

## Accumulo di C nel suolo di una piantagione di *Populus* spp. in condizioni di elevata CO<sub>2</sub> atmosferica e fertilizzazione azotata

Lagomarsino A <sup>(1)</sup>, De Angelis P\* <sup>(2)</sup>, Moscatelli MC <sup>(1)</sup>, Grego S <sup>(1)</sup>, Scarascia Mugnozza G <sup>(2)</sup>

(1) Dipartimento di Agrobiologia e Agrochimica, Università degli Studi della Tuscia, Viterbo (Italy); (2) Dipartimento di Scienze dell'Ambiente Forestale e delle sue Risorse, Università degli Studi della Tuscia, Viterbo (Italy) - \*Corresponding Author: Paolo De Angelis (pda@unitus.it).

**Abstract:** Soil carbon accumulation in a *Populus* spp. plantation supplied with high atmospheric CO<sub>2</sub> and nitrogen fertilization. This work was carried out in the experimental area POPFACE (Tuscania, Viterbo, Italy), where a poplar short rotation forest (SRF) was treated with 550 ppm of atmospheric CO<sub>2</sub> for six years. The experimental plots (Control and FACE) were divided in two halves, one of which was treated with nitrogen fertilization. The general aim of this research was to quantify the impact of the two rotation cycles, the CO<sub>2</sub> enrichment and the nitrogen fertilization on: i) soil organic matter fractions more relevant for microbial metabolism; ii) microbial C mineralization activity; and iii) the ecosystem capacity to store C in the soil. On soil samples collected from 2000 to 2004, the soil Organic C (TOC), the total extractable C (TEC) and several labile C fractions (MBC, WSC, ExC) were analysed. The microbial mineralization activity was also analysed. In comparison with the previous culture crop, the plantation increased the organic C storage in soil by about 23% in the second rotation cycle. Under elevated CO<sub>2</sub>, the increase of above- and belowground productivity supported a greater accumulation of labile C in soil, favouring a microbial C immobilization process. Fertilization treatment induced short-term changes in the soil C content, without overall modifications in the second rotation cycle.

**Keywords:** *Populus* spp., FACE, Nitrogen, Soil organic carbon, Microbial mineralization

Received: Mar 10, 2009; Accepted: May 20, 2009

**Citation:** Lagomarsino A, De Angelis P, Moscatelli MC, Grego S, Scarascia Mugnozza G, 2009. Accumulo di C nel suolo di una piantagione di *Populus* spp. in condizioni di elevata CO<sub>2</sub> atmosferica e fertilizzazione azotata. *Forest@* 6: 229-239 [online: 2009-06-30] URL: <http://www.sisef.it/forest@/>.

### Introduzione

Il destino del carbonio (C) fissato dalle piante e rilasciato nel suolo condiziona fortemente il ciclo del C degli ecosistemi terrestri (Cardon et al. 2001). Infatti, se gli apporti vegetali vengono immagazzinati in frazioni di C labile con tempi di residenza bassi, il C potrà tornare in atmosfera nel giro di pochi anni sotto forma di CO<sub>2</sub>, mentre se vengono immagazzinati in frazioni stabili il C del suolo sarà caratterizzato da tempi di *turnover* di centinaia o migliaia di anni, determinando la capacità degli ecosistemi terrestri di accumulare C (Allen et al. 2000, Luo et al. 2001). La ripartizione del C del suolo fra le frazioni stabili e labili e quindi il suo *turnover*, può essere fortemente influenzata dall'incremento della concentrazione della CO<sub>2</sub> atmosferica. L'aumento della pro-

duzione primaria netta (NPP) in elevata CO<sub>2</sub> è stato ampiamente dimostrato in diversi ecosistemi (De Lucia et al. 1999, Hamilton et al. 2001) e nella stazione sperimentale oggetto di questo studio (Gielen et al. 2005). Nello stesso sito, Lukac et al. (2003) hanno osservato un aumento della produttività e del *turnover* delle radici fini che possono aver determinato l'aumento di C labile nel suolo riportato per lo stesso sito da Hoosbeek et al. (2006) e Lagomarsino et al. 2006, Lagomarsino et al. 2008). In elevata CO<sub>2</sub> sono state inoltre osservate modificazioni della qualità degli apporti organici al suolo come l'accumulo di carboidrati non strutturali e la diminuzione della concentrazione di N nei tessuti (Gebauer et al. 1998, Cotrufo et al. 1998, Cotrufo et al. 2005, Norby et al. 2001), che possono condizionare il processo di de-

composizione microbica.

L'incremento degli apporti di C può determinare: 1) una stimolazione dell'attività microbica di decomposizione della sostanza organica, in particolare in suoli con scarsa disponibilità di nutrienti (*priming effect* - Kuzyakov et al. 2000); 2) un rallentamento dei processi di mineralizzazione della sostanza organica nativa, in particolare in suoli con abbondante riserva di nutrienti, dovuto alla preferenza dei microrganismi per i substrati più facilmente decomponibili (Cardon et al. 2001); 3) una diminuzione dell'attività di decomposizione in condizioni di scarsa disponibilità di nutrienti o un aumento della stessa in condizioni nutritive ottimali (ipotesi della competizione - Cheng 1999).

Lo *status* nutrizionale del suolo ha quindi una notevole influenza su tali processi, ed è stato ipotizzato che solo con un'adeguata disponibilità di nutrienti l'arricchimento della CO<sub>2</sub> atmosferica potrà realmente stimolare la crescita vegetale, compresa la componente ipogea, e l'accumulo di C negli ecosistemi terrestri (Stitt 1991, Vance & Chapin 2001). Inoltre, diversi studi hanno evidenziato un effetto negativo della fertilizzazione azotata sulla respirazione del suolo, sia per la componente autotrofa che eterotrofa (Bowden et al. 2004, Olsson et al. 2005).

Il presente studio è stato effettuato nell'area sperimentale POPFACE (Tuscania, Viterbo), dove una piantagione di pioppo per produzioni di biomassa a ciclo breve (SRF) è stata esposta ad una concentrazione di CO<sub>2</sub> atmosferica di 550 ppm per 2 cicli colturali della durata complessiva di 6 anni. A partire dal secondo ciclo colturale le parcelle sperimentali (FACE e Control) sono state suddivise in due metà di cui una sottoposta a fertirrigazione azotata, al fine di evidenziare eventuali interazioni tra la concentrazione di CO<sub>2</sub> atmosferica e la disponibilità di azoto (N). Su tali parcelle sono state analizzate le variazioni temporali del C organico del suolo e di sue frazioni a diverso grado di labilità. Obiettivo generale del presente lavoro è stato quello di quantificare l'effetto dei diversi cicli colturali, dell'arricchimento della CO<sub>2</sub> atmosferica e della fertilizzazione azotata su: i) le frazioni della sostanza organica del suolo più rilevanti per il metabolismo microbico; ii) l'attività microbica di mineralizzazione del C organico del suolo; iii) la capacità dell'ecosistema di accumulare C nel suolo.

## Materiali e metodi

### Descrizione del sito

L'impianto sperimentale POP-EUROFACE si trova

in centro Italia, nel territorio del comune di Tuscania (provincia di Viterbo) ad una latitudine di 42° 22' N, una longitudine di 11° 48' E e un'altitudine di 150 metri sul livello del mare, a soli 15 chilometri dalla costa tirrenica. La piantagione estesa su circa 9 ettari è divisa in due grossi settori da una strada in terra. Il suolo ha una tessitura limoso/argillosa-limosa ed un profondo orizzonte A ed è stato classificato come *Xeric Alfisol* (USDA classification: Soil Survey Staff, 1994). Per ulteriori dettagli sulle caratteristiche pedologiche del sito si rimanda a Hoosbeek et al. (2004). Il clima è tipicamente mediterraneo con estati calde e asciutte, inverni miti ed umidi ed una temperatura media annuale di 14 °C. Le precipitazioni annuali ammontano mediamente a 818 mm. Prima della piantagione il terreno è stato arato e poi sminuzzato due volte usando una fresatrice per rimuovere le erbe e per migliorare la struttura del suolo, precedentemente coltivato a grano. La piantagione è stata effettuata nel 1999 usando delle talee lunghe circa 25 cm di *Populus x euramericana* (Dode Guiner clone I-214), selezionate per dimensione, stato di germogliamento ed uniformità di vigore, ad una densità di piantagione di 5000 piante per ettaro (2x1 m). L'intero impianto è stato dotato di un sistema di irrigazione a goccia, che ha mediamente erogato 5-10 mm di acqua al giorno nel periodo maggio-settembre. All'interno, in sei *plots* sperimentali sono state piantate talee di tre diverse specie: una selezione italiana di *Populus alba* L. (clone 2AS-11), *Populus nigra* L. (clone Jean Pourtet) e il sopraccitato *P. x euramericana*, ad una densità di diecimila alberi per ettaro (1x1 m). I sei *plots* di forma quadrata con lati di trenta metri di lunghezza, sono separati l'uno dall'altro da almeno centoventi metri, per evitare eventuali contaminazioni tra le zone fumigate con CO<sub>2</sub> e quelle di controllo. Tre *plots* erano fumigati con tecnologia FACE (Miglietta et al. 2001) per ottenere una concentrazione desiderata di CO<sub>2</sub> atmosferica di 550 ppm durante le ore diurne del periodo vegetativo, gli altri di controllo avevano condizioni di CO<sub>2</sub> ambientale pari a circa 375 ppm. Ogni *plot* è stato suddiviso in due zone (fertilizzato e non fertilizzato) ed ognuna di queste in ulteriori tre settori corrispondenti alle tre specie. Le due metà di ogni *plot* sono state separate da una barriera in vetroresina, posta fino ad una profondità di un metro per evitare i movimenti di nutrienti tra le due tesi. Complessivamente erano quindi presenti 36 settori sperimentali (3 specie x 2 tesi di fertilizzazione x 2 tesi di CO<sub>2</sub> x 3 repliche). L'azoto non è stato immesso nei primi tre anni del ciclo, ma solo a partire dal 2002, in concentrazioni di 212 kg ha<sup>-1</sup> nel pri-

mo anno e 290 nel secondo e nel terzo. Prima della fertilizzazione (giugno 2002) il contenuto di N totale era pari a 0.13 % mentre quello inorganico era pari a circa  $10 \mu\text{g g}^{-1}$  (Moscatelli et al. 2008). Alcune pompe idrauliche (Ferti-injector Amiad, IMAGO s.r.l., Italia), distribuivano il fertilizzante attraverso il sistema di irrigazione: nel 2002 Navarsol 20.6.6 (N,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{K}_2\text{O}$  + microelementi) dato in rapporto  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  pari a 4:1; nel 2003 e 2004 nitrato di ammonio 34.0.0 (N,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ), dato in rapporto  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  pari a 1:1. La fertilizzazione è stata effettuata una volta a settimana in quantità costante nel 2002 a partire dall'otto luglio per un periodo di 16 settimane; in dosi proporzionali alla crescita delle piante nel 2003 e 2004, a partire dal sei maggio per un periodo di 20 settimane (per ulteriori dettagli si rimanda a Moscatelli et al. 2008). Nell'inverno 2001, tutti gli alberi, che ormai avevano raggiunto l'altezza di circa 9 metri (Luo et al. 2006), sono stati ceduati ad un'altezza di 5-8 cm sopra il livello del terreno. Durante la seconda rotazione (2002-2004), le ceppaie hanno prodotto molti polloni che non sono stati diradati. L'altezza degli alberi era in media 1.4-1.8 m alla fine della prima stagione vegetativa, 6-7 m dopo la seconda e quasi 10 m dopo la terza. La biomassa al termine del II ciclo di rotazione era stimolata dall'elevata  $\text{CO}_2$  di circa il 21% per la parte epigea e di circa il 32% per la parte ipogea. Il trattamento di fertilizzazione non aveva prodotto effetti significativi sulla biomassa, né interazioni con il trattamento  $\text{CO}_2$  (Liberloo et al. 2006).

### Campionamento

Dopo la rimozione dello strato superficiale di lettiera, per ogni settore sono stati prelevati due campioni di suolo nello strato minerale alla profondità di 0-20 cm, per un totale di 36 campioni nelle parcelle non fertilizzate nel 2001 e 72 campioni per ogni data di campionamento da giugno 2002 ad ottobre 2004. Nel giugno 2002 i campioni sono stati prelevati anche nelle parcelle fertilizzate sebbene la somministrazione sia cominciata il mese successivo, quindi i dati relativi a quel campionamento sono stati esclusi dal calcolo dell'effetto del trattamento di fertilizzazione. Dopo il campionamento, il suolo è stato setacciato a 2 mm e conservato a  $4^\circ\text{C}$  prima delle analisi.

### Analisi

Il C del suolo è stato analizzato come C Organico Totale (TOC), come frazione stabile estraibile (TEC), comprensiva di acidi umici e acidi fulvici, e come frazione labile (LC). LC rappresenta la frazione attiva della sostanza organica in quanto substrato diretta-

mente utilizzabile dai microorganismi (Dumontet et al. 2001). All'interno di tale frazione sono state analizzate le variazioni: i) della biomassa microbica (MBC), responsabile della decomposizione dei residui ed allo stesso tempo substrato per gli altri micro- e macro-organismi del suolo; ii) del C estraibile in  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (ExC), che include composti a labilità intermedia; iii) del C solubile in acqua (WSC), che rappresenta la fonte di C più facilmente e velocemente decomponibile nel suolo (Wang et al. 2003) ed il principale fattore limitante per la respirazione microbica nel suolo (Cheng et al. 1996).

Per le analisi biochimiche il suolo è stato condizionato al 60% della capacità di ritenzione idrica (WHC) 24 ore prima delle analisi. Il Carbonio Organico Totale (TOC) e il C Estraibile Totale (TEC) sono stati determinati mediante ossidazione con  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  2N e successiva titolazione con  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.4N seguendo il metodo descritto in Springer & Klee (1954). Il TEC era stato precedentemente estratto in  $\text{NaOH}/\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0.1M. Il C della Biomassa Microbica (MBC) è stato determinato seguendo il metodo della Fumigazione Estrazione (FE): due porzioni di suolo sono state portate al 60% della capacità di ritenzione idrica (WHC). Di queste, la prima è stata immediatamente estratta con  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0.5M e successivamente filtrata con filtri Whatman n. 42; la seconda è stata fumigata per 24 h a  $25^\circ\text{C}$  con  $\text{CHCl}_3$  e successivamente estratta come la prima. Il C organico negli estratti è stato determinato mediante ossidazione con  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  0.4 N e successiva titolazione. Il C microbico è stato calcolato come segue:  $\text{MBC} = E_C / k_{EC}$ , dove  $E_C$  è la differenza tra il C estratto nei suoli fumigati e il C estratto dai suoli non fumigati e  $k_{EC} = 0.38$  (Vance et al. 1987). Il C estratto nei suoli non fumigati rappresenta la frazione ExC, e la somma  $\text{MBC} + \text{ExC}$  rappresenta la frazione labile complessiva (LC) in accordo con Dumontet et al. (2001). Il C solubile in  $\text{H}_2\text{O}$  (WSC) è stato determinato con estrazione in acqua deionizzata a temperatura ambiente, ossidazione con  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  0.4 N e successiva titolazione secondo il metodo di Burford & Bremner (1975).

Per la determinazione della respirazione microbica il suolo è stato incubato a  $28^\circ\text{C}$  in fiasche con tappo ermetico, al cui interno sono stati aggiunti 2 ml di  $\text{NaOH}$  1 N. La  $\text{CO}_2$  evoluta durante l'incubazione, intrappolata nella soluzione di  $\text{NaOH}$ , è stata determinata mediante titolazione con  $\text{HCl}$  0.1M dopo 1, 3, 7 e 10 giorni (Badalucco et al. 1992). La  $\text{CO}_2$  evoluta cumulativamente nei 10 giorni di incubazione è stata espressa come frazione di TOC mineralizzata durante l'incubazione (qM), calcolata come (eqn. 1 - Pinza-

ri et al. 1999):

$$qM = \mu g C - CO_2 \text{ cumulativa} \cdot \mu g TOC^{-1}$$

Considerando la variabilità spaziale del contenuto iniziale di C organico nella piantagione (Hoosbeek et al. 2004) tutte le frazioni precedentemente descritte sono state espresse come porzione percentuale del TOC. La variazione temporale del TOC ( $\Delta TOC$ ) è stata calcolata come differenza in g TOC  $kg^{-1}$  rispetto al contenuto di C dell'anno precedente e complessivamente nel secondo ciclo (giugno 2002 - ottobre 2004).

#### Analisi statistica

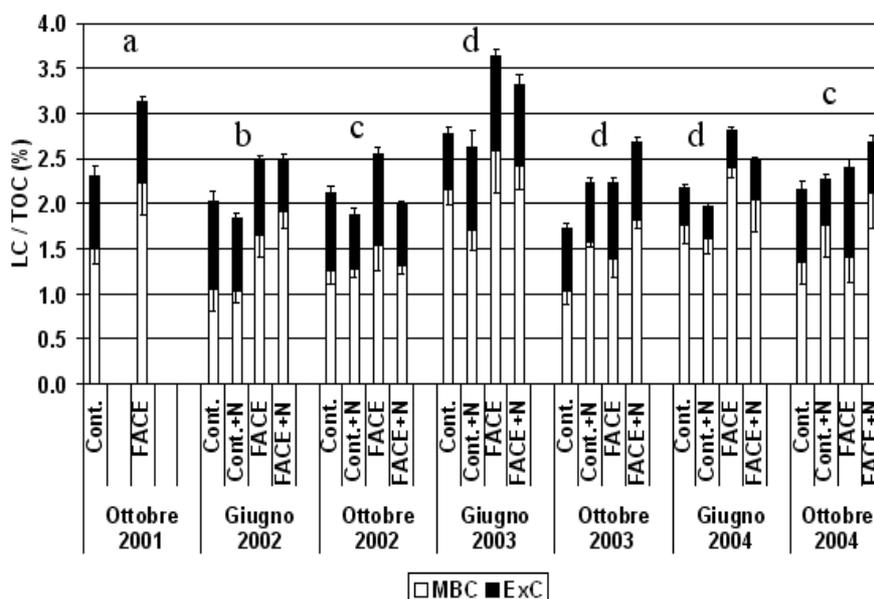
Per valutare la significatività statistica degli effetti dell'elevata  $CO_2$ , della fertilizzazione, delle variazioni temporali e delle loro interazioni sui parametri esaminati è stata utilizzata l'analisi della varianza a più fattori (ANOVA). Si è scelto di considerare il tempo come fattore di variazione al fine di tener conto delle modificazioni indotte dalle variazioni temporali e della loro interazione con i trattamenti. Le differenze indotte dai diversi genotipi non sono risultate significative, di conseguenza i dati relativi ai tre cloni sono stati raggruppati. La normalità dei dati è stata analizzata mediante il test Shapiro-Wilk. È stato applicato un disegno a blocchi randomizzati mediante la procedura di *General Linear Model* con  $CO_2$ , N e tempo come fattori di variazione, usando la parcella come unità di replica. Per l'analisi statistica è stato utilizzato il pacchetto SYSTAT 11.0 (SPSS Inc.). La significatività dell'effetto FACE è stata determinata nelle parcelle non fertilizzate per il periodo 2001 - 2004 ( $n = 18$ ) e in tutte le parcelle per il periodo 2002-

2004 ( $n = 36$ ). Le interazioni non significative sono state escluse dall'analisi. Gli effetti FACE e fertilizzazione, riportati come variazione percentuale rispetto al controllo, sono stati calcolati per ogni parametro sul valore medio del periodo 2001 - 2004 per il FACE e del periodo ottobre 2002 - ottobre 2004 per la fertilizzazione.

#### Risultati

La frazione complessiva di C labile (LC) è variata nel corso delle stagioni e nei diversi anni, fra l'1.5% al 3.5% del TOC; i valori più elevati sono stati osservati a giugno 2003 (Fig. 1). L'elevata  $[CO_2]$  ha aumentato significativamente ( $p < 0.05$ ) il contenuto di C labile nel suolo nei quattro anni di osservazione (Fig. 1, Tab. 1). L'aumento, mediamente pari al 24%, è stato osservato nei suoli fertilizzati e non fertilizzati e non sono state osservate interazioni significative tra i due trattamenti (Tab. 1). Diversamente, la fertilizzazione ha diminuito mediamente di circa il 4% la frazione labile di C nel suolo ( $p < 0.01$ ), principalmente a causa della riduzione dell'ExC (-19%;  $p < 0.05$ ; Tab. 1). Il peso relativo delle due componenti (MBC e ExC) sulla frazione labile complessiva non è stato modificato negli anni e non è stato influenzato dal trattamento FACE (Fig. 1). Diversamente, la fertilizzazione ha ridotto il peso relativo di ExC senza modificare quello di MBC.

Anche la frazione di C labile solubile in acqua (WSC) ha mostrato significative variazioni fra le diverse date di campionamento, con valori compresi tra 0.1% e 0.5% del TOC (Fig. 2, Tab. 1). L'aumento a seguito dell'elevata  $CO_2$  è visibile in tutte le date di campionamento (Fig. 2) ed è stato in media pari al



**Fig. 1** - C labile complessivo (C della biomassa microbica + C estraibile in  $K_2SO_4$ ), espresso per unità di TOC. Sono riportati i valori nei suoli FACE e Controllo (Cont.) non fertilizzati per gli anni 2001-2004 e fertilizzati (+N) per gli anni 2002-2004. Lettere diverse identificano differenze significative tra gli anni ( $p < 0.05$ ).

**Tab. 1** - Effetti medi percentuali dei trattamenti sul C estraibile totale (TEC), il C della biomassa microbica (MBC), il C estraibile in K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (ExC), il C labile complessivo (LC), il C solubile in H<sub>2</sub>O (WSC) ed il quoziente di mineralizzazione (qM). L'effetto FACE si riferisce ai suoli non fertilizzati per gli anni 2001-2004 e ai suoli fertilizzati (+N) per gli anni 2002-2004. L'effetto della fertilizzazione è riportato per i suoli FACE (F) e di Controllo (C). È riportata la significatività dei trattamenti, delle variazioni nel tempo e delle interazioni. Non sono riportati i valori per p>0.05.

Tesi	TEC	MBC	ExC	LC	WSC	QM
FACE	-2%	+29%	+17%	+26%	+25%	+8%
FACE +N	+2%	+23%	+13%	+22%	+16%	-1%
Fertilizzazione [C]	+2%	+10%	-18%	-2%	-24%	-2%
Fertilizzazione [F]	+2%	+4%	-20%	-5%	-29%	-10%
Analisi della varianza						
CO <sub>2</sub>	n.s.	0.004	0.012	0.019	0.020	n.s.
Fertilizzazione	n.s.	n.s.	0.012	0.001	0.010	n.s.
var. temporale	n.s.	n.s.	n.s.	0.000	0.000	0.000
var. temp. x fert.	n.s.	n.s.	n.s.	0.000	n.s.	0.031

13% (p<0.05 - Tab. 1). Diversamente, il WSC è diminuito a seguito del trattamento di fertilizzazione di circa l'8% (p<0.05 - Tab. 1), con effetti variabili fra le diverse date di campionamento (Fig. 2).

La frazione stabile del C organico estraibile (TEC), è rimasta costante negli anni, con valori intorno al 65% del TOC (Fig. 3). I trattamenti non hanno indotto modificazioni del contenuto di C estraibile (TEC - Tab. 1).

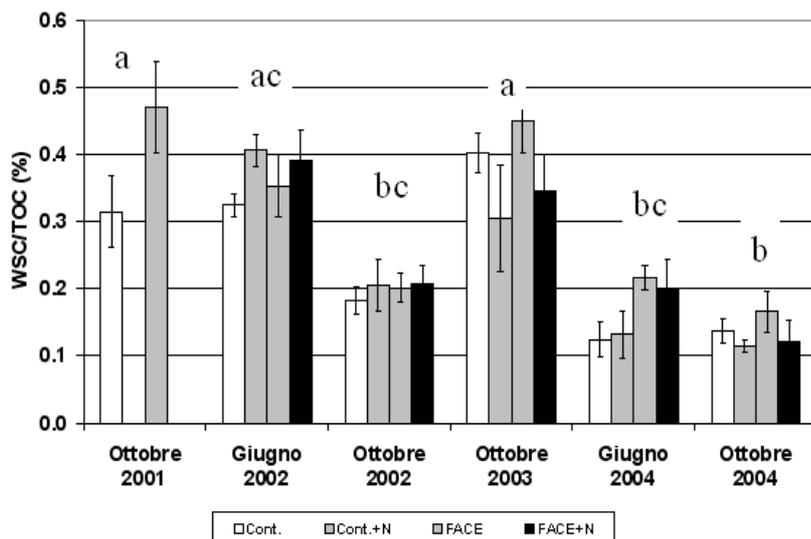
Diversamente, il contenuto di C organico totale (TOC) ha mostrato variazioni significative negli anni (Tab. 2). Ad eccezione di una riduzione verificatasi al termine della stagione vegetativa 2003, il C organico totale del suolo è aumentato in maniera significativa durante la prima (2001-2002) e terza stagione di crescita (2003-04), facendo registrare un aumento com-

plessivo del 23% nel secondo ciclo culturale. L'elevata CO<sub>2</sub> non ha modificato tale tendenza, mentre la fertilizzazione ha reso più marcata la riduzione osservata in tutti i trattamenti nel 2003 (Tab. 2).

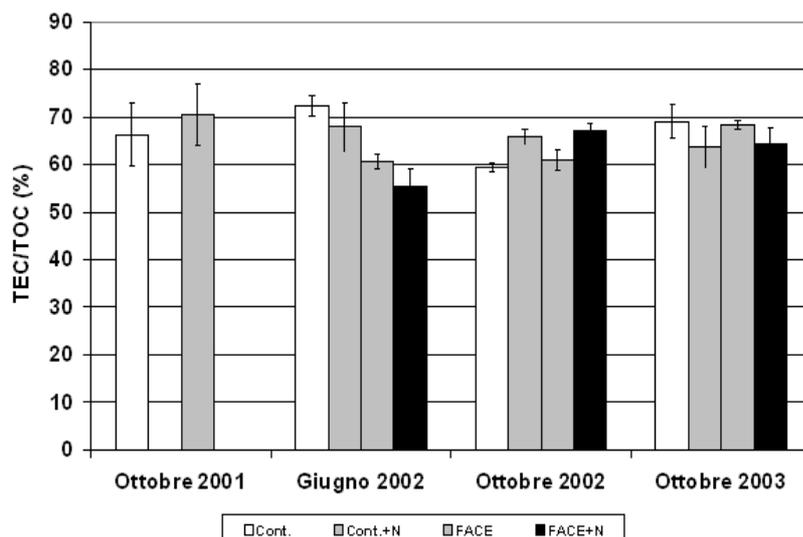
Il quoziente di mineralizzazione microbica (qM) è quasi raddoppiato nell'estate 2003 se confrontato con i valori medi determinati in tutte le altre date di campionamento (Fig. 4). L'elevata CO<sub>2</sub> non ha determinato modificazioni significative dell'attività microbica, mentre la fertilizzazione ha avuto effetti opposti a seconda della data di campionamento (Fig. 4 e Tab. 1). In particolare nei *plots* fertilizzati si osservava una riduzione significativa (-23%, p<0.05) ad ottobre 2004 ed un incremento significativo (+13%, p<0.05) ad ottobre 2003.

**Tab. 2** - Variazioni annuali dei valori di C organico totale e variazione complessiva nel secondo ciclo per i suoli FACE e di Controllo non fertilizzati e fertilizzati +N. È riportata la significatività dei trattamenti e delle variazioni nei diversi periodi. In parentesi è riportato l'errore standard.

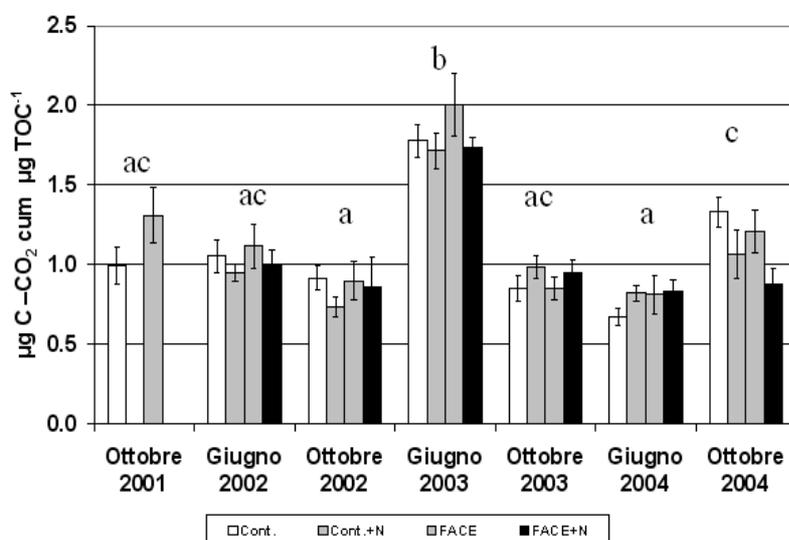
Tesi	Variazioni nel contenuto di C organico totale (g C kg <sup>-1</sup> )			
	Δ 2001-2002	Δ 2002-2003	Δ 2003-2004	Δ II ciclo
Controllo	+0.66 (0.65)	-0.37 (0.23)	+3.12 (0.45)	+2.53 (0.62)
FACE	+1.21 (0.22)	-0.38 (0.29)	+2.02 (0.87)	+1.96 (0.69)
Controllo +N	-	-1.42 (0.41)	+2.61 (1.10)	+2.41 (0.67)
FACE +N	-	-0.62 (0.19)	+3.10 (0.42)	+2.13 (0.41)
Analisi della varianza				
CO <sub>2</sub>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Fertilizzazione	-	0.049	n.s.	n.s.
var. temporale	0.000	0.000	0.000	0.000



**Fig. 2** - C solubile in acqua (WSC), espresso per unità di TOC. Sono riportati i valori nei suoli FACE e Controllo (Cont.) non fertilizzati per gli anni 2001-2004 e fertilizzati (+N) per gli anni 2002-2004. Lettere diverse identificano differenze significative tra gli anni ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 3** - C estraibile totale (TEC), espresso per unità di TOC. Sono riportati i valori nei suoli FACE e Controllo (Cont.) non fertilizzati per gli anni 2001-2004 e fertilizzati (+N) per gli anni 2002-2003. Non sono state osservate differenze significative tra gli anni.



**Fig. 4** - Quoziente di mineralizzazione (qM), misurato come respirazione cumulativa in 10 giorni di incubazione espressa per unità di TOC. Sono riportati i valori nei suoli FACE e Controllo (Cont.) non fertilizzati per gli anni 2001-2004 e fertilizzati (+N) per gli anni 2002-2004. Lettere diverse identificano differenze significative tra gli anni ( $p < 0.05$ ).

## Discussione

### Variabilità temporale

La variabilità temporale del contenuto di C organico nella piantagione sembra essere strettamente legata all'attività di decomposizione microbica. Il picco di attività microbica registrato a giugno 2003 può essere infatti la causa della significativa riduzione del TOC osservata alla fine di quell'anno. Sebbene il picco di attività microbica e la successiva riduzione del TOC siano stati più pronunciati nel trattamento FACE non fertilizzato, l'effetto dell'elevata CO<sub>2</sub> su tali parametri è risultato statisticamente non significativo. Pur tenendo conto che la respirazione microbica è stata misurata in condizioni potenziali di laboratorio, una possibile causa dell'incremento di attività microbica osservato nel giugno 2003 può essere legata al particolare andamento climatico di quell'anno. Nel 2003 sono state infatti registrate temperature primaverili-estive particolarmente elevate in tutta Europa (Luterbacher et al. 2004) che, unite alla disponibilità idrica nella piantagione, possono aver favorito l'attività di decomposizione microbica del suolo (Kirschbaum 1995, Pendall et al. 2004), confermando la perdita di C riscontrata su vasta scala da Ciais et al. (2005) per quell'anno. Non si può escludere però anche un effetto "memoria" della ceduzione del 2002, legato all'accumulo di lettiera radicale disponibile quindi per una sostenuta attività di decomposizione. Trueman & Gonzalez-Meler 2005 hanno osservato un'analogia diminuzione di C organico dopo il taglio di ceduzione in una piantagione di *P. deltooides*, particolarmente evidente durante la successiva stagione di crescita. Si ritiene quindi che la concomitanza di fattori favorevoli per l'attività microbica (temperature elevate, disponibilità idrica e disponibilità di substrati) possa aver determinato la diminuzione del C organico osservata nell'anno 2003. La maggiore disponibilità di N nei suoli fertilizzati ha ulteriormente alimentato l'attività di decomposizione microbica, determinando maggiori perdite di C organico. Questo effetto positivo di breve termine della fertilizzazione azotata sulla mineralizzazione della sostanza organica è tuttavia in contrasto con l'effetto di segno negativo spesso osservato nel lungo termine (Bowden et al. 2004).

In ogni caso, la riduzione del 2003 è stato un fenomeno temporaneo, e complessivamente la piantagione ha favorito l'accumulo di C organico nel suolo, con un incremento del 23% nel secondo ciclo colturale. Tale accumulo è stato indipendente dai trattamenti, evidenziando un ruolo positivo delle piantagioni

forestali (anche a ciclo breve) sull'immagazzinamento di C, quando sono realizzate su suoli precedentemente destinati alle colture agrarie. Studi effettuati in diversi ambienti riportano aumenti percentuali nel contenuto di C organico nel terreno a seguito di interventi di afforestazione comparabili con i risultati ottenuti in questo studio (Post & Know 2000, Guo & Gifford 2002, Six et al. 2002). Cambiamenti di uso del suolo da colture agrarie a SRF riportano in genere aumenti del contenuto di C nel suolo estremamente variabili, in alcuni casi presentando una diminuzione iniziale nei primi anni dall'impianto (Grigal & Berguson 1998), che tuttavia non è stata osservata nel presente studio. Aumenti più consistenti, comparabili con quelli riportati in questo studio, sono stati osservati nei primi 20 cm nel caso di valori di C iniziale relativamente bassi (Coleman et al. 2004), o a seguito di pratiche irrigue o di fertilizzazione (Madeira et al. 2002). Hansen (1993) osservava incrementi simili, dell'ordine di 1-2 t ha<sup>-1</sup> anno<sup>-1</sup>, in piantagioni di pioppi ibridi. Nella SRF oggetto di questo studio, l'elevata capacità di accumulare C anche nel breve termine è stata la diretta conseguenza dei rilevanti apporti di sostanza organica al suolo, derivanti dalla lettiera fogliare (Hoosbeek & Scarascia Mugnozza 2008), dal turnover radicale e dalle micorrize (Godbold et al. 2006).

### Elevata CO<sub>2</sub> atmosferica

L'elevata CO<sub>2</sub> può aumentare gli apporti di C organico al suolo attraverso incrementi della produttività e del turnover delle radici fini (Heath et al. 2005). Nella stazione sperimentale POPFACE Lukac et al. (2003) e Godbold et al. (2006) hanno riportato significativi aumenti della produttività e del turnover delle radici fini a seguito dell'elevata CO<sub>2</sub>, a cui però non ha corrisposto una modificazione dell'attività microbica (questo studio).

Il legame tra le frazioni labili della sostanza organica, la produttività radicale e l'attività microbica è ben spiegato dal meccanismo del *priming effect* (Kuziakov 2002). Trueman & Gonzalez-Meler 2005 hanno osservato un aumento dei tassi di decomposizione e la conseguente diminuzione del C organico del suolo in elevata CO<sub>2</sub>, a seguito dell'incremento degli *input* carboniosi labili. Nella stazione sperimentale POPFACE Hoosbeek et al. (2004), osservando la perdita di C organico nei primi 10 cm di suolo minerale, hanno ipotizzato un meccanismo *priming* in elevata CO<sub>2</sub>, che tuttavia si è esaurito nel primo ciclo colturale. Infatti, Hoosbeek et al. (2006), Hoosbeek & Scarascia Mugnozza (2008) hanno determinato nel se-

condo ciclo colturale un accumulo di C organico, che ha compensato la perdita osservata nel primo ciclo colturale. Hu et al. (1999) hanno riportato cambiamenti temporali nelle modificazioni indotte dall'elevata CO<sub>2</sub> sui processi microbici in seguito a cambiamenti della disponibilità di N nel suolo. Tuttavia, la fertilizzazione azotata non ha modificato l'accumulo di C nel suolo in elevata CO<sub>2</sub>, suggerendo che, oltre alla disponibilità di N, altri fattori possano aver contribuito a limitare i processi microbici nel suolo. Analizzando le modificazioni qualitative avvenute a carico di alcune frazioni della sostanza organica, si ritiene che il più elevato rapporto C/N della lettiera (Cotrufo et al. 2005) e della sostanza organica labile (Lagomarsino et al. 2006), possano avere ridotto la capacità dei microrganismi di decomporre i substrati disponibili. L'effetto dell'elevata CO<sub>2</sub> sul rapporto C/N delle frazioni labili del suolo è simile nei suoli fertilizzati e non fertilizzati e non sono state osservate interazioni tra i due trattamenti per nessuno dei parametri esaminati. In conseguenza della minore qualità dei substrati, il surplus di C labile in elevata CO<sub>2</sub> sembra essere quindi stato accumulato nelle cellule microbiche, come dimostrato dall'aumento del C microbico. Il rapporto tra C microbico e TOC è considerato un indicatore precoce di modificazioni del contenuto di sostanza organica nel lungo termine (Anderson & Domsch 1989, Anderson 2003), più difficili da identificare nel breve termine a causa della grande quantità di C nel suolo (Ross et al. 1995, Hungate et al. 1996, Six et al. 2001). Dai nostri dati l'aumento di TOC conseguente all'impianto della SRF non è stato modificato dall'elevata CO<sub>2</sub> dopo 6 anni di trattamento ma, ferme restando le condizioni nutritive del suolo e la qualità degli apporti organici, è possibile ipotizzare una tendenza all'accumulo di C in elevata CO<sub>2</sub> in tali sistemi forestali.

#### Fertilizzazione azotata

La diminuzione del C delle frazioni labili a seguito della fertilizzazione può essere imputabile ad una riduzione della disponibilità di C per i microrganismi attraverso i) la condensazione con l'humus (Nohrstedt et al. 1989); ii) la repressione dell'attività dei funghi ligninolitici (Keyser et al. 1978) e iii) la variazione della qualità della lettiera (Berg 2000). Tuttavia, l'assenza di chiari effetti su biomassa e respirazione microbica (questo studio) fa supporre che nel nostro sito sperimentale la minore produttività radicale (Liberloo et al. 2006) possa aver ridotto gli apporti di sostanza organica e di conseguenza il contenuto di C labile nei suoli fertilizzati.

Per quanto riguarda la frazione stabile ed il TOC, studi riguardanti l'effetto della fertilizzazione indicano spesso un aumento del C organico nel suolo (Blevins et al. 1983, McAndrew & Malhi 1992, Townsend et al. 1996). Tuttavia, tale effetto può dipendere dal tipo di suolo (Hagedorn et al. 2001) o dalle dosi e dal tipo di fertilizzante usato (Raun et al. 1998). Nel nostro studio sono state osservate variazioni temporali di breve termine a seguito della fertilizzazione sia nel contenuto di C organico, sia nell'attività di mineralizzazione microbica del suolo. Considerando i tre anni, tuttavia, l'effetto è stato statisticamente nullo ed il rapido aumento del C organico del suolo negli ultimi due anni del secondo ciclo colturale ha pienamente compensato la perdita osservata nel 2003.

In conclusione si può affermare che, indipendentemente dai trattamenti, la piantagione ha favorito negli anni l'accumulo di C organico nel suolo. L'elevata concentrazione di CO<sub>2</sub> nell'atmosfera non ha modificato tale tendenza, ma ulteriori studi potrebbero evidenziare un effetto positivo nel lungo periodo, in conseguenza dei maggiori apporti di sostanza organica al suolo e della loro ridotta decomponibilità. Il trattamento di fertilizzazione, pur riducendo le frazioni labili, ha determinato variazioni di breve termine del contenuto di C organico del suolo, senza modificazioni complessive nel secondo ciclo colturale.

#### Ringraziamenti

Ricerca svolta grazie al progetto CE EUROFACE (EVR1-CT-2002-40027) e MIUR Centro di Eccellenza "Foreste & Clima", coordinati dal Prof. Giuseppe Scarascia Mugnozza.

#### Bibliografia

- Allen AS, Andrews JA, Finzi AC, Matamala R, Richter DD, Schlesinger WH (2000). Effects of Free Air CO<sub>2</sub> Enrichment (FACE) on belowground processes in a *Pinus taeda* forest. *Ecological Applications* 10: 437-448.
- Anderson TH (2003). Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 98: 285-293. - doi: 10.1016/S0167-8809(03)00088-4
- Anderson TH, Domsch KH (1989). Ratios of microbial biomass carbon to total organic-C in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 471-479. - doi: 10.1016/0038-0717(89)90117-X
- Badaluco L, Grego S, Dell'Orco S, Nannipieri P (1992). Effect of liming on some chemical, biochemical and microbiological properties of acid soil under spruce (*Picea abies* L.). *Biology and Fertility of Soils* 14: 76-83. - doi: 10.1007/BF00336254

- Berg B (2000). Litter decomposition and organic matter turnover in northern forest soils. *Forest Ecology and Management* 133: 13-22. - doi: 10.1016/S0378-1127(99)00294-7
- Blevins RL, Thomas GW, Smith MS, Frye WW, Cornelius PL (1983). Changes in soil properties after 10 years of continuous non-tilled and conventionally-tilled corn. *Soil Tillage and Research* 3: 135-136. - doi: 10.1016/0167-1987(83)90004-1
- Bowden RD, Davidson E, Savage K, Arabia C, Steudler P (2004). Chronic nitrogen additions reduce total soil respiration and microbial respiration in temperate forest soils at the Harvard Forest. *Forest Ecology and Management* 196: 43-56. - doi: 10.1016/j.foreco.2004.03.011
- Burford JR, Bremner JM (1975). Relationships between the denitrification capacities of soils and total, water-soluble and readily decomposable soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 7: 389-394. - doi: 10.1016/0038-0717(75)90055-3
- Cardon ZG, Hungate BA, Cambardella CA, Chapin III FS, Field CB, Holland EA, Mooney HA (2001). Contrasting effect of elevated CO<sub>2</sub> on old and new soil carbon pools. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 365-373. - doi: 10.1016/S0038-0717(00)00151-6
- Cheng W (1999). Rhizosphere feedbacks in elevated CO<sub>2</sub>. *Tree physiology* 19: 313-320. [online] URL: <http://tree-phys.oxfordjournals.org/cgi/reprint/19/4-5/313.pdf>
- Cheng W, Zhang Q, Coleman DC, Carroll CR, Hoffman CA (1996). Is available carbon limiting microbial respiration in the rhizosphere? *Soil Biology and Biochemistry* 28: 1283-1288. - doi: 10.1016/S0038-0717(96)00138-1
- Ciais P, Reichstein M, Viovy N, Granier A, Oge'e J, Allard V, Aubinet M, Buchmann N, Bernhofer C, Carrara A, Chevallier F, De Noblet N, Friend AD, Friedlingstein P, Grunwald T, Heinesch B, Keronen P, Knohl A, Krinner G, Loustau D, Manca G, Matteucci G, Miglietta F, Ourcival JM, Papale D, Pilegaard K, Rambal S, Seufert G, Soussana JF, Sanz MJ, Schulze ED, Vesala T, Valentini R (2005). Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature* 437: 529-533. - doi: 10.1038/nature03972
- Coleman MD, Isebrands JG, Tolsted DN, Tolbert VR (2004). Comparing soil carbon of short rotation poplar plantations with agricultural crops and woodlots in north central United States. *Environmental Management* 33(1): 299-308. - doi: 10.1007/s00267-003-9139-9
- Cotrufo MF, De Angelis P, Polle A (2005). Leaf litter production and decomposition in a poplar short-rotation coppice exposed to free air CO<sub>2</sub> enrichment (POPFACE). *Global Change Biology* 11: 1-12. - doi: 10.1111/j.1365-2486.2005.00958.x
- Cotrufo MF, Ineson P, Scott A (1998). Elevated CO<sub>2</sub> reduces the nitrogen concentration of plant tissues. *Global Change Biology* 4: 43-54. - doi: 10.1046/j.1365-2486.1998.00101.x
- De Lucia EH, Hamilton JG, Naidu SL, Thomas RB, Andrews JA, Finzi A, Lavine M, Matamala R, Mohan JE, Hendrey GR, Schlesinger WH (1999). Net primary production of a forest ecosystem with experimental CO<sub>2</sub> enrichment. *Science* 284: 1177-1179. - doi: 10.1126/science.284.5417.1177
- Dumontet S, Mazzatura A, Casucci C, Perucci P (2001). Effectiveness of microbial indexes in discriminating interactive effects of tillage and crop rotations in a Vertic Ustorthens. *Biology and Fertility of soils* 34: 411-416. - doi: 10.1007/s00374-001-0424-6
- Gebauer RLE, Strain BR, Reynolds JF (1998). The effect of elevated CO<sub>2</sub> and N availability on tissue concentrations and whole plant pools of carbon-based secondary compounds in loblolly pine (*Pinus taeda*). *Oecologia* 113: 29-36.; - doi: 10.1007/s004420050350
- Gielen B, Calfapietra C, Lukac M, Wittig VE, De Angelis P, Janssens IA, Moscatelli MC, Grego S, Cotrufo MF, Godbold DL, Hoosbeek MR, Long SP, Miglietta F, Polle A, Bernacchi CJ, Davey PA, Ceulemans R, Scarascia Mugnozza G (2005). Net carbon storage in a poplar plantation (POPFACE) after three years of free-air CO<sub>2</sub> enrichment. *Tree Physiology* 25: 1399-1408.
- Godbold DL, Hoosbeek MR, Lukac M, Cotrufo MF, Janssens IA, Ceulemans R, Polle A, Velthorst EJ, Scarascia Mugnozza G, De Angelis P, Miglietta F, Peressotti A (2006). Mycorrhizal hyphal turnover as a dominant process for carbon input into soil organic matter. *Plant and Soil* 281: 15-24. - doi: 10.1007/s11104-005-3701-6
- Grigal DF, Berguson WE (1998). Soil carbon changes associated with short-rotation systems. *Biomass and Bioenergy* 14: 371-377. - doi: 10.1016/S0961-9534(97)10073-3
- Guo LB, Gifford RM (2002). Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Global Change Biology* 8: 345-360. - doi: 10.1046/j.1354-1013.2002.00486.x
- Hagedorn F, Maurer S, Egli P, Blaser P, Bucher JB, Siegwolf R (2001). Carbon sequestration in forest soils: effects of soil type, atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment and N deposition. *European Journal of Soil Science* 52: 619-628. - doi: 10.1046/j.1365-2389.2001.00412.x
- Hamilton JG, Thomas RB, De Lucia EH (2001). Direct and indirect effects of elevated CO<sub>2</sub> on leaf respiration in a forest ecosystem. *Plant Cell Environment* 24: 975-982. - doi: 10.1046/j.0016-8025.2001.00730.x
- Hansen EA (1993). Soil carbon sequestration beneath hybrid poplar plantations in the north central United States. *Biomass and Bioenergy* 5: 431-436. - doi: 10.1016/0961-9534(93)90038-6
- Heath J, Ayres E, Possell M, Bardgett RD, Black HJ, Grant H, Ineson P, Kerstiens G (2005). Rising atmospheric CO<sub>2</sub>

- reduces sequestration of root-derived soil carbon. *Science* 309: 1711-1713. - doi: 10.1126/science.1110700
- Hoosbeek MR, Li Y, Scarascia Mugnozza G (2006). Free atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment (FACE) increased labile and total carbon in the mineral soil of a short rotation Poplar plantation. *Plant and Soil* 281: 247-254. - doi: 10.1016/S0169-5347(99)01682-1
- Hoosbeek MR, Lukac M, van Dam D, Godbold DL, Velthorst EJ, Biondi F, Peressotti A, Cotrufo MF, De Angelis P, Scarascia Mugnozza G (2004). More new carbon in the mineral soil of a poplar plantation under Free Air Carbon Enrichment (POPFACE): cause of increased priming effect? *Global Biogeochemical Cycles* 18: GB1040. - doi: 10.1029/2003GB002127
- Hoosbeek MR, Scarascia Mugnozza G (2008). Increased litter build up and soil organic matter stabilization in a poplar plantation after 6 years of atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment (FACE): final results of POP-EuroFACE compared to other forest FACE experiments. *Ecosystems* 12 (2): 220-239. - doi: 10.1007/s10021-008-9219-z
- Hu S, Firestone MK, Chapin III FS (1999). Soil microbial feedbacks to atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment. *Trends in ecology and evolution* 14: 433-437. - doi: 10.1007/BF00017086
- Hungate BA, Jackson RB, Field CB, Chapin III FS (1996). Detecting changes in soil carbon in CO<sub>2</sub> enrichment experiments. *Plant and Soil* 187: 135-145. - doi: 10.1007/BF00017086
- Keyser PT, Kirk K, Zeikus JG (1978). Ligninolytic enzyme system of *Phanerochaete chrysosporium*: synthesized in the absence of lignin in response to nitrogen starvation. *Journal of bacteriology* 135: 790-797. - doi: 10.1016/0038-0717(94)00242-S
- Kirschbaum MUF (1995). The temperature dependence of soil organic matter decomposition, and the effect of global warming on soil organic carbon storage. *Soil Biology and Biochemistry* 27: 753-760. - doi: 10.1002/1522-2624(200208)165:4
- Kuziakov Y (2002). Review: Factors affecting rhizosphere priming effects. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165: 382-396. - doi: 10.1002/1522-2624(200208)165:4<382::AID-JPLN382>3.0.CO;2-#
- Kuziakov Y, Friedel JK, Stahr K (2000). Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1485-1498. - doi: 10.1016/S0038-0717(00)00084-5
- Lagomarsino A, De Angelis P, Moscatelli MC, Grego S (2008). The influence of temperature and labile C substrates on heterotrophic respiration in response to elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen fertilization. *Plant and Soil* 317 (1-2): 223-234. - doi: 10.1007/s11104-008-9804-0
- Lagomarsino A, Moscatelli MC, De Angelis P, Grego S (2006). Labile substrate quality as the main driving force of microbial mineralization activity in a poplar plantation soil under elevated CO<sub>2</sub> and nitrogen fertilization. *Science of the Total Environment* 372: 256-265. - doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.08.031
- Liberloo M, Calfapietra C, Lukac M, Godbold D, Luo ZB, Polle A, Hoosbeek M, Kull O, Marek M, Raine CT, Rubino M, Taylor G, Scarascia Mugnozza G, Ceulemans R (2006). Woody biomass production during the second rotation of a bio-energy *Populus* plantation increases in a future high CO<sub>2</sub> world. *Global Change Biology* 12: 1094-1106. - doi: 10.1111/j.1365-2486.2006.01118.x
- Lukac M, Calfapietra C, Godbold DL (2003). Root production and turnover in *Populus* grown under elevated CO<sub>2</sub> using a free air enrichment system POPFACE. *Global Change Biology* 9: 838-848. - doi: j.1365-2486.2003.00582.x
- Luo Y, Wu L, Andrews JA, White L, Matamala R, Schafer KVR, Schlesinger WH (2001). Elevated CO<sub>2</sub> differentiates ecosystem carbon processes: deconvolution analysis of Duke forest FACE data. *Ecological monographs* 71: 357-376.
- Luo ZB, Calfapietra C, Liberloo M, Scarascia Mugnozza G, Polle A (2006). Carbon partitioning to mobile and structural fractions in poplar wood under elevated CO<sub>2</sub> (EUROFACE) and N fertilization. *Global Change Biology* 12: 272-283. - doi: j.1365-2486.2003.00582.x
- Luterbacher J, Dietrich D, Xoplaki E, Grosjean M, Wanner H (2004). European seasonal and annual temperature variability, trends, and extremes since 1500. *Science* 303: 1499-1503. - doi: 10.1126/science.1093877
- Madeira MV, Fabião A, Pereira JS, Araújo MC, Ribeiro C (2002). Changes in carbon stocks in *Eucalyptus globulus* Labill. plantations induced by different water and nutrient availability. *Forest Ecology and Management* 171: 75-85. - doi: 10.1016/S0378-1127(02)00462-0
- McAndrew DW, Malhi SS (1992). Long-term N fertilization of a solonchic soil: effects on chemical and biological properties. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 619-623. - doi: 10.1016/0038-0717(92)90039-Z
- Miglietta F, Peressotti A, Vaccari FP, Zaldei A, De Angelis P, Scarascia Mugnozza G (2001). Free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE) of a poplar plantation: the POPFACE fumigation system. *New Phytologist* 150: 465-476. - doi: j.1469-8137.2001.00115.x
- Moscatelli MC, Lagomarsino A, De Angelis P, Grego S (2008). Short- and medium-term contrasting effects of nitrogen fertilization on C and N cycling in a poplar plantation soil. *Forest Ecology and Management* 255: 447-454. - doi: 10.1016/j.foreco.2007.09.012
- Nohrstedt HÖ, Arnebrant K, Bååth E, Söderström B (1989). Changes in carbon content, respiration rate, ATP content, and microbiological biomass in nitrogen-fertilized pine forest soils in Sweden. *Canadian Journal of Forest Research*

- ch 19: 323-328. - doi: 10.1139/x89-048
- Norby RJ, Cotrufo MF, Ineson P, O'Neill EG, Canadell JG (2001). Elevated CO<sub>2</sub>, litter chemistry and decomposition: a synthesis. *Oecologia* 127: 153-165. - doi: 10.1007/s004420000615
- Olsson P, Linder S, Giesler R, Högberg P (2005). Fertilization of boreal forest reduces both autotrophic and heterotrophic soil respiration. *Global Change Biology* 11: 1745-1753. - doi: 10.1111/j.1365-2486.2005.001033.x
- Pendall E, Bridgman S, Hanson PJ, Hungate B, Kicklighter DW, Johnson DW, Law BE, Luo Y, Magonigal JP, Olsrud M, Ryan MG, Wan S (2004). Below-ground process responses to elevated CO<sub>2</sub> and temperature: a discussion of observations, measurements methods, and models. *New Phytologist* 162: 311-322. - doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01053.x
- Pinzari F, Trinchera A, Benedetti A, Sequi P (1999). Use of biochemical indices in the mediterranean environment: comparison among soils under different forest vegetation. *Journal of Microbiological Methods* 36: 21-28. - doi: 10.1016/S0167-7012(99)00007-X
- Post WM, Knowlton KC (2000). Soil carbon sequestration and land-use change: processes and potential. *Global Change Biology* 6: 317-327. - doi: 10.1046/j.1365-2486.2000.00308.x
- Raun WR, Johnson GV, Phillips SB, Westerman RL (1998). Effect of long-term N fertilization on soil organic C and total N in continuous wheat under conventional tillage in Oklahoma. *Soil and Tillage Research* 47: 323-330. - doi: 10.1016/S0167-1987(98)00120-2
- Ross DJ, Tate KR, Newton PCD (1995). Elevated CO<sub>2</sub> and temperature effects on soil carbon and nitrogen cycling in ryegrass/white clover turfs of an Endoaquept soil. *Plant and Soil* 176: 37-49. - doi: 10.1007/BF00017673
- Six J, Callewaert P, Lenders S, De Gryze S, Morris SJ, Gregorich EG, Paul EA, Paustian K (2002). Measuring and understanding carbon storage in afforested soils by physical fractionation. *Soil Science Society of America Journal* 66: 1981-1987.
- Six J, Carpentier A, van Kessel C, Merckx R, Harris D, Horwath WH, Luscher A (2001). Impact of elevated CO<sub>2</sub> on soil organic matter dynamics as related to changes in aggregate turnover and residue quality. *Plant and Soil* 234: 27-36. - doi: 10.1023/A:1010504611456
- Soil Survey Staff (1994). Keys to soil taxonomy (6<sup>th</sup> edn). USDA Soil Conservation Service, Washington, DC, USA.
- Springer U, Klee J (1954). Prüfung der Leistungsfähigkeit von einigen wichtigeren Verfahren zur Bestimmung des Kohlenstoffs mittels Chromschwefelsäure sowie Vorschlag einer neuen Schnellmethode. *Z. Pflanzenernährung. Bodenk.* 64: 1. - doi: 10.1002/jpln.19540640102
- Stitt M (1991). Rising CO<sub>2</sub> levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant, cell and Environment* 14: 741-762. - doi: 10.1111/j.1365-3040.1991.tb01440.x
- Townsend AR, Braswell BH, Holland EA, Penner JE (1996). Spatial and temporal patterns in terrestrial carbon storage due to deposition of fossil fuel nitrogen. *Ecological Applications* 6: 806-814. - doi: 10.2307/2269486
- Trueman RJ, Gonzalez-Meler A (2005). Accelerated below-ground C cycling in a managed agriforest ecosystem exposed to elevated carbon dioxide concentrations. *Global Change Biology* 11: 1-14. - doi: 10.1111/j.1365-2486.2005.00984.x
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19: 703-707. - doi: 10.1016/0038-0717(87)90052-6
- Vance ED, Chapin FS III (2001). Substrate limitations to microbial activity in taiga forest floors. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 173-188. - doi: 10.1016/S0038-0717(00)00127-9
- Wang WJ, Dalal RC, Moody PW, Smith CJ (2003). Relationships of soil respiration to microbial biomass, substrate availability and clay content. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 273-284. - doi: 10.1016/S0038-0717(02)00274-2