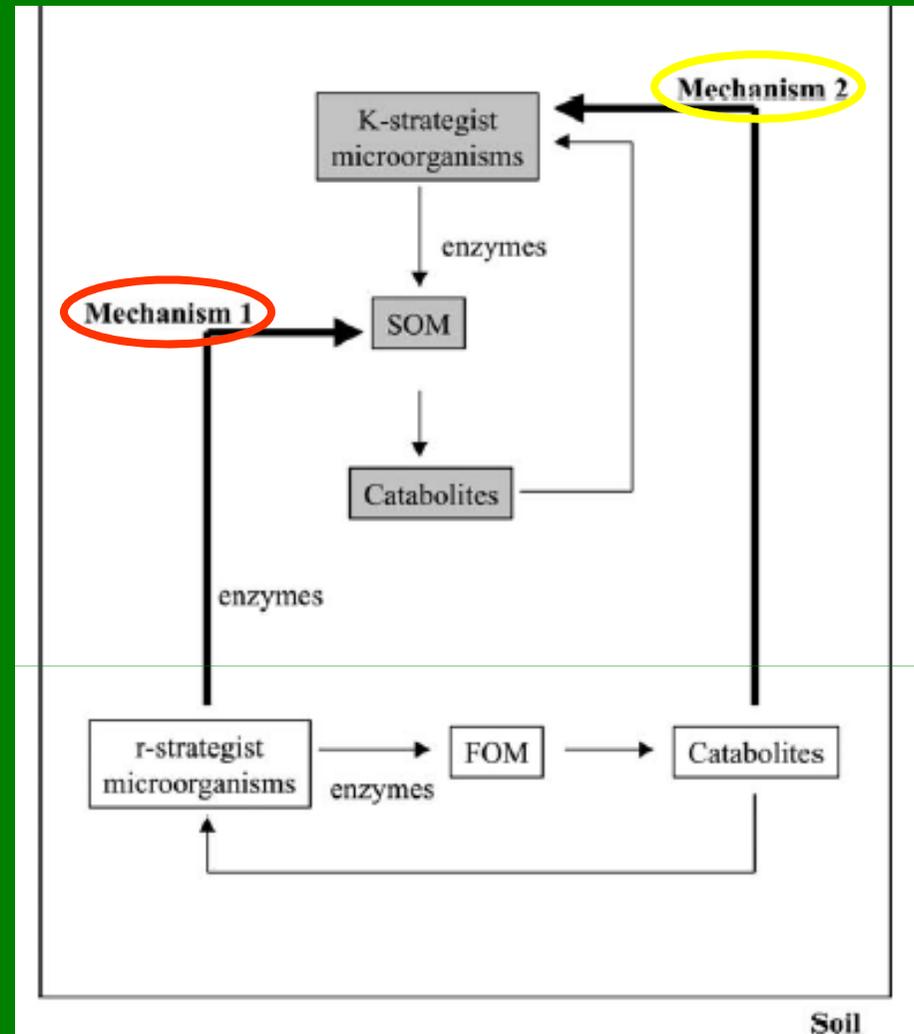
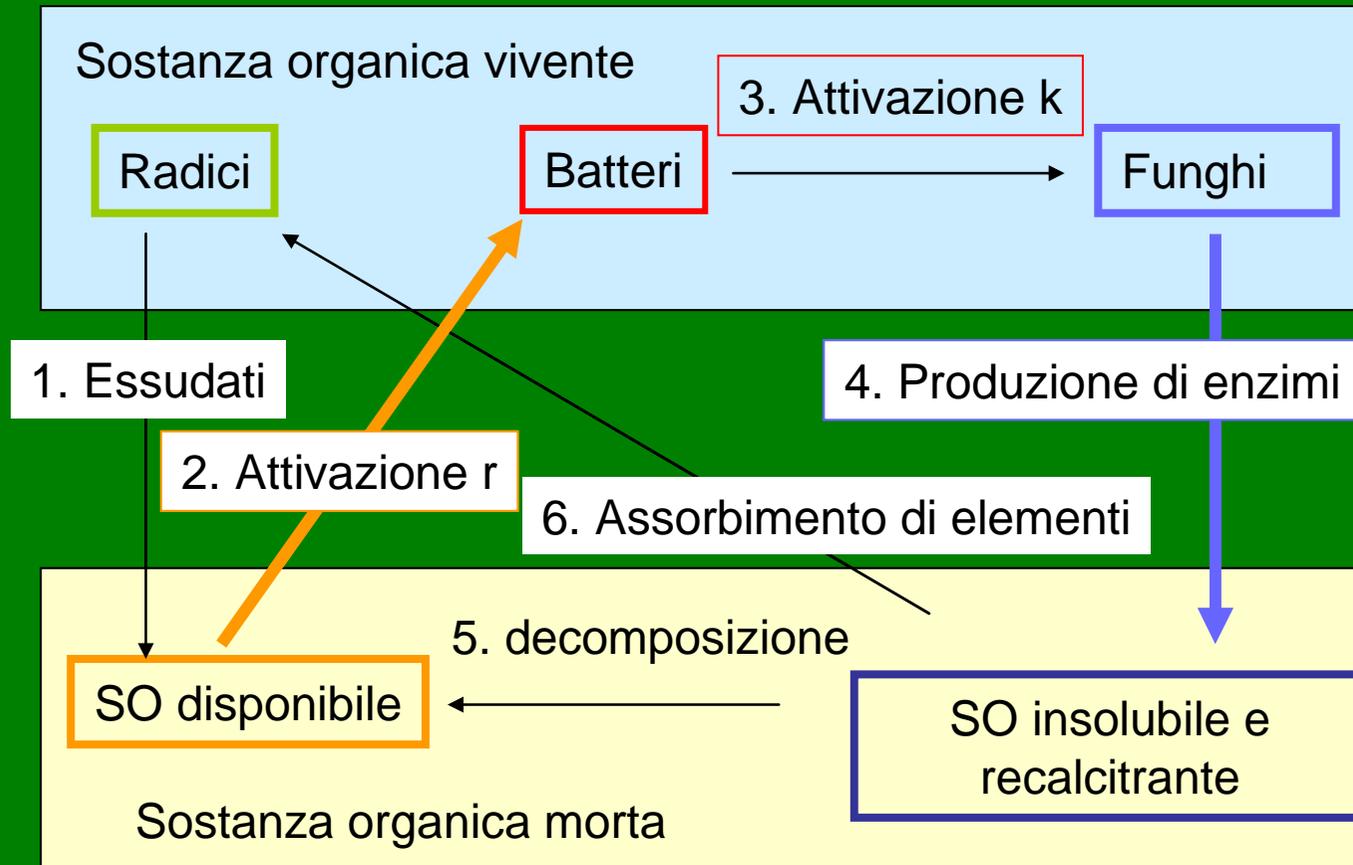
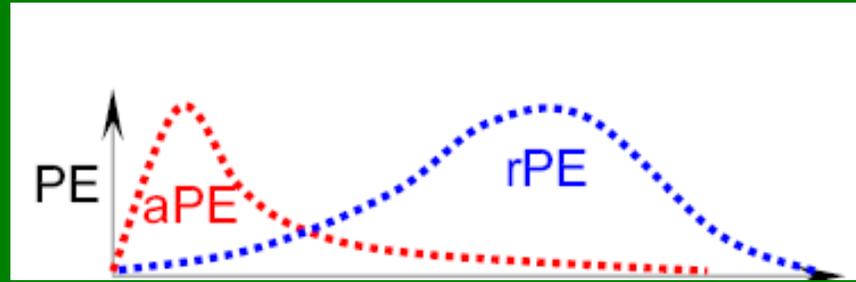


Fig. 1. Potential mechanisms leading to the priming effect. *Mechanism 1*: extracellular enzymes produced in order to decompose FOM by *r*-strategists may also be efficient for degrading SOM. *Mechanism 2*: a proportion of the FOM may be taken up by *K*-strategists according to the growth rate of *r*-strategists. This increases the *K*-strategist populations, the production of SOM decomposing enzymes and hence the rate of SOM decomposition.

Sequenza dei processi che inducono il Priming Effect apparente (aPE) e reale (rPE)



(Kuz'yakov, 2010)

Intensità, direzione e valore reale del PE in funzione di:

- quantità e qualità del materiale organico aggiunto,
- contenuto e struttura della biomassa microbica (MB),
- attività enzimatica,
- pH
- dimensione degli aggregati.

Quantità e qualità del materiale organico aggiunto

In termini temporali ci sono due tipi di input di substrati organici al suolo:

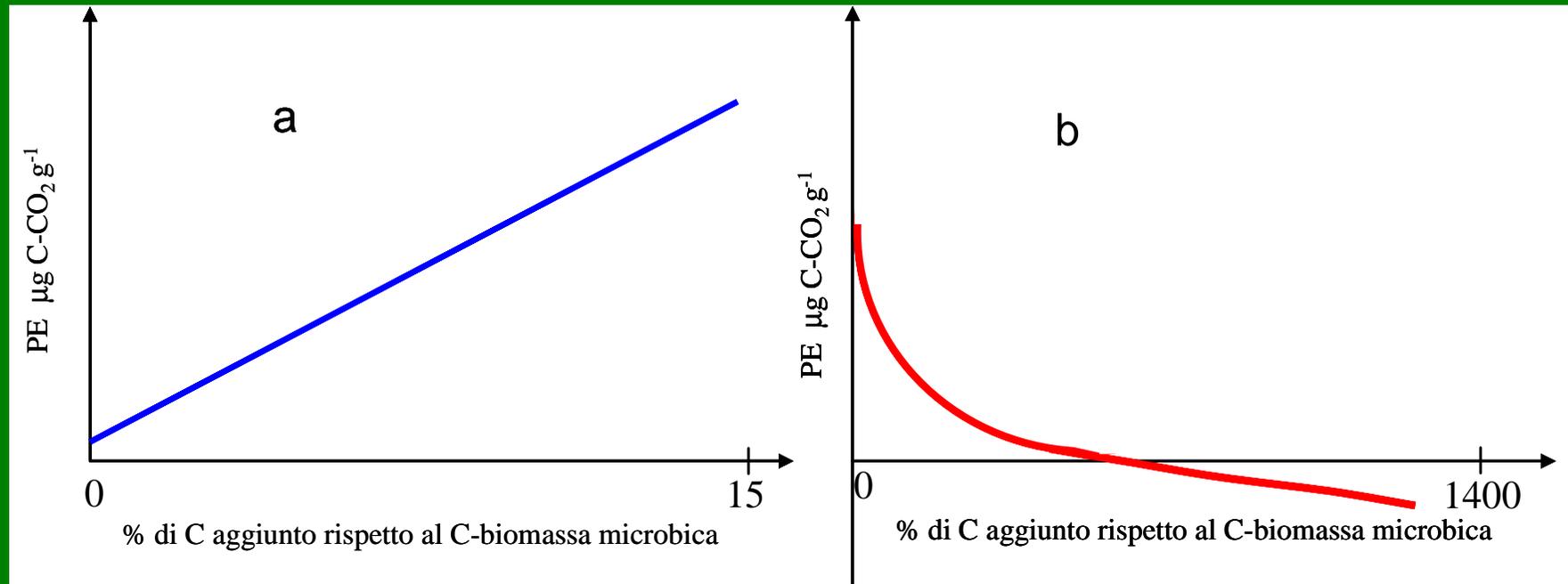
(i) discontinuo → Negli hotspots di attività microbica

(ii) continuo → Esternamente agli hotspots

- (i) Gli input discontinui: substrati facilmente disponibili e di composti solubili, con turnover molto più elevati (degradazione delle cellule microbiche, radicali e animali, con conseguente dilavamento della sostanza organica disciolta (DOM), e degli essudati radicali)

- (ii) Gli input continui: i substrati sono metabolizzati meno rapidamente e utilizzati lentamente in un periodo più lungo (e.g. decomposizione lenta delle radici morte, delle rizodeposizioni e dei residui vegetali della parte aerea)

Priming effect in funzione della percentuale di C aggiunto rispetto al contenuto di biomassa microbica.

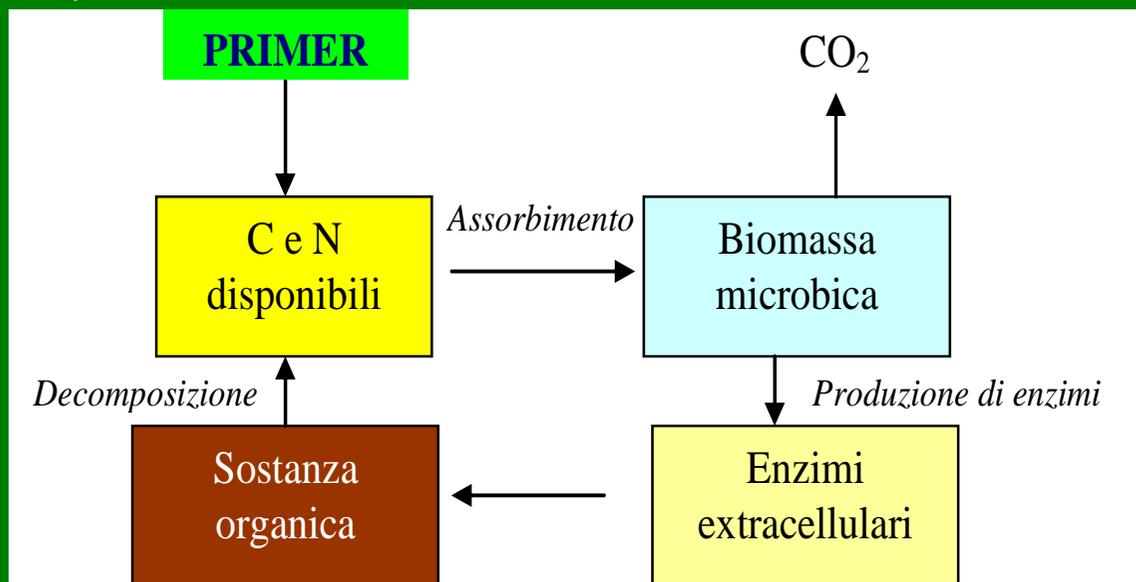


C aggiunto <15% di C-MB

C aggiunto >50% del C-MB

Attività enzimatica

La produzione degli enzimi extracellulari da parte dei microrganismi può essere limitata dalla disponibilità di elementi nutritivi ed energia, pertanto la cessazione di questi due fattori limitanti può causare il PE reale.



Schimel and Weintraub (2003) e Marinari et al. (2000)

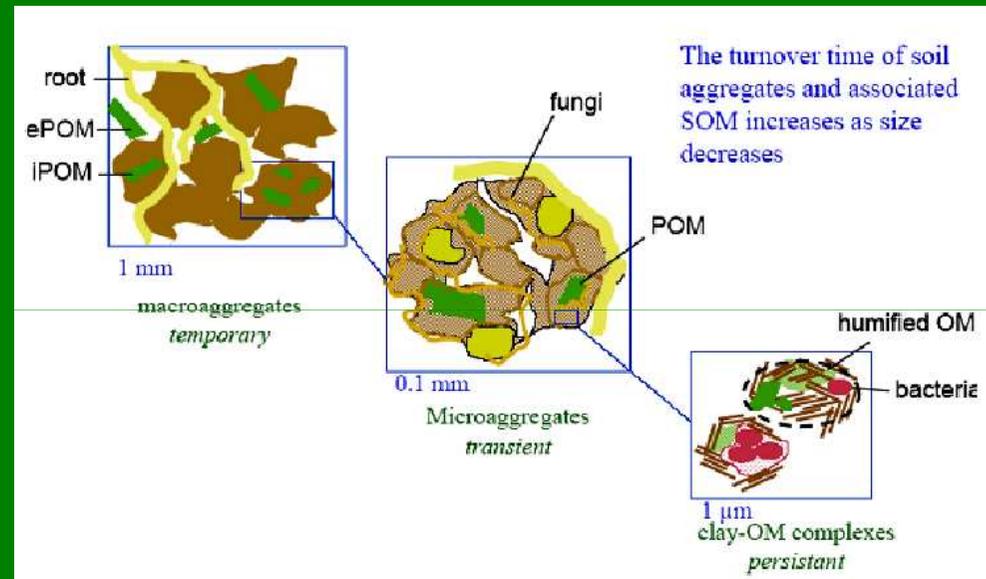
pH

1. I livelli più elevati di PE si ottengono nei suoli neutri nell'intervallo di pH compreso **tra 6 e 8**.
2. Le variazioni dell'attività e la struttura della comunità microbica nonché la sintesi degli enzimi sono maggiori nei suoli con pH compreso **tra 5 e 8** rispetto ai suoli acidi

Dimensione degli aggregati

L'accumulo e la protezione fisica della SO e la sua mineralizzazione dipendono dalla dimensione degli aggregati

1. Aggregati 1-2 mm PE apparente positivo
2. Aggregati >2 mm e <0.25 mm mostrano un PE reale (21 giorni) non dovuto al turnover della biomassa microbica



Ogni aggregato è colonizzato da un tipo di popolazione microbica; generalmente i funghi predominano nei macroaggregati, mentre i batteri nei microaggregati (Guggenberger et al. 1999).

Osservazioni conclusive

1. Il priming effect è un meccanismo estremamente complesso che dipende dalla qualità del substrato aggiunto, dalle caratteristiche della microflora (r e K), dalle condizioni nutritive del suolo etc.
2. Non sempre il flush di CO_2 osservato proviene dalla SOM, può originarsi anche dal turnover dei microrganismi stessi
3. Un incremento del co-metabolismo ovvero delle attività enzimatiche può essere alla base del P.E.
4. Piccolissime quantità di substrato facilmente degradabile possono innescare il P.E. essendo la microflora sempre in "allerta metabolico".