

## SUOLO (terreno)

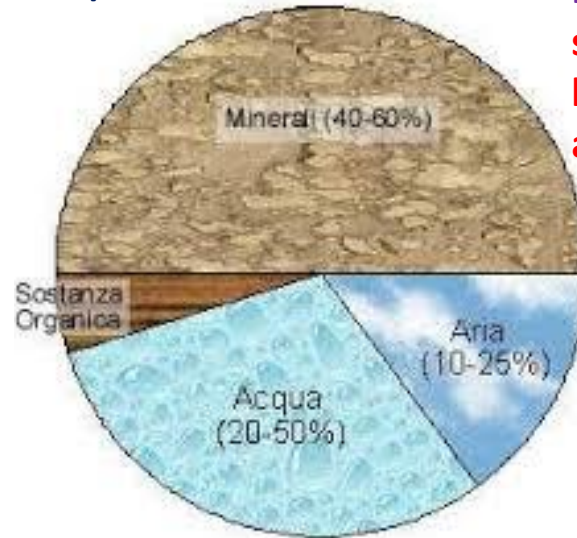
Strato incoerente più esterno della superficie terrestre  
che poggia sullo strato roccioso (roccia madre).

**Suoli minerali** → disgregazione delle rocce e di altri materiali inorganici ad opera di eventi meteorici.

**Suoli organici** → sedimentazione di detriti di natura biologica.

### Composizione suolo

- Materiale minerale inorganico (40-60%)
- Acqua (20-50%)
- Aria (10-25%)
- Materiale organico (~5%)



### Frazione minerale

**sabbia:** particelle con diametro 0,1-2 mm;

**limo:** particelle con diametro 0,002-0,1 mm;

**argilla:** con diametro <0,002 mm.

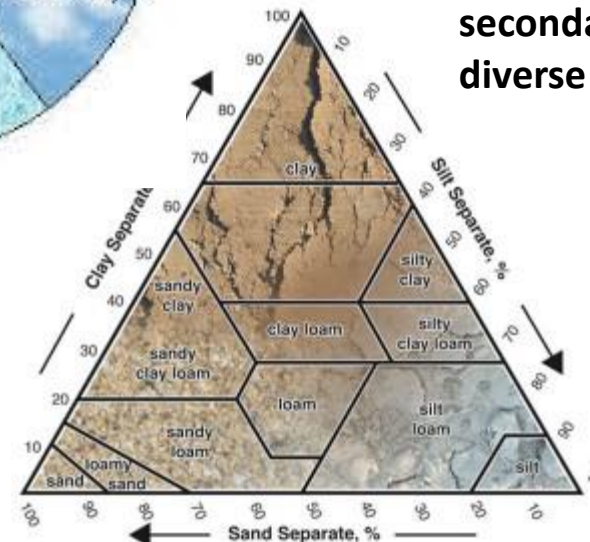
### Classificazione suoli

I suoli possono essere classificati a seconda delle percentuali delle diverse componenti minerali.



Lo **spessore** del suolo può variare da pochi centimetri a decine di metri.

Sabbia (S)	Franco Argillosa Sabbiosa (FAS)
Sabbia Franca (SF)	Franco Argillosa (FA)
Limo (L)	Franco Argilloso Limosa (FAN)
Franco Sabbiosa (FS)	Argilla Sabbiosa (AS)
Franca (F)	Argilla Limosa (AL)
Franco Limosa (FL)	Argilla (A)



Le superfici delle rocce sono inizialmente colonizzate da organismi **fototrofi**

- **Muschi**
- **Licheni**
- **Alghe**
- **Batteri**

Produzione di sostanze organiche che consentono la colonizzazione da parte di organismi **chemiorganotrofi**

- **Funghi**
- **Batteri (*Bacteria, Archaea*)**

L'attività combinata dei diversi organismi crea le condizioni per la formazione di **comunità microbiche complesse formate da organismi eucarioti e procarioti**

L'**acqua** percolando attraverso il suolo grezzo trascina verso il basso i **minerali solubilizzati** e parte delle **sostanze chimiche** generate.



**FORMAZIONE DEL SUOLO**  
Si forma dalle interazioni chimiche, fisiche e biologiche tra litosfera, idrosfera e atmosfera.



Produzione di  $\text{CO}_2$  ( $\rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$ ) ed acidi organici

Disgregazione e frammentazione delle rocce, soprattutto se costituite da  $\text{CaCO}_3$

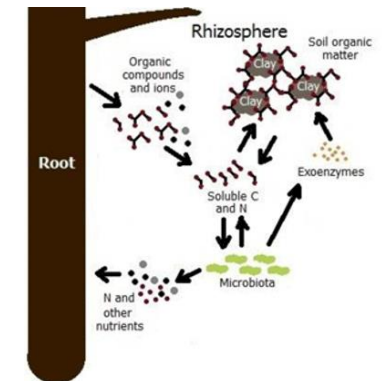
I frammenti di rocce, misti alla sostanza organica, danno origine al **suolo grezzo**.

Crescita di **piante pioniere** le cui radici, oltre a contribuire alla disgregazione delle rocce, producono **essudati radicali** utili alla **colonizzazione microbica** ed alla formazione della **rizosfera**.

I **detriti vegetali** si aggiungono al suolo grezzo fornendo ulteriore substrato per l'**attività microbica**

Disgregazione meteorica

- **Vento**
- **Acqua**
- **Alternanza gelo-disgelo**



**maturazione del suolo**



Un **suolo maturo** presenta una **stratificazione verticale** → **ORIZZONTI**

**Orizzonte O (lettiera):** costituito da resti organici in fase iniziale di decomposizione, ancora riconoscibili. La frazione minerale è quasi assente. È colonizzato da **microrganismi (batteri, funghi, protozoi)**, **insetti, vermi terricoli**, etc.

**Orizzonte A (terreno superficiale):** di colore scuro, per la presenza di **humus** misto a **minerali argillosi, quarzo** e altre **sostanze insolubili**. L'**humus** deriva dalla trasformazione dei materiali presenti nell'orizzonte O. L'orizzonte A è povero di composti chimici solubili, che vengono trasportati negli strati inferiori dall'acqua meteorica (**eluviazione**). È caratterizzato da **intensa attività microbica (batteri e funghi)** e dalla presenza delle **radici delle piante**.

**Orizzonte B (sottosuolo):** povero di sostanza organica mentre sono presenti **minerali solubili e alterati**, trasportati dall'acqua dallo strato sovrastante (**illuviazione**). Sono presenti **materiali argillosi ed ossidi (di Al e Fe)** che colorano il suolo. **L'attività microbica è meno intensa.**

**L'orizzonte C (substrato pedogenetico alterato):** formato prevalentemente da **argilla e materiali disgregati** non ancora completamente alterati e scarsamente cementati.

**Roccia madre:** roccia non disgregata su cui poggia il suolo.

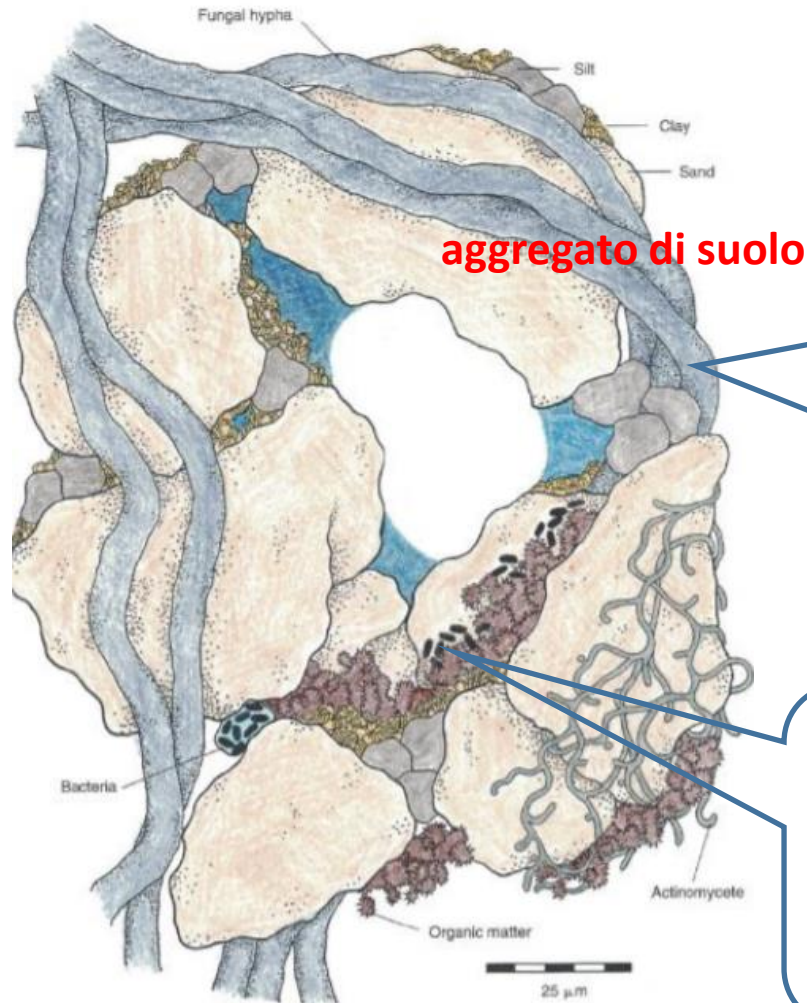


## FATTORI CHE INFLUISCONO SULLA FORMAZIONE DEL SUOLO

- Tipo di rocce che da origine al suolo
- Clima
- Topografia (caratteristiche del territorio)
- Attività organismi viventi
- Tempo

Degradazione dei minerali primari (quarzo, mica, ...) in  
sabbie (>50  $\mu\text{m}$ );  
limo (2-50  $\mu\text{m}$ );  
argille (<2  $\mu\text{m}$ ).

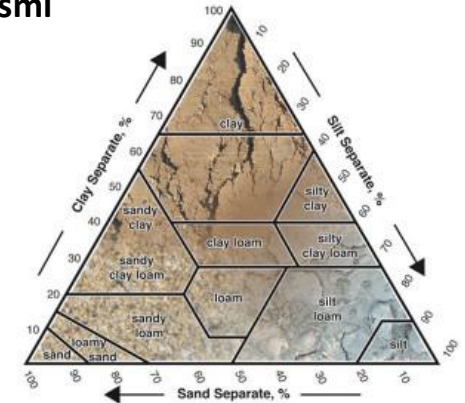
La **tessitura del suolo** è un aspetto importante per la **colonizzazione microbica**: le particelle con un alto **rapporto superficie/volume** (argille) offrono una maggiore superficie disponibile per l'interazione con i microrganismi



aggregato di suolo

i **funghi filamentosi**, disponendosi in superficie, creano una fitta rete di **ife** che contribuisce alla **stabilizzazione degli aggregati** ed alla loro unione. Le ife, inoltre, favoriscono la **diffusione di sostanze nutritive**.

I **batteri** si spingono fin dentro i **pori più piccoli**, che rappresentano dei **microhabitat** in cui sono anche al riparo dai loro predatori (protozoi). All'interno dei pori, se la diffusione di **O<sub>2</sub>** è limitata si possono creare le condizioni per la crescita di batteri anaerobi.





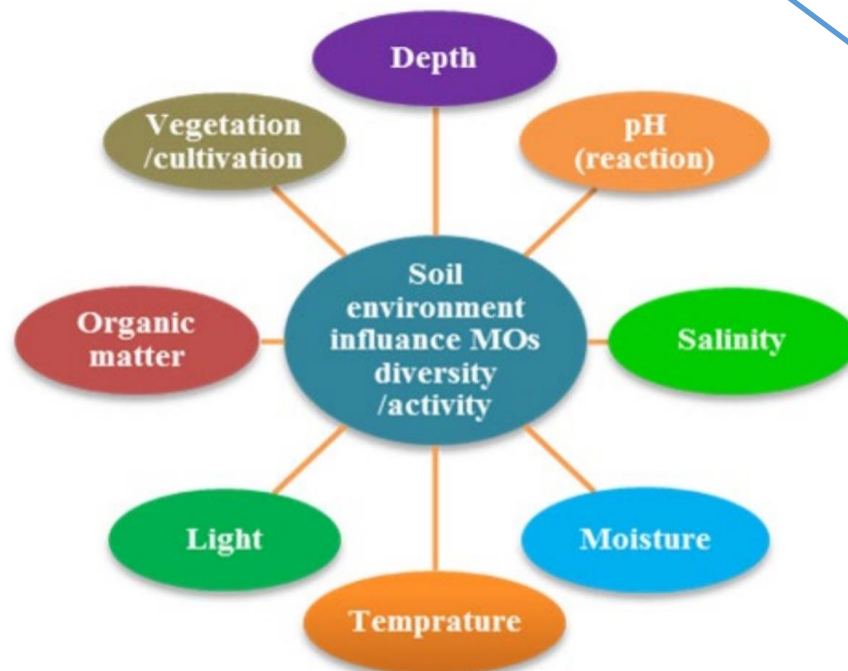
## FATTORI CHE INFLUENZANO L'ATTIVITÀ E LA DIVERSITÀ MICROBICA NEL SUOLO

- Aereazione (ossigeno)
- pH (concentrazione idrogenionica)
- Umidità (disponibilità di acqua)
- Potenziale ossido-riduzione
- Temperatura
- Sostanze inibenti
- Sostanze colloidali
- Salinità
- Disponibilità di nutrienti (N, P, S, ...)
- ...



Qualsiasi stress può essere dannoso per le specie sensibili e diminuire l'attività delle cellule sopravvissute, a causa del dispendio energetico richiesto dai meccanismi di tolleranza allo stress.

L'**attività microbica** è più intensa negli strati superficiali del suolo e a livello della **rizosfera**, dove maggiore è presenza di sostanza organica.



O  
A  
B



La **rizosfera** è la porzione di suolo che circonda le radici delle piante.

### AREAZIONE

- I microrganismi del suolo (funghi, batteri, attinomiceti), soprattutto degli strati superiori, sono prevalentemente aerobi. Non mancano, tuttavia, micronicchie in cui l'assenza di  $O_2$  consente la crescita di batteri aerobi-anaerobi facoltativi e fermentanti.
- In condizioni di grandi disponibilità di nutrienti, l'intensa attività microbica può rapidamente consumare l' $O_2$ , rendendo l'ambiente anossico.
- All'aumentare della profondità diminuisce la disponibilità di  $O_2$ .

## Atmosfera del suolo

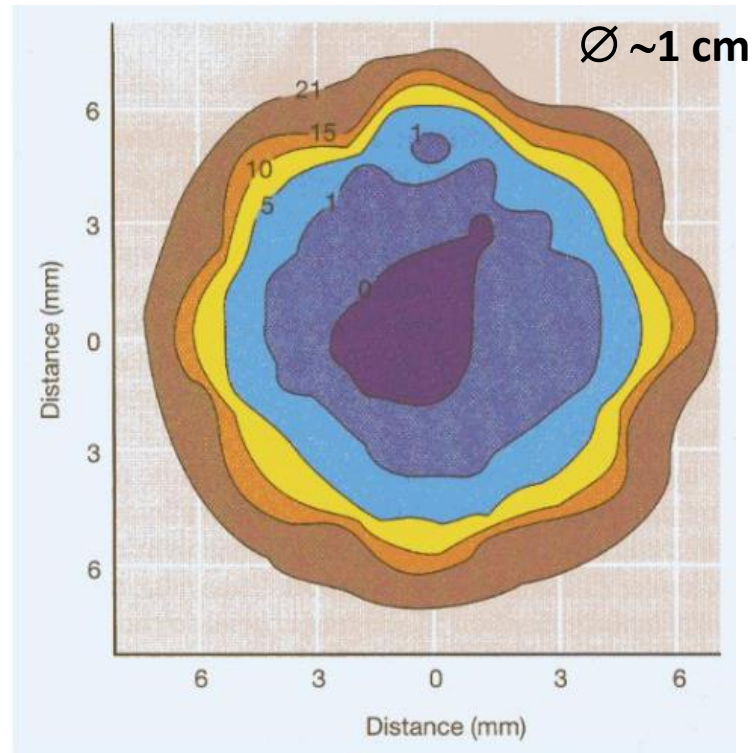
### Gradiente di O<sub>2</sub> all'interno di un aggregato di suolo

Quando la **diffusione dell'O<sub>2</sub>** dall'esterno verso l'interno di un di aggregato di suolo è limitata si generano micronicchie con diverse concentrazione del gas.

Al centro dell'aggregato si possono avere condizioni di anossia.



A seconda della disponibilità di **fonti di energia** e di **accettori di e<sup>-</sup>**, si svilupperanno batteri fermentanti, anaerobi ed aerobi-anaerobi facoltativi.



Le concentrazioni di O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> variano in funzione della **velocità di diffusione dei gas** e dell'**attività microbica**.

Di solito, nel suolo, la concentrazione di **O<sub>2</sub>** tende a diminuire e quella di **CO<sub>2</sub>** ad aumentare.

In suoli caratterizzati da condizioni di anossia, oltre alla CO<sub>2</sub>, si generano altri gas

**N<sub>2</sub>** ← batteri denitrificanti,

**H<sub>2</sub>S** ← batteri solfato riduttori,

**CH<sub>4</sub>** ← metanogeni.

L'**acqua** limita la diffusione dei gas

O<sub>2</sub>

CO<sub>2</sub>

N<sub>2</sub>

...

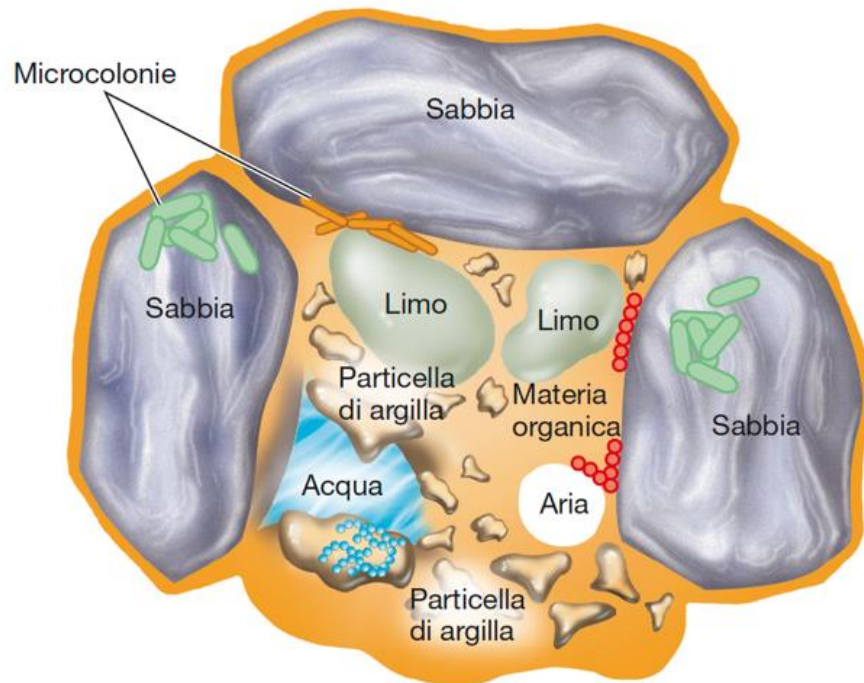
## UMIDITÀ (DISPONIBILITÀ DI ACQUA)

### Acqua

La disponibilità di acqua dipende da diversi fattori:

- Regime delle precipitazioni
- Composizione del suolo
- Struttura del suolo (drenaggio)
- Presenza di vegetazione

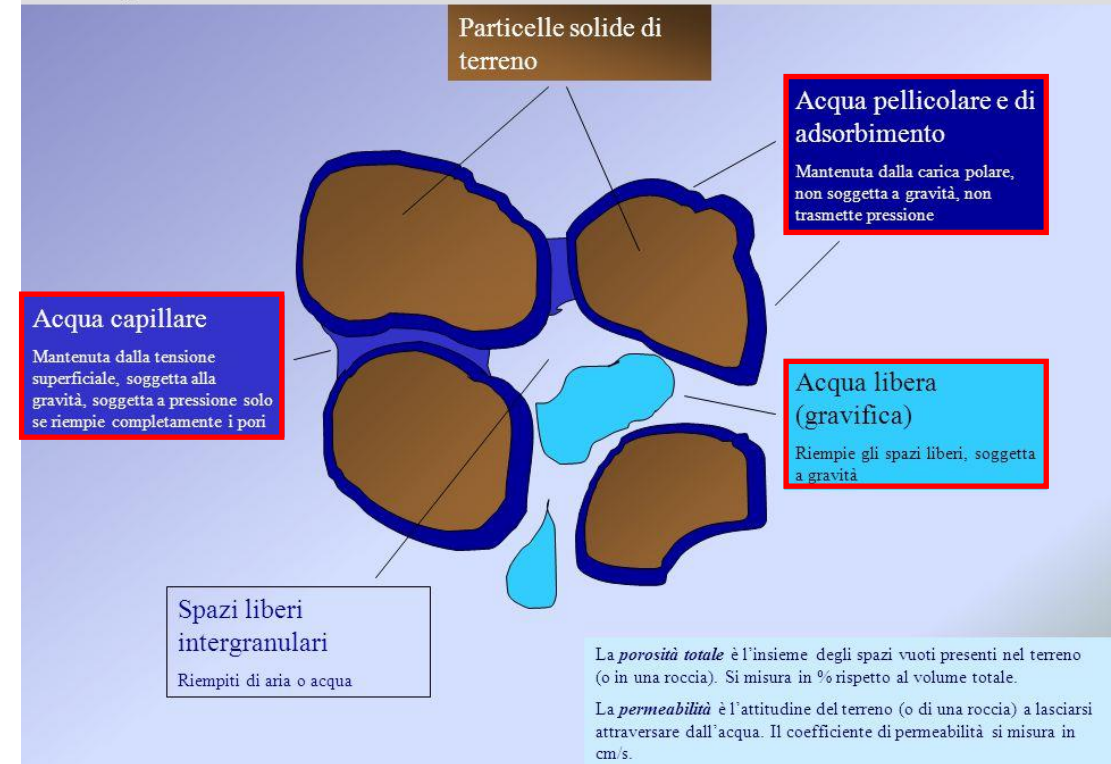
### Aggregato di suolo



I **microrganismi** sono prevalentemente adesi alle componenti solide del suolo, mentre sono **scarsi nella soluzione circolante**.

L'acqua presente nel suolo è definita **soluzione circolante di suolo** (acqua arricchita dei materiali disciolti)

### L'acqua nel terreno



### Acqua e diponibilità di O<sub>2</sub>

La diponibilità di O<sub>2</sub> è condizionata dal **tipo di suolo** e dal **contenuto di acqua**:

- Nei **suoli ben drenati** la concentrazione di O<sub>2</sub> nei pori è molto vicina a quella della superficie.
- Nei **suoli poco drenati** o **saturo di acqua** la concentrazione di O<sub>2</sub> è limitata e può essere rapidamente consumata dall'attività microbica. La diffusione dell'O<sub>2</sub> nell'acqua è 10000 volte inferiore che nell'aria.



L'**umidità** del suolo influisce **biologicamente** e **fisicamente** sul biota.

**Fisicamente**, l'umidità del suolo

- limita gli sbalzi di **temperatura** (l'acqua è un buon conduttore di calore)
- influisce sull'**areazione** del suolo (limita la diffusione dei gas).

**Biologicamente**, l'acqua è essenziale per la vita, per l'attività enzimatica e il metabolismo.

È il solvente per nutrienti biologici e altri prodotti chimici.

Favorisce il trasporto e la diffusione di fattori nutritivi solubili.

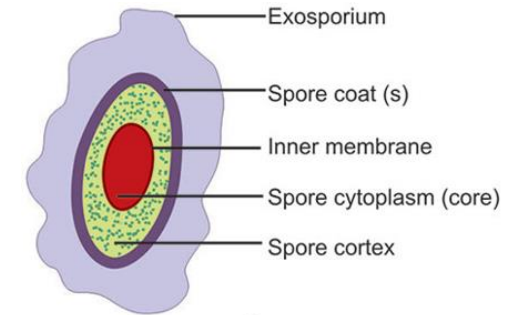
Il grado di **riempimento dei pori** del suolo influenza il **movimento dei microrganismi** e la **composizione della comunità microbica**. In particolare, influenza il rapporto **biomassa fungina/biomassa batterica**: la biomassa batterica aumenta con l'aumento del grado di saturazione del suolo.

I batteri **Gram positivi** risultano più numerosi nei terreni più umidi, mentre i **funghi** ed i batteri **Gram negativi** prevalgono in terreni più asciutti.

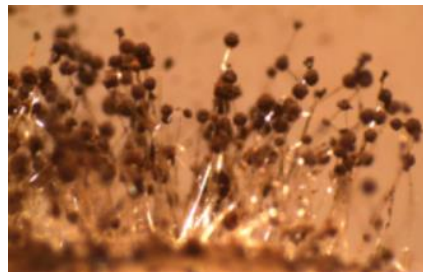
### Stress idrico

In condizioni estreme, alcuni **batteri** possono formare **endospore** che consentono all'organismo di sopravvivere fino a quando non si verificano condizioni più adatte alla crescita.

Le cellule possono entrare in uno **stato VBNC** o **sintetizzare sostanze chimiche** che possono consentire la sopravvivenza durante periodi di siccità.

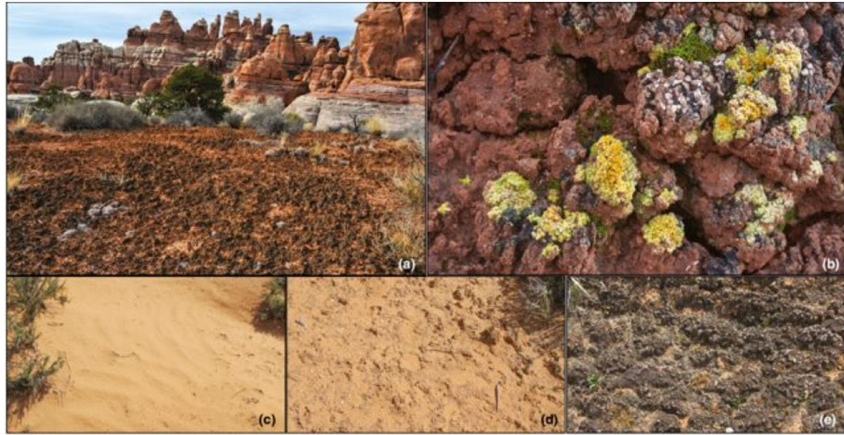


I **funghi** tendono ad essere più resistenti allo stress idrico rispetto ai batteri.



Gli **actinomiceti** possono tollerare condizioni più secche dei funghi: possono proteggersi dalla siccità sintetizzando l'aminoacido **prolina**.





35% della massa continentale terrestre è costituita da suoli permanentemente o periodicamente aridi.



**«SUOLI ARIDI»**

- Ridotta disponibilità di acqua
- Assenza di vegetazione



**Limitazione dell'attività microbica**

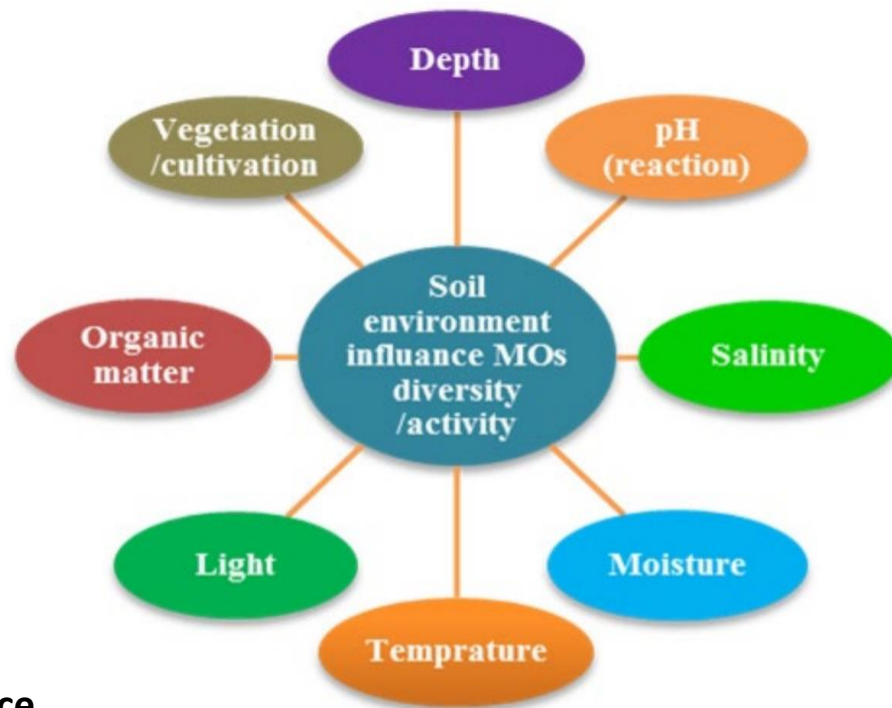
**L'aridità del suolo è definita dall'indice di aridità**

Totale precipitazioni →

Evapotraspirazione potenziale →  $\frac{P}{PET}$

**<1 suolo arido**

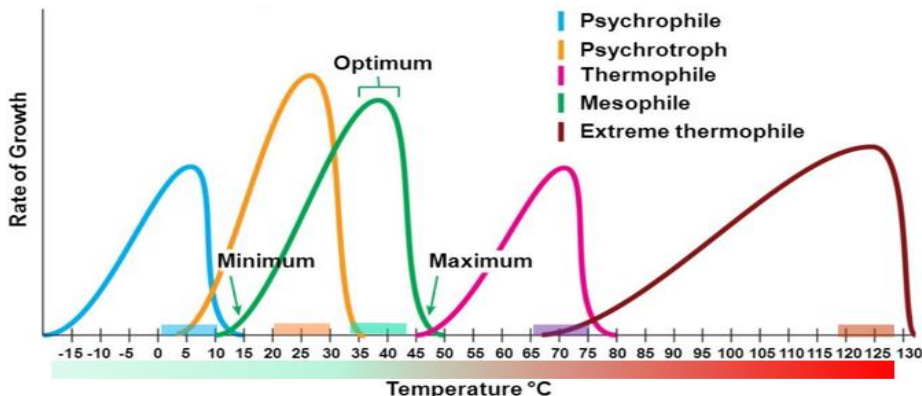
acqua persa per evaporazione + acqua persa per traspirazione dalle piante.



## TEMPERATURA

La temperatura influisce

- **Direttamente**, condizionando il tasso di attività metabolica (attività enzimatiche) dei microrganismi;
- **Indirettamente**, influenzando proprietà chimico-fisiche (diffusione e solubilità) dei nutrienti, *weathering* dei minerali, velocità di evaporazione, etc.



Entro certi limiti, l'attività biologica aumenta con l'aumentare della temperatura. Di solito, i microrganismi del suolo sono esposti a temperature che oscillano nell'intervallo da circa 0 a 60 °C, anche se è probabile che nessuna singola specie sia attiva nell'intero intervallo. La temperatura ottimale per la crescita dei microrganismi del suolo oscilla nell'intervallo **20-50 °C**.

## pH

Il pH influenza direttamente la **solubilità degli elementi**.

A pH acido, l'**Al** è più solubile e quindi più disponibile per gli organismi (aumento tossicità). I minerali essenziali possono diventare non disponibili a livelli estremi di pH: **P** e **Mn** diventano meno disponibili a valori di pH elevati.

- **Suoli acidi** favoriscono lo sviluppo dei **funghi**, limitando la crescita dei batteri che non tollerano gli ambienti troppo acidi (limitazione della competizione a favore dei funghi).
- **Suoli neutri** favoriscono lo sviluppo di batteri ed attinomiceti.

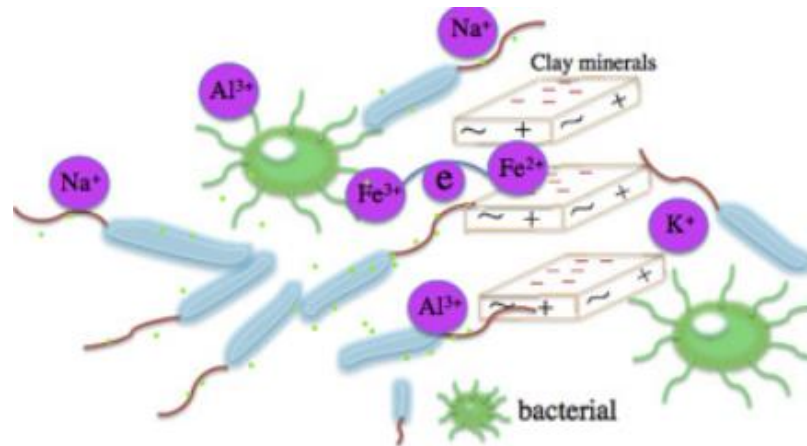
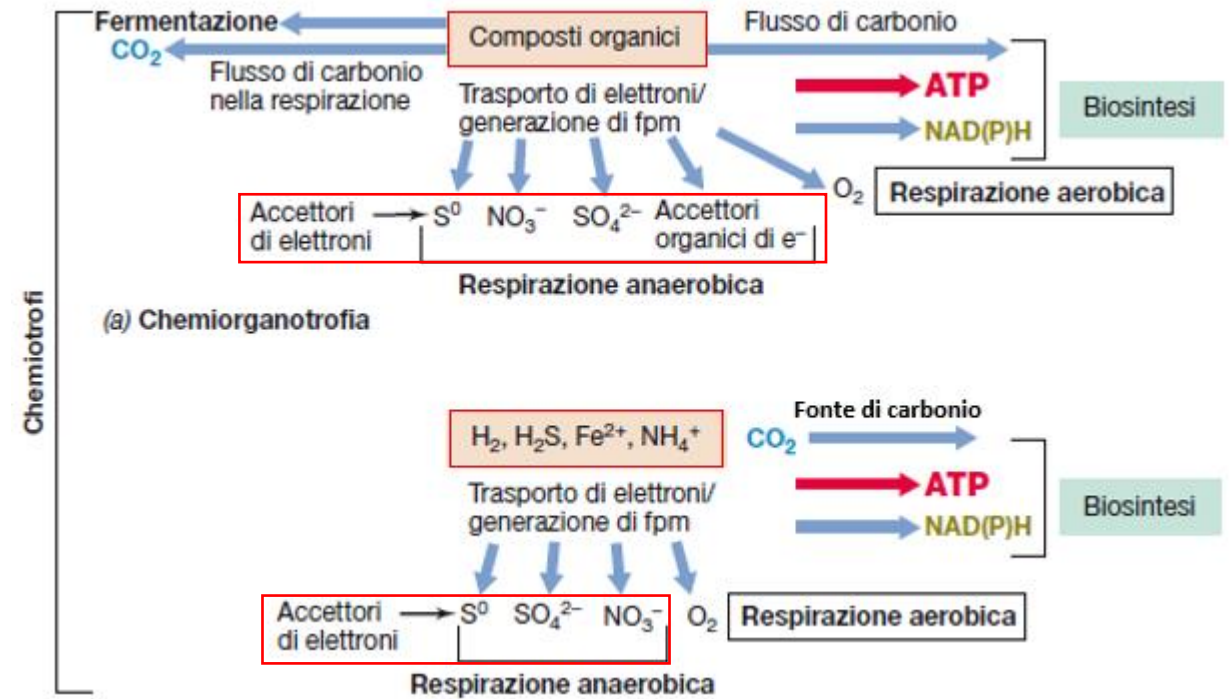
## POTENZIALE OSSIDO-RIDUZIONE

I cambiamenti nello stato redox del suolo influenzano il pool di accettori di elettroni disponibili per i microrganismi.

- La presenza ossigeno (**potenziale positivo**) rende i suoli un ambiente ossidante, favorendo i metabolismi aerobici. Un'intensa attività aerobica può, tuttavia, rendere riducente l'ambiente.
- Gli ambienti riducenti (**potenziale negativo**), grazie alla disponibilità di accettori di  $e^-$  diversi dall' $O_2$ , favoriscono i microrganismi con metabolismi di tipo anaerobico.

## SOSTANZE INIBENTI E COLLOIDALI

- Sostanze inorganiche attive ad elevate concentrazioni ( $NaCl$ , ...);
- Sostanze inorganiche attive a basse concentrazioni (arsenico,  $H_2S$ , metalli pesanti, etc.)
- Sostanze prodotte dalle radici delle piante;
- Argille, legando sostanze nutritive ed enzimi extracellulari, possono limitare lo sviluppo microbico; le argille possono legare anche sostanze tossiche, favorendo la crescita microbica.





## SALINITÀ

La **salinizzazione** consiste in un accumulo di sali idrosolubili nel suolo ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ).

Un elevato contenuto di  $\text{Na}^+$  provoca la distruzione della struttura del suolo che, inducendo una carenza di  $\text{O}_2$ , inibisce la crescita delle piante e la vita animale.



Gli organismi vanno incontro ad un **notevole dispendio energetico** per mantenere l'**equilibrio osmotico** tra il citoplasma ed il mezzo circostante



estrusione degli ioni  $\text{Na}^+$  dal citoplasma, derivanti dalle elevate concentrazioni saline dell'ambiente.

La salinità può influire sulla **composizione delle comunità microbiche**. Nei suoli salinizzati, a diverse concentrazioni di  $\text{NaCl}$ , si osserva una significativa **riduzione della concentrazione fungina**. Allo stesso modo, con un aumento del livello di salinità (>5%), il numero totale di **batteri** ed **attinomiceti** è drasticamente ridotto.

## VEGETAZIONE

La vegetazione che ricopre il suolo contribuisce alla composizione ed alla biomassa delle comunità microbiche.

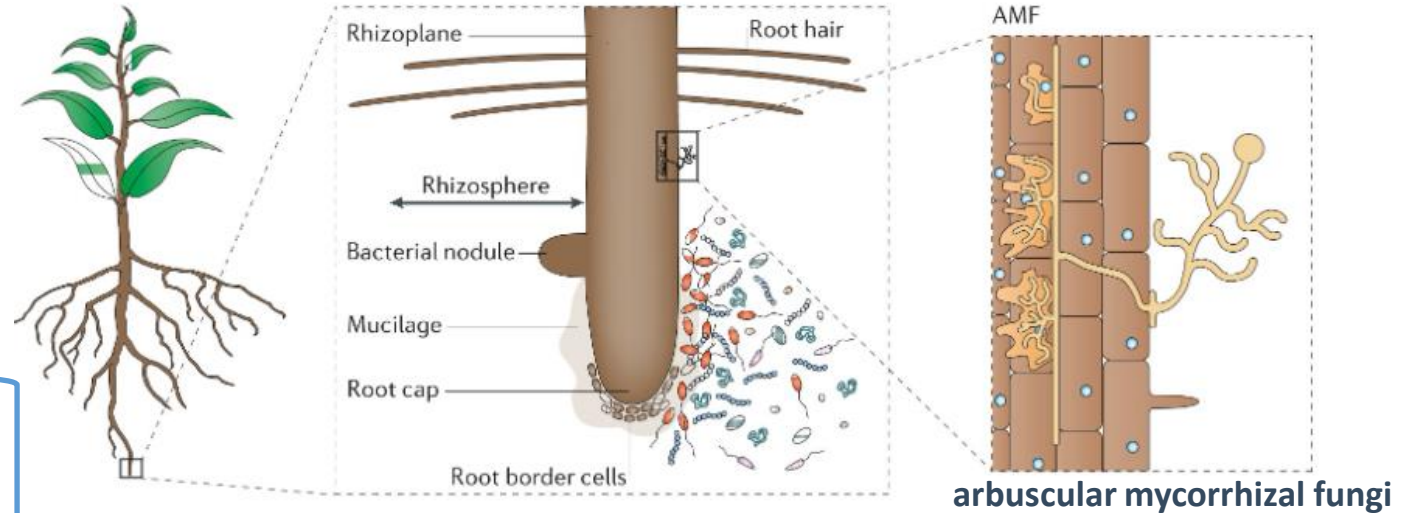
Essudati radicali e residui vegetali costituiscono una fonte di nutrienti preziosa per i microrganismi.

La **rizosfera** (dal greco *rhizo*=radice; *sphaira*=sfera) è la porzione di suolo **che circonda le radici** delle piante. Nella rizosfera oltre alle radici, sono presenti **microrganismi simbiotici, batteri saprofiti e patogeni, funghi**, etc.

Il **rizopiano** rappresenta la superficie della radice.

L'**ambiente rizosferico** è ricco di sostanze organiche di diversa natura:

- **Essudati**, costituiti da **composti a basso peso molecolare** rilasciati dalle radici (senza partecipazione attiva da parte della pianta);
- **Secrezioni**, rilasciate attivamente dalla pianta;
- **Lisati cellulari** di origine vegetale e microbica;
- Mucillagini e polisaccaridi;
- Sostanze ad attività antimicrobica;
- Sostanze esopolimeriche (EPS)
- ...



La **biomassa** e l'**attività microbica** sono maggiori nella rizosfera rispetto al suolo circostante (*bulk soil*) ed influenza direttamente lo sviluppo delle radici.

Molti microrganismi instaurano stretti rapporti con le piante (**rizobi, funghi micorrizici**).

Le sostanze rilasciate nell'ambiente rizosferico

- **influenzano il pH**
- **rendono biodisponibili sostanze nutrienti**
- ...

Alcune sostanze rilasciate possono avere

- **effetto tossico sulle piante**
- **effetto tossico sui microrganismi**

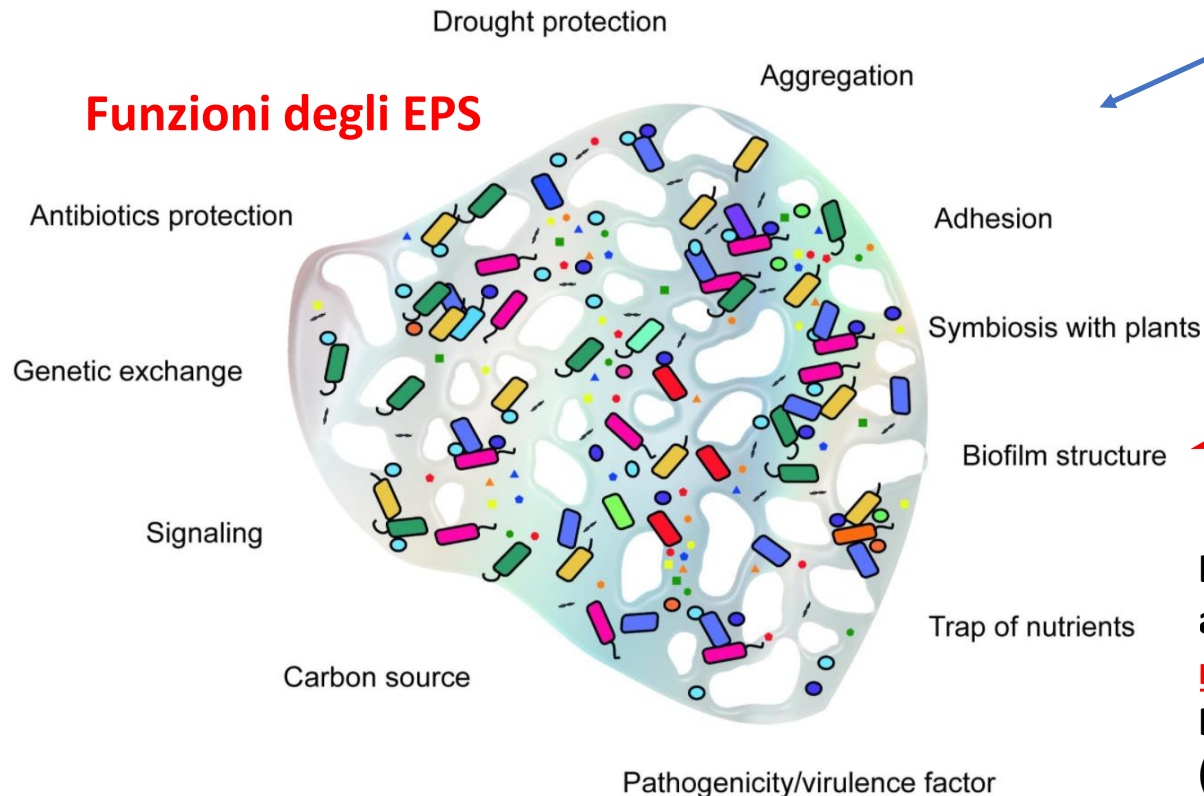
## Funzioni ecologiche degli EPS microbici

Gli EPS possono essere prodotti da batteri, microalghe, funghi e protisti. Gli EPS sono **polimeri biosintetici** composti principalmente da **polisaccaridi**, **proteine**, **enzimi**, **acidi nucleici**, **lipidi** e altri composti come gli **acidi umici**.

## EPS

utilizzato come abbreviazione di "polisaccaridi extracellulari", "esopolimeri" o "esopolisaccaridi".

## Funzioni degli EPS



Essendo la biosintesi di EPS un **processo che richiede energia**, la sua produzione deve offrire vantaggi selettivi nell'ambiente al microorganismo produttore.

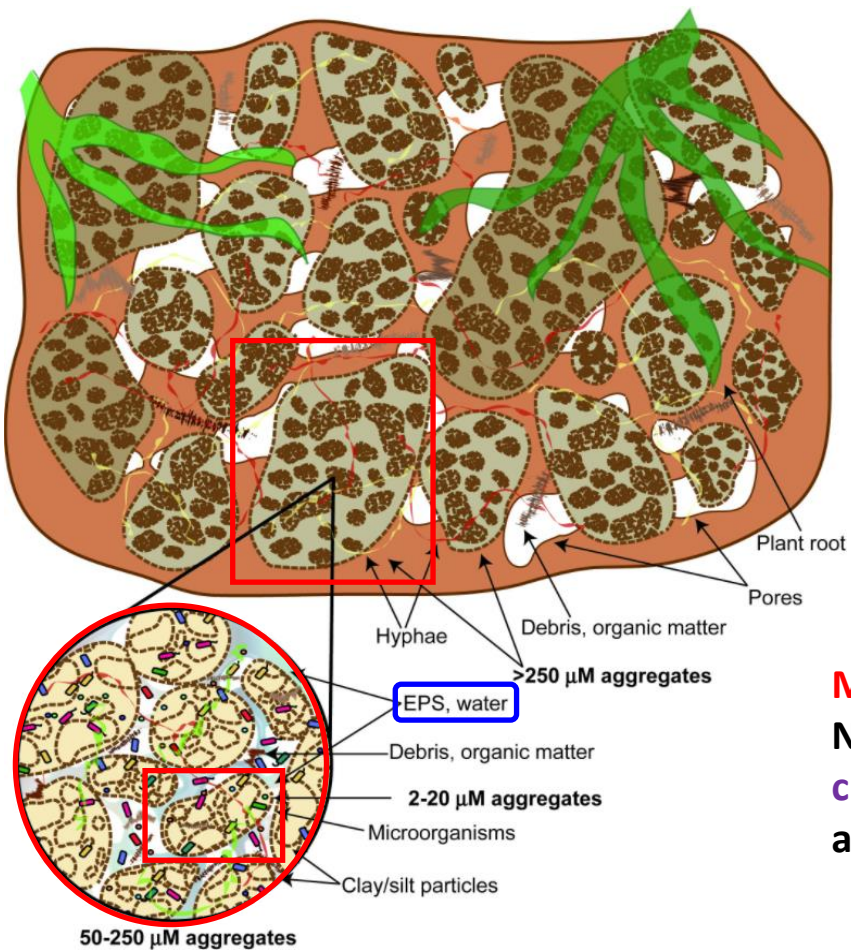
Negli ambienti naturali, la maggior parte dei microrganismi vive sotto forma di **aggregati (flocculi e biofilm)** per i quali l'EPS è **strutturalmente e funzionalmente essenziale**

La maggior parte delle **funzioni** attribuite all'EPS sono legate alla **protezione del microorganismo produttore**.

Diverse variazioni delle condizioni abiotiche (**siccità, temperatura, pH, salinità, etc.**) possono indurre la produzione di EPS come **risposta agli stress ambientali**.



Costa et al., (2018). Microbial Extracellular Polymeric Substances: Ecological Function and Impact on Soil Aggregation. *Frontiers in microbiology*, 9, 1636.



**EPS** → **stabilizzazione aggregati del suolo**

Le diverse componenti del suolo sono organizzate sotto forma di **aggregati** di diverse dimensioni, alla cui formazione contribuiscono gli **EPS**.

Lo stato di **aggregazione** è influenzato dalla **comunità microbica del suolo**, dai **composti minerali ed organici**, dalla **comunità vegetale** e dalle **lavorazioni a cui è stato sottoposto il suolo**.

L'**EPS** è direttamente coinvolto nella formazione di **associazioni organo-minerali** nel suolo.

L'EPS aggrega le particelle minerali adsorbendosi alle loro superfici, creando connessioni tra diversi tipi di minerali e migliorando anche la loro capacità di trattenere l'acqua.

**Microaggregati persistenti** → **2–20 μm** ∅

Nei **microaggregati persistenti**, le particelle di **argilla** sono legate da **agenti chelanti inorganici amorfi**, **alluminosilicati**, **ossidi**, **sostanze umiche** ed **EPS** associati a ioni metallici.

**Microaggregati** → **20-250 μm** ∅

I microaggregati persistenti sono legati insieme in **microaggregati più grandi (20-250 μm ∅)** dalle radici delle piante, dai **pel radicali** e dalle **ife fungine**.

**Macroaggregati** → **∅ > 250 μm**

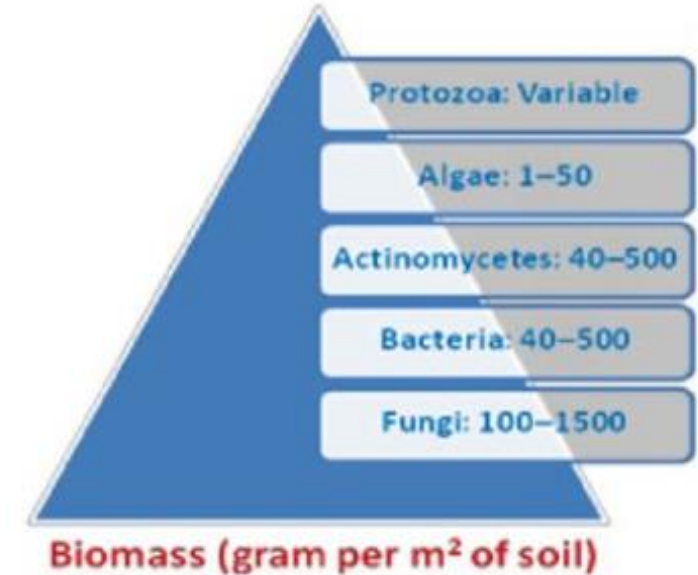
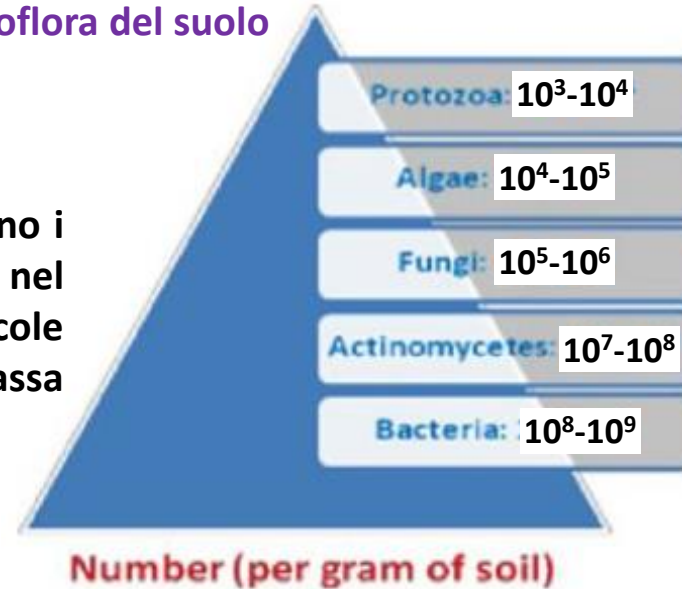
Sono formati da microaggregati legati tra loro da **agenti leganti transitori** (polisaccaridi e poliuronidi).

## MICROORGANISMI PRESENTI NEL SUOLO

Batteri  
Funghi  
Alge  
Protozoi

Composizione della microflora del suolo  
(0-15 cm di profondità)

In termini numerici, i **batteri** sono i microrganismi più numerosi nel suolo, ma a causa delle loro piccole dimensioni, hanno una biomassa più piccola dei funghi.



I **funghi**, per le loro grandi dimensioni e la loro struttura miceliale (ife), costituiscono la quota maggiore della biomassa microbica totale nel suolo.

Gli **actinomiceti**, rispetto ai batteri, sono numericamente inferiori di un fattore 10; ma essendo di dimensioni maggiori, hanno una biomassa simile a quella dei batteri.

Questi valori, tuttavia, sono influenzati dalle caratteristiche del suolo (pratiche di gestione, contenuto di nutrienti, condizioni fisiche, ... ).

La **popolazione fungina** domina la biomassa del suolo quando non disturbato (incolto).

I **batteri**, gli **actinomiceti** ed i **protozoi** possono tollerare meglio i disturbi del suolo rispetto alle popolazioni fungine; quindi, essi predominano nei terreni lavorati.

**Ci sono più microrganismi in un cucchiaino di terreno che persone sulla terra!**

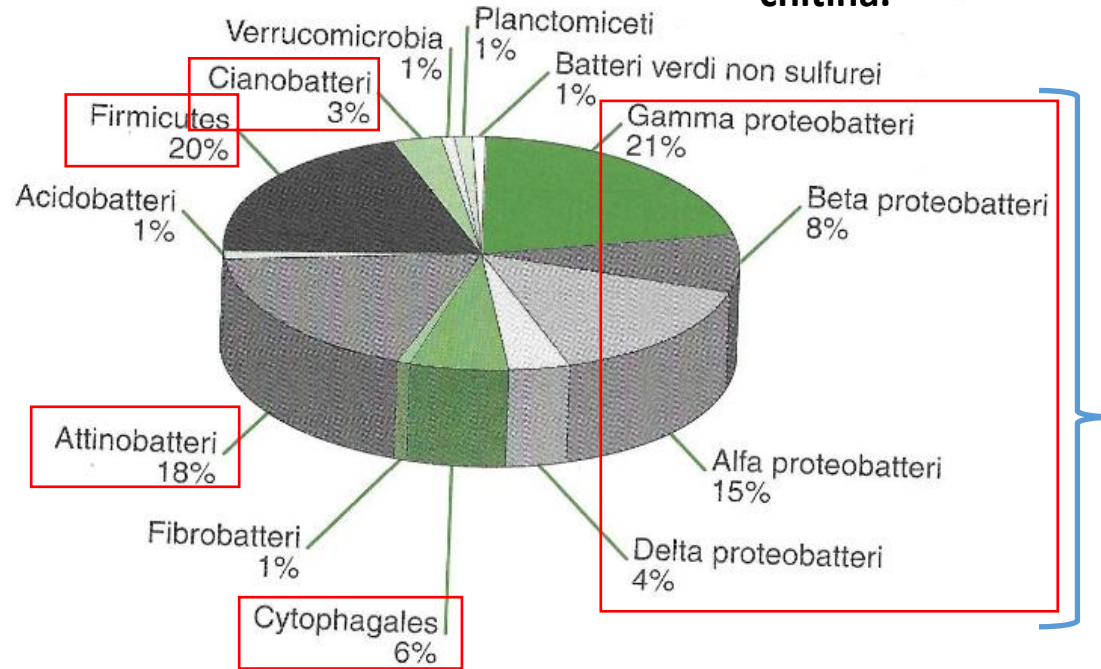
## RAPPORTI TRA I DIVERSI GRUPPI BATTERICI NEL SUOLO

I **Firmicutes** (~20%) batteri Gram positivi:

*Bacillus* (sporigeno)

*Arthrobacter* (non sporigeno)

...



Le **citofaghe** (6%) sono batteri Gram negativi, aerobi, particolarmente attivi nella degradazione della cellulosa e della chitina.

I **cianobatteri** (3%) sono tra i fototrofi più rappresentati nel suolo.

Alcuni sono in grado di fissare l'azoto, importanti dal punto di vista agronomico e della formazione del suolo. In associazione con i funghi formano i **licheni** (organismi pionieri).

I **proteobatteri** risultano i batteri più abbondanti nel suolo (~48%).  
*Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*,  
*Agrobacterium*, *Caulobacter*, metilotrofi,  
nitrificanti, ...

Gli **attinomiceti (attinobatteri)** risultano i ben rappresentati nel suolo (~18%).

*Streptomyces*, *Nocardia*, *Micromonospora*, *Actinomyces*, ....

Gli attinomiceti sono organismi **unicellulari**, **generalmente aerobi** ed **eterotrofi**.

Degradano la sostanza organica liberando i nutrienti in essa contenuti.

Producono **antibiotici** e **geosmine**, sostanze che danno il caratteristico odore di terra.

Fungono da **agenti di biocontrollo** contro diversi patogeni fungini delle radici.

Sono presenti anche specie microbiche appartenenti al dominio degli **Archaea**.





## Funghi

Costituiscono la biomassa più abbondante del suolo (1.000-15.000 kg/Ha) e prediligono ambienti acidi.

Si concentrano prevalentemente nei primi 15 cm di suolo.

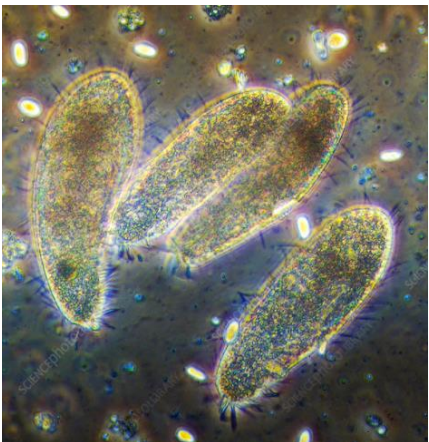
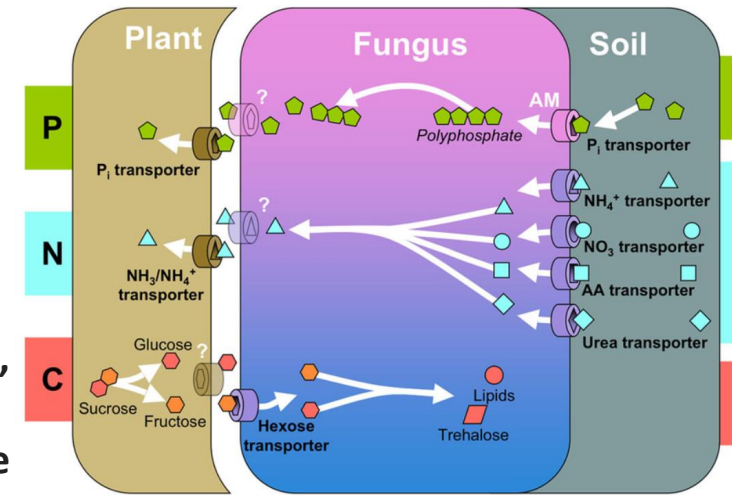
In 1 g di suolo possono essere presenti centinaia di metri di **ife** (formazione aggregati di suolo).

Generi più diffusi: *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Fusarium*, *trichoderma*, ....

Sono capaci di degradare sostanze complesse come le **cellulose** e le **emicellulose** e altre molto complesse, come la **lignina**.

Hanno un ruolo fondamentale nella **formazione dell'humus**.

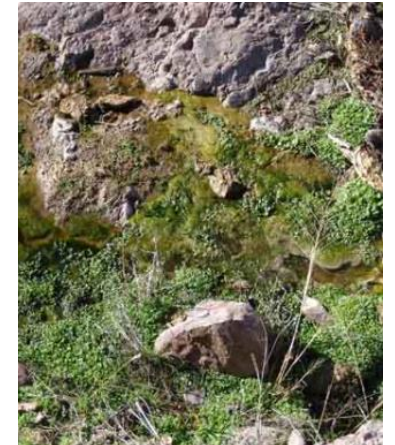
Molte specie di funghi possono formare delle **micorrize** entrando in simbiosi con le radici delle piante.



## Alghe

Sono organismi **autotrofi** che sfruttano l'energia luminosa per **sintetizzare composti organici**. Arricchiscono il suolo di carbonio. Sono concentrate negli strati superficiali del suolo e dentro ai pori occupati dall'acqua.

In associazione con i funghi possono formare i **licheni** (contribuiscono alla disgregazione di formazioni rocciose).

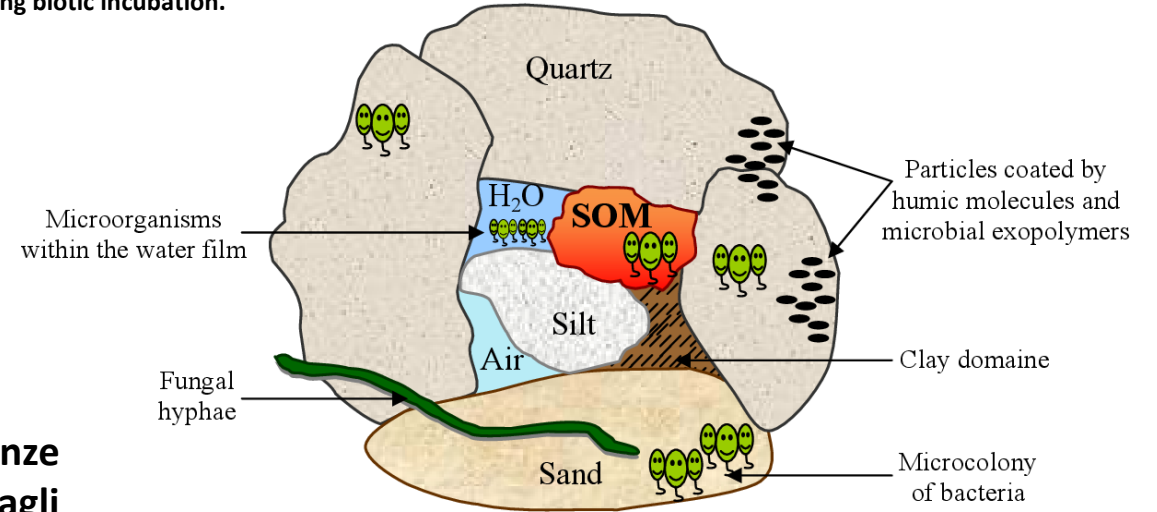


## Protozoi

Sono le forme più semplici di vita animale e la loro biomassa è pari a 20-200 kg/ha. Vivono predando alghe, batteri, attinomiceti e nematodi. Alla morte rilasciano una gran quantità di **elementi minerali** utili per la nutrizione delle piante.

Le varie **specie procariotiche** non sono presenti nel suolo come cellule isolate e disperse in modo omogeneo, ma sotto forma di **microcolonie** distribuite in modo **disomogeneo** ed associate alle componenti organiche e minerali del suolo.

L'“**effetto rizosfera**” è causa di disomogeneità: la microflora è più abbondante e più attiva nelle immediate vicinanze (millimetri) delle radici, per l'**effetto stimolante** esercitato dagli **essudati radicali** del suolo rizosferico. Il suolo non rizosferico è indicato come “*bulk soil*”.



### MICRORGANISMI → INDICATORI DI QUALITÀ E SOSTENIBILITÀ DEL SUOLO

I microrganismi possono essere impiegati come indicatori della qualità del suolo per

- il ruolo chiave nella degradazione e nel riciclo della sostanza organica (e dei nutrienti);
- la pronta risposta a tutti i cambiamenti dell'ambiente suolo.

Per l'esecuzione di **analisi microbiologiche e biochimiche**, di solito, è consigliato il prelievo di suolo alla profondità di **0-15 cm** poiché, di solito, è questo lo strato di suolo maggiormente colonizzato dai microrganismi.

## Decreto ministeriale 8 luglio 2002 - "Approvazione dei metodi ufficiali di analisi microbiologica del suolo"

### VALUTAZIONE DELLE CARICHE MICROBICHE E GRUPPI GENERICI

- 1 - Procedimento generale per le conte per via colturale
- 2 - Gruppi generici di microrganismi (batteri eterotrofi aerobi/anaerobi, muffe e lieviti)

### GRUPPI FISIologici DI MICROGANISMI

- 1 - Microrganismi del ciclo dell'azoto, batteri azotofissatori liberi, aerobi ed anaerobi
- 2 - Batteri in associazioni diazotrofe (*Azospirillum*)
- 3 - Batteri in associazione simbiotica diazotrofa (*Rizobi*)
- 4 - Attinomiceti azotofissatori del genere *Frankia*
- 5 - Batteri proteolitici e ammonificanti
- 6 - Batteri nitrificanti
- 7 - Batteri denitrificanti
- 8 - Gruppi fisiologici del ciclo del carbonio
- 9 - Ciclo dello zolfo

### DETERMINAZIONE MICORRIZE ARBUSCOLARI, METANOBATTERI, MICROFLORA FOTOSINTETICA OSSIGENICA

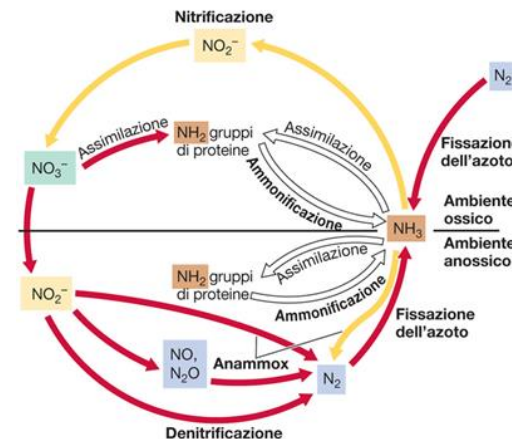
- 1 - Microflora fotosintetica ossigenata
- 2 - Metanobatteri
- 3 - Metodi di studio delle micorrize arbuscolari nel suolo

Il **MICROBIOTA** del suolo costituisce una quota importante della biomassa presente sulla terra e svolge ruoli fondamentali per il **funzionamento della biosfera**:

- Mantiene la struttura dei suoli;
- Controlla processi fondamentali per lo sviluppo di ecosistemi;
- Ha un impatto diretto sui cambiamenti climatici;
- Influenza i cicli biogeochimici;
- **Influenza la fertilità dei suoli (nutrizione delle piante);**
- ...

### Gruppi fisiologici del suolo

Indipendentemente dalla loro collocazione sistematica i microrganismi vengono distinti in gruppi fisiologici, specie diverse che svolgono una funzione ben definita (fissazione dell'azoto, degradazione della cellulosa, nitrificazione, etc.





## MICROORGANISMI DEL CICLO DELL'AZOTO

Nel suolo, la flora microbica implicata nel **ciclo dell'azoto** è abbondante e complessa; essa comprende specie saprofitiche ed ubiquitarie dotate di **elevata specificità**: **azotofissatori**, chemiolitotrofi aerobi **nitrificanti** (**nitrosanti** e **nitricanti**) e **denitrificanti**.

### BATTERI AZOTOFISSATORI LIBERI (non simbiotici), AEROBI ED ANAEROBI

Per ricercare la **capacità N-fissatrice** viene indicato il "**test di riduzione dell'acetilene**" ad etilene, una tecnica specifica ed abbastanza semplice.

La **nitrogenasi** è un enzima non strettamente specifico per  $N_2$ , può ridurre anche altri composti, tra cui acetilene ad etilene.

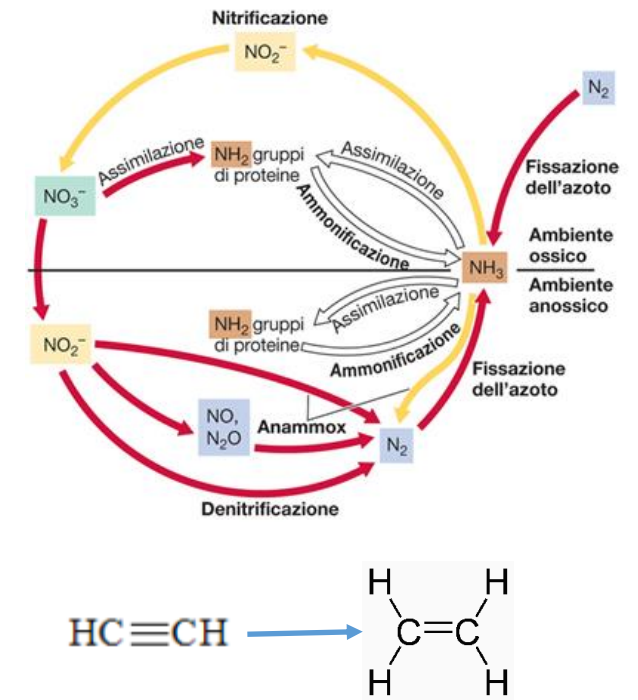
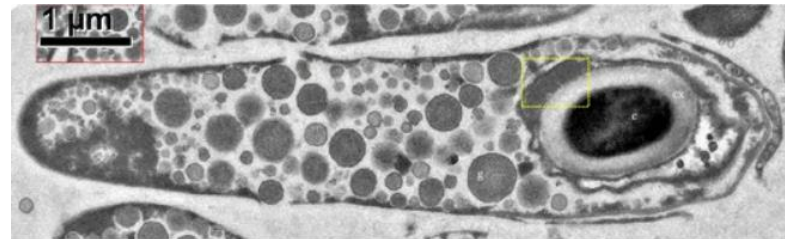
#### **N-fissatori aerobi** → *Azotobacter*

*Azotobacter* presenta cellule dalla forma sferica o ovoidale (Gram negative) con granulazioni interne ed uno spesso strato mucoso polisaccaridico esterno (*slime*).



#### **N-fissatori anaerobi** → *Clostridium*

Il genere *Clostridium* comprende batteri Gram positivi a forma di bastoncino, sporigeni, anaerobi obbligati. Le specie più note che fissano l'azoto sono *C. acetobutylicum*, *C. beijerinckii*, *C. butyricum* e *C. pasteurianum*.



## BATTERI IN ASSOCIAZIONI DIAZOTROFE (*Azospirillum*)

I batteri appartenenti al genere *Azospirillum* colonizzano la rizosfera (senza formare noduli radicali) di numerose leguminose e graminacee di climi tropicali, subtropicali e temperati.

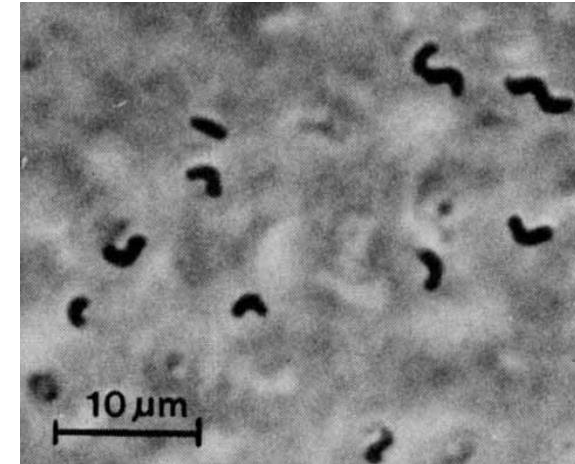
Batteri **Gram negativi** (2-4  $\mu\text{m}$  x 1  $\mu\text{m}$ ), presentano forma a vibrione, ma possono assumere in certe condizioni una forma a spirale.

Sono **mobili** per la presenza di un singolo flagello polare; tuttavia, le specie *A. brasilense*, *A. lipoferum* ed *A. irakense*, quando coltivate in terreni agarizzati, possono presentare numerosi flagelli laterali.

Formano **granuli di poli- $\beta$ -idrossibutirrato** (PBH); le specie *A. brasilense* ed *A. lipoferum* sono capaci di produrre **carotenoidi** che conferiscono colorazione rosa alle colture vecchie.

Si sviluppano a temperature di 32-35°C e ad un pH vicino alla neutralità.

I **diazotrofi** sono microrganismi che fissano l'azoto gassoso atmosferico ( $\text{N}_2$ ) in una forma biologicamente disponibile ( $\text{NH}_3$ ). Possono crescere senza fonti esterne di azoto già fissato. *Rhizobia*, *Frankia* (in simbiosi), e *Azospirillum*.



## BATTERI IN ASSOCIAZIONE SIMBIOTICA DIAZOTROFA (RIZOBI)

I batteri dei generi *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* e *Sinorhizobium*, sono costituiti da bastoncelli **Gram negativi**, comprendono numerose specie e biovar. La loro classificazione, in continua evoluzione, si è basata per lungo tempo sulle capacità di instaurare rapporti di associazione simbiotica con specifici generi di piante leguminose, nelle quali provocano la formazione di **noduli radicali o tubercoli**. Oggi, i parametri utilizzati per classificare i rizobi si basano su caratteristiche fisiologiche, biochimiche e genetiche.



## ATTINOMICETI AZOTOFISSATORI DEL GENERE *FRANKIA*

Gli **attinomiceti** del genere *Frankia* (*Actinomycetales*) sono batteri **Gram positivi** filamentosi.

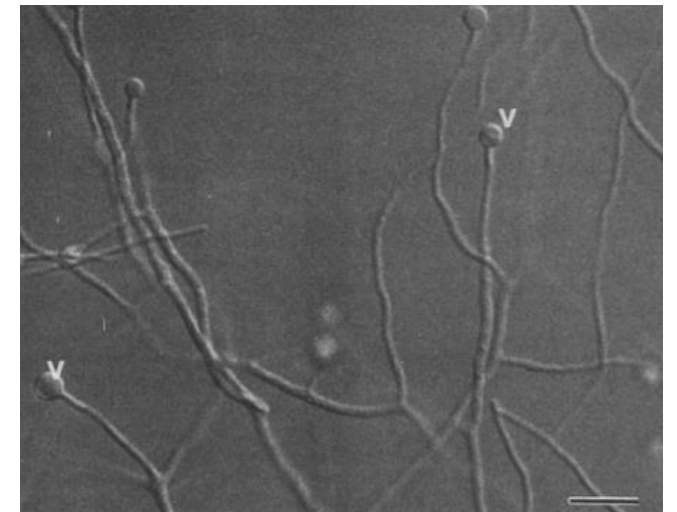
Identificabili, a livello di genere, in base alla morfologia: microife ramificate e settate (0,5-2  $\mu\text{m}$ ), sporangi multiloculari (10-100  $\mu\text{m}$ ), **diazovescicole** (3-5  $\mu\text{m}$ ).

Presentano **tempi di duplicazione fino a 5 giorni**, possono infettare le piante ospiti e fissano l' $\text{N}_2$  sia in coltura pura che in simbiosi. Formano **noduli** sulle radici delle piante ospiti.

Poiché la distribuzione dei ceppi di *Frankia* nei suoli non sembra strettamente legata alla presenza di piante attinorriziche, la presenza di *Frankia spp.* in un dato suolo non assumerebbe alcun particolare significato ecologico in sé.

Al contrario, l'**assenza di questi attinomiceti in un suolo potrebbe indicare che esso è molto giovane** oppure che è stato **disturbato da attività antropiche** o da **catastrofi naturali**.

La ricerca e la conta di *Frankia spp.* nel suolo acquistano notevole importanza, quindi, nelle applicazioni selvicolturali e nel recupero ambientale, paesaggistico e produttivo di suoli degradati.



### *Frankia*

**Vescicole sferoidali (diazovescicole)** ( $\varnothing$  2-6  $\mu\text{m}$ ), incapsulate in lipidi, ed attaccate all'estremità o lateralmente alle ife da un breve gambo, anch'esso incapsulato; sono comunemente **prodotte in risposta alla carenza di azoto**.

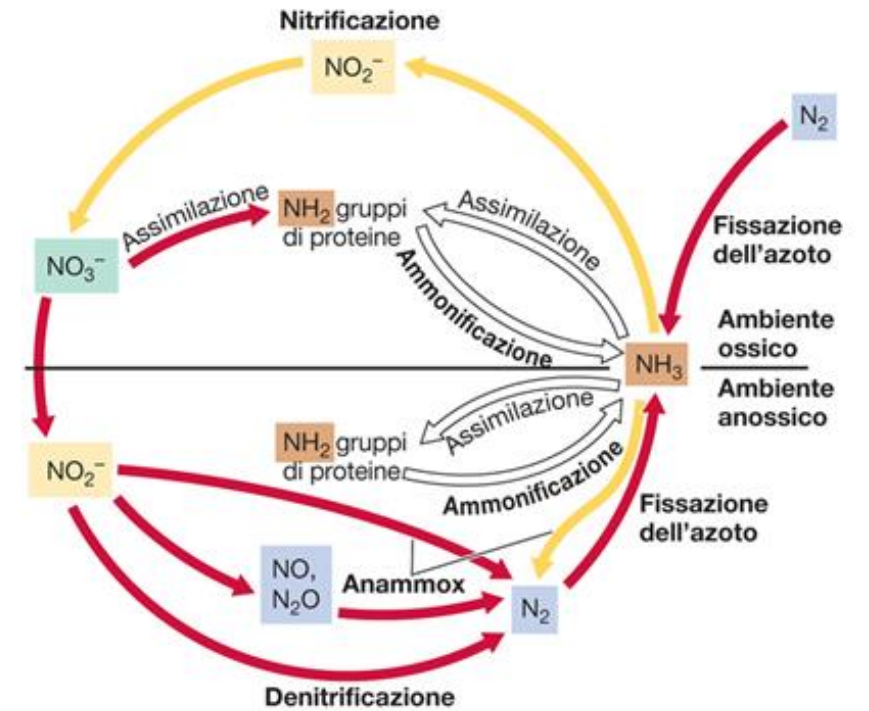


## BATTERI PROTEOLITICI E AMMONIFICANTI

L'azoto organico di varia origine presente nel suolo è prevalentemente sotto forma di **proteine**.  
La capacità di degradare le proteine è ampiamente diffusa nella microflora.

I **batteri proteolitici** (idrolizzanti) dalla molecola proteica, mediante idrolisi enzimatica, liberano **peptoni**, **peptidi** ed, infine, **aminoacidi** singoli;

Successivamente, gli **ammonificanti** (mineralizzatori ad ammonio) attraverso la **deaminazione** liberano il gruppo aminico  $-NH_2$  sotto forma di  $NH_3$ .  
Moltissimi **batteri** (aerobi ed anaerobi), **attinomiceti** e **funghi**, sono in grado di mineralizzare l'azoto organico proteico.



## GRUPPI FISIOLGICI DEL CICLO DEL CARBONIO

Nell'ambiente terrestre una parte considerevole del ciclo del carbonio comprende la **degradazione dei polimeri vegetali**.

Le **piante** rappresentano la fonte principale di carbonio organico nel suolo ed i **microrganismi** sono i maggiori responsabili della trasformazione dei polimeri vegetali.

La **cellulosa**, l'**amido**, la **pectina** e la **lignina** sono i principali polimeri di origine vegetale presenti nel suolo.

Come conseguenza dell'**attività microbica**, mentre la **CO<sub>2</sub>** viene reintrodotta nell'atmosfera, vengono prodotti **materiale umico** e **composti più semplici** disponibili per altre popolazioni microbiche.

### CELLULOSOLITICI aerobi/anaerobi

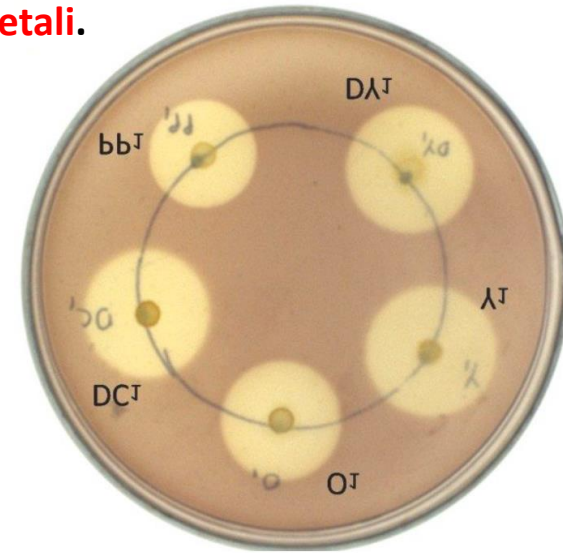
I degradatori della cellulosa possono essere **funghi**, **attinomiceti** e **batteri**, sia aerobi che anaerobi.

La degradazione della cellulosa può avvenire in diverse condizioni chimico-fisiche.

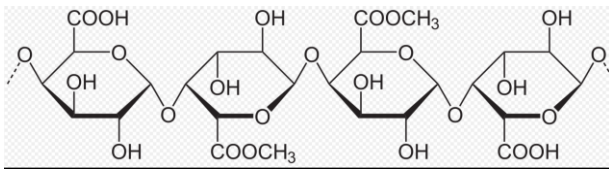
In **anaerobiosi**, possono essere individuati due gruppi batteri che riescono a degradare la cellulosa: i **mesofili** (28-35°C) ed i **termofili** (55-70°C).

Funghi ed attinomiceti cellulolitici sono rari in ambienti anossici. L'idrolisi della cellulosa in ambiente anaerobico è trascurabile.

In **aerobiosi**, l'attività cellulolitica svolta dai batteri è molto lenta, mentre è più accentuata in **funghi** ed **attinomiceti**; pertanto, in suoli ben drenati o in ambienti ossici, l'idrolisi della cellulosa avviene soprattutto attraverso i funghi e gli attinomiceti.



L'attività cellulolitica è dimostrata dall'**idrolisi della cellulosa**, aggiunta come unica fonte di carbonio, ad un terreno agarizzato distribuito in piastre Petri. Dopo incubazione, le colonie che idrolizzano la cellulosa sono circondate da un alone chiaro.



## PECTINOLITICI

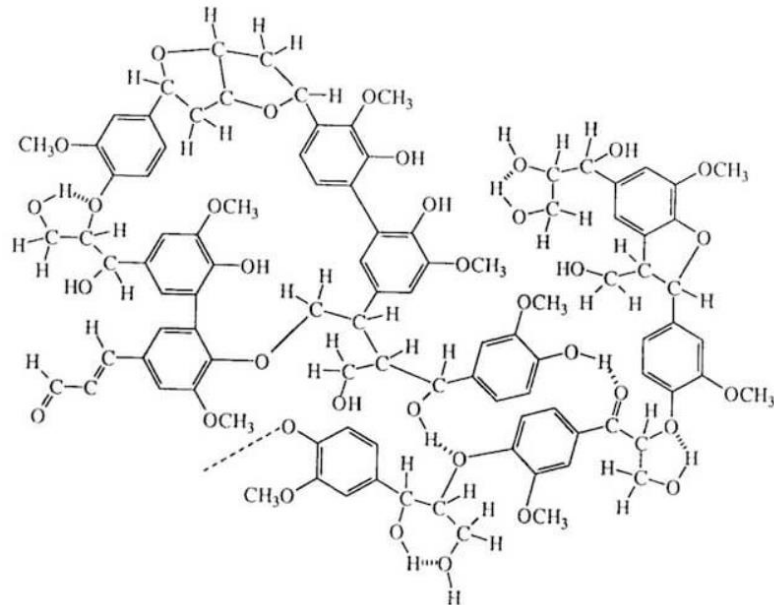
Le pectine consistono di catene non ramificate di **acido D-galatturonico** con legami  $\beta$ -(1,4) glucosidici. I gruppi carbossilici sono esterificati parzialmente o totalmente con **metanolo**.

La degradazione microbica delle pectine avviene ad opera degli **enzimi pectinolitici** (**esterasi**, **glucosidasi** e **liasi**) prodotti da **funghi**, **batteri** ed **attinomiceti**.

Per la conta su piastra dei microrganismi pectinolitici, il metodo si basa su una semina di sospensioni-diluizioni di suolo su agar contenente pectina. L'alone di idrolisi viene messo in evidenza da una sostanza che, precipitando la pectina integra, opacizza lo strato di agar circostante rendendo visibile una zona trasparente intorno alle colonie che hanno idrolizzato la pectina.



BIBI, et al. (2018). Isolation and identification of novel indigenous bacterial strain as a low cost pectinase source. *Braz. arch. biol. technol.*, 61:e18160653.



## LIGNINOLITICI

Le lignine sono **polimeri fenolici condensati** che presentano **legami irregolari carbonio-carbonio** molto stabili e **legami etere** tra le unità fenilpropanoidi.

Esistono diversi microrganismi capaci di degradare, parzialmente o completamente, le lignine mediante gli enzimi **laccasi** e **perossidasi**.

**Funghi**

**Batteri**

**Attinomiceti**





## **MICROFLORA FOTOSINTETICA OSSIGENICA**

I **cianobatteri** e le **microalghe eucariote** sono microrganismi **autotrofi** provvisti di **clorofilla** ed in grado di effettuare la **fotosintesi ossigenica**.

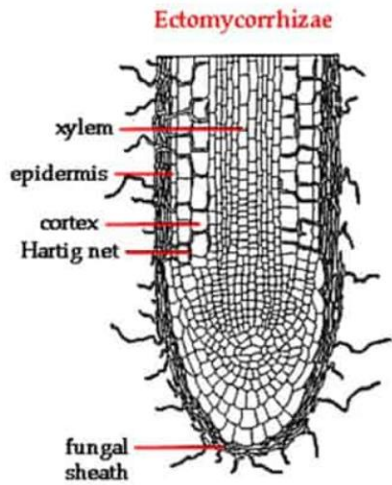
Sono componenti ubiquitari delle comunità microbiche che si sviluppano sulla superficie del suolo.

La microflora fotosintetica ossigenica del suolo comprende più frequentemente **cianobatteri** (alghe verdi-azzurre), **Cloroficee** (alghe verdi), **Xantoficee** (alghe gialle) e **Bacillarioficee** (diatomee), ma possono essere presenti anche **Euglenoficee** (euglenoidi) e **Rodoficee** (alghe rosse).

Le microalghe ed i cianobatteri del suolo possono rappresentare dei validi **indicatori microbiologici dell'inquinamento del suolo da fitofarmaci** (diserbanti).

Come le piante infestanti, microalghe e cianobatteri per la loro localizzazione superficiale sono infatti particolarmente esposti all'azione di tali prodotti, i quali possono determinare profonde modificazioni nella composizione della popolazione.



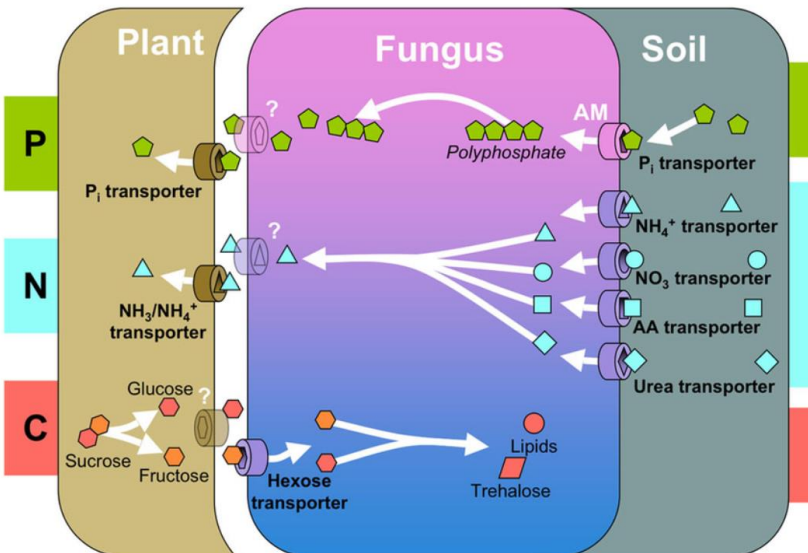
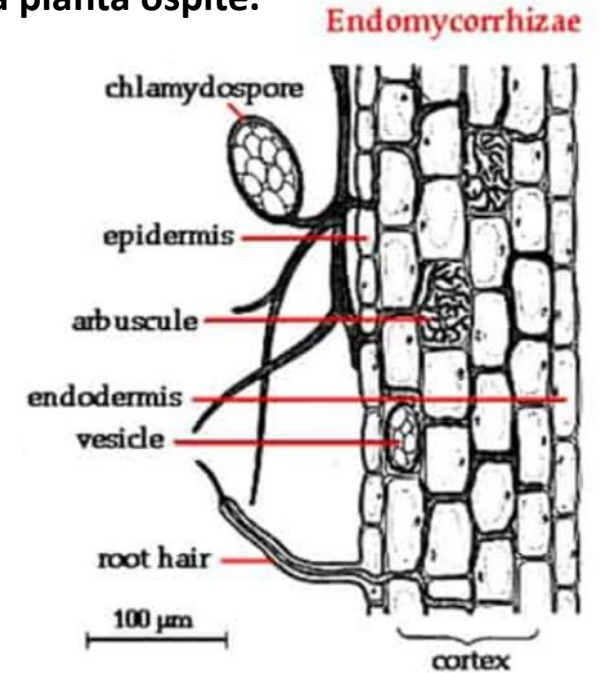


I **funghi ectomicorrizici** non invadono i tessuti radicali e, tra i vari nutrienti, forniscono alla pianta ospite anche **fitormoni** e **vitamine B** che regolano la crescita.

Nella formazione delle micorrize vescicolo-arbuscolari, il **fungo** penetra nelle **cellule radicali**, dove forma **strutture ramificate (arbuscoli)**. È negli arbuscoli che avvengono gli scambi nutrizionali.

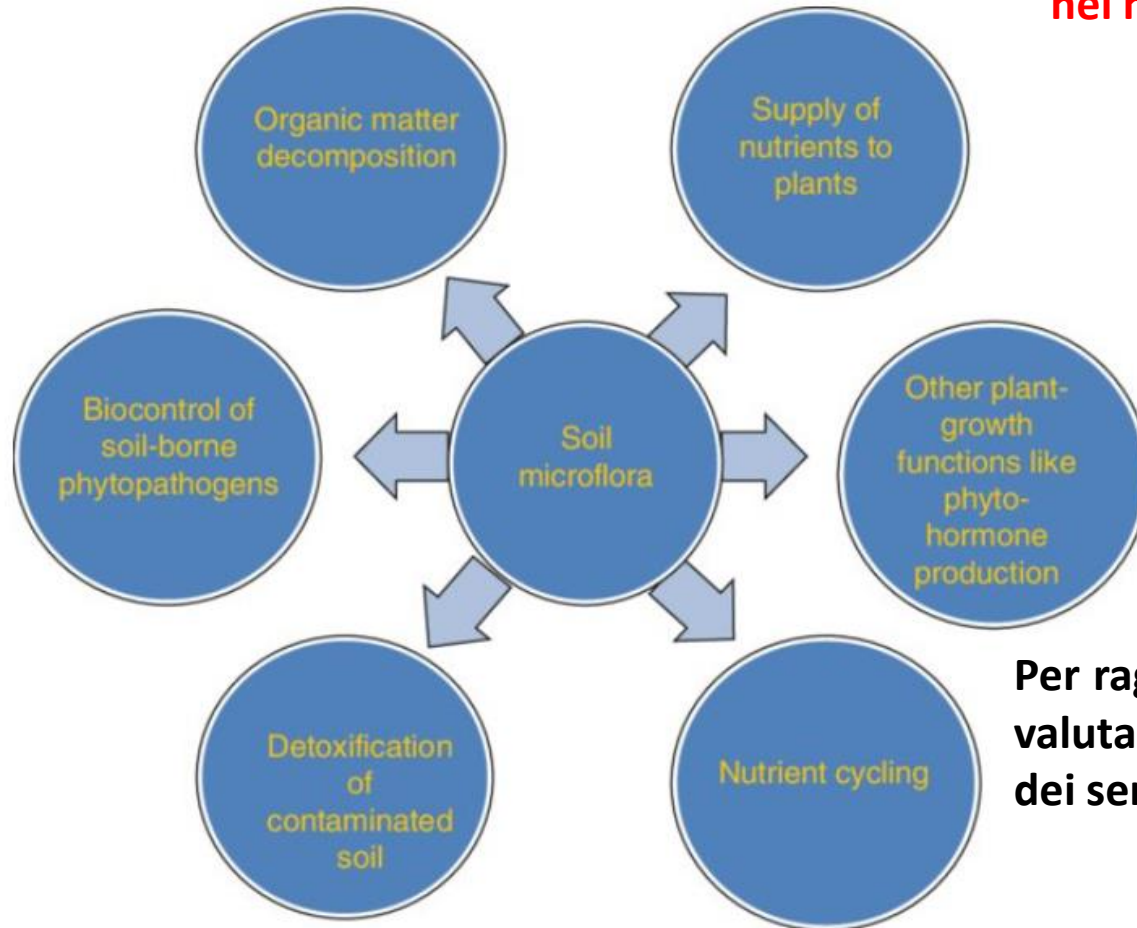
## MICORRIZE ARBUSCOLARI NEL SUOLO

Le **micorrize arbuscolari** sono **associazioni simbiotiche** che si instaurano tra le **radici** della maggior parte delle piante (~80%) e molte specie (~150) di **funghi** del suolo. I funghi interessati sono **biotrofi obbligati**, non sono in grado di vivere separatamente dalla pianta ospite.



Questa associazione mutualistica offre **reciproco vantaggio** per gli organismi coinvolti: la **pianta** fornisce ai funghi simbiotici i **carboidrati sintetizzati con la fotosintesi** che essi non sono in grado di sintetizzare; i **funghi micorrizici**, invece, metabolizzano gli **elementi minerali** presenti nel suolo e li rendono disponibili alle radici della pianta.

## Centralità dei microrganismi del suolo nel mantenimento degli ecosistemi



- Sono coinvolti nella degradazione della sostanza organica
- Rendono disponibili nutrienti e promotori della crescita (fitormoni) per le piante
- Controllano il ciclo dei nutrienti (cicli biogeochimici)
- Intervengono nella detossificazione di suoli contaminati
- Controllano i microrganismi fitopatogeni
- ...

**Per raggiungere una protezione adeguata del suolo, nel corso della valutazione del rischio ambientale, si dovrebbe tenere conto anche dei servizi ecosistemici forniti dalle comunità microbiche.**