

Un metodo fisico per la lisi delle cellule microbiche del suolo basato su alte pressurizzazioni con CO₂

S. Paliaga¹, V.A. Laudicina*¹ & L. Badalucco¹

¹ *Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università di Palermo, Italy*

*E-mail: vitoarmando.laudicina@unipa.it

La biomassa microbica del suolo (BMS), una piccola ma altamente dinamica frazione della sostanza organica del suolo, svolge un ruolo chiave nell'ecosistema suolo e pertanto le sue dimensioni e la sua attività sono determinanti per la fertilità e la qualità del suolo^[1]. Perciò, lo studio e la caratterizzazione della MBS sono essenziali per la valutazione della qualità del suolo. I due metodi ancora ampiamente utilizzati per la determinazione della MBS sono la fumigazione-incubazione (FI) e la fumigazione-estrazione (FE)^{[2][3]}. Entrambi i metodi si basano sulla fumigazione dei campioni di suolo con cloroformio (CHCl₃) per lisare le cellule microbiche e determinarne il materiale citoplasmatico.

L'uso del CHCl₃, tuttavia, solleva diverse criticità, prima fra tutte la sua tossicità per l'uomo e per l'ambiente^[4] e inoltre, diversi autori hanno dimostrato che il CHCl₃ non è completamente efficiente nel lisare le cellule microbiche^{[5][6][7]}.

Pertanto, lo scopo di questo studio è stato quello di sviluppare un nuovo approccio per lisare le cellule microbiche, che possa essere più affidabile e sicuro per l'ambiente rispetto alla fumigazione.

Il metodo proposto, chiamato CO₂HP (CO₂ - High Pressure), si basa su un'elevata pressurizzazione del suolo con CO₂, seguita da una rapida depressurizzazione. Per mettere a punto il metodo CO₂HP, sono state testate diverse combinazioni di pressione e durata di pressurizzazione e, per valutare la capacità del metodo CO₂HP di lisare le cellule microbiche del suolo, è stato effettuato un confronto con i metodi classici FI e FE. I risultati dimostrano che il nuovo metodo CO₂HP è più efficiente del CHCl₃ nel lisare le cellule microbiche del suolo. La combinazione più efficiente è risultata essere 600 psi per la pressurizzazione della CO₂ e 32 ore di durata.

A high CO₂ pressure-based method for soil microbial cells disruption

S. Paliaga¹, V.A. Laudicina*¹ & L. Badalucco¹

¹ *Department of agricultural, food and forest sciences, University of Palermo, Palermo, Italy*

*E-mail: vitoarmando.laudicina@unipa.it

Soil microbial biomass (SMB), a small but highly dynamic pool of living organic matter, plays a key role in nutrient cycling, and therefore its size and activity are crucial determinants of soil fertility and quality^[1]. For these reasons, the study and characterization of soil microbial biomass (SMB) are essential for soil quality assessment.

The two methods still widely used for SMB determination are chloroform incubation (FI) and chloroform extraction (FE)^{[2][3]}. Both methods rely on the ability of chloroform (CHCl₃) to lyse soil microbial cells so as to determine the cytoplasmic material.

The use of CHCl₃, however, raises several critical issues, chief among them that it is toxic to humans and the environment^[4]. In addition, several authors have shown that CHCl₃ is not completely efficient in lysing microbial cells^{[5][6][7]}.

Therefore, the aim of this study was to develop a new approach, possibly more reliable and environmentally safe than the CHCl₃-based method, for lysing soil microbial cells. The proposed method is based on high pressurization of the soil with CO₂, through the use of a steel reactor, followed by rapid depressurization through gas release. Hereafter, we will call this approach CO₂HP (CO₂-High Pressure).

To set up CO₂HP method, different combinations of pressure and duration of pressurization were tested, and to evaluate the ability of the CO₂HP method to lyse soil microbial cells, a comparison was made with the classical FI and FE methods.

The results indicate that the new CO₂HP method is more efficient than CHCl₃ in lysing soil microbial cells. The most efficient combination was found to be 600 psi for CO₂ pressurization and 32 hours duration.

Bibliography

- [1] Singh, J. S., & Gupta, V. K. (2018). Soil microbial biomass: a key soil driver in management of ecosystem functioning. *Science of the Total Environment*, 634, 497-500.
- [2] Jenkinson, D. S., Powlson, D. S., 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil, a method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 8, 209- 2013
- [3] Vance, E. D., Brookes, P. C., Jenkinson, D. S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19, 703-707
- [4] Lionte, C., 2010. Lethal complications after poisoning with chloroform—case report and literature review. *Human & Experimental Toxicology*, 29(7), 615-622.
- [5] Badalucco, L., De Cesare, F., Grego, S., Landi, L., Nannipieri, P., 1997. Do physical properties of soil affect chloroform efficiency in lysing microbial biomass? *Soil Biology and Biochemistry*, 29 (7), 1135–1142
- [6] Toyota, K., Ritz, K., Young, I.M., 1996. Survival of bacterial and fungal populations following chloroform-fumigation: effects of soil matric potential and bulk density. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 1545-1547.
- [7] Alessi, D.S., Walsh, D.M., Fein, J.B., 2011. Uncertainties in determining microbial biomass C using the chloroform fumigation–extraction method. *Chemical Geology*, 280 (1-2), 58-64

Bibliografia

- [1] Singh, J. S., & Gupta, V. K. (2018). Soil microbial biomass: a key soil driver in management of ecosystem functioning. *Science of the Total Environment*, 634, 497-500.
- [2] Jenkinson, D. S., Powlson, D. S., 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil, a method for measuring soil biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 8, 209- 2013
- [3] Vance, E. D., Brookes, P. C., Jenkinson, D. S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19, 703-707
- [4] Lionte, C., 2010. Lethal complications after poisoning with chloroform—case report and literature review. *Human & Experimental Toxicology*, 29(7), 615-622.
- [5] Badalucco, L., De Cesare, F., Grego, S., Landi, L., Nannipieri, P., 1997. Do physical properties of soil affect chloroform efficiency in lysing microbial biomass? *Soil Biology and Biochemistry*, 29 (7), 1135–1142
- [6] Toyota, K., Ritz, K., Young, I.M., 1996. Survival of bacterial and fungal populations following chloroform-fumigation: effects of soil matric potential and bulk density. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 1545-1547.
- [7] Alessi, D.S., Walsh, D.M., Fein, J.B., 2011. Uncertainties in determining microbial biomass C using the chloroform fumigation–extraction method. *Chemical Geology*, 280 (1-2), 58-64