

# Utilizzo di piante agrarie nel fitorisanamento di suoli contaminati da metalli pesanti e metalloidi: (II) primi risultati della sperimentazione *in situ* di Torviscosa (Udine)

Luca Marchiol<sup>\*1</sup>, Guido Fellet<sup>1</sup>, Domenico Perosa<sup>2</sup>, Patrizia Zaccheo<sup>3</sup>, Giuseppe Zerbi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine  
Via delle Scienze 208, 33100 Udine

<sup>2</sup>Caffaro srl, Piazzale Marinotti 1, 33050 Torviscosa

<sup>3</sup>Dipartimento di Produzione Vegetale, Università di Milano, Via Celoria 2, 20133 Milano

Data di presentazione: 15 novembre 2006

Data di accettazione: 6 maggio 2007

---

## Riassunto

Due colture annuali da biomassa – *Sorghum bicolor* e *Helianthus annuus* – sono state allevate in un suolo inquinato da ceneri di pirite. Lo scopo di questo lavoro era quello di osservare l'accumulo di metalli pesanti durante il ciclo vegetativo e la loro asportazione dal sito inquinato mediante la raccolta della biomassa prodotta.

La prova *in situ* è stata organizzata secondo uno schema a blocchi randomizzati. La concentrazione dei metalli pesanti nel suolo era la seguente: As 309, Cd 4.90, Co 50.9, Cu 1527, Pb 233 e Zn 980 mg kg<sup>-1</sup>. I trattamenti imposti prevedevano la fertilizzazione minerale e la concimazione organica, mentre le piante di controllo sono state allevate sul terreno tal quale. Il potenziale di fitoestrazione di *S. bicolor* e *H. annuus* è stato osservato per tutta la durata del ciclo mediante prelievi di biomassa e successive analisi ICP. Vengono riportate le concentrazioni di metalli pesanti rilevate nelle frazioni vegetali e due fattori di bioconcentrazione. Il miglioramento delle condizioni nutrizionali delle piante si è dimostrato efficace consentendo un incremento della produzione di biomassa, ma non ha avuto effetti sulla concentrazione dei metalli pesanti assimilati dalle piante. Le asportazioni di metalli pesanti dal suolo inquinato sono state confrontate con dati di letteratura. *S. bicolor* si è dimostrato più efficace di *H. annuus*; la raccolta della biomassa epigea del sorgo ha consentito l'asportazione di 220 g ha<sup>-1</sup> di As, 5.6 g ha<sup>-1</sup> di Cd, 30.2 g ha<sup>-1</sup> di Co, 820 g ha<sup>-1</sup> di Cu, 107 g ha<sup>-1</sup> di Pb e 1944 g ha<sup>-1</sup> di Zn.

*Parole chiave:* inquinamento, metalli pesanti, fitoestrazione, *Sorghum bicolor*, *Helianthus annuus*, prova di campo.

## Summary

PHYTOREMEDIATION OF SOILS POLLUTED BY HEAVY METALS AND METALLOIDS USING CROPS: (II) EARLY RESULTS FROM THE *IN SITU* EXPERIMENT OF TORVISCOSA (UDINE)

Two annual high biomass yield crops – *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus* – were grown in a soil polluted by pyrite cinders. Specific aims of this work were: to observe the concentration of metals in plants during the crop cycle and to establish the amount of metal removal by the crops. The field trial was arranged in a randomized block design. The concentrations of heavy metals in the soil were: As 309, Cd 4.90, Co 50.9, Cu 1527, Pb 233 and Zn 980 mg kg<sup>-1</sup>. The crops received respectively mineral fertilization and organic amendment while plants in control soil did not receive any input. The phytoextraction potential of crops was estimated during the whole growth cycle; the concentration of the metals in the plant roots and in the harvestable biomass and two bioconcentration factors are reported. The amelioration of the nutritive status of soil resulted highly effective for the biomass yield but not in the concentration of metals in plant fractions. The evaluation of the potential of phytoremediation of our plants compared to other crops in terms of metal removal, was positive. Sorghum performed better than sunflower removing from the soil 220 g ha<sup>-1</sup> of As, 5.6 g ha<sup>-1</sup> of Cd, 30.2 g ha<sup>-1</sup> of Co, 820 g ha<sup>-1</sup> of Cu, 107 g ha<sup>-1</sup> of Pb and 1944 g ha<sup>-1</sup> of Zn.

*Key-words:* soil pollution, heavy metals, phytoextraction, *Sorghum bicolor*, *Helianthus annuus*, field trial.

\* Autore corrispondente: tel.: +39 0432 558611; fax +39 0432 558603. Indirizzo e-mail: marchiol@uniud.it

Ricerca realizzata con il contributo finanziario di PRIN 2005 – Progetto di Ricerca di Rilevante Interesse Nazionale.

## 1. Introduzione

Il fitorisanamento, nelle sue diverse applicazioni presuppone la coltivazione di piante su suoli o sedimenti contaminati. Nel caso di inquinamento da metalli pesanti si intende eseguire un progressivo trasferimento di massa degli inquinanti dalla matrice alla biomassa vegetale, mentre in presenza di composti organici si vuole promuovere la degradazione delle molecole dei contaminanti.

Si persegue l'obiettivo di allevare delle piante in un ambiente potenzialmente ostile a causa della presenza di elementi o composti tossici, ma allo stesso tempo si intende ottenere una produzione di biomassa molto elevata per garantire la massima asportazione di inquinanti. Questo in siti di intervento diversi, con diverse condizioni pedo-climatiche e ovviamente di inquinamento. È, quindi, evidente che la gestione agronomica del processo assume un ruolo decisivo.

In realtà, come emerge dalla rassegna di Marchiol et al. (2007), la ricerca scientifica sulla fitoestrazione sino ad ora ha quasi completamente trascurato questi aspetti. D'altro canto la messa a punto delle strategie agrotecniche è una tappa essenziale per giungere alla futura applicazione del fitorisanamento.

Le poche osservazioni sul comportamento *in situ* di piante agrarie sono state condotte da Keller et al. (2003), Keller e Hammer (2005), Madejon et al. (2003), Clemente et al. (2005) e Clemente et al. (2006).

Molteplici aspetti relativi alla gestione agronomica delle piante allevate in un intervento di fitorisanamento richiedono di essere chiariti. In particolare è necessario verificare le conseguenze sull'efficienza del processo di fitoestrazione di aspetti quali: (i) modalità e densità di semina, (ii) condizioni del letto di semina, (iii) disponibilità idriche e irrigazioni, (iv) stato nutrizionale delle piante, (v) epoca e modalità di raccolta della biomassa, (vi) durata del ciclo colturale e infine (vii) verifica di efficaci rotazioni colturali (Chaney, 2000). Tutte queste informazioni potranno concorrere a prevedere in modo più accurato i tempi di intervento in relazione agli obiettivi di bonifica e a definire i costi degli interventi.

In questo lavoro vengono presentati i primi dati provenienti da una sperimentazione *in situ* sulla fitoestrazione di metalli pesanti condotta,

nell'ambito di un progetto PRIN, in un'area inquinata posta all'interno di uno stabilimento industriale a Torviscosa (Udine), attraverso una prova parcellare ove sono state allevate piante di *Sorghum bicolor*, *Helianthus annuus* e *Arun-do donax*. In particolare, sono illustrati i dati rilevati per le specie annuali e relativi al primo anno di sperimentazione.

Il substrato del sito sperimentale è inquinato da diversi metalli pesanti a causa della presenza delle scorie industriali provenienti dal processo di arrostitimento ossidativo della pirite che veniva condotto nelle industrie chimiche per l'estrazione dello zolfo elementare. Questo processo, oggi abbandonato, ha lasciato in eredità elevatissime quantità di scorie stoccate in condizioni precarie. Il materiale in origine conteneva grandi quantità di ferro (60-85%), residui di zolfo (3-6%) e forti concentrazioni di zinco, rame, piombo, cadmio e arsenico, componenti in traccia del minerale.

L'area è compresa all'interno del perimetro del sito di interesse nazionale "Laguna di Grado e Marano" definito ai sensi del DM 468/2001 "Programma Nazionale di Ripristino Ambientale dei Siti Contaminati".

## 2. Materiali e metodi

### 2.1 Allestimento del sito sperimentale

In relazione alle finalità della ricerca, e con l'obiettivo di allestire adeguatamente la prova sperimentale sono state condotte indagini preliminari per caratterizzare la granulometria del substrato di riporto presente nel sito sperimentale, e le scorie depositate (Marchiol et al., 2004).

Nell'area sperimentale le ceneri di pirite si trovano al di sotto di uno strato di un materiale di riporto, molto grossolano e scarsamente dotato di nutrienti dello spessore medio di circa 30 cm. Le ceneri di pirite, oltre ad essere molto ricche di metalli pesanti, hanno l'aspetto di una polvere piuttosto fine; nel suolo esse tendono a compattarsi in modo spinto sino a formare uno strato poco permeabile.

In questa situazione era necessario attenuare la concentrazione dei metalli pesanti presenti nel substrato affinché questo non fosse eccessivamente limitante per la vegetazione. Ciò si è ottenuto con un leggero rimescolamento tra il materiale di copertura e le ceneri.

Per migliorare la qualità del materiale di copertura è stato necessario provvedere ad una vagliatura in modo da eliminare i ciottoli di diametro > 5 cm. Dopo avere riportato e steso il materiale setacciato sono state eseguite una aratura alla profondità di 25 cm e una successiva epicatura con erpice a dischi.

Il substrato del sito sperimentale presentava le caratteristiche illustrate in tabella 1.

Dopo avere concluso le lavorazioni sono state allestite le parcelle previste dal protocollo sperimentale secondo uno schema a blocchi randomizzati. Sono state predisposte 27 parcelle (5 m x 3.5 m = 17.5 m<sup>2</sup>) distinte in tre blocchi per la conduzione di un esperimento fattoriale 3<sup>3</sup>.

Il piano sperimentale prevedeva il confronto delle prestazioni delle piante allevate nel substrato non fertilizzato (Ctrl), in presenza fertilizzazione minerale (Fert) e in presenza di fertilizzazione organica (Org).

Lo studio ha lo scopo di verificare gli effetti di diverse modalità di fertilizzazione – organica e minerale – sulla efficienza di fitoestrazione di metalli pesanti in piante agrarie e da biomassa.

La fertilizzazione azotata, frazionata in due dosi, è stata somministrata attraverso la distribuzione di urea ((NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO) in presemina (100 kg N ha<sup>-1</sup>) e dopo 7 settimane (50 kg N ha<sup>-1</sup>). La fertilizzazione fosfatica è stata eseguita in presemina distribuendo CaHPO<sub>4</sub> ad entrambe le colture alla dose di 60 kg ha<sup>-1</sup> di P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. La dotazione potassica è stata assicurata mediante le di-

stribuzione in presemina di cloruro potassico (KCl) rispettivamente alle dosi di 60 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> per *S.bicolor* e 290 kg K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> per *H. annuus*.

La concimazione organica è stata eseguita mediante lo spargimento sulle parcelle e il successivo interrimento di una dose di letame bovino maturo equivalente a 90 t ha<sup>-1</sup>.

Il giorno 5 maggio 2005, semi di girasole (*Helianthus annuus* L., var. “Carnia”) sono stati seminati ad una densità di 8 piante m<sup>-2</sup>, mentre semi di sorgo (*Sorghum bicolor* L., var. “Isadei”) sono stati seminati a spaglio in un quantitativo tale da garantire 300 piante m<sup>-2</sup>.

Nelle parcelle di *H. annuus* Ctrl e Fert sono state rilevate notevoli fallanze; pertanto si è provveduto ad una risemina eseguita il 1° giugno.

L'area sperimentale è dotata di un impianto irriguo utilizzato per interventi di soccorso in grado di erogare 7 mm h<sup>-1</sup> di acqua. Non è stato previsto alcun intervento di diserbo chimico; nel corso della prova sono stati eseguiti alcuni interventi di scerbatura manuale.

## 2.2 Prelievi di biomassa

Circa 40 giorni dopo la semina è iniziata la fase di campionamento della biomassa delle piante in allevamento. Nel corso del ciclo colturale e con cadenza quindicinale, sono stati condotti 7 prelievi di biomassa. In occasione dei campionamenti sono stati rilevati gli stadi fenologici di *S.bicolor* (Neild et al., 1983) e *H. annuus* (Schneiter e Miller, 1981). I prelievi sono stati eseguiti scartando le piante poste nelle file di bordo; le piante di *S. bicolor* sono state prelevate in una superficie di 0.4 m<sup>2</sup>, mentre il campionamento nelle parcelle di *H. annuus* è stato eseguito prelevando in due aree diverse della parcella 3 piante adiacenti su 0.75 m lineari.

Sulle piante prelevate sono state rilevate: l'altezza, il numero di nodi, il numero di foglie, il peso fresco delle radici, fusti, foglie e, quando presenti, dei fiori. L'area fogliare delle piante è stata determinata per mezzo di un fogliarimetro LI-3100 (LI-COR, Lincoln, NE). I pesi secchi delle frazioni vegetali sono stati rilevati dopo un ciclo di essiccazione di 24 h in stufa ventilata a 105 °C.

Dai campioni essiccati è stata prelevata una aliquota avviata successivamente alla preparativa per le analisi ICP.

Tabella 1. Caratteristiche fisiche e chimiche del suolo dell'area sperimentale di Torviscosa (Udine).

Table 1. Physical and chemical characteristics of the experimental site of Torviscosa (Udine).

Parametro	
Sabbia (2 - 0.05 mm; %)	69,4
Limo grosso (0.02 - 0.05 mm; %)	6,55
Limo fine (0.02 - 0.002 mm; %)	18,8
Argilla (< 0.002 mm; %)	5,17
pH (H <sub>2</sub> O)	7,75
C organico (g kg <sup>-1</sup> )	9,10
Capacità di Scambio Cationico (cmol+/kg)	5,5
Conduttività elettrica (ms/cm)	2,65
P scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	7,78
K scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	132
Ca scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	3041
Mg scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	198
Na scambiabile (mg kg <sup>-1</sup> )	13,3
Fe totale (g kg <sup>-1</sup> )	90,2

### 2.3 Determinazione del contenuto in metalli pesanti nel suolo e nella biomassa vegetale

Sulle parcelle del sito sperimentale sono state condotti dei prelievi di substrato per la determinazione del contenuto in metalli pesanti. Il campione seccato all'aria è stato successivamente setacciato con un vaglio a 2 mm e quindi seccato in stufa a 105 °C per 24 h. La preparativa è proseguita seguendo il protocollo EPA 3051 (USEPA, 1995a). Dopo la digestione in forno a microonde (MarsXpress, CEM) i campioni sono stati filtrati (0.45mm PTFE) e diluiti.

Il contenuto totale in Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn dei campioni di terreno è stato determinato per mezzo di uno spettrometro di emissione al plasma ICP-OES (Vista MPX, Varian Inc.). L'analisi relativa all'As è stata condotta con l'ausilio del sistema a generazione continua di vapore (VGA-77, Varian Inc.), che consente di migliorare l'accuratezza delle misure di alcuni elementi.

I campioni vegetali sono stati avviati all'attacco acido e alla digestione in forno a microonde seguendo il protocollo EPA 3052 (USEPA, 1995b), quindi analizzati all'ICP-OES.

### 2.4 Analisi dei dati

I dati rilevati nel corso della attività sperimentale sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA); il test di Student-Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ) è stato utilizzato per la valutazione della significatività della differenza tra i valori medi.

Le curve di accrescimento di *S. bicolor* e *H. annuus* sono state ottenute interpolando con una funzione logistica i dati di produzione di biomassa rilevati nel corso del ciclo colturale.

L'accuratezza delle misure ICP è stata verificata analizzando ogni 15 campioni delle soluzioni standard. Nei casi in cui le concentrazioni dei metalli pesanti rilevati nei campioni vegetali erano al di sotto del limite di rilevabilità strumentale è stata adottata la procedura proposta da Nadal et al. (2004). Ai fini delle analisi statistiche e dei successivi calcoli sulla fitoestrazione è stato considerato il valore dimezzato del limite strumentale. I valori erano i seguenti: As 3  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Cd 0.2  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Co 0.4  $\mu\text{g L}^{-1}$ , Cu 0.9  $\mu\text{g L}^{-1}$  e Zn 0.2  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Il potenziale di fitoestrazione delle specie os-

servate è stato valutato lungo l'intero ciclo vegetativo. I dati di concentrazione dei metalli pesanti rilevati nelle frazioni delle piante sono stati utilizzati per il calcolo di due diversi fattori di bioconcentrazione (BCF) e del fattore di traslocazione (FT) (McGrath e Zhao, 2003) e del quantitativo di inquinanti estratti ed asportati dal suolo per unità di superficie.

## 3. Risultati e discussione

### 3.1 Contaminazione del suolo

In tabella 2 vengono indicati i valori di concentrazione degli elementi in traccia presenti nel substrato sperimentale, e per confronto con i valori tabellari fissati dal D.Lgs. 152/06, rispettivamente per suoli a destinazione residenziale e industriale.

Le concentrazioni di As (309  $\text{mg kg}^{-1}$ ) e Cu (980  $\text{mg kg}^{-1}$ ) risultano eccedere i limiti imposti dalla norma per i suoli a destinazione industriale e commerciale, rispettivamente 50  $\text{mg kg}^{-1}$  e 600  $\text{mg kg}^{-1}$ ; i valori di Cd (4.29  $\text{mg kg}^{-1}$ ), Co (51  $\text{mg kg}^{-1}$ ), Pb (233  $\text{mg kg}^{-1}$ ) e Zn (980  $\text{mg kg}^{-1}$ ) risultano inferiori ai limiti stabiliti per suoli a destinazione produttiva, ma comunque superiori ai limiti definiti per i suoli a destinazione residenziale, rispettivamente 2  $\text{mg kg}^{-1}$ , 20  $\text{mg kg}^{-1}$ , 1000  $\text{mg kg}^{-1}$  e 1500  $\text{mg kg}^{-1}$ .

Un aspetto rilevante dal punto di vista del rischio ambientale è rappresentato dal valore del pH del substrato sperimentale. Le ceneri di pirite, in origine, contengono residui di zolfo; il pH acido che ne risulta costituisce un forte rischio di mobilizzazione e lisciviazione in falda dei metalli pesanti (Ross, 1994). Il suolo del sito sperimentale ha un pH neutro; ciò significa che l'acidità potenziale del materiale si è attenuata nel tempo e che, quindi una quota rilevante di inquinanti sono già stati dispersi in passato nell'ambiente.

La matrice è poco strutturata, in ragione della ridotta percentuale di argille; ciò ha anche delle implicazioni negative sulla sua fertilità.

L'elevato contenuto in Fe (> 9%), presente prevalentemente in forma di ossido, deriva dalle scorie inquinanti. Per confronto si tenga conto che nei suoli delle regioni temperate si rilevano tenori in Fe compresi nell'intervallo 1-5% (FAO, 1972).

Le caratteristiche del substrato presente nel

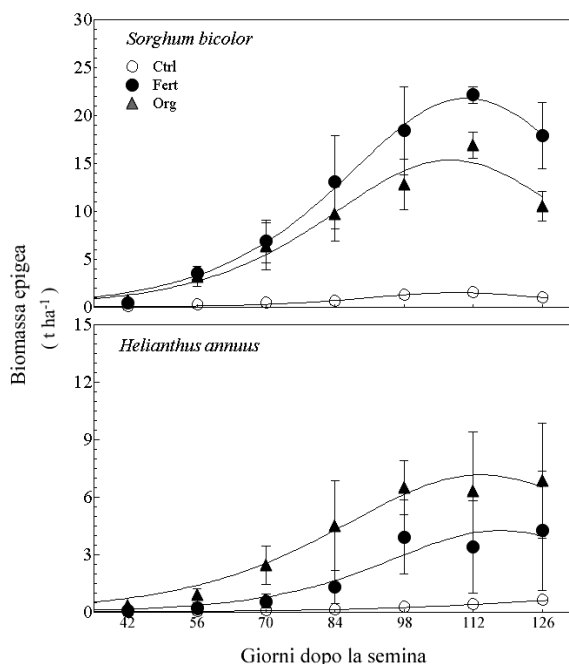


Figura 1. Produzione di biomassa epigea durante il ciclo di accrescimento di *S. bicolor* e *H. annuus* Ctrl (○), Fert (●) e Org (▲). Le barrette verticali rappresentano l'errore standard della media (n = 3).

Figure 1. Epigeous biomass production during growth cycle of *S. bicolor* and *H. annuus* Ctrl (○), Fert (●) and Org (▲). The vertical bars are the mean standard errors (n = 3).

sito sperimentale – presenza di più elementi in traccia nel profilo superficiale e assenza di pH anomalo – determinano condizioni favorevoli alla conduzione di studi sul fitorisanamento (Ernst, 2005).

### 3.2 Accrescimento delle piante

Il ruolo delle piante nel processo di fitoestrazione è quello di tollerare elevate concentrazioni degli elementi inquinanti, di accumularli nei propri tessuti e allo stesso tempo di produrre una elevata biomassa.

Le curve di accrescimento delle colture in risposta alle condizioni sperimentali sono riportate in figura 1. Come atteso la produzione di biomassa di *S. bicolor* e *H. annuus* ottenuta nelle parcelle di controllo, ovvero quelle dotate del substrato nativo molto povero di nutrienti, sono risultate 10-20 volte inferiori rispetto quella ottenute nelle parcelle fertilizzate e ammendate.

Nel caso di *S. bicolor* l'ANOVA ha indicato un effetto significativo del fattore "trattamento"; la produzione di biomassa è stata significa-

tivamente superiore nelle piante Fert rispetto le Org ( $p < 0.001$ ). In corrispondenza del 6° prelievo di biomassa avvenuto 112 giorni dopo la semina, è stata registrata la più elevata produzione di biomassa, pari a 1.54, 22.1 e 16.9 t ss ha<sup>-1</sup> rispettivamente per le piante di controllo e per quelle Fert e Org (fig. 1).

I dati relativi alle piante di *H. annuus* hanno sofferto di una elevata variabilità, ben dimostrata in figura 1. Questa ha impedito di isolare chiaramente l'effetto dei trattamenti imposti. Nella media delle ripetizioni, *H. annuus* sembra comportarsi in modo opposto al sorgo, infatti la più elevata produzione di biomassa si è registrata in risposta alla concimazione organica. In corrispondenza del picco della curva di accrescimento i valori di produzione di biomassa erano pari a 0.37, 3.38 e 6.30 t ss ha<sup>-1</sup> rispettivamente per le piante di controllo e per quelle Fert e Org (fig. 1).

Le osservazioni condotte nel corso dell'intero ciclo di accrescimento delle piante di *S. bicolor* e *H. annuus* su un suolo multicontaminato da metalli pesanti ha dimostrato che le condizioni di inquinamento non erano così spinte da ostacolare lo sviluppo delle piante. Come atteso, le piante hanno risposto prontamente al miglioramento dello stato nutrizionale della matrice, in origine scarsamente dotata di nutrienti.

Tabella 2. Concentrazione dei metalli pesanti rilevati nel suolo dell'area sperimentale di Torviscosa (Udine) a confronto con i limiti definiti dal D.Lgs. 152/06 per suoli a destinazione residenziale e industriale.

Table 2. Concentrations of heavy metals detected in the soil of the Torviscosa (Udine) experimental area compared with the limits defined by the D.Lgs. 152/06 for soils intended for residential and industrial purposes.

Elemento	Substrato sperimentale (mg kg <sup>-1</sup> )	D.Lgs. 152/06 residenziale (mg kg <sup>-1</sup> )	D.Lgs. 152/06 industriale (mg kg <sup>-1</sup> )
As	309†±20‡	20	50
Cd	4.29±0.29	2	15
Co	50.9±2.31	20	250
Cr	15.2±0.78	150	800
Cu	1527±148	120	600
Ni	20.3±1.02	120	500
Pb	233.2±18	100	1000
Zn	979.7±51.7	150	1500

† n = 20; ‡ errore standard.

### 3.3 Concentrazione dell'arsenico e dei metalli pesanti nei tessuti vegetali

Tra gli elementi in traccia presenti nel suolo di Torviscosa sono presenti alcuni elementi fitotossici, come As, Cd e Co; altri invece, Cu e Zn, essenziali per il metabolismo vegetale, determinano effetti tossici solamente ad elevate concentrazioni.

Sulle frazioni vegetali prelevate durante il ciclo colturale di *S. bicolor* e *H. annuus* sono state rilevate le concentrazioni degli elementi allo scopo di verificare se vi fosse un accumulo costante oppure se vi fosse una tendenza legata al tasso di accrescimento delle colture.

L'accumulo dei metalli pesanti nei tessuti vegetali è risultato sostanzialmente costante durante il ciclo vegetativo, ma non nel caso dell'As e del Cu che hanno raggiunto i più elevati livelli di concentrazione nei tessuti vegetali alla fine del ciclo colturale.

Nella tabella 3 sono riportate le concentrazioni di As e dei metalli pesanti rilevate nelle radici e nella biomassa epigea delle piante di *S. bicolor* e *H. annuus* in corrispondenza della massima produzione di biomassa. Il dato riferito alla biomassa epigea corrisponde alla media ponderata delle concentrazioni rilevate nei fusti, nelle foglie e, quando presenti, nelle parti riproduttive delle piante.

In termini assoluti i valori di concentrazione raggiunti dai metalli pesanti nei tessuti di *S. bicolor* e *H. annuus* non sono stati molto elevati;

in ordine decrescente di concentrazione è stata osservata la sequenza: Zn > Cu > As > Pb > Co > Cd. Le concentrazioni dei metalli rilevate nei tessuti fogliari di *S. bicolor* e *H. annuus* erano le seguenti: Cd 0.61 mg kg<sup>-1</sup>, Co 0.68 mg kg<sup>-1</sup>, Pb 3.44 mg kg<sup>-1</sup> e Zn 87 mg kg<sup>-1</sup>. Per confronto, Reeves et al. (1995) hanno indicato i seguenti intervalli di concentrazione in specie non iperaccumulatrici: Cd 0.1-3 mg kg<sup>-1</sup>, Co 0.2-5 mg kg<sup>-1</sup>, Pb 0.1-5 mg kg<sup>-1</sup>, e Zn 20-400 mg kg<sup>-1</sup>.

Nel caso dell'As e del Cu sono stati rilevati valori non in linea con gli altri metalli. Nel caso del rame i valori osservati in *S. bicolor* e *H. annuus* sono risultati più elevati rispetto all'intervallo normale definito da Reeves et al. (1995); al contrario, i livelli di concentrazione di As sono risultati molto bassi rispetto a quelli raggiunti da alcune specie tolleranti come *Agrostis capillaris* e *Cynodon dactylon* (Fitz and Wenzel., 2002).

In generale si è potuto riscontrare che la concentrazione dei metalli pesanti nei tessuti vegetali riflette sostanzialmente quella del suolo. Ciò ha trovato conferma analizzando i dati di concentrazione nelle frazioni vegetali del Fe. In media nelle radici delle piante di *S. bicolor* e *H. annuus* allevate a Torviscosa sono state rilevate concentrazioni di Fe rispettivamente pari a 12.364 e 15.603 mg di Fe per kg di sostanza secca, mentre nelle foglie sono stati rilevati 2.799 e 1.970 mg kg<sup>-1</sup>. Rispetto al riferimento proposto da Reeves et al. (1995), tali valori ri-

Tabella 3. Concentrazioni di As, Cd, Co, Cu, Pb e Zn rilevate nelle radici e nella biomassa epigea di *Sorghum bicolor* e *Helianthus annuus* nella fase di massima produzione di biomassa.

Table 3. Concentrations of As, Cd, Co, Cu, Pb and Zn recorded in roots and epigeous biomass of *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus* in the stage of maximum biomass production.

Specie	Trattamento	Radici						Biomassa epigea					
		As (mg kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	Co (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	As (mg kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	Co (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
<i>S.bicolor</i>	Ctrl	67.5±18†	1.75±0.31	9.42±3	594±121	60.1±26	265±70	5.23±0.93	0.20±0.06	0.47±0.05	28.6±4.5	2.73±0.38	86.4±19
	Fert	47.8±13	1.71±0.11	7.14±0.4	535±36	60.1±4.1	328±105	7.28±1.30	0.26±0.05	0.91±0.03	29.6±6.3	4.10±0.48	55.5±3.6
	Org	32.3±9.8	1.35±0.4	5.39±0.5	468±67	22.7±2	466±110	13.1±4.3	0.25±0.05	1.77±0.63	48.9±14	6.08±2.9	115±2.3
<i>H.annuus</i>	Ctrl	48.6±7.17	2.31±0.68	7.48±1.54	837±141	42.9±4.63	242±43.4	0.62±0.18	0.64±0.08	0.55±0.18	36.2±12	2.52±0.82	118±9.09
	Fert	142±88.6	1.57±0.1	8.73±1.27	706±195	54.0±7.74	222±23.6	1.93±0.07	0.34±0.06	0.71±0.13	42.0±5.22	3.53±0.88	112±6.27
	Org	12.2±2.2	0.73±0.12	1.99±0.25	336±26.1	15.7±4.65	121±22.4	0.98±0.39	0.22±0.09	0.19±0.02	23.2±0.81	0.53±0.13	140±33.4
ANOVA	Specie	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	***	*	*	n.s.	n.s.	*
	Tratt	n.s.	*	*	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	Specie X	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*	*	n.s.	n.s.	n.s.

† errore standard; \* P < 0.05; \*\* P < 0.01; \*\*\* P < 0.001.

sultano elevati, ma abbiamo anche verificato che anche la condizione del substrato era particolarmente ricca in ferro a causa della natura delle scorie industriali.

Le piante utilizzate nella ricerca hanno tollerato le condizioni di multicontaminazione del sito sperimentale. Non sono stati verificati evidenti sintomi di tossicità provocati dagli elementi in traccia.

L'analisi della varianza ha messo in luce che il fattore "specie" ha avuto un effetto statisticamente significativo solamente nel caso dello Zn (tab. 3). Nella media dei trattamenti, nelle radici di *S.bicolor* e di *H.annuus* sono stati rilevati rispettivamente 353 e 195 mg kg<sup>-1</sup> di Zn. Le diverse modalità di gestione agronomica delle colture hanno influenzato significativamente l'assimilazione di Cd ( $p = 0.048$ ), Co ( $p = 0.016$ ), Cu ( $p = 0.049$ ) e Pb ( $p = 0.014$ ) da parte degli apparati radicali, mentre nel caso dell'As e dello Zn l'analisi della varianza non ha isolato effetti significativi dei trattamenti. In tutti i casi si è manifestato un effetto negativo dell'ammendante organico che, legando una quota di elementi, ha determinato una diminuzione della frazione biodisponibile, riducendo in questo modo l'efficienza della assimilazione da parte delle radici delle piante.

L'influenza dei fattori sperimentali sulla concentrazione degli elementi nella biomassa epigea delle piante è praticamente opposta rispetto a quanto osservato per le radici (tab. 3). Infatti, solo l'accumulo del Cu e del Pb risulta indifferente al fattore "specie", mentre per gli altri elementi l'ANOVA ha rilevato un effetto statisticamente significativo della specie. È possibile rilevare due distinti comportamenti delle specie:

*S. bicolor* manifesta una migliore attitudine a concentrare As (8.5 vs. 1.18 mg kg<sup>-1</sup>) e Co (1.05 vs. 0.48 mg kg<sup>-1</sup>), mentre *H.annuus* concentra in maniera preferenziale Cd (2.37 vs. 0.40 mg kg<sup>-1</sup>) e Zn (123 vs. 85.9 mg kg<sup>-1</sup>) (tab. 3).

I trattamenti non hanno influenzato la concentrazione raggiunta dagli elementi nelle frazioni aeree delle piante osservate.

### 3.4 Accumulo e traslocazione

Il fattore di bioconcentrazione (BCF) esprime il rapporto tra la concentrazione dei metalli pesanti rilevata nei tessuti radicali e la concentrazione dell'elemento nel suolo. Esso illustra in

modo efficace il comportamento di una pianta allevata su un suolo contaminato, ed assume un certo interesse per valutare l'efficienza del processo di fitoestrazione nel suo complesso (McGrath e Zhao, 2003). Tuttavia è anche possibile adattare il parametro in modo da esplorare con maggiore accuratezza le diverse fasi del processo di fitoestrazione.

I risultati delle analisi ICP condotte sui campioni vegetali prelevati nel corso della sperimentazione di Torviscosa sono stati utilizzati per il calcolo di due fattori di bioconcentrazione:  $BCF_{DTPA}$  e  $BCF_{Totale}$ .

$BCF_{DTPA}$  è stato calcolato rapportando la concentrazione dei metalli dei tessuti radicali alla frazione biodisponibile del terreno stimata col metodo di estrazione del DTPA, simulando quindi la capacità di estrazione dell'elemento dalla matrice da parte della pianta (Lindsay e Norwell, 1978). Il secondo fattore di bioconcentrazione -  $BCF_{Totale}$  - è stato calcolato in base alla concentrazione totale dei metalli pesanti.

L'obiettivo di questa analisi era duplice; da un lato si volevano valutare le prestazioni di *S. bicolor* e *H. annuus* in termini di efficienza in relazione all'intero processo di fitoestrazione, ma anche osservare il comportamento delle piante in una fase intermedia del processo, cioè quella in cui le radici delle piante assimilano la quota di metallo già presente in soluzione ed eventualmente mobilitano altre quote di elemento dalla matrice.

Nel processo di fitoestrazione le piante si trovano ad agire con la matrice attingendo alla quota di metallo solubile. Il calcolo di  $BCF_{DTPA}$  aveva lo scopo di valutare l'attitudine delle piante di concentrare gli elementi nei propri tessuti, oppure eventualmente di escluderli;  $BCF_{Totale}$  è stato utilizzato per valutare in modo aggregato l'intero processo di fitoestrazione. Una differenza sostanziale tra i due parametri è che mentre il primo valuta solamente la pianta il secondo considera anche le condizioni del substrato. Due specie vegetali potrebbero avere il medesimo  $BCF_{DTPA}$  ma esprimere un  $BCF_{Totale}$  molto diverso se allevate in due matrici inquinate di caratteristiche diverse.

Un ulteriore motivo di interesse nel calcolo di  $BCF_{DTPA}$  risiede nel fatto che le pratiche agronomiche applicate nella gestione di un intervento di fitoestrazione potrebbero contribuire al miglioramento dell'efficienza del processo

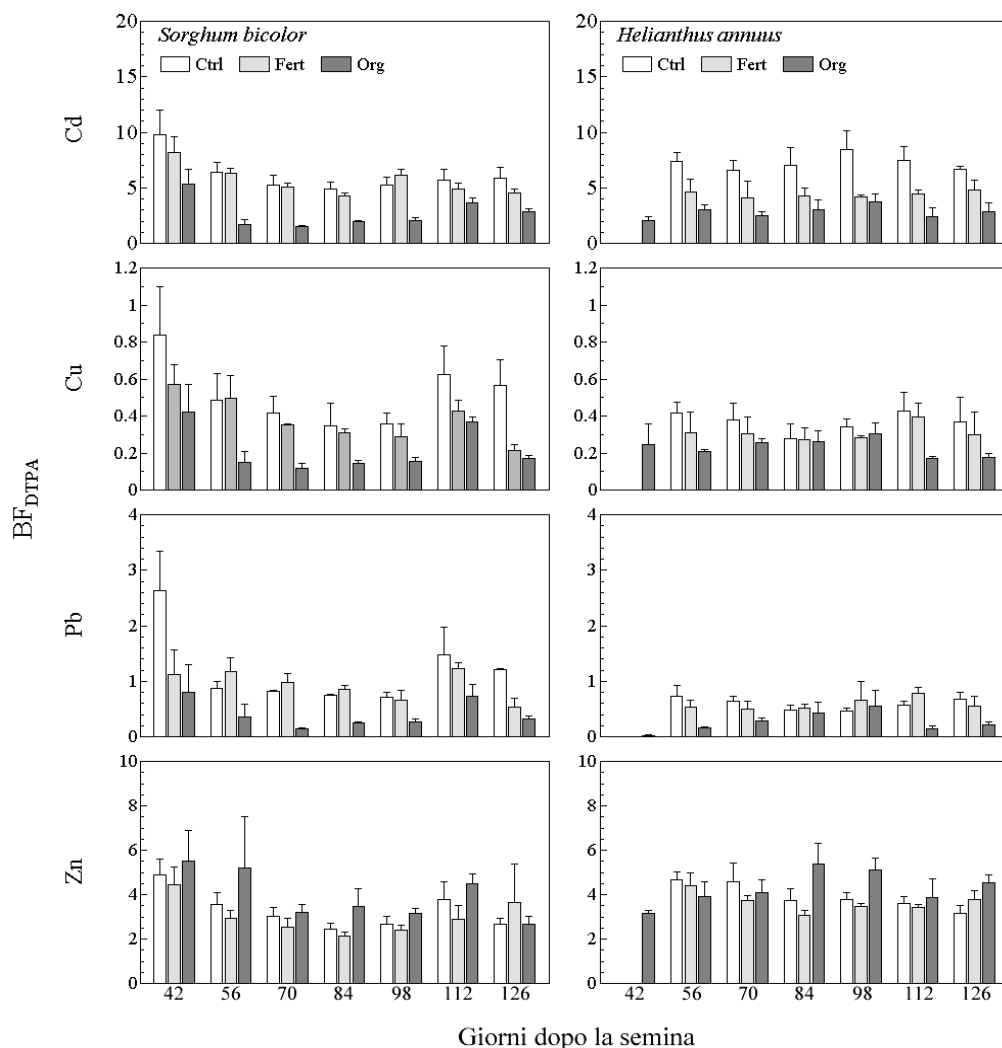


Figura 2. Fattore di bioconcentrazione  $BF_{DTPA}$  calcolato per piante di *S. bicolor* e *H. annuus* Ctrl, Fert e Org. Le barrette verticali rappresentano l'errore standard della media (n = 3).

Figure 2. Bioconcentration factor  $BF_{DTPA}$  for plants of *S. bicolor* and *H. annuus* Ctrl, Fert and Org. The vertical bars are the mean standard errors (n = 3).

qualora fossero in grado di incrementare la quota di metalli biodisponibili.

Nelle figure 2 e 3 sono illustrati rispettivamente  $BCF_{DTPA}$  e  $BCF_{Totale}$ ; non essendo disponibile un analogo protocollo per la estrazione in DTPA di As e Co il primo parametro è stato calcolato solamente per Cd, Cu, Pb e Zn, mentre  $BCF_{Totale}$  è stato calcolato per tutti i metalli pesanti presenti nel suolo di Torviscosa.

In generale,  $BCF_{DTPA}$  ha dimostrato che i metalli pesanti più efficacemente assimilati da parte di *S. bicolor* e *H. annuus* sono stati Cd e Zn; men-

tre nel caso di Cu e Pb i valori del parametro sono stati  $< 1$  durante l'intero ciclo colturale.

L'ANOVA condotta sui dati relativi a *S. bicolor* ha dimostrato variazioni statisticamente significative del  $BCF_{DTPA}$  nel corso del ciclo colturale (Cd  $p < 0.001$ ; Cu  $p < 0.010$ ; Pb  $p < 0.0004$  and Zn  $p < 0.0175$ ). Nel caso del Cd si è manifestata la più elevata capacità di accumulo da parte delle piante di *S. bicolor* in corrispondenza del primo prelievo, quando sono stati calcolati valori di  $BCF_{DTPA}$  pari a 9.76, 8.22 e 5.3 rispettivamente per le piante Ctrl, Fert e Org.



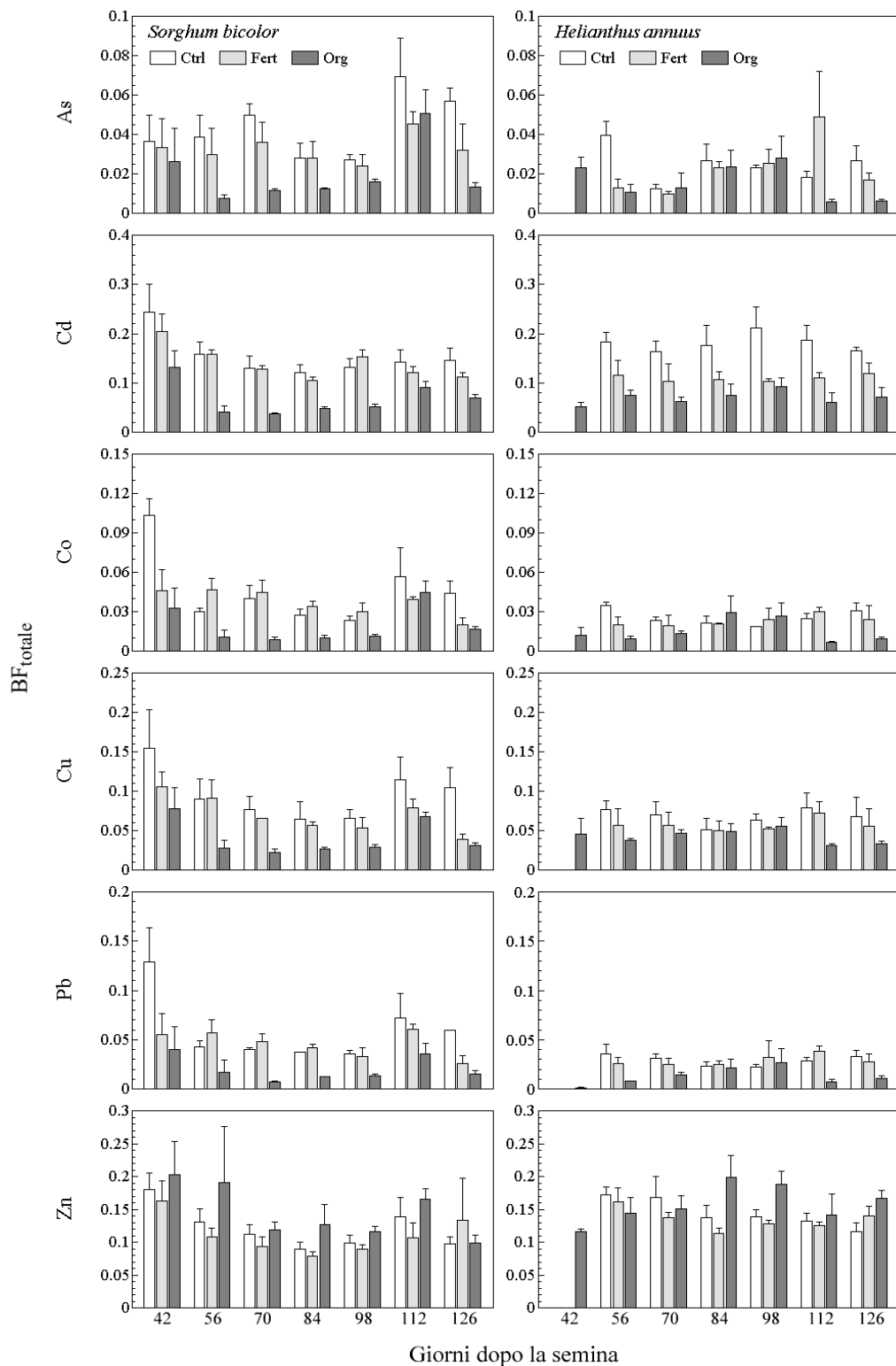


Figura 3. Fattore di bioconcentrazione  $BF_{Totale}$  calcolato per piante di *S. bicolor* e *H. annuus* Ctrl, Fert e Org. Le barrette verticali rappresentano l'errore standard della media (n = 3).

Figure 3. Bioconcentration factor  $BF_{Totale}$  for plants of *S.bicolor* and *H.annuus* Ctrl, Fert and Org. The vertical bars are the mean standard errors (n = 3).

Sono stati evidenziati effetti statisticamente significativi indotti dal trattamento sull'assimilazione di Cd, Cu e Pb ma non nel caso dello Zn. In media  $BCF_{DTPA}$  per il Cd nelle piante Org (2.71) è risultato inferiore rispetto le piante di controllo (6.14) e quelle Fert (5.62). I valori medi del  $BCF_{DTPA}$  calcolato per lo Zn erano rispettivamente 3.29, 3.00 e 3.97 per le piante di *S. bicolor* Ctrl, Fert and Org (fig. 2).

Anche in *H. annuus* il  $BCF_{DTPA}$  calcolato per Cu e Pb è risultato  $< 1$  per il Cu e il Pb; mentre, al contrario, valori  $> 1$  si sono rilevati per l'intero ciclo sia per il Cd che lo Zn (fig. 2); anche in *H. annuus* sono stati rilevati effetti statisticamente significativi indotti dai trattamenti (Cd  $p < 0.001$ , Cu  $p < 0.0106$ , Pb  $p < 0.0246$ , and Zn  $p < 0.0246$ ). Il  $BCF_{DTPA}$  ha risposto ai trattamenti con il seguente decremento: Ctrl (7.23)  $>$  Fert (6.40)  $>$  Org (2.91). Anche nel caso del Cu e del Pb i maggiori valori di  $BCF_{DTPA}$  sono stati riscontrati nella tesi di controllo, ma non è stato confermato nel caso dello Zn dove il parametro si è così comportato: Org (4.496)  $>$  Fert (3.93)  $>$  Ctrl (3.65) (fig. 2).

A conferma del comportamento di specie non iperaccumulatrici, i valori di  $BCF_{Totale}$  sono risultati  $< 1$  (Fig. 3). Le specie sono state influenzate da entrambi i fattori sperimentali riflettendo coerentemente quanto già osservato in precedenza per  $BCF_{DTPA}$ . Anche rispetto i diversi metalli, i valori più elevati del fattore di bioconcentrazione sono stati quelli relativi al Cd e allo Zn.

Il comportamento di *S. bicolor* e *H. annuus* nei confronti di As e Co, non rilevati da  $BCF_{DTPA}$ ,

porta elementi di conferma a quanto già osservato sull'influenza negativa della concimazione organica sulla biodisponibilità e quindi sulla assimilazione degli elementi da parte delle piante (fig. 3).

In tabella 4 sono riportati i valori del fattore di traslocazione (FT); il parametro, calcolato attraverso il rapporto tra la concentrazione degli elementi rilevata nella biomassa aerea della pianta e quella delle radici, illustra il comportamento degli elementi assimilati dalla pianta. Nelle specie iperaccumulatrici esso è  $> 1$ , mentre nelle specie metallo-tolleranti raramente supera l'unità (McGrath e Zhao, 2003); come atteso, ciò si è verificato anche nel nostro caso.

L'ANOVA eseguita sui dati di FT ha indicato che il fattore "specie" ha determinato effetti significativi rilevati nel caso di As, Cd e Zn. La traslocazione di As dall'apparato radicale alla parte aerea delle piante è stata più efficiente in *S. bicolor* rispetto *H. annuus* ( $p = 0.039$ ). Al contrario, in *H. annuus* sono stati calcolati valori di FT più elevati rispetto *S. bicolor*, per il Cd ( $p = 0.028$ ) e lo Zn ( $p < 0.001$ ). Solamente per quest'ultimo elemento è stato verificato un effetto significativo del fattore "trattamento"; l'ANOVA ha messo in luce una differenza significativa tra il FT calcolato per le piante Org rispetto le altre tesi ( $p = 0.0181$ ). Nella media delle specie i valori di FT erano 0.437, 0.360 e 0.746 rispettivamente per la piante Ctrl, Fert e Org.

### 3.5 Asportazione dei contaminanti

La valutazione complessiva del processo di fitoestrazione di metalli pesanti viene eseguita at-

Tabella 4. Fattore di traslocazione (FT) di As, Cd, Co, Cu, Pb e Zn calcolato per piante di *Sorghum bicolor* e *Helianthus annuus*.

Table 4. Translocation Factor (TF) of As, Cd, Co, Cu, Pb and Zn in *Sorghum bicolor* and *Helianthus annuus*.

Specie	Trattamento	FT					
		As	Cd	Co	Cu	Pb	Zn
<i>S.bicolor</i>	Ctrl	0.089	0.119	0.064	0.056	0.067	0.392
	Fert	0.196	0.151	0.128	0.054	0.07	0.194
	Org	0.518	0.219	0.358	0.113	0.26	0.292
	Ctrl	0.013	0.305	0.081	0.043	0.064	0.504
<i>H.annuus</i>	Fert	0.026	0.215	0.080	0.065	0.065	0.525
	Org	0.087	0.281	0.096	0.07	0.037	1.20
ANOVA	Specie	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	***
	Tratt	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*
	Specie X Tratt	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	*

\* P < 0.05; \*\* P < 0.01; \*\*\* P < 0.001.

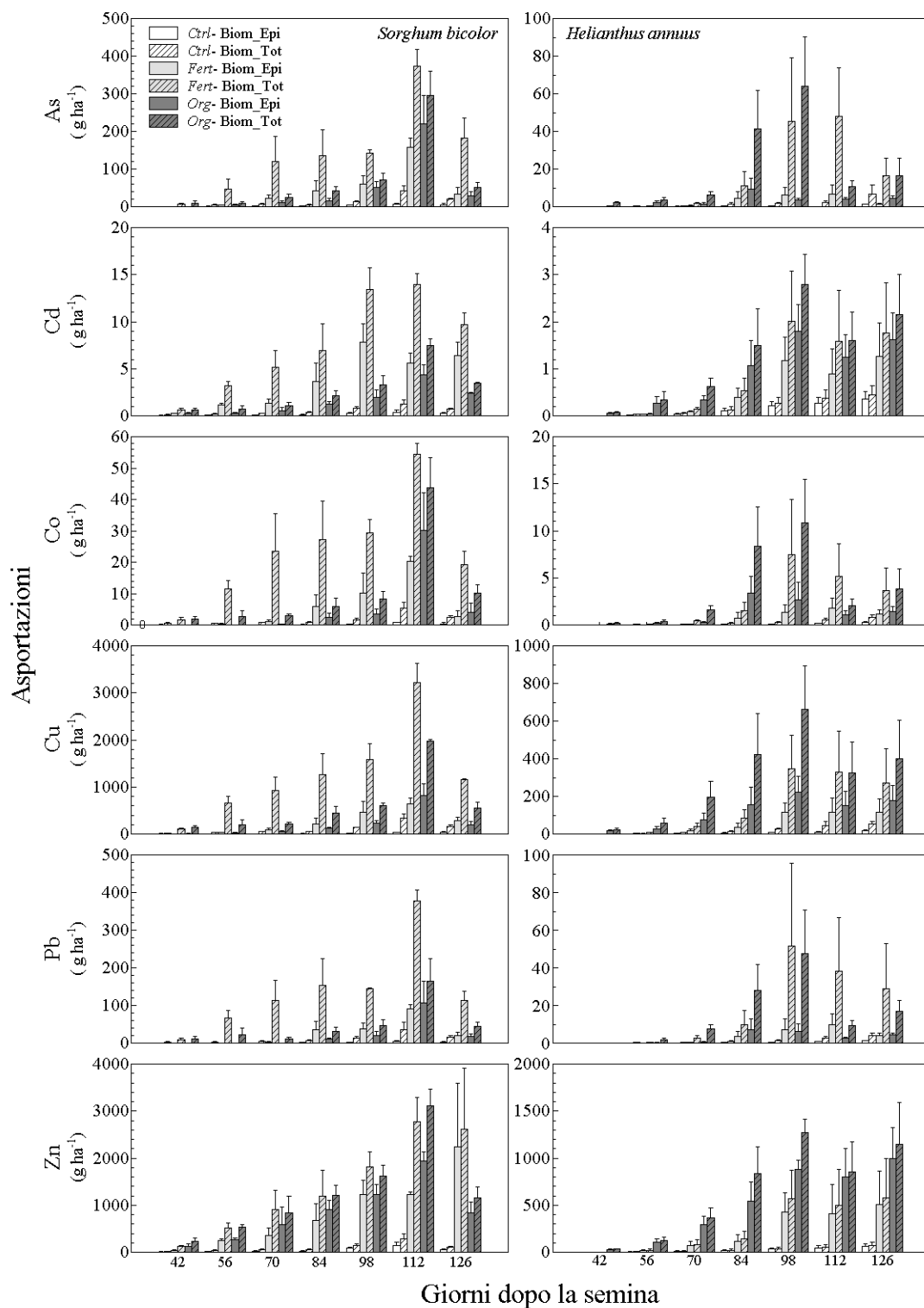


Figura 4. Asportazioni di As, Cd, Co, Cu, Pb e Zn ottenute mediante la raccolta della biomassa epigea e totale di piante di *S. bicolor* e *H. annuus* Ctrl, Fert e Org. Le barrette verticali rappresentano l'errore standard della media (n = 3).

Figure 4. Removals of As, Cd, Co, Cu, Pb and Zn obtained by epigeous and total biomass harvesting in *S. bicolor* and *H. annuus* Ctrl, Fert and Org. The vertical bars are the mean standard errors (n = 3).

traverso il calcolo della quantità di inquinanti allontanata dal substrato inquinato grazie alla asportazione della biomassa vegetale. Questo valore viene calcolato moltiplicando la concentrazione media di un elemento nella biomassa e la quantità della medesima biomassa che è possibile asportare. A parità di concentrazione, tanto più elevata sarà la quantità di biomassa vegetale prodotta, tanto maggiore sarà il livello di asportazione degli inquinanti. Ciò è tanto più importante se le specie vegetali impiegate non sono iperaccumulatrici.

Le piante di *S. bicolor*, sono state in grado di rimuovere una quantità maggiore di metalli pesanti rispetto *H. annuus*. Ciò non è dipeso da una migliore efficienza nella accumulo dei diversi metalli pesanti, quanto piuttosto dalla più elevata produzione di biomassa.

La discussione dei dati sperimentali ordinariamente viene condotta facendo riferimento a dati pubblicati in letteratura. Tuttavia, se la comparazione di dati rilevati in prove di campo deve essere sempre condotta con cautela, tenendo conto di variabili pedoclimatiche che possono interferire sensibilmente sulla sperimentazione, in questo caso siamo in presenza di uno scenario ancora più complesso.

Il potenziale di fitoestrazione di una specie vegetale è fortemente influenzato dalla natura della contaminazione, dalla sua intensità, dalle relazioni tra gli elementi inquinanti e il substrato pedologico, dalla speciazione dei metalli nel suolo, dalla loro mobilità e lisciviazione (Keller e Hammer, 2003). Ciononostante, si è ritenuto utile eseguire una lettura comparata dei dati sperimentali ottenuti nella prova di Torviscosa con i risultati pubblicati negli articoli che riferiscono di prove *in situ* condotte presso altri siti sperimentali (Marchiol et al., 2007).

Più che un confronto puntuale si è ritenuto opportuno verificare la correttezza dell'approccio sperimentale ed eventualmente confermare il potenziale delle specie considerate in altre condizioni.

Il massimo livello di asportazione dei metalli pesanti è stato riscontrato in corrispondenza del 6° prelievo di biomassa grazie al picco di produzione di biomassa. Nella rassegna seguente vengono discussi i valori di asportazione dei metalli pesanti più elevati, mentre in figura 4 sono illustrati i diversi livelli di rimozione dei metalli ottenibili mediante la raccolta della biomassa aerea

delle piante e quelli teoricamente raggiungibili attraverso la raccolta della biomassa totale.

**3.5.1 Arsenico.** Attraverso lo sfalcio e la raccolta della biomassa del *S. bicolor* fertilizzato sono stati asportati dal 159 g ha<sup>-1</sup> di As; tale asportazione avrebbe raggiunto i 374 g ha<sup>-1</sup> nel caso della raccolta dell'intera biomassa vegetale (fig. 4). Nel caso delle piante allevate nelle parcelle ammendate, l'incremento di asportazione di As raggiunto mediante la ipotetica completa rimozione della biomassa vegetale sarebbe stato sensibilmente inferiore a quanto osservato in precedenza, passando da 220 a 296 g ha<sup>-1</sup> di As.

La raccolta della biomassa aerea prodotta da *H. annuus* Fert e Org ha consentito di asportare dal suolo rispettivamente 6.74 e 3.96 g ha<sup>-1</sup> di As; la corrispondente totale raccolta della biomassa prodotta avrebbe incrementato i valori di asportazione di As sino a 48.1 e 10.7 g ha<sup>-1</sup> (fig. 4).

Madejón et al. (2003) nelle condizioni sperimentali di Aznalcóllar (Spagna) hanno verificato una asportazione di As di 3 g ha<sup>-1</sup> da parte di *H. annuus*. Sebbene nel suolo di Torviscosa sia stata rilevata una concentrazione di As di 20 volte inferiore, il risultato osservato è stato simile. Ciò fa supporre che le piante di *H. annuus* abbiamo raggiunto una sorta di limite fisiologico oltre la quale viene bloccata l'ulteriore assimilazione dell'elemento.

**3.5.2 Cadmio.** La raccolta delle piante *S. bicolor* Fert ha consentito di asportare 5.62 g ha<sup>-1</sup> di Cd, un quantitativo lievemente superiore a 4.31 g ha<sup>-1</sup>, dato calcolato per le piante Org. Un certo incremento del livello di asportazioni di Cd è stato calcolato ipotizzando la completa rimozione della biomassa vegetale; in questo caso *S. bicolor* avrebbe consentito di raddoppiare il quantitativo di inquinante rimosso dal suolo, mentre *H. annuus* si è comportato in modo meno efficiente (fig. 4).

Decisamente inferiore la prestazione di *H. annuus* che ha consentito di asportare rispettivamente 0.9 g ha<sup>-1</sup> e 1.24 g ha<sup>-1</sup> di Cd con le piante Fert e Org. Questi valori non sarebbero aumentati in modo sensibile nemmeno ipotizzando la completa rimozione dal suolo della biomassa vegetale (Fert 1.59 g ha<sup>-1</sup> e Org 1.60 g ha<sup>-1</sup>) (fig. 4).

Le quantità di Cd rimosse dal suolo contaminato di Dornach (Svizzera) nell'esperimento condotto da Keller et al. (2003) sono state: 6.95

g ha<sup>-1</sup> da *Brassica juncea*, 41.7 g ha<sup>-1</sup> *Nicotiana tabacum*, 9 g ha<sup>-1</sup> *Zea mays* e 179 g ha<sup>-1</sup> *Thlaspi caerulescens*. Se si esclude la specie iperaccumulatrice i valori osservati per *B. juncea* e *Z. mays* sono coerenti con quelli calcolati in base ai dati rilevati a Torviscosa.

Le prestazioni di *Thlaspi caerulescens* sono state confermate da McGrath et al., (2006) che riferiscono un'asportazione di Cd comprese nell'intervallo 140-260 g ha<sup>-1</sup>. Per dimostrare quanta influenza possano avere le condizioni ambientali sul processo di fitoestrazione si consideri che Keller e Hammer (2003) in un suolo acido hanno verificato asportazioni di Cd da parte di *Thlaspi caerulescens* pari a 540 g ha<sup>-1</sup>.

**3.5.3 Cobalto.** La raccolta della biomassa prodotta nel corso del ciclo colturale di *S. bicolor* ha rimosso dal suolo contaminato rispettivamente 20.2 g ha<sup>-1</sup> per le piante Fert e 30.2 g ha<sup>-1</sup> nel caso delle piante Org. Questi valori avrebbero potuto essere incrementati considerando anche la asportazione della biomassa radicale sino a raggiungere rispettivamente 54.3 g ha<sup>-1</sup> e 43.8 g ha<sup>-1</sup> (fig. 4). I risultati ottenuti da *H. annuus* sono stati inferiori di circa un ordine di grandezza rispetto *S. bicolor*. In letteratura non sono disponibili dati relativi alle asportazioni di Co rilevati in prove di campo.

**3.5.4 Piombo.** Il più elevato valore di asportazione di Pb – 107 g ha<sup>-1</sup> – ottenuto per mezzo della raccolta della biomassa di *S. bicolor* è stato registrato nel caso delle piante Org, mentre la rimozione di Pb ottenuta con le piante Fert, lievemente inferiore, è stata pari a 91 g ha<sup>-1</sup>. Nel caso della completa raccolta della biomassa prodotta dalle piante i valori di asportazione di Pb dal suolo contaminato avrebbero potuto aumentare rispettivamente di 2.4 volte (164 g ha<sup>-1</sup>) e di 4.1 volte (378 g ha<sup>-1</sup>) (fig. 4).

L'efficienza di *H. annuus* si conferma inferiore a *S. bicolor* anche nel caso del Pb; tuttavia è interessante notare che nel caso della raccolta dell'intera biomassa della pianta si sarebbe ottenuto un incremento delle asportazioni superiore a quello verificato nel caso di *S. bicolor*; in particolare, le piante Fert e Org avrebbero garantito una rimozione di Pb rispettivamente di 38.2 g ha<sup>-1</sup> e 9.42 g ha<sup>-1</sup>, 3.8 e 3.6 volte maggiore rispetto lo sfalcio della biomassa aerea (fig. 4).

L'unico riferimento di letteratura disponibile è quello di Madejon et al. (2003), i quali hanno osservato che le piante di *H. annuus* allevate presso il sito sperimentale di Aznalcóllar consentivano una rimozione di 16 g ha<sup>-1</sup> di Pb, un valore più alto di quanto osservato a Torviscosa. Tuttavia è necessario puntualizzare che in base a questi valori non è possibile, al momento, ipotizzare una applicazione estensiva della fitoestrazione in suoli contaminati da Pb.

**3.5.5 Rame.** Il rame è l'elemento per il quale è stata rilevata la concentrazione più elevata tra i metalli pesanti presenti nel suolo del sito sperimentale di Torviscosa. Il livello di asportazione di Cu più elevato, 820 g ha<sup>-1</sup>, è stato raggiunto da *S. bicolor* Org mentre per le piante Fert la quantità di Cu rimossa dal suolo è stata pari a 644 g ha<sup>-1</sup>. Nuovamente, le piante di *H. annuus* hanno fatto registrare valori inferiori rispetto a *S. bicolor*; le piante Fert e Org hanno asportato rispettivamente 116 e 151 g di Cu per ettaro (fig. 4). Nel caso della teorica rimozione della biomassa totale della pianta, le piante allevate in presenza di fertilizzante minerale avrebbero consentito di asportare una quota maggiore di Cu rispetto a quelle ammendate con la sostanza organica; le piante Fert e Org hanno asportato rispettivamente 3215 e 1978 g ha<sup>-1</sup> di Cu.

La biomassa aerea delle piante Fert e Org di *H. annuus* ha consentito una asportazione media di 134 g ha<sup>-1</sup> di Cu. Il contributo alla asportazione del metallo garantito dalla biomassa radicale avrebbe permesso di raggiungere una quota di asportazione di Cu più che doppia; in media sarebbero stati rimossi dal suolo 326 g ha<sup>-1</sup> di Cu (fig. 4).

Un dato interessante in riferimento alle asportazioni di Cu è stato riportato da Keller et al. (2003); nelle condizioni dell'esperimento di Dornach essi hanno verificato una ridotta efficienza di *Thlaspi caerulescens* nell'accumulo e asportazione di Cu. Ciò conferma, da un lato che le sorprendenti prestazioni delle specie iperaccumulatrici osservate in laboratorio sono ancora piuttosto deboli se riferite alle condizioni di pieno campo, ma anche che la loro elevata specializzazione può costituire una limitazione alla loro applicazione in suoli multicontaminati. In dettaglio, Keller et al. (2003) hanno riscontrato le seguenti asportazioni di Cu dal suolo di Dornach: *Brassica juncea* 146 g ha<sup>-1</sup>, *Nicotiana*

*tabacum* 474 g ha<sup>-1</sup>, *Zea mays* 163 g ha<sup>-1</sup> e *Thlaspi caerulescens* 50 g ha<sup>-1</sup>. Le possibili asportazioni di Cu verificate dai dati ottenuti a Torviscosa sono state più soddisfacenti.

**3.5.6 Zinco.** La raccolta della biomassa aerea delle piante Fert e Org di *S. bicolor* ha asportato dal suolo inquinato rispettivamente 1223 g ha<sup>-1</sup> e 1994 g ha<sup>-1</sup> di Zn, valori molto alti se confrontati ai 148 g ha<sup>-1</sup> di Zn asportabile raccogliendo le piante di controllo. La quantità di Zn rimossa avrebbe potuto aumentare in modo sensibile considerando l'ipotesi della raccolta della biomassa totale delle piante di *S. bicolor*, e arrivare sino ai valori di 2778 g ha<sup>-1</sup> (Fert) e 3117 g ha<sup>-1</sup> (Org), con un incremento di 2.3 e 1.7 volte rispetto i valori precedenti (fig. 4).

Anche nel caso della valutazione delle asportazioni di Zn l'elevata variabilità dei dati rilevati da *H. annuus* non ha consentito di individuare con chiarezza gli effetti indotti dai trattamenti; in questo caso in particolare non è possibile distinguere delle differenze tra le asportazioni ottenibile attraverso la raccolta della sola biomassa aerea e l'intera biomassa della pianta. Indicativamente, mediando tali valori si ottengono valori di asportazione di Zn di 456 e 830 g ha<sup>-1</sup> rispettivamente per le piante Fert e Org di *H. annuus*.

Madejón et al., (2003) raccogliendo la biomassa aerea di *H. annuus* hanno calcolato una asportazione di 2050 g ha<sup>-1</sup>, mentre contemplando anche la biomassa radicale il valore sarebbe lievemente cresciuto sino a raggiungere 2140 g ha<sup>-1</sup>.

I dati di asportazione di Zn rilevati da Keller et al. (2003) erano i seguenti: *Brassica juncea* 894 g ha<sup>-1</sup>, *Nicotiana tabacum* 1834 g ha<sup>-1</sup>, *Zea mays* 1998 g ha<sup>-1</sup>. Come atteso, nel medesimo esperimento la specie risultata maggiormente efficiente è stata l'iperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens* con una asportazione di 5052 g ha<sup>-1</sup>.

Nelle condizioni della sperimentazione condotta da McGrath et al. (2006) sono stati calcolati dei valori di asportazione di Zn da parte di *Thlaspi caerulescens* decisamente inferiori, pari a 2690 g ha<sup>-1</sup> nel 2003 e a 1500 g ha<sup>-1</sup> nel 2004, quindi molto vicini a quelli ottenuti dalle piante di *S. bicolor* allevate a Torviscosa. Anche nel caso di *Arabidopsis halleri* – le cui caratteristiche di specie iperaccumulatrice sono state

verificata da Dahmani-Muller et al. (2000) – McGrath et al. (2006) hanno rilevato dei valori sensibilmente inferiori.

#### 4. Conclusioni

Esistono forti aspettative sullo sviluppo di tecnologie di bonifica a basso impatto ambientale e a basso costo. La ricerca in corso presso il sito di Torviscosa rappresenta uno dei pochi esempi di sperimentazione *in situ* sulla fitoestrazione in corso in Europa; nel nostro paese, al momento, non risultano attività similari condotte all'interno di siti inquinati di interesse nazionale.

In letteratura trova conferma il fatto che vi è la necessità di aumentare gli sforzi e le risorse finanziarie per incrementare l'attività di ricerca dedicata a mettere a punto i diversi aspetti della gestione agronomica degli interventi di fitoestrazione, e in particolare su quegli interventi in grado di incrementare l'efficienza della fitoestrazione assistita (Salt et al., 1998). Come recentemente sottolineato da McGrath et al. (2006) e da Clemente (2006), gli esperimenti condotti *in situ* costituiscono un passaggio decisivo per la messa a punto della tecnologia.

I risultati presentati costituiscono la prima restituzione di dati sperimentali di una prova poliennale nel corso della quale verranno osservate le risposte di diverse specie di interesse agrario a differenti modalità di gestione agronomica.

Le osservazioni condotte sono state discusse alla luce di quanto ottenuto da prove di fitoestrazione *in situ* analoghe a quella in corso a Torviscosa. È stato confermato che diverse strategie di fertilizzazione possono avere delle conseguenze significative sull'efficienza di fitoestrazione, sia per l'influenza sulla produzione di biomassa ma soprattutto per la possibilità di modificare la biodisponibilità dei metalli pesanti, e quindi sulla loro assimilazione e traslocazione nei tessuti vegetali.

In conclusione è doveroso affermare che la tecnica non è ancora matura per poter essere impiegata efficacemente e in tempi certi su larga scala in progetti di bonifica suoli e sedimenti inquinati.

La scelta di un intervento di bonifica, a parità di efficacia, discende da valutazioni sui co-

sti, sulla organizzazione logistica e sulla durata del cantiere. Nel caso della fitroestrazione è necessario, definite le condizioni di intervento e gli obiettivi – ovvero le concentrazioni degli inquinanti nella matrice da trattare e i *target* definiti dalle norme in base all'utilizzo del suolo – prevedere, in base alla efficienza del processo, la durata dell'intervento. La scarsa esperienza applicativa sulle tecniche di fitorisanamento non consente di disporre di tali informazioni e quindi di poter predisporre una progettazione esecutiva di un intervento di fitorisanamento.

Su molti aspetti del processo si attendono grandi avanzamenti dalla attività di ricerca e sperimentazione; in particolare, si prevedono ampi margini di miglioramento saldando alle conoscenze già acquisite le potenzialità prospettate delle biotecnologie (Martínez et al., 2006).

## Bibliografia

- Chaney R.L., Li Y.M., Brown S.L., Homer F.A., Malik M., Angle J.S., Baker A.J.M., Reeves R.D., Chin M. 2000. Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress. ICOBTE. CRC Press, Boca Raton, 129-158.
- Clemente R., Walker D.J., Pilar Bernal M. 2005. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): the effect of soil amendments. *Environ Pollut.*, 138:46-58.
- Clemente R., Almela C., Pilar Bernal M. 2006. A remediation strategy based on active phytoremediation followed by natural attenuation in a soil contaminated by pyrite waste. *Environ. Pollut.*, 143:397-406.
- Dahmani-Muller H., van Oort F., Gélie B., M.M. 2000. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environ. Pollut.*, 109:231-238.
- Ernst W.H.O. 2005. Phytoextraction of mine wastes – Options and impossibilities. *Chem. Erde*, 65:29-42.
- FAO. 1972. Trace elements in soils and agriculture. *Soils Bulletin No. 17*. FAO, Rome.
- Fitz W.J., Wenzel W.W. 2002. Arsenic transformations in the soil rhizosphere/plant system: fundamentals and potential application to phytoremediation. *J. Biotechnol.*, 99:259-278.
- Keller C., Hammer D. 2005. Alternatives for phytoextraction: biomass plants versus hyperaccumulators. *Geophys. Res. Abstr.*, 7, 03285, 2005.
- Keller C., Hammer D., Kayser A., Richner W., Brodbeck M., Sennhauser M. 2003. Root development and heavy metal phytoextraction efficiency: comparison of different plant species in the field. *Plant Soil*, 249:67-81.
- Lindsay W.L., Norwell W.A. 1978. Development of a DT-PA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Sci. Soc. Am. J.*; 42:421-428.
- Madejón P., Murillo J.M., Marañón T., Cabrera F., Soriano M.A. 2003. Trace element and nutrient in sunflower plants two years after the Anzalcóllar mine spill. *Sci. Tot. Environ.*, 307:239-257.
- Marchiol L., Fellet G., Zerbi G. 2008. Utilizzo di specie agrarie nel fitorisanamento di suoli contaminati da metalli pesanti: (I) lo stato dell'arte. *Italian Journal of Agronomy/Rivista di Agronomia*, 2 Suppl.: 3-15.
- Marchiol L., Fellet G., Zerbi G., Perosa D. 2004. Caratterizzazione di un suolo contaminato da ceneri di pirite ai fini dell'applicazione di tecniche di *phytoremediation* nel sito nazionale "Laguna di Grado e Marano". *ECOMONDO 2004*. 349-357. Maggioli Editore.
- Martínez M., Bernal P., Almela C., Velez D., Garcia-Agustin P., Serrano R., Navarro-Avino J. 2006. An engineered plant that accumulates higher levels of heavy metals than *Thlaspi caerulescens*, with yields of 100 times more biomass in mine soils. *Chemosphere*, 64:478-485.
- McGrath S.P., Lombi E., Gray C.W., Caille N., Dunham S.J., Zhao F.J. 2006. Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*. *Environ. Pollut.*, 141:155-125.
- McGrath S.P., Zhao F.J. 2003. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 14:277-282.
- Nadal M., Schuhmacher M., Domingo J.L. 2004. Metal pollution of soils and vegetation in an area with petrochemical industry. *Sci. Tot. Environ.*, 321:59-69.
- Neild R.E., Logan J., Cardenas A. 1983. Growing season and phenological response of sorghum as determined from simple climatic data. *Agric. Meteorol.*, 30:35-48.
- Reeves R.D., Baker A.J.M., Brooks R.R. 1995. Abnormal accumulation of trace elements by plants. *Mining Environ. Manag.*, 3:4-8.
- Ross S. 1994. Retention, transformation and mobility of toxic metals in soils. In: Ross S.M. (ed.): *Toxic metals in soil-plant systems*, 496. John Wiley & Sons, New York.
- Salt D.E., Smith R.D., Raskin I. 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49:643-668.
- Schneiter A.A., Miller J.F. 1981. Description of sunflower growth stages. *Crop Sci.*, 21:901-903.
- USEPA 1995a. EPA Method 3052: Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. In: *Test Methods for Evaluating Solid Waste*, 3<sup>rd</sup> edition. Washington, DC.
- USEPA. 1995b. EPA Method 3051: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. In: *Test Methods for Evaluating Solid Waste*, 3<sup>rd</sup> edition. Washington, DC.