



# UNIVERSITÁ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

Scuola di Dottorato in Scienze e Tecnologie Agrarie

Dottorato di ricerca in Valorizzazione e Gestione delle Risorse Agro-Forestali  
(28° ciclo)

**La coltivazione della Canna comune (*Arundo donax* L.) in suoli marginali. Accrescimento e produttività in ambiente Mediterraneo.**

*Tutor*

Prof. Massimo Fagnano

*Correlatore*

Dott. Nunzio Fiorentino

*Candidato*

Vincenzo Cenvinzo

*Direttore di Scuola di Dottorato*

Prof. Guido D'Urso

**Anno Accademico 2014-2016**



# INDICE

## Abstract

<b>1 Introduzione</b> .....	8
1.1 Cambiamenti climatici globali .....	8
1.2 Politiche della UE per contrastare i cambiamenti climatici .....	10
1.3 La normativa italiana .....	13
1.4 Limiti e prospettive delle colture da biomassa per la produzione di energie rinnovabili .....	16
1.5 <i>L'Arundo donax</i> coltivata a fini energetici.....	21
1.5.1 Inquadramento e descrizione botanica della specie .....	22
1.5.2 Caratteristiche ecologiche .....	23
1.5.3 Tecnica colturale .....	26
1.5.4. Tecnologie di recupero energetico e materico della biomassa .....	28
1.6 Scopo e obiettivi della ricerca .....	29
<b>2 Monitoraggio dell'accrescimento epigeo ed ipogeo della Canna comune in due ambienti marginali dell'areale Campano</b> .....	30
2.1 Introduzione .....	30
<b>2.2. Materiali e metodi</b> .....	31
2.2.1 Descrizione dei siti di monitoraggio .....	31
2.2.2 Descrizione della prova e gestione dell'impianto.....	33
2.2.3 Caratterizzazione chimico-fisica del suolo .....	34
2.2.4 Determinazione della granulometria .....	34
2.2.5 Determinazione del grado di reazione - pH .....	35
2.2.6 Determinazione della conducibilità elettrica.....	35
2.2.7 Determinazione dei nitrati.....	35
2.2.8 Determinazione dell'ammoniaca .....	36
2.2.9 Determinazione dell'azoto totale (metodo Kjeldhal).....	36
2.2.10 Determinazione del carbonio organico (metodo Walkley e Black) .....	37
2.2 .11 Analisi sulle piante .....	37

2.2.12	Analisi dell'azoto .....	37
2.2.13	Analisi di crescita .....	38
2.2.14	Elaborazioni .....	38
2.3	Risultati .....	39
2.3.1	Dati meteorologici.....	39
2.3.2	Analisi di crescita .....	40
2.3.2	Monitoraggio delle concentrazioni di N minerale e del contenuto di carbonio organico nel suolo nel corso della sperimentazione.....	52
2.3.3	Monitoraggio delle asportazioni di N in culmi, foglie e rizomi nel corso della sperimentazione. ....	54
2.3.4	Asportazioni di N in culmi, foglie e rizomi nel corso della sperimentazione.....	57
2.4	Discussioni .....	60
2.5	Conclusioni .....	62
3	Crescita, assorbimento e traslocazione di metalli pesanti in <i>A. donax</i> coltivata su suoli industriali dell' ILVA di Bagnoli .....	64
3.1	Introduzione .....	64
3.2	Materiali e metodi .....	66
3.3	Rilievi e misure .....	69
3.3.1	Suolo: analisi pedologiche .....	69
3.3.2	Elementi totali e biodisponibili (In collaborazione con la sezione di chimica agraria (prof.ssa P.-Adamo),.....	69
3.3.3	Quantificazione dei geni funzionali batterici (In collaborazione con la sezione di microbiologia (prof.ssa O.Pepe), .....	70
3.3.4	Piante.....	71
3.3.5	Analisi statistica .....	71
3.4	Risultati .....	72
3.4.1	Produzione di biomassa ipogea ed epigea.....	72
3.4.2	Contenuto di metalli nei tessuti vegetali .....	75
3.4.3	Proprietà chimiche e microbiologiche del suolo.....	76

3.5. Discussione .....	79
3.5.1 Accrescimento di <i>A. donax</i> su substrati inquinati .....	79
3.5.2 Recuperare la fertilità chimica e biologica del suolo utilizzando l' <i>A. donax</i> in programmi di phytoremediation .....	81
3.5.3 Gli acidi umici come strumento per superare lo stress delle piante e migliorare la fertilità biologica del suolo in programmi di fitorimedio .....	82
3.6 Conclusioni .....	83
4. Accrescimento e produttività di <i>A. donax</i> in suoli con falda salmastra affiorante .....	86
4.1 Introduzione .....	86
4.2 Materiali e metodi .....	88
4.3 Risultati e discussioni.....	91
4.3.1 Andamento termo-pluviometrico .....	91
4.3.2 Caratteristiche del terreno: andamento della conducibilità elettrica e del contenuto idrico .....	92
4.4 Produzioni .....	95
4.5. Conclusioni .....	98
5 Conclusioni generali e prospettive future .....	99
Bibliografia .....	101

## Abstract

L'Unione Europea, al fine di fronteggiare l'incremento di gas ad effetto serra (GHG), riconosce l'importanza delle fonti energetiche rinnovabili e in particolare delle bioenergie per la mitigazione dei cambiamenti climatici. Tuttavia per soddisfare l'obiettivo del 20% di energie rinnovabili prefissato dalla UE, sarebbe necessario occupare migliaia di ettari con colture da energia, sottraendo suoli utili alle colture tradizionali. Per evitare il rischio di conflitti sull'uso del suolo, causa della competizione tra cibo ed energia, le biomasse energetiche dovrebbero essere coltivate sui suoli non idonei per le colture alimentari, come ad esempio suoli in pendenza soggetti ad erosione, degradati fisicamente, inquinati o salinizzati. Tra le varie specie poliennali lignocellulosiche utilizzabili a fini energetici, l'*A. donax* è risultata molto interessante, in quanto perenne, con un'elevata resistenza a stress biotici ed abiotici ed elevati livelli produttivi anche in terreni con bassa fertilità. Pertanto, l'attività di ricerca svolta in questo triennio di dottorato è stata finalizzata alla valutazione della adattabilità e del potenziale di accrescimento di *A. donax* in terreni considerati marginali. Nello specifico, gli obiettivi sono stati i seguenti: *i*) monitorare l'accrescimento epigeo ed ipogeo in 2 ambienti marginali dell'areale campano; *ii*) studiare il comportamento di *A. donax* su substrati inquinati da attività industriale; *iii*) valutare il potenziale produttivo della Canna comune in terreni salinizzati per risalita di acqua di falda.

Relativamente al primo esperimento sono stati individuati due siti con aspetti di marginalità differenti: Teverola (CE, 25 m s.l.m.) sito di pianura, un tempo adibito a discarica di rifiuti solidi urbani e S. Angelo dei Lombardi (AV, 700 m s.l.m.), collina soggetta ad erosione. In particolare, è stata effettuata l'analisi di crescita. I risultati ottenuti nel corso dei tre anni di monitoraggio hanno evidenziato una netta differenza di produzione di biomassa secca e di superficie fogliare in relazione ai siti sperimentali studiati. In particolare, nel I anno d'impianto le produzioni sono risultate modeste ma più elevate a S. Angelo. Diversamente, nel II e III anno, il sito di pianura, ha fatto registrare produzioni nettamente superiori rispetto al sito collinare (+50%). Anche il contenuto di N totale in culmi foglie e rizomi, nonché le asportazioni, nel primo anno d'impianto sono risultate mediamente più elevate a S. Angelo rispetto a Teverola. Negli anni successivi, invece, i valori risultano sempre più alti a Teverola. **In conclusione, la pianta di *A. donax* è riuscita a colonizzare anche i siti degradati, non solo adattandosi alle condizioni limitanti, ma anche contribuendo a migliorarne gli aspetti fisici del suolo.**

Per quanto riguarda il secondo obiettivo: l'esperimento di campo è stato condotto per due anni (2013-2015). In questo caso le unità sperimentali sono costituite da lisimetri di 1 m<sup>3</sup> nei quali sono stati trapiantati rizomi di *A. donax*. I substrati utilizzati per l'allestimento della sperimentazione, provenienti dall'impianto industriale ex-ILVA di Bagnoli, sono stati un suolo (S) e relativi fanghi di lavaggio (F). Successivamente al trapianto delle colture, metà delle unità sperimentali (3 ripetizioni di S e 3 di F), sono state fertilizzate con un ammendante a base di acidi umici estratti in soluzione alcalina (KOH) da leonardite. Lo schema sperimentale, completamente randomizzato su 3 repliche, è stato impostato per verificare le seguenti ipotesi: *i*) Effetto Substrato: S vs F (suolo vs fanghi); *ii*) Effetto fertilizzazione: H vs NoH (presenza acidi umici vs assenza acidi umici da leonardite); *iii*) Effetto ciclo di crescita: (1° ciclo di crescita vs 2° ciclo di crescita). I risultati dell'analisi statistica dei parametri di crescita colturale hanno evidenziato l'effetto significativo della fertilizzazione. In particolare, la fertilizzazione con acidi umici ha incrementato in maniera significativa il peso secco

della biomassa aerea sia nel primo che nel secondo ciclo di crescita. Il contenuto di Pb in rizomi, culmi e foglie è risultato maggiore e significativo per i fanghi, rispetto ai suoli. Il sito preferenziale di accumulo di Pb sono risultati i rizomi. Anche per lo Zn, tra i fattori presi in considerazione, il substrato ha influenzato l'assorbimento da parte della pianta. Il contenuto di Zn nei differenti organi è risultato essere più elevato nei fanghi rispetto ai suoli. Sia nei fanghi che nei suoli l' *A. donax* tende a distribuire lo zinco maggiormente nei rizomi. Tutti i tessuti delle piante cresciute su entrambi i substrati hanno un contenuto di Zn e Pb minore alle soglie previste dalle norme UNIEN per l' utilizzo della biomassa come cippato, ad eccezione del contenuto dei rizomi cresciuti sui fanghi. **In conclusione, l'*A. donax* cresciuta su sedimenti dell'Ex-Ilva non presenta particolari sintomi di sofferenza legati all'inquinamento del suolo, con valori produttivi analoghi a quelli di suoli agricoli non inquinati. In tutti i casi, la qualità della biomassa, ad eccezione dei rizomi, rispetta i parametri per il suo riutilizzo nella filiera energetica.**

Infine, relativamente al terzo esperimento, la prova è stata condotta nel sito sperimentale del Dipartimento di Agraria di Portici (NA), Parco Gussone (N 40° 48.870'; E 14° 20.821'; 70 m s.l.m.). I rizomi di un ecotipo locale di canna (omogenei per dimensioni, peso e numero di gemme) sono stati impiantati nella seconda decade di maggio 2013 in vasi forati posti all'interno di contenitori/vasche in legno, rivestiti da teli di plastica, al fine di simulare una falda superficiale. Lo schema sperimentale ha previsto il confronto tra: 4 livelli di "falda" salina: controllo (acqua fresca); S1 (EC 2.5 dS m<sup>-1</sup>); S2 (EC 5.0 dS m<sup>-1</sup>); S3 (EC 7.5 dS m<sup>-1</sup>) e 2 tipologie di terreno (salinizzato a circa 2 dS m<sup>-1</sup> e non salinizzato). Ciascun trattamento è stato ripetuto 4 volte per un totale di 32 vasi. L'esperimento ha avuto durata biennale e sono state effettuate due raccolte (febbraio 2014 e marzo 2015). Alla raccolta sono stati determinati le principali componenti della resa. In corrispondenza della seconda raccolta sono stati anche espianati i rizomi, puliti dal terreno, pesati e anche essi messi ad essiccare in stufa per la determinazione della sostanza secca. Inoltre, in corrispondenza di questi rilievi sono stati effettuati anche campionamenti di terreno per monitorarne la conducibilità, il pH e il contenuto idrico. Infine, sulle parti vegetali campionate alla raccolta è stato determinato anche il contenuto in azoto. I risultati di questo esperimento hanno mostrato in tutte le tesi trattate produzioni interessanti, in particolare nel secondo anno le produzioni dei trattamenti salini sono raddoppiate. La concentrazione salina dell'acqua di falda che ha determinato un dimezzamento della produzione è stata molto alta (6 dS m<sup>-1</sup>), confermando la buona resistenza di questa specie. Inoltre, la salinità non ha influito sulla composizione della biomassa, dal momento che l'incidenza percentuale degli steli sulla biomassa totale è comunque superiore al 90% anche nelle tesi più stressate. **I risultati di questo studio dimostrano che l'*A. donax* mostra una buona adattabilità alla salinità del terreno determinata dalla risalita di acqua falda salina.**

In conclusione, le ricerche svolte durante il corso di dottorato aprono prospettive molto interessanti per l'utilizzazione di *A. donax* in aree marginali attraverso l'attivazione di una filiera di produzione di biomasse lignocellulosiche per la produzione di energia e biochemicals. Tuttavia in ambienti limitanti è opportuno inserire tecniche agronomiche volte a migliorare le caratteristiche fisiche e chimiche del suolo al fine di massimizzare le produzioni e ottenere all'interno della filiere di riferimento un maggior ritorno economico. Ulteriori ricerche sono necessarie per quanto riguarda la qualità della biomassa in termini di contenuto di lignina, cellulosa e zuccheri per verificarne l'idoneità a processi specifici della chimica verde.

# 1 INTRODUZIONE

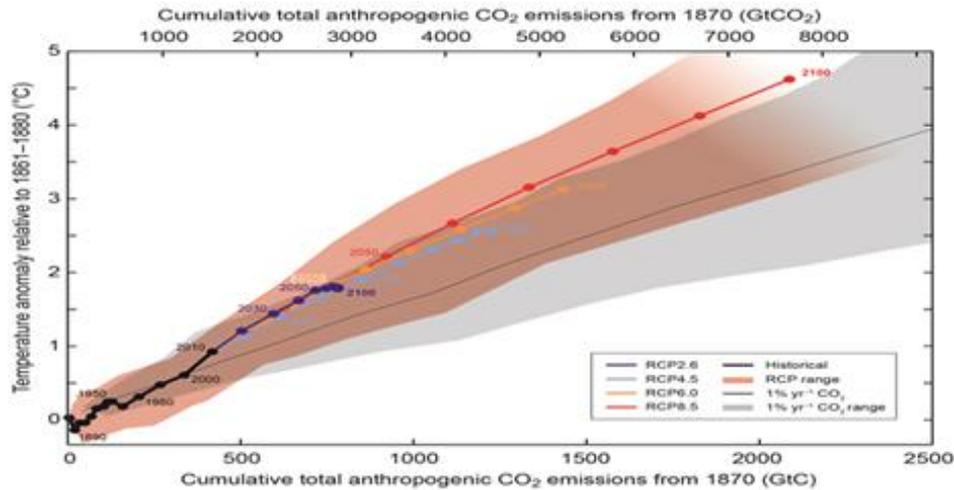
## 1.1 Cambiamenti climatici globali

Allo stato attuale il cambiamento climatico è la sfida ambientale più importante che viene rivolta alle generazioni future poiché i suoi effetti sull'uomo e sull'ecosistema saranno ancora più evidenti con il passare degli anni. Il cambiamento climatico conseguente al riscaldamento dell'atmosfera terrestre (*Global Warming*) è causato dall'aumento della concentrazione atmosferica di gas ad effetto serra (GHG), in particolare anidride carbonica (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>) e protossido di azoto (N<sub>2</sub>O). Il Comitato Intergovernativo sui Mutamenti del Cambiamento Climatico nel Quinto Rapporto di Valutazione (IPCC, 2014), conferma che la maggior parte degli aumenti di temperatura dipende da attività umane, in particolar modo dalla combustione dei combustibili fossili utilizzati per avviare i processi industriali e il trasporto, entrambi responsabili delle emissioni di CO<sub>2</sub>. Il tasso annuo di crescita della concentrazione di anidride carbonica negli ultimi quindici anni (media 1995-2010: 1.9 ppmv all'anno) è stato il più alto da quando sono iniziate le misure dirette in continuo dell'atmosfera (media 1960-2010: 1.4 ppmv all'anno), nonostante vi sia una variabilità da un anno all'altro nei tassi di crescita. La fonte principale dell'incremento della concentrazione atmosferica di CO<sub>2</sub> rispetto al periodo pre-industriale deriva dall'uso dei combustibili fossili, e in misura minore dai cambiamenti di uso del suolo. Il settore energetico è il maggior responsabile delle emissioni di gas-serra e il consumo di energia primaria è previsto aumentare nei prossimi anni per la rapida crescita della popolazione mondiale che passerà dagli attuali 7 miliardi a 11 miliardi nel 2100 (Gerland et al, 2014) e per la comparsa sulla scena economica mondiale delle economie emergenti rappresentate da Brasile, Russia, India, Cina e Sud Africa.

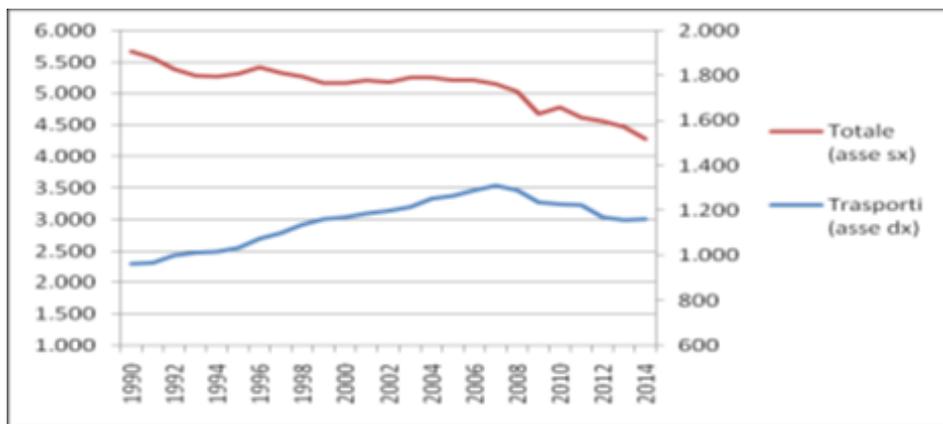
L'attuale temperatura media mondiale è più alta di 0.85°C rispetto ai livelli della fine del 19° secolo (Fig. 1.1). Ciascuno degli ultimi tre decenni è stato più caldo dei precedenti decenni, da quando sono iniziate le prime rilevazioni nel 1850. Si registrano incrementi in termini di intensità e frequenza di ondate di calore, periodi di siccità e gelate, intensità dei cicloni tropicali, precipitazioni intense. Tali eventi di precipitazione sono spesso le cause di innesco di *flash floods*, ovvero di alluvioni lampo che costituiscono un serio pericolo per la sicurezza e la qualità della vita delle persone (Norbiato, 2008; Georgakakos, 1992). Un aumento della frequenza delle ondate di calore ha riguardato in particolare l'Europa, dove si è registrato anche un aumento dell'intensità delle precipitazioni. In Italia, in generale, si è registrata una diminuzione del numero totale delle precipitazioni, mediamente del 12 %, dal 1880 al 2013 con un aumento di eventi difforni per quanto concerne quelli di alta e bassa intensità.

Le principali istituzioni internazionali e nazionali determinate a fronteggiare l'incremento delle emissioni di GHG (Fig. 1.2) riconoscono l'importanza fondamentale delle fonti energetiche rinnovabili e in particolare delle bioenergie per la mitigazione dei cambiamenti climatici (European Commission, 2009). Come è noto, l'utilizzazione delle biomasse per fini energetici non contribuisce ad aumentare l'effetto serra, poiché l'anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) che viene rilasciata durante il processo di conversione energetica, è equivalente a quella assorbita durante la crescita della biomassa stessa. Utilizzata per la produzione di energia termica, energia elettrica, e come carburante per il trasporto, la biomassa può diversificare l'approvvigionamento energetico dell'Unione europea e creare crescita e posti di lavoro. La materia prima per la produzione di biomassa ligno-cellulosica si può ottenere da coltivazioni dedicate o da residui agricoli. Le coltivazioni comprendono specie arboree a rapida crescita come il pioppo, il salice, la robinia, l'eucalipto e specie erbacee quali canna comune, miscanto, panico, sorgo. Considerando le necessità energetiche globali, le bioenergie sono opzioni in grado di soddisfare la futura domanda di energia, considerato che essa rappresenta la fonte più disponibile di energia rinnovabile. Tuttavia, l'aumento della domanda di biomasse per la produzione di calore, energia, biocarburanti e biopòlimeri sta generando conflitti tra produzioni alimentari e produzioni energetiche per l'utilizzo dei suoli agricoli (Baffes e Haniotis, 2010) e preoccupazione per gli effetti del cambiamento indiretto di uso del suolo (Wiegmann et al, 2008) qualora si decida di convertire a colture energetiche suoli con elevato stock di carbonio quali foreste o torbiere. Questa domanda in crescita però, può essere soddisfatta aumentando la superficie dei terreni da destinare all'agricoltura. Uno dei modi per aumentare la superficie dei terreni disponibili per le coltivazioni consiste nel ripristino di terreni gravemente degradati o fortemente contaminati che, allo stato attuale, non possono essere utilizzati per scopi agricoli (Fagnano et al, 2012). Attualmente in Italia si contano circa 3 milioni di ettari di terreni marginali che, se coltivati per destinazioni energetiche, potrebbero contribuire per il 6-7% al fabbisogno energetico nazionale determinando, allo stesso tempo, una riduzione delle emissioni di gas serra, una migliore conservazione del suolo ed una limitazione dei processi di erosione dei terreni e di lisciviazione dei fitonutrienti (Tolbert e Schiller, 1995) con la possibilità di fornire agli agricoltori un reddito aggiuntivo. Tra le strategie per la riduzione dei gas serra e per la mitigazione dei cambiamenti climatici, si richiede anche all'agricoltura di ridurre le proprie emissioni di gas serra (35 % del totale delle emissioni di gas serra). L'agricoltura può contribuire in maniera significativa alla riduzione dei propri impatti attraverso l'adozione di pratiche agricole che sostengono la qualità del suolo quali la non lavorazione o la lavorazione minima, le colture di copertura, l'inerbimento, la fertilizzazione con ammendanti organici come letame o compost. Nell'ottica di un'agricoltura sostenibile il compost ha l'importante funzione di incrementare la fertilità del suolo, consentire di

assimilare ulteriore CO<sub>2</sub> sottraendola all'atmosfera (Centemero et al, 2006) e di aumentare l'assorbimento di carbonio nel suolo (Galvez et al, 2012). Infine, un riutilizzo di questi scarti, apporta notevoli vantaggi ambientali ed economici; poiché tali materiali andrebbero gestiti come rifiuti da conferire in discarica, in questo modo essi vengono sottratti ai normali circuiti di gestione con una conseguente riduzione significativa della quantità di rifiuti da destinare allo smaltimento.



**Figura 1.1.** Aumento della temperatura superficiale media globale in funzione delle emissioni globali cumulative di CO<sub>2</sub>. I valori dell'anomalia delle temperature sono riferiti al periodo 1861-1880, i valori delle emissioni rispetto all'anno 1870. (fonte Ippc, 2014).



**Figura 1.2.** Andamento delle emissioni di GHG nella Unione Europea (milioni di tonnellate equivalenti di CO<sub>2</sub>)- Fonte: Eurostat 2015.

## 1.2 Politiche della UE per contrastare i cambiamenti climatici

Il cambiamento climatico è un fenomeno che minaccia l'uomo e gli ecosistemi, coinvolge tutti i paesi del mondo arrivando a colpire anche le zone più povere e remote del pianeta. L'Unione Europea, data la natura globale dei cambiamenti climatici ha assunto da sempre un ruolo di primo

piano nei negoziati internazionali in materia di riduzione di gas serra. E' stata determinante nell'elaborazione del primo accordo internazionale sulla lotta ai cambiamenti climatici (Convenzione quadro delle Nazioni Unite) approvata nel 1992, del Protocollo di Kyoto del 1997 che obbliga i paesi industrializzati a ridurre le emissioni di gas serra e, più di recente, dell'accordo di Parigi sui cambiamenti climatici (COP 21). L'accordo, approvato nel dicembre del 2015 ha definito un piano d'azione globale, inteso a rafforzare la risposta alla minaccia dei cambiamenti climatici limitando il riscaldamento globale al di sotto dei 2° C rispetto ai livelli preindustriali. In particolare i governi hanno concordato di:

- contenere l'aumento medio della temperatura mondiale al di sotto di 2°C rispetto ai livelli preindustriali come obiettivo a lungo termine
- puntare a limitare l'aumento a 1,5°C, dato che ciò ridurrebbe in misura significativa i rischi e gli impatti dei cambiamenti climatici;
- fare in modo che le emissioni globali raggiungano il livello massimo al più presto possibile, pur riconoscendo che per i paesi in via di sviluppo occorrerà più tempo;
- procedere successivamente a rapide riduzioni in conformità con le soluzioni scientifiche più avanzate disponibili.

Prima e durante la conferenza di Parigi, i paesi hanno presentato piani nazionali volontari per ridurre le emissioni di diossido di carbonio (INDC). Tuttavia, questi non sono ancora sufficienti per mantenere il riscaldamento globale al di sotto di 2°C, ma l'accordo traccia la strada verso il raggiungimento di questo obiettivo.

Inoltre i governi hanno concordato di:

- riunirsi ogni cinque anni per stabilire obiettivi più ambiziosi in base alle conoscenze scientifiche;
- riferire agli altri Stati membri e all'opinione pubblica cosa stanno facendo per raggiungere gli obiettivi fissati;
- segnalare i progressi compiuti verso l'obiettivo a lungo termine attraverso un solido sistema basato sulla trasparenza e la responsabilità.

L'accordo, inoltre, riconosce l'importanza di scongiurare, minimizzare e affrontare le perdite e i danni associati agli effetti negativi dei cambiamenti climatici e la necessità di cooperare e migliorare la comprensione, gli interventi e il sostegno in diversi campi, come i sistemi di allarme

rapido, la preparazione alle emergenze e l'assicurazione contro i rischi. Infine l'accordo riconosce il ruolo dei soggetti interessati che non sono parti dell'accordo nell'affrontare i cambiamenti climatici, comprese le città, la società civile, il settore privato e altri ancora. Tuttavia, affinché l'accordo entri in vigore, e produca effetti concreti è necessaria la ratifica di almeno 55 parti della Convenzione sul cambiamento climatico (nazioni o federazione di stati), rappresentanti almeno il 55% delle emissioni totali di gas a effetto serra (GHG) mondiali. I primi paesi ad accettare l'atto di ratifica sono stati una serie di stati insulari particolarmente minacciati dai cambiamenti climatici quali le isole Fiji, seguite da Palau, isole Marshall e Maldive. Ai primi di settembre circa una trentina di paesi hanno completato la procedura di ratifica dell'accordo. Tra di essi figurano la Cina e gli Stati Uniti, che da soli sono responsabili del 40% delle emissioni mondiali di GHG. Con la ratifica dell'accordo da parte di questi due paesi, l'entrata in vigore del testo definitivo sembra a portata di mano.

In ambito strettamente comunitario, la politica energetica è orientata al perseguimento di tre obiettivi principali: garantire la sicurezza dell'approvvigionamento, la competitività e la sostenibilità. In particolare, i leader UE sono impegnati a trasformare l'Europa in un'economia con un'elevata efficienza energetica a basse emissioni di carbonio in cui la produzione di energia da fonti rinnovabili è uno dei capisaldi della politica energetica comunitaria. Con questi propositi, nel 2008, l'Unione Europea ha varato il 'Pacchetto Clima-Energia' o cosiddetto 'Pacchetto 20-20-20', con i seguenti obiettivi energetici e climatici da raggiungere entro il 2020:

- Un impegno unilaterale a ridurre di almeno il 20% entro il 2020 le emissioni di gas serra rispetto ai livelli del 1990.
- Una riduzione del 20% nel consumo di energia primaria rispetto ai livelli previsti al 2020, da ottenere tramite misure di efficienza energetica. Tale obiettivo, solo enunciato nel pacchetto, è stato in seguito declinato, seppur in maniera non vincolante, nella direttiva efficienza energetica approvata in via definitiva nel mese di ottobre 2012.
- Un obiettivo vincolante di contributo del 20% di energia da fonti rinnovabili sui consumi finali lordi entro il 2020, compreso un obiettivo del 10% per i biocarburanti.

I principali strumenti normativi europei di contrasto al cambiamento climatico sono i seguenti:

- Direttiva 2009/28/CE impegna l'Italia a soddisfare, entro il 2020, il 17% dei consumi finali di energia mediante fonti rinnovabili, incluso l'uso di almeno il 10% di biocarburanti da fonti rinnovabili nei trasporti stradali e ferroviari;

- Direttiva 2009/29/CE perfeziona e estende il sistema comunitario di scambio di quote di emissioni dei gas-serra, ponendo un tetto unico europeo in materia di quote di emissioni dal 2013. Le quote disponibili per le emissioni verranno ridotte annualmente dell'1.74%, con una riduzione al 2020 del 21% rispetto all'anno base 2005;
- Decisione 406/2009/CE concernente gli sforzi degli Stati membri per rispettare gli impegni comunitari di riduzione delle emissioni di gas-serra entro il 2020. La decisione assegna all'Italia l'obiettivo di riduzione delle emissioni del 13% al 2020 rispetto alle emissioni 2005 per tutti i settori non coperti dal sistema ETS, ovvero piccola-media industria, trasporti, civile, agricoltura e rifiuti;
- Direttiva 2012/27/CE in materia di efficienza energetica che tuttavia non prevede obiettivi vincolanti per i singoli Stati membri.

Inoltre, in ambito Europeo si è iniziato a discutere di scenari e di obiettivi per orizzonti temporali di lungo termine, che vanno oltre il 2020. La Commissione Europea, nello studio denominato Energy Roadmap 2050 prevede una progressiva riduzione delle emissioni di gas serra del'80-95% entro il 2050 rispetto ai livelli del 1990, con un abbattimento per il settore elettrico di oltre il 95%. I diversi scenari esaminati dalla Commissione per questo percorso, guardano anche con attenzione all'utilizzo di energia nucleare e allo sviluppo della tecnologia CCS (Carbon Capture and Storage), e prevedendo un ruolo per il gas durante la fase di transizione, che consentirà di ridurre le emissioni sostituendo carbone e petrolio nella fase intermedia, almeno fino al 2030 - 2035.

### **1.3 La normativa italiana**

La direttiva 2009/28/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 23 aprile 2009 sulla promozione dell'uso dell'energia da fonti rinnovabili, recante modifica e successiva abrogazione delle direttive 2001/77/CE e 2003/30/CE, ha fissato per ogni stato membro obiettivi specifici e settoriali di utilizzo delle fonti rinnovabili, in particolare per l'Italia sono stati fissati i seguenti obiettivi da raggiungere al 2020:

- a) un obiettivo complessivo che consiste nel soddisfare con energia da FER il 17% dei consumi finali lordi di energia;
- b) un obiettivo settoriale che consiste nel soddisfare con energia da FER il 10% dei consumi complessivi per i trasporti.

Il Piano d'Azione Nazionale per le energie rinnovabili (PAN), elaborato nel 2010, recepisce gli obiettivi definiti dalla direttiva 2009/28/CE (17% e 10% dei consumi finali lordi di energia coperti

da fonti rinnovabili rispettivamente sui consumi energetici complessivi e sui consumi del settore Trasporti) e ne individua due ulteriori settoriali, per il settore Elettrico e per il settore Termico (rispettivamente 26,4% e 17,1% dei consumi coperti da FER). Nel PAN sono inoltre indicate le traiettorie previste per il raggiungimento degli obiettivi e le principali politiche da attuare a tale fine. Nell'ambito della ridefinizione delle priorità strategiche per l'intero sistema energetico nazionale, nel corso del 2012, l'Italia ha spontaneamente elaborato una Strategia Energetica Nazionale (SEN) approvata con D.M del 8 marzo 2013. Per quanto riguarda le energie rinnovabili, si è ritenuto di prevedere che al 2020 la quota di consumi finali coperti mediante le rinnovabili possa arrivare al valore del 19%-20%, fermo restando l'impegno vincolante del 17% assegnato in ambito europeo. Secondo la SEN le fonti rinnovabili di energia devono essere un punto di forza su cui costruire il futuro energetico del Paese andando oltre gli obiettivi stabiliti con il PAN (17%) per il contributo delle FER nei consumi finali lordi per raggiungere il 19-21%. Si considera quindi la necessità di stabilire dei target più bilanciati per le diverse FER riconoscendo la giusta importanza alle rinnovabili termiche. Per i settori elettrico, termico e dei trasporti la SEN identifica per il 2020 i seguenti obiettivi:

- Settore elettrico - sviluppare le rinnovabili fino al 35-38% dei consumi finali (e potenzialmente oltre), pari a circa 120-130 TWh/anno o 10-11 Mtep. Con tale contributo, la produzione rinnovabile diventerà la prima componente del mix di generazione elettrica in Italia, al pari del gas.
- Settore termico - sviluppare la produzione di rinnovabili fino al 20% dei consumi finali (dal 17% dell'obiettivo 20-20-20), pari a circa 11 Mtep/anno. Ci si attende un incremento della produzione di energia termica da caldaie a biomassa rispetto a quanto stimato inizialmente nel Piano d'Azione Nazionale.
- Settore trasporti - Si conferma l'obiettivo europeo al 2020 di un contributo da biocarburanti pari a circa il 10% dei consumi, ovvero circa 2.5 Mtep/anno. Ci si propone di spingere quanto possibile l'adozione di biocarburanti di seconda generazione, preservando tuttavia gli investimenti già effettuati sulla produzione di biocarburanti di prima generazione.

In riferimento agli obiettivi e ai criteri definiti dalla SEN per lo sviluppo delle FER, le agroenergie e i biocarburanti si candidano a pieno titolo a fornire un contributo di primaria importanza.

A tal proposito, in attuazione della direttiva 2009/30/CE è stato introdotto nel 2014 con decreto del ministero dello sviluppo economico l'obbligo per i fornitori di benzina e gasolio (Soggetti obbligati) di immettere in consumo una quota minima di biocarburanti, al fine di svilupparne la filiera, aumentarne l'utilizzo e limitare l'immissione di CO<sub>2</sub> in atmosfera. Il quantitativo minimo

annuo di biocarburanti che i Soggetti Obbligati devono immettere in consumo è calcolato sulla base del contenuto energetico espresso in Gigacalorie (Gcal) di benzina e gasolio forniti nell'anno precedente, ponderato secondo percentuali definite dalla normativa vigente. Dal 2015 tale quantitativo minimo viene calcolato sulla base dei carburanti fossili immessi in consumo nello stesso anno solare.

anno 2015 = 5.0% di biocarburanti;

anno 2016 = 5.5% di biocarburanti;

anno 2017 = 6.5 % di biocarburanti;

anno 2018 = 7.5 % di biocarburanti di cui almeno 1.2 % di biocarburanti avanzati;

anno 2019 = 9.0 % di biocarburanti di cui almeno 1.2 % di biocarburanti avanzati;

anno 2020 = 10.0 % di biocarburanti di cui almeno 1.6 % di biocarburanti avanzati;

anno 2021 = 10.0 % di biocarburanti di cui almeno 1.6 % di biocarburanti avanzati;

dall'anno 2022 = 10.0 % di biocarburanti di cui almeno 2.0 % di biocarburanti avanzati.

In Italia, nel 2014, il fabbisogno energetico lordo del Paese è stato pari a circa 165.9 Mtep. Il dato è stato certificato dal MISE nel “Bilancio energetico nazionale”(BEN) di dicembre 2015. Si tratta del valore più basso degli ultimi 18 anni. La diminuzione della domanda energetica nel 2014 (nel 2013, essa era stata pari a 173 Mtep) conferma il trend di riduzione registratosi negli ultimi anni. Secondo il MISE, il decremento del fabbisogno energetico è stato determinato dall'azione congiunta della recessione economica, della ricomposizione settoriale della produzione e della maggiore efficienza energetica (“Situazione energetica nazionale nel 2014” di luglio 2015). La composizione percentuale delle fonti energetiche impiegate per la copertura della domanda nel 2014 è stata caratterizzata, rispetto al 2013, da una riduzione dell'incidenza del petrolio (da 58.3 Mtep di consumo nel 2013 a 57.3 Mtep di consumo nel 2014), dalla diminuzione di quella del gas (da 57.4 nel 2013 a 50.7 Mtep nel 2014) e da un trend crescente della quota delle fonti rinnovabili, che passa da 33.8 Mtep di consumo interno lordo del 2013 a 34.7 Mtep nel 2014. Per quanto riguarda l'anno 2015, i dati preliminari diffusi dal GSE il nel mese di febbraio 2016 evidenziano che i consumi di energia da FER lo scorso anno sono stati pari a 21.1 Mtep, con un'incidenza sui consumi finali lordi intorno al 17.3%, dunque un valore sia in termini assoluti che in termini percentuali superiore

rispetto agli impieghi del 2014. Il 2015, invece, ha segnato per l'Italia un ritorno alla crescita economica e l'aumento della domanda di energia, il cui livello resta tuttavia inferiore a quello osservato alla fine degli anni Novanta. Inoltre, i dati provvisori sui primi mesi del 2016 suggeriscono un nuovo rallentamento, frutto di una dinamica del PIL molto moderata (0.7% su base annua), della ripresa dei prezzi di alcuni prodotti energetici e di un clima più mite sia durante l'inverno che a inizio estate. La domanda di energia elettrica, quella su cui Terna offre informazioni piuttosto tempestive, dovrebbe essere addirittura diminuita del 2% nel primo semestre rispetto all'anno scorso. Analoga diminuzione avrebbe subito la produzione nazionale di elettricità. ENEA, sulla base di questi e altri dati, stima perciò un calo della domanda di energia primaria di circa l'1% tra gennaio e giugno.

#### **1.4 Limiti e prospettive delle colture da biomassa per la produzione di energie rinnovabili**

Le conseguenze negative per l'ambiente derivate dall'utilizzo massiccio dei combustibili fossili registrato negli ultimi duecento anni e la crescente preoccupazione verso i cambiamenti climatici hanno stimolato l'interesse per il settore delle fonti rinnovabili, e in particolare della biomassa come forme di energia alternativa. Attualmente, il 19% della domanda globale di energia è soddisfatto dalle fonti rinnovabili, di cui per il 9%, contribuisce la biomassa energetica ed il restante 10% è soddisfatto da fonti rinnovabili moderne, tra cui l'energia eolica, i biocarburanti, l'energia geotermica e il solare (Edrisi e Abhilash, 2016). Inoltre, questo tasso è previsto in aumento ad un ritmo del 2.5% all'anno su scala globale (Edrisi e Abhilash, 2016). La biomassa energetica è considerata come una delle alternative più promettenti insieme all'energia solare, eolica e idroelettrica. Si ritiene che la bioenergia abbia un potenziale enorme per sostituire l'energia prodotta con i combustibili fossili con benefici ambientali di mitigazione di gas ad effetto serra e sequestro di carbonio nella biomassa (Qin et al, 2011; Skevas et al, 2014). La biomassa utilizzabile ai fini energetici consiste in tutti quei materiali organici che possono essere utilizzati direttamente come combustibili oppure trasformati in combustibili solidi, liquidi o gassosi. Da tale gruppo sono esclusi i combustibili fossili e le materie plastiche, che nonostante rientrino nella chimica organica non possiedono quelle proprietà di rinnovabilità che rendono la biomassa una sostanza organica ad impatto zero con l'ambiente. Secondo la legislazione comunitaria (Dir. 2009/28) si definisce biomassa, oltre alle colture dedicate espressamente a scopi energetici, tutti i prodotti delle coltivazioni agricole e della forestazione, compresi i residui delle lavorazioni agricole e della silvicoltura, gli scarti dei prodotti agro-alimentari destinati all'alimentazione umana o alla

zootecnia, i residui, non trattati chimicamente, dell'industria della lavorazione del legno e della carta, tutti i prodotti organici derivanti dall'attività biologica degli animali e dell'uomo, come quelli contenuti nei rifiuti urbani o nei reflui zootecnici. Al termine biomassa, sono ormai associati nel settore delle energie rinnovabili, il termine biocombustibile, con il quale si intende “ogni sostanza organica diversa dal petrolio, dal gas naturale, dal carbone o dai loro derivati, utilizzabile come combustibile”, il termine biocarburanti con il quale si intende “ogni sostanza liquida o gassosa che può essere usata in motori a combustione interna” e il termine bioenergia, che rappresenta la produzione di energia proveniente dall'uso delle biomasse. In considerazione del comparto di provenienza, le biomasse destinate alla produzione energetica possono essere suddivise secondo il seguente schema:

- Comparto forestale e agroforestale, comprendente i residui della selvicoltura o di attività forestali;
- Comparto agricolo, comprendente residui colturali, colture dedicate di specie lignocellulosiche, oleaginose, colture alcoligene;
- Comparto zootecnico, reflui zootecnici;
- Comparto industriale, scarti agroalimentari, residui provenienti da industria del legno e della carta;
- Rifiuti urbani, frazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU), residui delle operazioni di manutenzione del verde pubblico.

In questo quadro, le “colture dedicate” da biomassa ligno-cellulosica presentano interessanti prospettive ai fini della produzione di biomassa a destinazione energetica e possono svolgere anche un ruolo importante per lo sviluppo di filiere energetiche e come fonte di materia prima per i prodotti della chimica verde. Questi ultimi hanno lo scopo di trasformare la biomassa in biomolecole e prodotti chimici di base per la produzione industriale di biopolimeri e bioplastiche.

Le colture dedicate da biomassa lignocellulosica possono essere raggruppate in tre categorie principali:

- colture erbacee annuali, ad elevata efficienza fotosintetica in particolare sorgo da fibra (*Sorghum bicolor*), girasole, colza;
- colture erbacee poliennali, quali canna comune (*Arundo donax* L.), miscanto (*Miscanthus x giganteus* Greef et Deuter), panico (*Panicum virgatum* L.) e cardo (*Cynara cardunculus* L.).

- short Rotation Forestry (SRF), piante arboree a rapido accrescimento quali pioppo, salice, robinia, eucaliptus.

Le colture erbacee annuali offrono il vantaggio di non occupare il terreno agricolo in modo permanente, per cui si inseriscono bene nei cicli tradizionali di rotazione colturale e possono essere coltivate anche su terreni tenuti a riposo secondo il set-aside rotazionale. Le colture erbacee poliennali, invece, hanno la capacità di produrre la biomassa aerea per un lungo periodo di tempo, generalmente 10-15 anni. Queste colture sono meno flessibili, rispetto alle erbacee annuali, in quanto occupano il suolo per diversi anni. Inoltre, le specie più diffuse presentano una spiccata rusticità che si traduce in un minor impatto ambientale grazie ad un'assenza di lavorazioni, ad eccezione di quella effettuata all'atto dell'impianto, ed un ridotto impiego di fertilizzanti ed antiparassitari. Le colture da Short Rotation Forestry (SRF) sono costituite da specie arboree selezionate per l'elevata resa in biomassa e per la capacità di rapida ricrescita in seguito alla ceduzione. Esse hanno turni di taglio brevi, generalmente annuali o biennali e presentano un'elevata densità d'impianto variabile dalle 6000 alle 14000 piante/ha.

L'utilizzo delle biomasse lignocellulosiche presenta una grande variabilità in relazione al tipo di materiale disponibile. La biomassa è costituita da cellulosa, emicellulosa e lignina e, in quantità minori, da carboidrati semplici, amidi, lipidi, proteine, acqua e ceneri. Le ceneri sono costituite, principalmente, da ossidi di ferro, calcio, magnesio, alcali e silicati e costituiscono i residui solidi prodotti durante il processo di combustione (McKendry, 2002). La concentrazione di ciascun composto può cambiare, in funzione della specie, del tessuto vegetale, della fase e delle condizioni di sviluppo vegetativo. La cellulosa è un carboidrato che ha funzioni strutturali. L'emicellulosa è un polisaccaride costituito da una catena composta da diversi monosaccaridi a cinque ed a sei atomi di carbonio. La lignina è un composto ternario derivato dalla condensazione di unità strutturali fenilpropaniche. È importante evidenziare che, fra i tre zuccheri, la cellulosa e l'emicellulosa sono gli unici fermentescibili. La diversa proporzione con la quale questi tre componenti sono presenti nella biomassa influisce, sulla selezione del processo di conversione energetico. Attualmente i processi di conversione energetica impiegati sono riconducibili a due categorie principali: processi termochimici e biochimici. Ad eccezione della combustione diretta, entrambe le categorie rappresentano modalità di pretrattamento, con la finalità di incrementare la resa termica e la capacità di sfruttamento della biomassa. I processi di conversione termochimica sono basati sull'azione del calore. La combustione diretta è il più semplice dei processi termochimici: per essere efficiente richiede la riduzione del contenuto d'acqua della biomassa, che in genere viene

ottenuta essiccando i prodotti in modo naturale o artificiale. La combustione è, da un punto di vista termodinamico, un processo di conversione dell'energia chimica del combustibile in calore, quest'ultimo si genera grazie alla reazione di ossidazione del carbonio in presenza di sufficiente ossigeno. Il calore generato dalla combustione delle biomasse viene generalmente sfruttato in impianti cogenerativi, ossia impianti che prevedono la contemporanea produzione di energia elettrica ed energia termica. Una seconda tipologia di processo termochimico è dato dalla pirolisi, che consiste nella trasformazione della biomassa a opera del calore in forte carenza di ossigeno. Il materiale organico di partenza viene portato a temperature comprese tra 200 e 1000°C. Generalmente, con questo processo si forma un combustibile solido a maggiore densità energetica, un altro liquido a più elevato contenuto energetico specifico, ed un altro gassoso. I prodotti della reazione finale che si ottengono consistono in gas ad alto potere calorifico, liquidi, solidi (char) in una percentuale che è dipendente dai parametri di reazione. La ricerca ha individuato tre tipi di processi di pirolisi: (i) pirolisi lenta, ottenuta con temperature inferiori a 600°C e un lungo periodo di permanenza, il prodotto ottenuto è un carbone da legna; (ii) pirolisi veloce, ottenuta con temperature tra 500 e 650°C, si ottengono prodotti gassosi; (iii) flash pirolisi detta anche liquefazione, buona efficienza del processo, basse emissioni e una certa economicità.

La flash pirolisi è condotta con temperature sui 650 °C e tempi di permanenza molto ridotti, consente di ottenere prodotti liquidi di natura diversa: gas, oli, soluzioni zuccherine, idrocarburi, benzina e combustibili per motori diesel. I prodotti liquidi hanno un elevato contenuto energetico, facilmente trasportabile e conservabile per lungo tempo senza problemi di degradazione. La gassificazione è, invece, un processo fisico-chimico per mezzo del quale si trasforma un combustibile solido in un combustibile gassoso. Il processo consiste in un'ossidazione incompleta dei composti carboniosi portati ad elevata temperatura in ambiente carente di ossigeno. Il gas ottenuto in uscita è una miscela di azoto, metano, idrogeno, monossido di carbonio e altri gas, che può essere utilizzato per alimentare caldaie, per la produzione di energia termica, oppure per alimentare turbine a gas per la produzione di energia elettrica (idrogeno sporco o syngas). Il rendimento dei gassificatori per la produzione di energia elettrica è dell'ordine del 30-35%, valori nettamente superiori agli impianti a combustione. Il rendimento varia a seconda delle biomasse utilizzate in particolare il liquido ottenuto rappresenta il 75 % in peso del legno utilizzato come materia prima, percentuale che arriva fino all'85 % nel caso in cui sia la cellulosa ad alimentare la reazione. La gassificazione delle biomasse legnose può costituire una straordinaria opportunità per ottenere a costi relativamente bassi idrogeno, da utilizzare, per esempio, nelle celle a combustibile. La steam explosion (SE) infine, è un pre-trattamento innovativo della biomassa, a basso impatto ambientale, con il quale si può ottenere una vasta gamma di prodotti. Il processo consiste nell'uso di

vapore saturo ad alta pressione per riscaldare rapidamente legno, o qualsiasi altro materiale lignocellulosico in un reattore che può essere ad alimentazione continua o discontinua. Rispetto agli altri processi di pretrattamento (acidificazione, alcalinizzazione), la SE presenta il vantaggio fondamentale di separare in tre differenti correnti le frazioni di emicellulosa, cellulosa e lignina, senza generare sottoprodotti ad alto impatto ambientale.

I processi di conversione biochimica delle biomasse vegetali sono, invece, ottenuti grazie all'azione di enzimi, funghi e microorganismi che si formano nella biomassa sotto particolari condizioni. Il primo processo possibile è la *digestione anaerobica*, che consiste nel processo di fermentazione di biomasse ricche in amido e cellulosa quale l'insilato di mais, RSU, ad opera di batteri in completa assenza di ossigeno. La fermentazione della sostanza organica produce un biogas costituito per oltre il 60% da metano. Il biogas prodotto viene impiegato come combustibile in caldaie a gas per produrre calore o in motori a combustione interna per produrre energia elettrica. La *fermentazione alcolica* è un processo per mezzo del quale gli zuccheri contenuti nelle produzioni vegetali sono trasformati in etanolo. La produzione di etanolo è ampiamente utilizzata, in USA e Brasile dove le fonti più usate sono la canna da zucchero e il mais. Il biofuel così ottenuto prende il nome di bioetanolo di prima generazione. L'utilizzo di queste materie prime però, è comune al settore alimentare e comporta alcuni svantaggi quali: la competizione con il settore alimentare e la sottrazione di suoli agricoli per produrre energia. Per queste ragioni, la ricerca scientifica si è sforzata nel cercare soluzioni tecnologiche innovative in grado di processare altri tipi di biomasse vegetali, individuando nella cellulosa una più adatta materia prima per la produzione di bioetanolo. Il carburante prodotto da questo elemento prende il nome di bioetanolo di seconda generazione. Infine, la conversione fisica è un processo di spremitura meccanica di semi colture oleaginose ad alto contenuto di olio adatti ad essere impiegati in minima parte nell'autotrazione di mezzi agricoli. Caratteristica comune di tutte le oleaginose è quella di essere ricche di materie proteiche che, dopo l'estrazione dell'olio, sono impiegabili nell'alimentazione animale sotto forma di panelli o farine. Gli olii possono essere utilizzati come combustibili nello stato in cui vengono estratti oppure dopo trans-esterificazione che elimina la glicerina presente, successivamente utilizzata in ambito farmaceutico e cosmetico, per produrre il biodiesel.

Fra le colture da biomassa lignocellulosica, le specie poliennali che in Italia sono in grado di fornire produzioni interessanti sono alcune graminacee perenni: il miscanto, il sorgo, il panico, la canna comune. Alle colture da biomassa sono richieste alcune importanti caratteristiche: elevata efficienza nella conversione dell'energia solare, elevata efficienza dell'uso dell'acqua e dei nutrienti, elevato

tasso di crescita giornaliero, elevata resistenza a stress biotici e abiotici, buona qualità della biomassa alla raccolta.

### **1.5 L'Arundo donax coltivata a fini energetici**

Fra le colture utilizzabili in Italia a fini energetici la canna comune (*Arundo donax* L.) è la specie potenzialmente più adatta a realizzare sistemi produttivi a elevata produzione di biomassa per usi energetici. Infatti, questa specie, possiede molte caratteristiche positive che si avvicinano alla pianta ideale per la produzione di biomassa ligno-cellulosica. E' caratterizzata da un elevato tasso di crescita giornaliero, mantenuto per un lungo periodo dell'anno, da marzo a fine ottobre; è una specie perenne e questo consente di eliminare i costi annuali per le lavorazioni del terreno e per la semina; è in grado di immagazzinare il carbonio organico nel suolo e nei rizomi che non vengono raccolti, possiede un apparato radicale molto sviluppato. Sebbene possiede un ciclo fotosintetico simile al frumento(C<sub>3</sub>) mostra valori molto elevati di fotosintesi netta, grazie ad una straordinaria durata (marzo-dicembre) dell'apparato fogliare e della attività fotosintetica (Impagliazzo et al, 2017). Inoltre, è in grado di attingere acqua a profondità elevate e garantire buona resistenza allo stress idrico. *A. donax* si adatta a qualunque tipo di terreno, compresi quelli marginali, inquinati o salinizzati non idonei alla coltivazione di specie alimentari; è anche una specie poco suscettibile ai parassiti; non ha bisogno di alcun trattamento chimico per la difesa contro gli agenti patogeni e insetti; risulta anche molto competitiva verso le erbe infestanti. La coltura ha ridotte esigenze idriche e nutrizionali, grazie alla traslocazione dei nutrienti in autunno, dalle foglie ai rizomi (Bell, 1997), per utilizzarli successivamente in primavera alla ripresa vegetativa. La specie non è pabulare e questo evita il pascolamento abusivo, è una specie con impatto ambientale positivo in quanto antierosiva (Fagnano et al, 2015), è in grado di stabilizzare pendici grazie alla grande resistenza alla trazione delle radici. Inoltre, sotto il profilo ambientale va evidenziato che la coltura in quanto perenne offre un importante contributo alla riduzione delle emissioni di CO<sub>2</sub> di origine antropica. Rispetto ad altre fonti di biomassa, come le colture legnose, è in grado di fornire più del doppio della biomassa. La maggior quantità di carbonio sequestrato è assimilato dalla pianta e utilizzato per la crescita dei vari organi, e quindi sottratto all'atmosfera in modo permanente. E' stato calcolato che l'effetto di "carbo-retention" (capacità di assimilare CO<sub>2</sub>), per la durata del ciclo di vita di una coltura perenne è maggiore di 20-30 volte rispetto a quella di specie annuali. Infine, grazie alla copertura del terreno che mantiene tutto l'anno è in grado di ridurre fortemente la lisciviazione dei nitrati.

Queste caratteristiche, unite all'elevata produzione di biomassa (fino a 40-50 t ha<sup>-1</sup>) anche su suoli degradati (Fagnano e Fiorentino, 2009), rendono l'*A. donax* la specie ideale come coltura ligno-

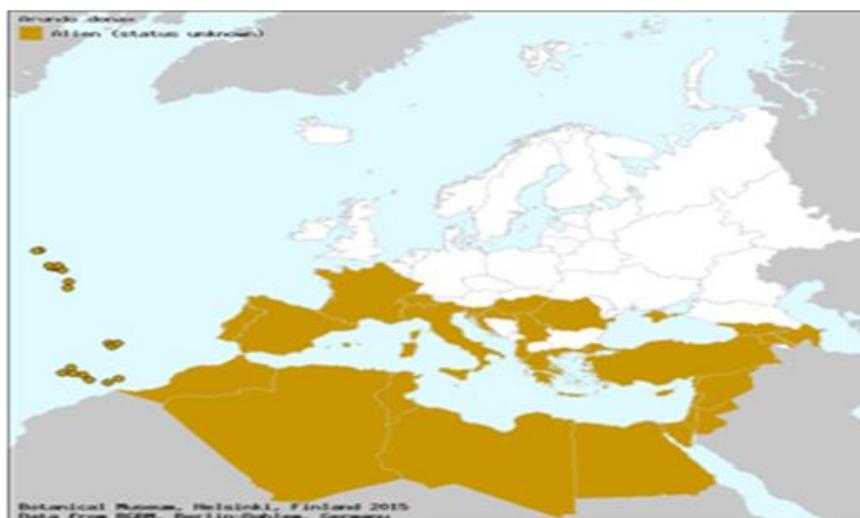
cellulosica da biomassa. In un vasto studio promosso dall'Unione Europea, questa coltura viene indicata come una tra le più promettenti specie erbacee da biomassa in ambiente mediterraneo (Christou et al, 2003).

L'utilizzazione industriale di questa pianta è stata avviata la prima volta in Italia negli anni trenta del secolo scorso nello stabilimento della Snia-Viscosa che brevettò un procedimento per la produzione di fibra tessile sintetica (raion) e carta a partire da pasta di cellulosa ricavata dalla canna (Facchini 1941). A quei tempi la canna comune era ampiamente utilizzata per il sostegno delle viti e dei pomodori, per l'essiccazione di maccheroni e tabacco, per la confezione di ceste, panieri e graticci. Dopo diversi decenni di oblio, negli ultimi anni la coltura dell'*A. donax* è stata oggetto di rinnovato interesse da parte del mondo della ricerca per le prospettive che il suo utilizzo apre nella filiera delle biomasse, per la produzione di biocombustibili nell'ambito della cosiddetta tecnologia di seconda generazione.

### **1.5.1 Inquadramento e descrizione botanica della specie**

La canna comune (*Arundo donax* L.) è una graminacea erbacea rizomatosa perenne originaria del Continente asiatico, che cresce allo stato spontaneo in tutto il bacino del Mediterraneo (Fig. 1.3) ed in molte altre regioni del mondo. La canna comune appartiene alla famiglia delle *Poaceae*, sottofamiglia *Arundinoidea*, tribù *Arundinae*, genere *Arundo*. Al genere *Arundo* afferiscono quattro taxa: *Arundo donax* var. *versicolor* (Mill.), *Arundo formosana* Hack., presente in Giappone e nelle filippine; *Arundo pliniana* Turra, nativa del Mediterraneo. In Italia è presente, oltre ad *A. donax* L., anche la più piccola *A. pliniana* Turra. La specie è diffusa in tutto il mondo dove cresce allo stato spontaneo lungo le scarpate dei torrenti, nei pressi di corsi d'acqua dolce, nelle zone umide e in prossimità del mare in forma di dense macchie. La parte ipogea è formata da un robusto rizoma rivestito nelle parti più giovani da scaglie triangolari e secche che rappresentano le guaine ridotte delle foglie. Il rizoma porta numerose radici che si sviluppano su tutta la superficie e si accrescono in profondità in funzione della tessitura del suolo e dell'orientamento (Onofry, 1940). Il rizoma legnoso presenta gemme primarie e secondarie dalle quali si sviluppano i culmi e gemme di prolungamento dalle quali si accrescono, alla ripresa vegetativa, nuovi rizomi e nuovi germogli colonizzatori, raggiungendo dimensioni e peso variabile in funzione delle condizioni pedoclimatiche. Le gemme primarie germogliano alla ripresa vegetativa (marzo-aprile), dando origine a canne "maggenghe", mentre le gemme secondarie, che nel periodo di ripresa vegetativa si allungano e si accrescono allontanandosi dalla gemma primaria, germogliano in giugno-luglio sviluppando le canne "agostane". La germogliazione delle gemme secondarie può avvenire anticipatamente in presenza di condizioni pedoclimatiche favorevoli e buona disponibilità idrica. La

parte aerea è costituita da fusti alti e lignificati vuoti all'interno, detti culmi, rivestiti per gran parte della lunghezza da guaine fogliari. Essi sono formati da nodi e internodi di lunghezza e spessore decrescenti dal basso verso l'alto e possono raggiungere altezze di 8-9 metri (Levandoski et al, 2003). Le foglie di colore verde opaco lunghe fino a 80 cm sono alterne con margine intero e nervatura parallela e ricoprono interamente i culmi a formare una guaina protettiva. Le foglie delle canne emerse in estate sono più piccole e distinguibili dal verde più brillante e da una forma marcatamente lanceolata. Il culmo termina con una infiorescenza verticale visibile tra la fine dell'estate e l'inizio dell'autunno formata da spighe monoiche screziate di rosso. Il frutto è una cariosside, secca ed indeiscente, caratteristica delle graminacee. L'impollinazione di tipo anemofilo non porta a maturazione le cariossidi ed i semi prodotti non sono fertili, per cui la propagazione agamica è l'unica via di diffusione di questa specie. Il materiale di propagazione per la realizzazione di nuovi impianti è costituito generalmente da frammenti di rizomi, (ciascuno dei quali deve possedere almeno 1 gemma principale e 2 gemme secondarie) o mediante talee di fusto, o piantine micro propagate. Di solito, il metodo migliore di propagazione per questa specie, è l'uso di rizomi (Christou et al, 2000). In natura, l'attività umana può contribuire alla diffusione sia con la manutenzione e la pulizia di canali e fiumi, tra cui il taglio dei culmi che può generare una grande quantità di frammenti che a contatto con l'acqua originano nuove piante (Boland, 2008).



**Figura 1.3.** Distribuzione di *A. donax* nel bacino del Mediterraneo (fonte [www.emplantbase.org](http://www.emplantbase.org))

### 1.5.2 Caratteristiche ecologiche

La Canna comune (*Arundo donax* L.) è una specie diffusa in tutto il mondo negli ambienti umidi e ripariali cresce fino a 800 metri di altitudine. E' caratterizzata da un ciclo fotosintetico C3, presenta un inusuale alta capacità fotosintetica ( $37 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) che le conferisce importanti vantaggi ecologici. L'*A. donax* è considerata una delle piante erbacee più alte, raggiunge in condizioni

ottimali fino a 8 m di altezza, con un tasso di crescita che varia dai 4 ai 7 cm al giorno (Rossa et al, 1998; Mirza et al, 2010). La disponibilità idrica non è un fattore limitante per la crescita delle piante: è stato studiato che *A. donax* potrebbe resistere sia in terreni caratterizzati dalla mancanza di acqua, che in suoli saturi d'acqua (Lewandowski et al, 2003). La coltivazione è possibile in quasi tutte le regioni climatiche, con limitazioni solo a causa del freddo. Recentemente, i ricercatori hanno sviluppato cloni resistenti a stress da freddo, permettendone la coltivazione anche nei climi più freddi (Pompeiano et al, 2013). Non ha particolari esigenze agronomiche in termini di lavorazioni, irrigazione e fertilizzazione e si mostra estremamente competitiva nei confronti delle altre piante, tanto da poterla definire invasiva in ecosistemi semplificati. Inoltre, raggiunge la maturità in circa un anno e, in relazione al clima in cui è cresciuta, può essere raccolta da una a 3 volte all'anno. La resa media di biomassa in Italia varia tra 20 e 50 t ha<sup>-1</sup> (Angelini et al, 2005a, 2005b, 2009; Cosentino et al, 2006; Mantineo et al, 2009). Un'altra importante caratteristica oltre alla produttività è la durata dell'impianto: attualmente colture di *A. donax* condotte a livello parcellare da 7 anni (Candolo, 2006) e da 11 anni (Fagnano et al, 2015) continuano ad assicurare buone produzioni, senza la necessità di ripiantare nuovi rizomi né di utilizzare fertilizzanti e diserbanti. Possiede straordinarie capacità di adattamento a tutti i tipi di suoli, compresi quelli marginali, contaminati e salini. Ad esempio, è stato segnalato che in Australia potrebbe essere una buona soluzione per diversi terreni salini (Williams et al, 2008). Inoltre è una specie con impatto ambientale positivo in quanto antierosiva, in grado di stabilizzare pendici grazie alla grande resistenza alla trazione delle radici. Le elevate asportazioni di metalli pesanti la rendono particolarmente idonea per il fitorisanamento di siti inquinati. Prove sperimentali hanno infatti mostrato un recupero di mercurio pari a 8 kg ha<sup>-1</sup> e di cadmio pari a 6.2 kg ha<sup>-1</sup> in soli 8 mesi (Papazoglou et al, 2005). Ulteriori prove sperimentali hanno mostrato che l'*A. donax* ha un'elevata capacità di tolleranza nei confronti di Cd e Ni e che le piante trattate con soluzioni acquose dei suddetti metalli pesanti non hanno fatto riscontrare differenze significative in termini di qualità e quantità di biomassa prodotta nei confronti di piante trattate con acqua di rubinetto (Papazoglou, 2007). L'argomento risulta di notevole interesse per tutte le aree industrializzate che soffrono di più o meno diffusi livelli di inquinamento dei suoli. È stato stimato che 28000 ha sono stati contaminati in Belgio (Meers, et al, 2004), 10000 ha in Germania (Lewandowski et al, 2006); mentre in Italia le superfici potenzialmente inquinate risultano pari a oltre 400000 ha, il 43% dei quali (177000 ha) in Campania ed il 24% in Piemonte (98000 ha).

Le fitotecnologie applicate alla bonifica dei siti contaminati (fitorisanamento o fitorimediazione), stanno incontrando un interesse sempre maggiore sia fra gli addetti ai lavori che fra gli amministratori pubblici che devono trovare soluzioni economiche, sostenibili e a basso impatto ambientale. Il

fitorimedia si presenta come una valida alternativa ai metodi tradizionali di bonifica, che oltre ad essere spesso eccessivamente costosi, hanno un forte impatto ambientale in particolare sul suolo, causandone la movimentazione e la perdita talvolta permanente della fertilità fisica e chimica. Il fitorimedia può essere utilizzato anche in concomitanza con altre tecnologie per la bonifica e per la messa in sicurezza di siti contaminati. Oltre a proteggere il suolo dall'erosione, la vegetazione migliora il paesaggio e la fertilità del terreno, riducendo la diffusione di contaminanti verso altri comparti ambientali, potenziando il metabolismo della microflora biodegradatrice degli inquinanti organici e contribuendo ad estrarre la quota biodisponibile dei metalli PT dai suoli per ridurre il livello di rischio sanitario. L'uso di specie poliennali a rapido accrescimento ed elevata produzione di biomassa offre la possibilità di mantenere il terreno coperto durante tutto l'anno e costituisce pertanto una barriera fisica che impedisce l'accesso al sito, limitando il rischio di esposizione dei cittadini ai contaminanti e di lisciviazione degli inquinanti in falda (Fagnano, 2015). Inoltre, la coltivazione su siti inquinati di colture come la canna comune apre anche un'interessante prospettiva di utilizzo della biomassa prodotta all'interno della filiera energetica, come bio-carburanti o biochemicals. L'utilizzo di terreni contaminati per la coltivazione delle piante a elevata rusticità come l'*A. donax*, evita l'ulteriore perdita di terreno agricolo adatto alle colture alimentari e permette di valorizzare siti che altrimenti resterebbero improduttivi o abbandonati apportando notevoli vantaggi ambientali, sociali ed economici. Prove su sedimenti contaminati da Pb, As e Zn, hanno fatto registrare buone produzioni, a conferma della sua elevata adattabilità agli stress ambientali, e soprattutto l'immobilizzazione di Pb e As nei rizomi (Fiorentino et al, 2016). Questa caratteristica se confermata in altri siti e con altri contaminati, rende particolarmente interessante questa coltura, che potrebbe fornire biomassa aerea (canne) pulita da utilizzare senza problemi per il recupero energetico o materico, accumulando i contaminanti nei rizomi che potrebbero essere smaltiti a fine ciclo. In questo ambito quindi le funzioni di questa coltura potrebbero essere:

- interruzione del percorso di esposizione (impedendo il sollevamento e la dispersione di particelle di terreno contaminato) per la messa in sicurezza;
- fitostabilizzazione e protezione delle falde, grazie alla sottrazione della forma mobile dei contaminanti dal suolo e alla loro fissazione nei rizomi;
- bonifica mediante fitoestrazione dei contaminanti dai suoli, grazie all'assorbimento della frazione biodisponibile e potenzialmente pericolosa per la catena alimentare.

### **1.5.3 Tecnica colturale**

La coltivazione della canna comune non presenta particolari difficoltà; la sua introduzione nei normali ordinamenti colturali è inoltre facilitata dall'impiego degli stessi mezzi produttivi normalmente in uso in tutte le aziende agricole. La preparazione del terreno è caratterizzata da lavorazioni convenzionali (aratura o rippatura estiva, seguita da frangizollatura). L'impianto della coltura si esegue preferibilmente verso la fine del riposo vegetativo mediante la messa a dimora dei rizomi o di talee di culmi (canne).

La dimensione dei rizomi come materiale di propagazione, è molto importante poiché il rizoma deve presentare riserve sufficienti a generare germogli vigorosi capaci di ridurre la competizione con le specie infestanti e contenere il rischio di fallanze. Per tali motivi devono essere utilizzati rizomi del peso minimo di 300-400 grammi ciascuno, con almeno una gemma principale e 2 o più gemme secondarie. Un'altra tecnica utilizzata per la costituzione dell'impianto, ma ancora in fase di perfezionamento, si basa sull'uso di culmi o sezioni di esso. Alcuni autori riportano che talee da diverse parti del fusto (pianta intera, basale, mediana e taglio apicale) non mostrano differenze in termini di produzione di biomassa, sia nei primi che nei successivi anni dopo l'impianto. D'altra parte invece sembrerebbe che un ruolo importante, ai fini dell'attecchimento delle talee e dell'uniformità di emergenza dei germogli, è svolto dall'epoca di prelievo delle talee stesse. Talee prelevate in primavera su culmi di 2 anni, sono più performanti a condizione che nel suolo ci sia sufficiente umidità. (Ceotto e Di Candolo, 2010). Un'ulteriore tecnica d'impianto si basa sull'impiego delle piantine micropropagate, le quali presentano una serie di vantaggi legati alla flessibilità delle operazioni di trapianto (trapiantatrice a pinze o a tazza) ed alla garanzia di un prodotto agricolo con standard industriali, ma di contro comportano ancora un costo di impianto elevato seppur minore dell'uso dei rizomi. Per quanto riguarda l'epoca ottimale di impianto, nel caso di impiego dei rizomi generalmente si interviene da febbraio a marzo, non appena le condizioni del terreno lo consentono e nell'ambiente diminuiscono i rischi di gelate tardive. Nel caso di talee di culmi, questi vanno piantati nel tardo autunno o comunque alla fine del periodo vegetativo della pianta e il più possibile prima delle gelate invernali. Dal punto di vista dello sviluppo dell'impianto e della produzione di biomassa, i canneti ottenuti da talee di culmi e da piante micropropagate, almeno nel primo biennio di vita presentano performance produttive inferiori agli impianti ottenuti attraverso rizomi. Tali differenze, dopo due-tre anni, iniziano a farsi meno rilevanti non appena gli impianti derivanti da talee di fusto o piante micropropagate avranno formato i rizomi in grado di supportare l'accrescimento dei culmi. La densità di impianto va scelta in funzione dei fattori di natura economica, come ad esempio il raggiungimento in tempi brevi di alti rendimenti produttivi, e dall'operatività dei mezzi agricoli da adottare durante i diversi cicli

vegetativi. In sperimentazioni condotte in Veneto, la densità di 12500 piante ha<sup>-1</sup> rappresenta il livello di investimento iniziale che più sembra conciliare la produttività con la riduzione dei costi di impianto. Anche in prove condotte nella pianura pisana è stata osservata nel tempo una maggiore produttività della coltura con densità iniziali piuttosto basse (di circa 2 piante m<sup>-2</sup>), in altre situazioni molti autori convergono nell'uso di una densità di impianto di circa 10 mila rizomi per ettaro. Generalmente i rizomi vengono interrati ad una profondità di 15 cm con una distanza di 1 m x 1m. In seguito può essere effettuato un trattamento di diserbo chimico non selettivo per prevenire la diffusione delle malerbe. La messa a dimora dei rizomi è preceduta da un'operazione di assolatura del terreno, eseguita con un tradizionale aratro assolcatore (ad una profondità di circa 15-20 cm), utilizzato frequentemente per la semina delle patate. A seguito della messa a dimora dei rizomi è prevista la chiusura dei solchi mediante un erpice a dischi. Nel caso il terreno sia troppo soffice o grossolano e poco aderente ai rizomi, si può procedere mediante rullo o altro attrezzo compattante, aumentando in questo modo la microporosità del suolo. In questa fase è indispensabile anche effettuare un'irrigazione per facilitare l'attecchimento dei rizomi. Nelle prime fasi d'attecchimento e sviluppo delle piante, verso il mese di maggio, per eliminare le infestanti più resistenti, è buona norma effettuare una sarchiatura sulla fila; questa operazione verrà poi ripetuta in abbinamento ad una concimazione di copertura con 70-100 kg N ha<sup>-1</sup>. Negli anni successivi al primo non sono richieste in genere cure colturali; è comunque prevista una minima fertilizzazione azotata con apporto di circa 70-100 kg N ha<sup>-1</sup> anno<sup>-1</sup>. La canna comune non presenta particolare sensibilità a patogeni e parassiti. La produzione al primo anno di impianto non viene raccolta in quanto di modesta entità. La canna comune è caratterizzata infatti da un ciclo di sviluppo biennale e, se lasciata in campo, durante il secondo anno, oltre a nuove canne dal rizoma, sviluppa anche alcune gemme secondarie sui singoli culmi. Le raccolte annuali della biomassa iniziano dalla fine della seconda stagione vegetativa e successivamente alla defogliazione delle piante (dicembre-febbraio). Tale scelta è giustificata dall'ottenimento di una biomassa caratterizzata da un minor contenuto idrico (circa il 50%), anche se ciò comporta una certa perdita di biomassa (5-10% del totale) a causa della caduta dell'apparto fogliare e apicale queste porzioni di pianta sono comunque caratterizzate da elevati contenuti in ceneri e silice, che andrebbero a ridurre le caratteristiche qualitative complessive del biocombustibile. La raccolta si esegue con una falcia-trincia-caricatrice semovente. Tali macchine tagliano il fusto ad un'altezza dal suolo di circa 10 cm, e lo sminuzzano (2-3 cm) restituendo la biomassa in una pezzatura idonea sia per il successivo stoccaggio sia per l'alimentazione automatizzata dell'impianto energetico. La falcia-trincia-caricatrice è generalmente affiancata da trattore dotato di carro rimorchio che raccoglie direttamente la biomassa trinciata in uscita dal collettore di lancio. Le dimensioni del cippato possono variare da 2 a 8 cm e può essere

stoccato in cumuli all'aperto dove il contenuto di acqua può diminuire in pochi mesi arrivando anche ad un valore pari a circa la metà dell'umidità iniziale. Nel caso di un suo utilizzo in impianti di digestione anaerobica, la fase di essiccazione non è di norma necessaria.

#### **1.5.4. Tecnologie di recupero energetico e materico della biomassa**

L'*A. donax* risulta particolarmente interessante come biomassa lignocellulosica, infatti, rappresenta un'interessante fonte di cellulosa per la produzione di carta (Ververis et al, 2004), rayon (Facchini, 1941), di etanolo di seconda generazione e biopolimeri (Williams e Biswas, 2010), per la produzione di biogas, per la coltivazione di lieviti oleaginosi per la produzione di biodiesel (Pirozzi et al, 2010, 2015).

Sebbene la trasformazione termica mostra un bilancio energetico positivo, la qualità della biomassa è piuttosto scarsa per l'utilizzazione nel processo di combustione, con un potere calorifico compreso tra 16.7 e 18.3 MJ kg<sup>-1</sup> (Bonari et al, 2004). Analisi chimiche su trinciato di *A. donax* hanno mostrato elevate quantità di ceneri totali (tra il 4.8 e il 7.4%), cloro, zolfo, azoto, silice e altri metalli, che possono creare problemi nelle centrali di combustione. Inoltre, le emissioni derivanti dalla combustione mostrano alte concentrazioni sia in polvere e in particelle (< 1 micron) e produzione di alcuni composti nocivi per la salute umana e l'ambiente, come gli ossidi di azoto, acido cloridrico, monossido di carbonio e biossido di zolfo (Dahl e Obernberger, 2004; Coulson et al, 2004). La biomassa lignocellulosica rappresenta un'interessante fonte di cellulosa per la produzione di etanolo di seconda generazione e biopolimeri (Williams e Biswas, 2010) o per la coltivazione di lieviti oleaginosi dai quali è possibile estrarre lipidi per la produzione di biodiesel (Pirozzi et al, 2010). L'etanolo di II generazione a differenza del bioetanolo di I generazione derivante dalla fermentazione di zuccheri di cereali o colture amidacee è prodotto previa separazione della cellulosa, idrolisi, fermentazione alcolica e distillazione. Il processo di estrazione di bioetanolo a partire da biomassa lignocellulosica mostra una maggiore efficienza, con un valore EROEI (Energy Return On Energy Investment) di 3.91-6.57 (vs. l'etanolo di prima generazione che ha valori di circa 0.74-1.34)(Cleveland et al, 1984; Hattori e Morita, 2010), con una riduzione delle emissioni di gas serra del 94 % (Hattori e Morita, 2010) vs. una riduzione tra il 12 ed il 18% dell'etanolo di prima generazione (Farrell et al, 2006; Hill et al, 2006).

Inoltre il residuo contenente lignina (15-20%) (Ververis et al, 2004) può essere interessante per la produzione di compost o di altri materiali ad alto valore come rivestimenti (resine e compositi) a base di lignina (Piccolo et al, 1997; Park et al, 2008).

## 1.6 Scopo e obiettivi della ricerca

La Comunità Europea al fine di ridurre le emissioni di gas a effetto serra (GHG) e la dipendenza dalle importazioni di energia da paesi terzi, promuove l'utilizzo delle colture da biomassa come alternativa ai combustibili fossili. Tuttavia per soddisfare l'obiettivo di energie rinnovabili del 20% prefissato dalla UE, sarebbe necessario occupare migliaia di ettari con colture da energia, sottraendo suoli utili alle colture tradizionali e determinando così il rischio di conflitti sull'uso del suolo a causa della competizione tra cibo ed energia. Per evitare che l'aumento della domanda di biomasse da energia possa sottrarre suoli fertili all'agricoltura tradizionale, le colture da biomassa dovrebbero essere coltivate su suoli non idonei per le colture alimentari, come ad esempio suoli con falda affiorante, suoli con falda salina, suoli di aree marginali e suoli inquinati. Tra le varie specie utilizzabili, l'*A. donax* è particolarmente interessante in quanto perenne, con un'elevata adattabilità pedo-climatica ed elevati livelli produttivi.

Pertanto, lo scopo del presente progetto è stato quello di valutare la capacità accrescimento, lo sviluppo e la produttività della canna comune (*Arundo donax* L.) in differenti terreni considerati "marginali" dell'ambiente Mediterraneo. L'obiettivo principale di questa ricerca è stato quello di migliorare la conoscenza dei suoi parametri di crescita e della sua produttività, in diverse condizioni pedoclimatiche. Nello specifico, il lavoro di ricerca ha avuto i seguenti obiettivi:

- monitorarne l'accrescimento epigeo ed ipogeo in 2 ambienti marginali dell'areale campano;
- studiarne il comportamento su substrati inquinati da attività industriali;
- valutarne il potenziale produttivo in terreni salinizzati per risalita di acqua di falda salmastra.

## **2 MONITORAGGIO DELL'ACCRESIMENTO EPIGEO ED IPOGEO DELLA CANNA COMUNE IN DUE AMBIENTI MARGINALI DELL'AREALE CAMPANO**

### **2.1 Introduzione**

Oggigiorno, la limitata disponibilità a livello mondiale di terreni fertili da utilizzare a scopo alimentare unito all'aumento crescente della popolazione mondiale, sta portando la ricerca agronomica a valutare la possibilità di destinare i terreni marginali alla coltivazione delle colture "dedicate" per la produzione di biomassa da energia in alternativa all'uso dei combustibili fossili. Come è noto le specie poliennali lignocellulosiche presentano le migliori performance produttive per la produzione di biomassa. Fra queste specie, la canna comune (*Arundo donax* L.) è risultata la più produttiva; può crescere in terreni degradati o sottoposti ad erosione accelerata, che è uno dei principali problemi ambientali dei coltivi collinari dell'areale del Mediterraneo (Fagnano, 2009). Tuttavia, di questa specie, risultano poco indagati gli aspetti legati alla capacità di accrescimento nelle aree marginali tipiche dell'ambiente Meridionale. Per tali motivi il presente lavoro di ricerca è stato effettuato con lo scopo di monitorare l'accrescimento epigeo ed ipogeo della canna comune (*Arundo donax* L.) dall'impianto fino al terzo anno di crescita in due ambienti che presentano aspetti di marginalità differenti dell'areale Campano. In particolare, per migliorare le conoscenze delle dinamiche di accumulo di biomassa epigea ed ipogea, di sviluppo fogliare durante il ciclo colturale, è stata effettuata l'analisi di crescita (Crop Growth Analysis) che ha il vantaggio di utilizzare dati semplici primari in forma di aree e pesi al fine di studiare e descrivere i vari processi che coinvolgono lo sviluppo della coltura (Hunt, 1990). L'approccio utilizzato è stato quello del rilievo mensile del peso fresco totale della biomassa (foglie, fusti e rizomi) e della superficie fogliare; i dati, raccolti ed opportunamente elaborati, sono stati utilizzati per calcolare una serie di indici, con i quali è stato possibile analizzare il comportamento dell'intera pianta e il procedere dell'accrescimento durante il ciclo colturale. Inoltre, sono stati anche indagati il contenuto di azoto nitrico e ammoniacale nel suolo, la concentrazione e la quantità di azoto asportata dai rispettivi organi durante il ciclo annuale, in quanto, una migliore conoscenza sulla traslocazione dell'azoto (N) dalle parti epigea (fusto e foglie) alla parte ipogea (rizoma) e viceversa, può essere interessante per meglio comprendere i diversi meccanismi fisiologici legati ai fenomeni di accumulo e traslocazione (rizoma-culmo-foglia) e per determinare una buona qualità delle biomasse che a seconda del processo a cui è sottoposta (etanolo di seconda generazione, sin-gas e chimica verde) deve possedere determinate caratteristiche fisico-chimiche.

## 2.2. Materiali e metodi

Per il lavoro di ricerca, iniziato nel marzo del 2014 e concluso nel febbraio del 2016 sono stati individuati due ambienti con aspetti di marginalità differenti del territorio Campano. I siti oggetto di monitoraggio si trovano in provincia di Avellino nel comune di **Sant'Angelo dei Lombardi**, e in provincia di Caserta nel comune di **Teverola**. Di seguito sono indicate le coordinate geografiche dei siti prescelti:

S. Angelo dei Lombardi (Centro Rotary): (40° 92'N, 15° 12'E);

Teverola: (40° 59'N, 14° 12'E).

### 2.2.1 Descrizione dei siti di monitoraggio

Il sito sperimentale di Sant'Angelo dei Lombardi fu costituito nel 1983 per volere del Rotary Club International che in seguito al terremoto del 1980 promosse una raccolta fondi tra tutti i soci per agevolare la ripresa delle popolazioni delle zone colpite dal sisma. Per questo scopo fu istituito un Centro Studi per studiare l'erosione del suolo in alta collina e gli effetti di contenimento di questo fenomeno da parte dei sistemi colturali. Il Centro Rotary è posto in località Porrara, ad un'altitudine media di 700 m s.l.m., nella collina interna dell'Appennino Campano, in una zona tipica e rappresentativa della vasta superficie collinare compresa tra le provincie di Avellino, Benevento e Salerno. Il clima è quello caratteristico della collina interna, con inverni freddi caratterizzati da frequenti precipitazioni nevose, ed estati calde e asciutte. I suoli si sviluppano su formazioni fortemente rimaneggiate, dominate da materiali a prevalente tessitura argillosa. I tipi di suolo più rappresentati sono i vertisuoli: suoli argillosi, profondi, con problemi di drenaggio, problemi di lavorazione superficiale, caratterizzati da un basso contenuto di sostanza organica e da elevata capacità di trattenuta della risorsa idrica.

Prima dell'impianto della coltura sono stati prelevati campioni di suolo per analizzare la tessitura, il pH, il carbonio organico, azoto totale e il rapporto carbonio/azoto. In tabella 2.1 sono riportati i dati medi di quattro campioni riferiti allo strato 0-30 cm. Secondo il sistema di classificazione USDA, è possibile definire il suolo di S. Angelo dei Lombardi come argilloso con grado di reazione sub-alcalino.

**Tabella 2.1.** Analisi delle principali caratteristiche chimico-fisiche del suolo di S. Angelo dei lombardi (AV).

Strato	Sabbia	Limo	Argilla	pH	C.E.	S.O.	C/N	N-org	N-min.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Assim.	K <sub>2</sub> O Scamb.
cm	%	%	%		mS cm <sup>-1</sup>	%		g kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>
0-30	37.0	19.9	43.1	7.8	0.14	1.3	8.0	0.10	18.2	33	322

I suoli, infine, come è naturale in un paesaggio collinare, hanno giacitura inclinata, con una pendenza dal 12 al 18% e presentano un'esposizione a nord-ovest (Fig. 2.1).



**Figura 2.1.** Panoramica del sito sperimentale di S. Angelo dei Lombardi (AV).

Il secondo sito, è ubicato nel Comune di **Teverola**, nella provincia di Caserta, e confina con i comuni di Aversa (CE), Carinaro (CE), Casaluce (CE), Santa Maria Capua Vetere (CE) e Marcianise (CE). Il territorio rientra nell'ambito dell'ex Sito di Interesse Nazionale "Litorale Domitio Flegreo ed Agro Aversano", che interessa, complessivamente i territori di 77 comuni appartenenti alle provincie di Napoli e Caserta.

Il sito oggetto di studio corrisponde ad un'area pubblica di 3000 m<sup>2</sup>, un tempo adibita allo stoccaggio temporaneo di rifiuti solidi urbani (Fig. 2.2). Il suolo presenta una lieve contaminazione da idrocarburi pesanti (C>12) valutata mediante monitoraggio ambientale svolto dopo la rimozione dei rifiuti.

Il clima dell'area di studio è tipico della fascia mesomediterranea, caratterizzato da inverni miti e piovosi ed estati calde e siccitose. Le precipitazioni estive hanno spesso carattere temporalesco e sono accompagnate da repentini abbassamenti termici, che generano frequenti fenomeni grandinigeni. I suoli sono caratterizzati dalla presenza di enormi spessori di materiali detritici prevalentemente piroclastici ed alluvionali cui si sono alternati anche episodi marini e lacustri, accumulati in un bacino subsidente di età Pliocene Superiore-Attuale. Prima dell'impianto della coltura sono stati prelevati campioni di suolo per analizzare la tessitura, il pH, il carbonio organico, azoto totale e il rapporto carbonio/azoto. In Tabella 2.2 sono riportati i dati medi di quattro campioni riferiti allo strato 0-30 cm. Secondo il sistema di classificazione USDA, è possibile definire, il suolo di Teverola come franco-sabbioso con grado di reazione subalcalino.

**Tabella 2.2.** Analisi delle principali caratteristiche chimico-fisiche del suolo di Teverola (CE).

Strato	Sabbia	Limo	Argilla	pH	C.E.	S.O.	C/N	N-org	N-min.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> assi	K <sub>2</sub> O scamb.
cm	%	%	%		mS cm <sup>-1</sup>	%		g kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>
0-30	44.1	31.4	24.5	7.8	0.18	2.2	8.8	0.14	24.6	42.4	765.6

La topografia è prevalentemente pianeggiante (20 m s.l.m.), con una stratificazione geologica prevalentemente orizzontale che conferisce al suolo un grado di permeabilità abbastanza elevata.



**Figura 2.2.** Panoramica del sito sperimentale di Teverola (CE).

### 2.2.2 Descrizione della prova e gestione dell'impianto

Le lavorazioni del suolo sono iniziate nella primavera del 2013, con una rippatura (60 cm) seguita da una aratura a media profondità (40 cm) e due passaggi finali con una fresatrice a 20 cm. Gli impianti sono stati realizzati nella primavera del 2014 utilizzando porzioni di rizoma di ecotipi locali caratterizzati dalla presenza di almeno tre gemme pronte, piantati ad una profondità di 10-15 cm con un sesto d'impianto di 0.6 x 0.8 m. Il controllo della flora infestante, eseguito una sola volta e con mezzi meccanici, è stato necessario a fine primavera per non ostacolare lo sviluppo della coltura. L'irrigazione è stata eseguita solo come operazione di soccorso a seguito del trapianto, onde favorire l'attecchimento del materiale di propagazione. Le tecniche agronomiche utilizzate sono state semplici ed a basso input energetico. Infatti non è stato effettuato nessun trattamento irriguo, al di fuori della fase di trapianto e nessun tipo di concimazione, per testare l'effettiva rusticità della coltura. Il monitoraggio dello sviluppo colturale nei tre anni di sperimentazione è stato effettuato a cadenza mensile (maggio, giugno, luglio, agosto, settembre, ottobre, novembre, dicembre e febbraio). Per ciascun sito su un'area di saggio di un 1 m<sup>2</sup>, le piante sono state estirpate manualmente dal suolo comprese di rizoma. I rilievi della parte epigea ed ipogea hanno riguardato: peso fresco della biomassa aerea (culmi e foglie), numero delle foglie verdi e secche, area fogliare, altezza della pianta, numero e diametro dei culmi. Sui rizomi, invece sono stati determinati la

lunghezza, larghezza, il peso fresco, il peso delle radici, il peso totale. I campioni di ciascuna frazione sono stati lavati e posti in stufa ventilata a 60° C fino a peso costante per la determinazione della percentuale di sostanza secca. Il materiale vegetale è stato successivamente macinato (4 mm) con Mulino a coltelli SM 300 (Retsch Italia s.r.l) per la determinazione del contenuto in azoto totale (metodo Kjeldhal).

L'area fogliare è stata misurata mediante l'utilizzo dell'areometro LI-3100C Area Meter. Inoltre per ciascuna raccolta sono stati prelevati campioni di suolo nello strato 0-20 cm in corrispondenza di ciascuna replica. I campioni sono stati essiccati in stufa ventilata a 60° C fino al raggiungimento del peso costante e poi analizzati per determinare il contenuto di azoto nitrico e ammoniacale.

### ***2.2.3 Caratterizzazione chimico-fisica del suolo***

#### *2.2.4 Determinazione della granulometria*

In base al loro diametro i costituenti della frazione inferiore a 2 mm vengono suddivisi nelle seguenti classi:

Sabbia grossa:	2.0 - 0.2 mm
Sabbia fine:	0.2 – 0.05 mm
Limo:	0.05 – 0.002mm
Argilla:	< 0.002 mm

Il procedimento analitico (Metodi Normalizzati di Analisi del Suolo, Società Italiana della Scienza del Suolo, Edagricole, 1985: ISBN-88-206-2674-8) consiste in due fasi:

- 1) La dispersione del campione tal quale consente la determinazione della tessitura apparente. La dispersione del campione preceduta dalla distruzione dei cementi organici (con perossido di idrogeno) e ferrici (con sodio ditionito, citrato e bicarbonato) consente la determinazione della tessitura reale.
- 2) La separazione delle diverse frazioni (fatta eccezione della sabbia grossa, che viene estratta per setacciatura a umido), è effettuata tenendo conto delle diverse velocità di caduta delle particelle in liquido acquoso in quiete. Le particelle vengono classificate in base ai diametri medi ed alla relativa velocità di sedimentazione.

Le determinazioni sono state effettuate su 10.0 g di suolo secco all'aria e setacciato a 2mm, a cui sono stati aggiunti 10 ml di soluzione di sodio esametafosfato e circa 200 ml di acqua deionizzata. Si agita per 2 ore su scuotitore meccanico. Si versa la sospensione nel levigatore attraverso setaccio a maglie di 0.2 mm su cui si raccoglie la sabbia grossa. Si lava accuratamente. La sabbia grossa, trasferita dal setaccio in una capsula tarata, è stata essicca in stufa a 105°C e si pesa alla bilancia

analitica (Sg). La torbida e le acque di lavaggio raccolte nel levigatore sono state portate a volume con acqua deionizzata (Vt). Successivamente si agita in modo da ottenere una sospensione omogenea. I tempi di sedimentazione devono essere valutati dal momento in cui cessa l'agitazione. Per un'altezza del liquido di sedimentazione di 25 cm e per una temperatura di 20°C, si opera nel modo seguente:

1° prelievo: dopo 2 minuti, raccolgo limo grossolano+ limo fine + argilla (A)

2° prelievo: dopo 12 minuti, raccolgo limo fine+argilla (B)

3° prelievo: dopo 20 ore, raccolgo argilla (C).

Ogni frazione (Vp) è stata raccolta in capsula tarata e, dopo evaporazione dell'acqua, essiccata in stufa a 105°C e pesata. Per ogni serie di determinazioni, è necessario valutare per pesata il disperdente presente nel volume prelevato per le singole frazioni (D); i calcoli vengono così svolti:

Sabbia grossa % =  $Sg \cdot 100/p$

Limo grossolano % =  $(A-B) \cdot Vt/Vp \cdot 100/p$

Limo fine % =  $(B-C) \cdot Vt/Vp \cdot 100/P$

Argilla % =  $(C-D) \cdot Vt/Vp \cdot 100/p$

Sabbia fine = complemento a 100 della somma delle 4 frazioni precedenti.

dove p= peso del campione; Vp= volume prelevato; D= peso del disperdente in Vp.

### *2.2.5 Determinazione del grado di reazione - pH*

Un campione di 30 g di suolo setacciato a 2 mm è stato addizionato con 75 ml di acqua deionizzata; successivamente è stato agitato meccanicamente (Universal Table Shaker 709, Bicasa) per 60 minuti a 250 RPM e lasciato riposare per almeno 6 ore. Il pH è stato misurato (Digital pH meter optoptropic) immergendo l'elettrodo a vetro nel sedimento.

### *2.2.6 Determinazione della conducibilità elettrica*

Un campione di 15 g di suolo setacciato a 2 mm è stato addizionato con 75 ml di acqua deionizzata; agitato meccanicamente (Universal Table Shaker 709, Bicasa) per 60 minuti a 250 RPM e lasciato in riposo per almeno 6 ore. Le letture sono state effettuate mediante conducimetro a cella (Conductimeter basic 30, Crison).

### *2.2.7 Determinazione dei nitrati*

Un campione di 3.5 g (pesato mediante bilancia analitica Orma model BC) di suolo setacciato a 2 mm è stato addizionato con 21.5 ml di acqua deionizzata; successivamente sono stati aggiunti 4 granuli di Nitrave Extraction Powed, HACH®, e posto in agitatore meccanico per circa un minuto.

Successivamente è stata prelevata un'aliquota di 1 ml di surnatante e addizionata a 24 ml di acqua distillata, posta in cuvette di vetro tarate del volume di 25 ml. A questo punto è stata aggiunta una bustina di NitraVer 6 (Nitrate Reagent) e si mette ad agitare il tutto per 3 minuti su un agitatore (Ikalabortechnik KS 125 basic); alla fine dei 3 minuti si aspetta un tempo di 2 minuti per favorire il depositarsi del primo reagente (cadmio). Dopo questo tempo di attesa si effettua il travaso del contenuto delle cuvette in altrettante cuvette di vetro pulite, alle quali è stata aggiunta una bustina di NitraVer 3 (Nitrate Reagent) e si attendono altri 10 minuti. La soluzione acquisirà una colorazione rosata che verrà letta allo spettrofotometro (DR/2000 Direct reading spectrophotometer, HACH) alla lunghezza d'onda di 500 nm.

#### *2.2.8 Determinazione dell'ammoniaca*

Un campione di 3.5 g (pesato mediante bilancia PB3002-S Mettler Toledo) di suolo setacciato a 2 mm è stato addizionato 21.5 ml di acqua deionizzata; successivamente sono stati aggiunti 4 granuli di Nitrate Extraction Powder, HACH®, e il tutto viene agitato per circa un minuto.

Un'aliquota di 1 ml di questa soluzione viene addizionata a 24 ml di acqua distillata e posta in cuvette di vetro tarate del volume di 25 ml. In ciascuna cuvetta sono state aggiunte 5 gocce di Ammonia Nitrogen 1 Reagent, 1 ml di Nessler's Reagent e poi si attende un minuto prima di effettuare la lettura allo spettrofotometro (DR/2000 Direct reading spectrophotometer, HACH) alla lunghezza d'onda di 425 nm.

#### *2.2.9 Determinazione dell'azoto totale (metodo Kjeldhal)*

In un pallone Kjeldhal si pongono 5.0 g di terreno essiccato setacciato a 2 mm e si addiziona a 7 g di catalizzatore (composto da  $K_2SO_4$ , CuO, Se). Alla miscela così composta, sono stati aggiunti 7 ml di acido solforico ( $H_2SO_4$ ) al 96% e 5 ml di acqua ossigenata ( $H_2O_2$ ) al 30%. I tubi sono stati adagiati su di una piastra riscaldante (DK 20 Heating Digester, Velp scientifica) e collegati ad un dispositivo atto alla neutralizzazione dei fumi, grazie ad una soluzione di soda e acqua deionizzata. Si aspetta che la temperatura arrivi a circa 409°C e la durata della mineralizzazione è di circa 30 minuti. Fatti raffreddare i palloni Kjeldhal sono stati posti nel distillatore (UDK 140 Distillation Unit), dove grazie all'azione dell'idrossido di sodio si estrapola lo ione ammonio che viene catturato attraverso condensazione in una beuta su 25 ml di acido borico al 4%; alla miscela distillata è stata aggiunta un indicatore composto dal 96% di alcol, 0.1 g di rosso metile e 0.2 g di verde bromo cresolo. La distillazione dura circa 2.5 minuti. Infine tutta la soluzione è stata titolata con acido solforico 0.01 N ed il viraggio va da verde a rosa.

### Calcoli per la conversione del dato bruto

$$N \text{ tot } \% = 0.5 * A * 100/P$$

0.5= ml di N corrispondenti a 1 ml di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

A = ml di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> consumati nella titolazione

P = peso del suolo

### *2.2.10 Determinazione del carbonio organico (metodo Walkley e Black)*

In una beuta del volume di 500 ml è stato posto 1.0 g di terreno (pesato mediante bilancia analitica di precisione ORMA model BC) essiccato e setacciato a 0.5 mm. Sono stati quindi aggiunti 10 ml di dicromato di potassio, a cui sono stati addizionati 20 ml di acido solforico al 96%. Le beute sono state coperte da un vetrino da orologio e lasciate reagire per 30 min. La reazione viene bloccata con l'aggiunta di 200 ml di acqua deionizzata. Prima della titolazione è stata aggiunta 0.5 ml di Ferroin soluzione indicatore colorimetrico 1/40 M. La soluzione così ottenuta è stata titolata con sale di Mohr (ferro solfato ammonio) fino a che il viraggio va dal verde a rosso. Per quanto riguarda questa ricerca, l'analisi è stata eseguita su campioni di terreno relativi a campionamenti effettuati ad inizio e fine di ciascun anno di monitoraggio partire da marzo 2014 fino a dicembre 2015.

### Calcoli per la conversione del dato bruto

$$C \text{ organico } \% = (S - T) 10/S 0,003/ 0,77 100/P$$

S e T = ml di sale di Mohr usati, rispettivamente, per la prova di bianco e per la determinazione

P = Peso del suolo

0.003 =millequivalenti del carbonio

0.77= fattore empirico che tiene conto della frazione realmente ossidata

Per trasformare la percentuale del carbonio organico in percentuale di sostanza organica si utilizza un fattore (1,72) basandosi sul fatto che il contenuto medio di carbonio organico è pari al 58% della sostanza organica nel suolo.

$$\text{Sostanza organica } \% = C \text{ organico } \% * 1.72.$$

### **2.2 .11 Analisi sulle piante**

#### *2.2.12 Analisi dell'azoto*

I campioni di materiale vegetale sono stati preparati essiccandoli in stufa alla temperatura di 60°C, e poi macinati con il mulino MF 10 basic IKA WERKE. Sono stati pesati 0.5 g di campione che successivamente sono stati posti in un matraccio tarato del volume di 100 ml. È stata aggiunta quindi acqua distillata per l'intero volume del matraccio ed è stato agitato il tutto per almeno 1 minuto. La soluzione è stata quindi addizionata a 3.5 cc di carbone attivo e lasciata filtrare attraverso della carta LLG-medium/fast qualitative filter paper 150 mm (LLG labware). Il filtrato

ottenuto è stato utilizzato per le analisi dell'azoto per il quale, fatta eccezione per il peso del campione iniziale che è pari ad 1.0 g di materiale vegetale, si fa riferimento alla stessa procedura adottata per le matrici suoli (par. 3.3.6.).

#### *2.2.13 Analisi di crescita*

I dati raccolti a scala mensile (numero, peso, superficie e contenuto in azoto delle foglie, numero, altezza, peso e contenuto in azoto dei culmi, peso e contenuto in azoto dei rizomi, peso e contenuto in azoto della biomassa totale epigea) sono stati utilizzati per calcolare i seguenti indici di crescita:

Rapporti: LWR (peso foglie/peso totale), LAR (superficie foglie/peso totale); LAI (superficie fogliare/superficie del suolo del campione); SLW (peso foglie/superficie foglie); shoot:root (peso biomassa aerea/peso rizomi);

Intensità: CGR (incremento di peso tra 2 prelievi/numero di giorni)

Integrali: LAD (integrale del LAI).

#### *2.2.14. Elaborazioni*

I singoli punti di prelievo sono stati confrontati calcolando le medie delle ripetizioni e gli errori standard (deviazione standard/radice quadrata del numero di ripetizioni).

## 2.3 Risultati

### 2.3.1 Dati meteorologici

I dati termo-pluviometrici relativi al periodo di sperimentazione (2014-2016), sono stati misurati da due stazioni agrometeorologiche poste a qualche chilometro di distanza dai due campi sperimentali. Per il sito di Teverola (CE) sono stati considerati i dati registrati dalla stazione posta nel comune Vitulazio, in provincia di Caserta, mentre per il sito di S. Angelo dei Lombardi sono stati presi in esame i dati registrati dalla stazione posta nel comune di Montemarano, in provincia di Avellino.

Dal punto di vista climatico, il sito di Teverola, ha le caratteristiche tipiche dell'ambiente mediterraneo: con estati calde e asciutte e inverni miti e piovosi. La temperatura media annua registrata durante il periodo di sperimentazione presenta valori minimi nei mesi di gennaio (2 e 4°C) e valori massimi nei mesi estivi (luglio e agosto) in cui si registrano temperature superiori a 30 °C (Fig. 2.3). In assoluto, il 2015 è stato l'anno più caldo, con il raggiungimento di valore medio di 36°C nel mese di luglio e di 37°C nel mese di agosto. L'analisi dei dati pluviometrici individua la primavera e l'autunno come i periodi più piovosi. La piovosità media registrata durante i tre anni di sperimentazione è stata di 929 mm annui. Dal confronto delle piovosità mensili delle annate in cui si è svolta la sperimentazione, si evince che il mese più piovoso è stato gennaio con una piovosità media di 180 mm, mentre il mese meno piovoso è stato agosto con una media di 11 mm di pioggia caduta. Il 2016 si caratterizza per essere l'anno più siccitoso, con un totale di 802 mm di pioggia. Il 2014 invece, è risultato l'anno più piovoso, con un totale di 922 mm di pioggia caduta.

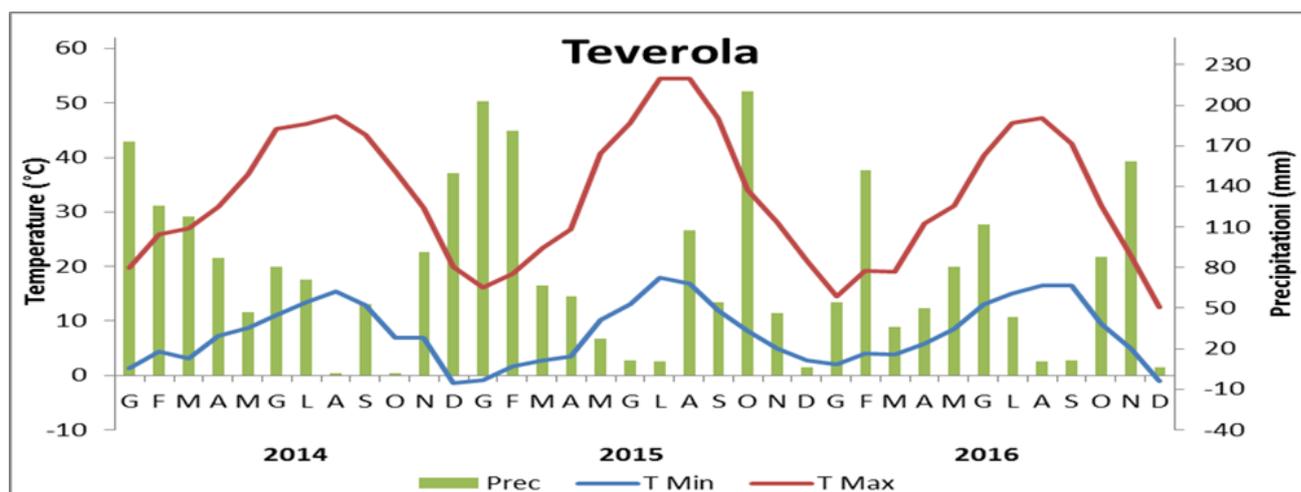


Figura 2.3. Andamento della temperatura media (minima e massima) e delle precipitazioni registrate dalla stazione di Grazzanise (CE).

In Figura 2.4 è mostrato l'andamento delle temperature massime e minime nonché il regime pluviometrico registrate nel sito di S. Angelo dei Lombardi. Dal punto di vista climatico, il sito prescelto presenta le caratteristiche tipiche delle zone interne del versante Tirrenico. Le temperature

dell'aria in superficie sono relativamente miti, con medie annue di circa 15°C, massimi assoluti annui che ricadono di norma fra luglio ed agosto e minimi assoluti annui intorno a dicembre - gennaio. Le condizioni pluviometriche sono tipiche dell'entroterra, con abbondanti precipitazioni annue che talvolta superano i 900 mm. Le piogge sono distribuite mediamente in 100 giorni, con un minimo in estate, un picco in autunno inverno ed un massimo secondario in primavera.

Dall'analisi dei dati pluviometrici è possibile osservare che anche in quest'area il 2015 è stato l'anno più secco, con un totale di pioggia caduta di 590 mm, mentre il 2016 si è distinto invece per una elevata piovosità annuale (921 mm).

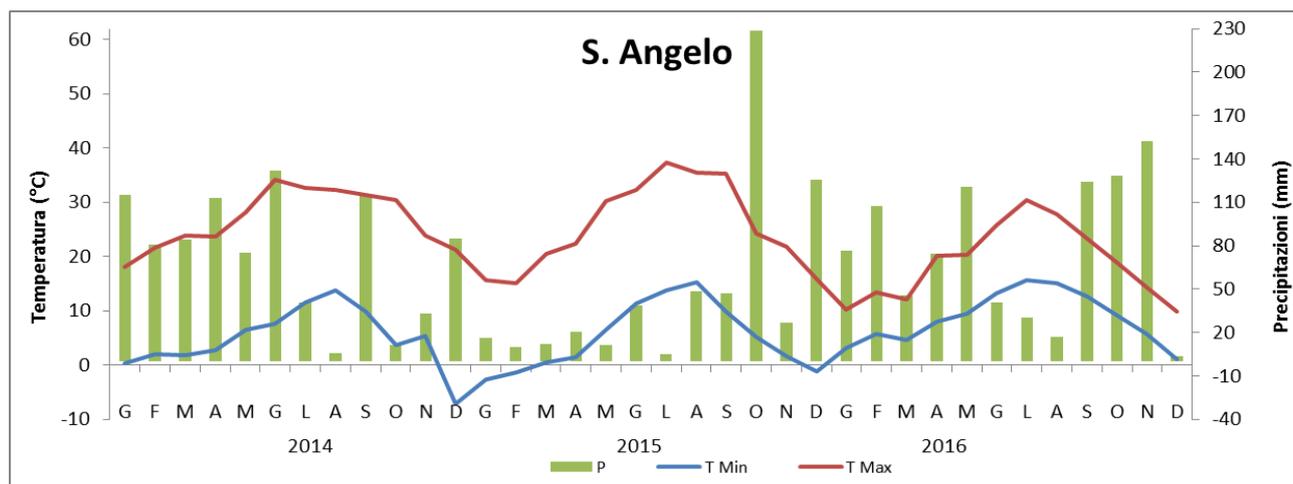


Figura 2.4. Andamento delle temperature medie (massime e minime) e della piovosità registrate dalla stazione di Torella dei lombardi (AV).

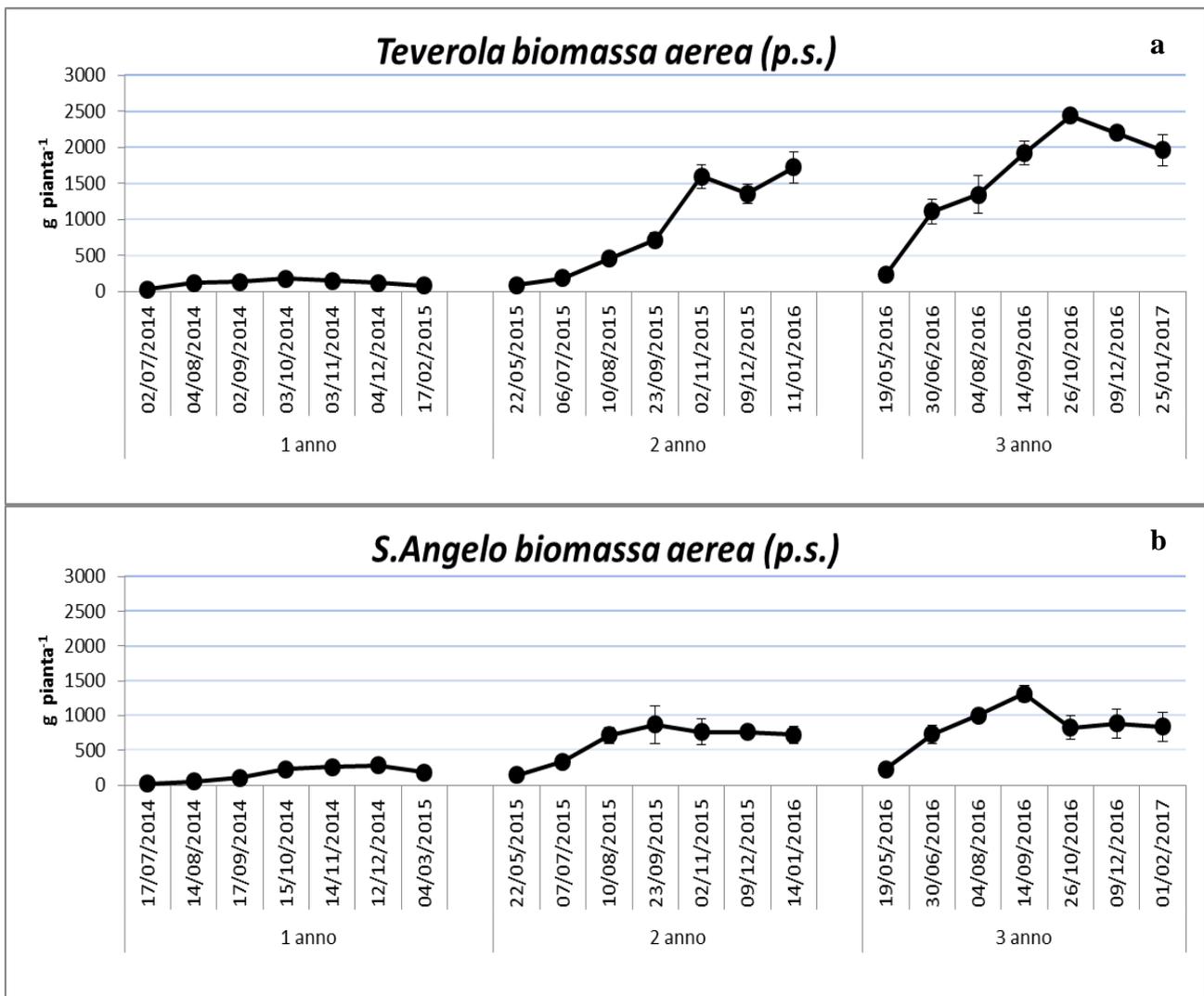
### 2.3.2 Analisi di crescita

Il monitoraggio dello sviluppo colturale in ciascun sito è stato effettuato a cadenza mensile mediante rilievi distruttivi. Nel primo anno d'impianto, in considerazione del trapianto dei rizomi (avvenuto il 15 marzo 2014) e al fine di consentire alla pianta un buon grado di emissione dei germogli, come data di riferimento iniziale è stato scelto il mese di luglio, mentre nelle due annate successive è stato preso, come data di riferimento, il mese di maggio, periodo in cui la pianta ha iniziato un'attiva crescita.

Nel primo anno d'impianto (2014) l'accumulo di biomassa epigea è risultato piuttosto modesto e contenuto in entrambe i siti sperimentali (Fig. 2.5a e 2.5b) con una differenziazione sul valore ed il momento di raggiungimento del picco massimo di produzione. In particolare a Teverola, la produzione per pianta più elevata è stata registrata nel mese di ottobre ed è risultata pari a 180 g s.s. pianta<sup>-1</sup>, mentre nel sito di S. Angelo l'apice produttivo (280 g s.s. pianta<sup>-1</sup>) è stato raggiunto nel mese di dicembre. Diversamente, nell'anno successivo all'impianto (2015), con la fine della fase di acclimatamento da parte della pianta, è stato riscontrato un maggiore accumulo di biomassa epigea

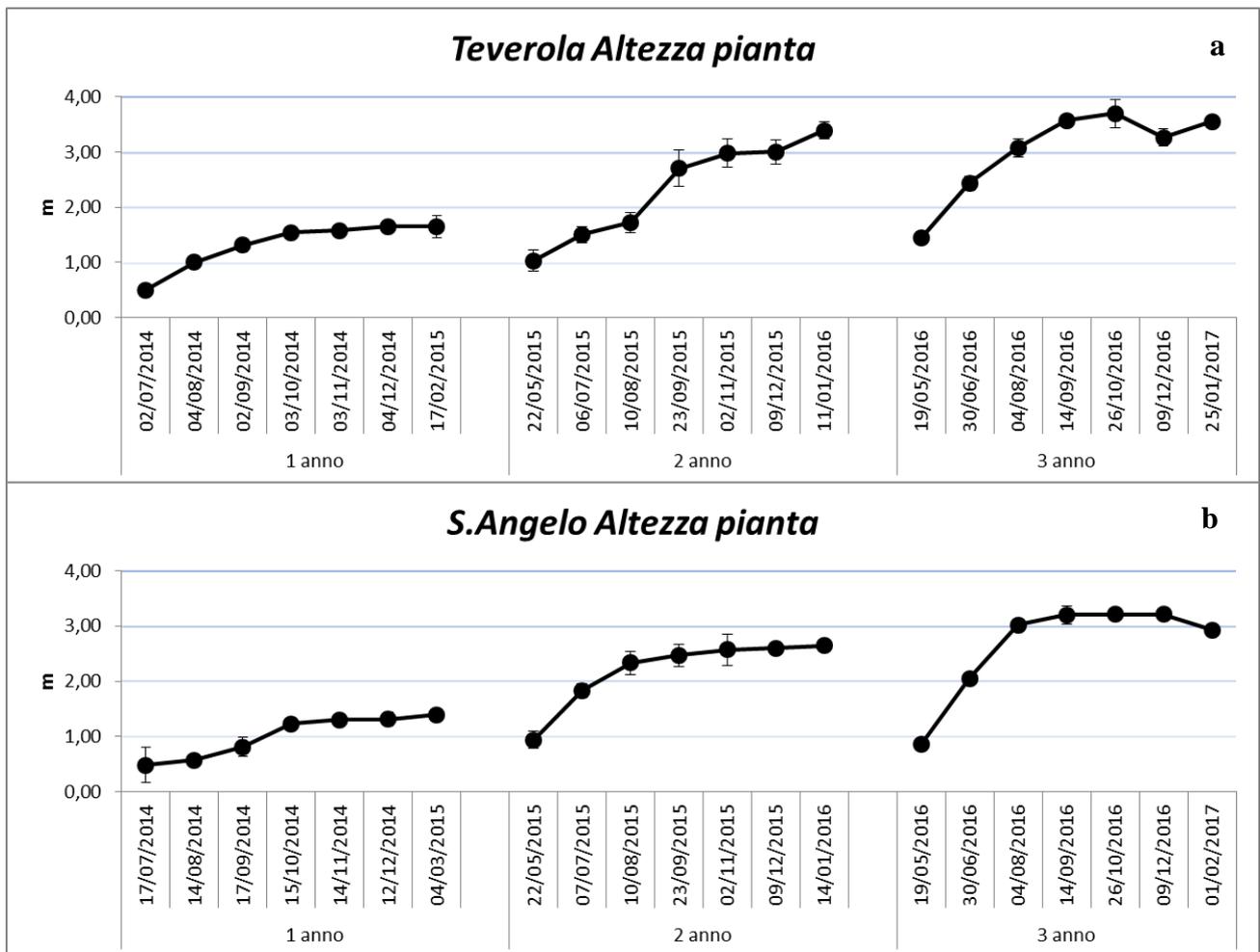
(1700 g s.s. pianta<sup>-1</sup>), mentre nel sito di S. Angelo i valori a fine ciclo colturale hanno raggiunto circa 700 g s.s. pianta<sup>-1</sup>.

Nel terzo anno d'impianto (2016) i valori nel sito di S. Angelo si sono stabilizzati su circa 1300 g s.s. pianta<sup>-1</sup>, mentre dopo l'estate nel sito di Teverola la produzione di biomassa ha raggiunto 2400 g s.s. pianta<sup>-1</sup>.



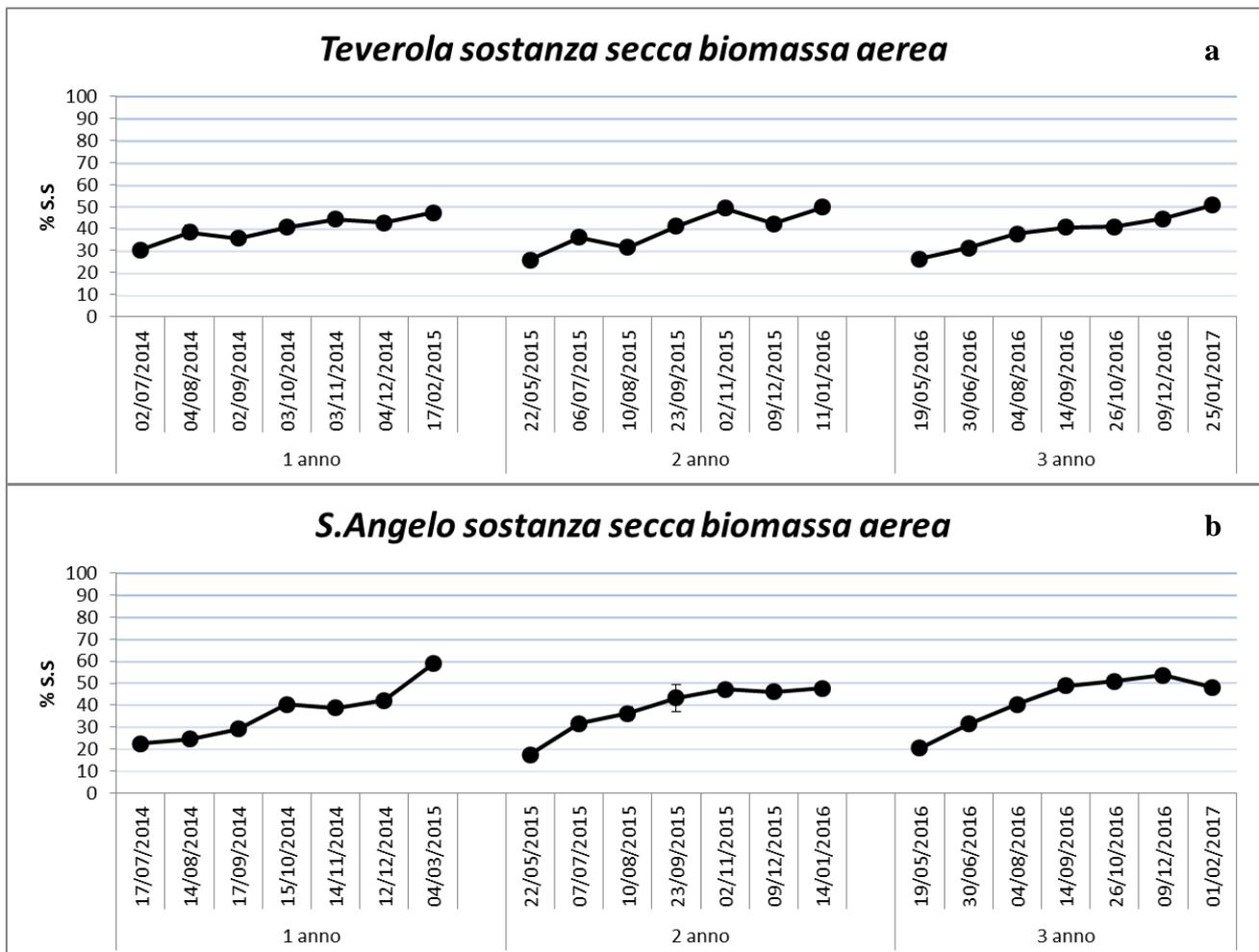
**Figura 2.5a e 2.5b.** Andamento della biomassa aerea nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

Analogamente, anche l'altezza delle piante (Fig. 2.6a, 2.6b) è stata molto contenuta nel primo anno d'impianto in entrambi i siti sperimentali. Nel 2015, anno successivo all'impianto, nel sito di Teverola i valori più alti sono stati riscontrati nel periodo autunno-inverno (3.39 m), mentre nel sito di S. Angelo i valori più alti sono stati registrati nel mese di agosto con un'altezza massima di 2.64 m. Nel 2016, tali differenze sono risultate ancora più marcate, infatti a Teverola a fine prova, la massima altezza raggiunta dalle pianta è stata pari a 3.59 m, rispetto a S. Angelo in cui la massima altezza è stata pari a 2.93 m.



**Figura 2.6a e 2.6b.** Andamento dell'altezza delle piante nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

Il contenuto di sostanza secca (Fig. 2.7a 2.7b), è stato molto simile durante le stagioni colturali in entrambi i siti studiati, con un graduale aumento, dal mese di maggio fino al mese di novembre. In generale la percentuale di sostanza secca aumenta fino a settembre, rimane stabile in ottobre, nel corso della fioritura, per poi aumentare fino al momento della raccolta. In particolare, sono stati registrati incrementi nel sito di Teverola dal 30% al 50% di s.s. e nel sito di S. Angelo dei Lombardi dal 20% al 48% di s.s.

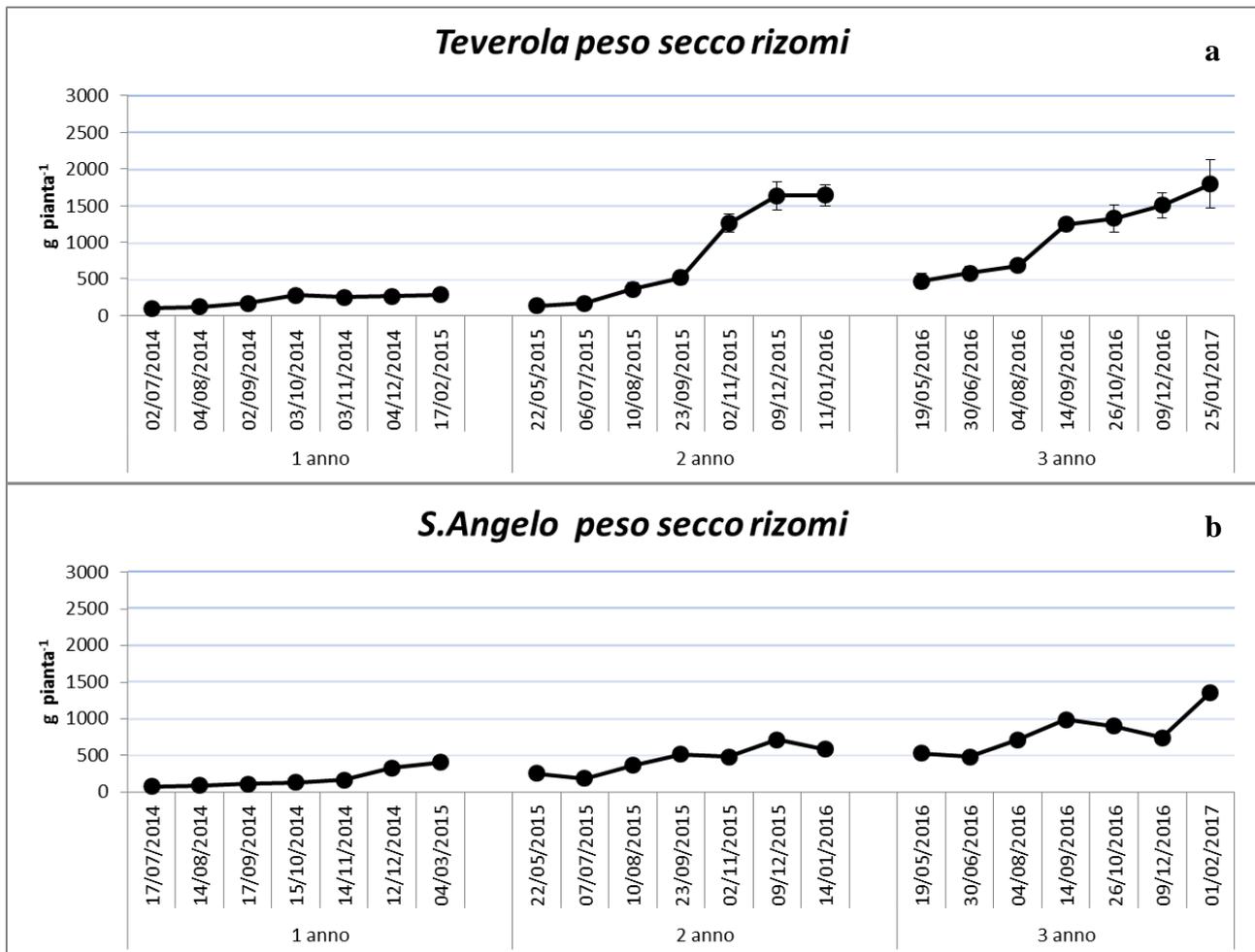


**Figura 2.7a e 2.7b.** Andamento della percentuale di sostanza secca della biomassa aerea delle piante nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

Per quanto riguarda l'accumulo di biomassa ipogea è possibile osservare come questa aumenta in modo costante durante la prima stagione di crescita (Fig. 2.8a, 2.8b.) raggiungendo un valore finale nel mese di gennaio pari a  $283 \text{ g pianta}^{-1}$  nel sito di Teverola e di  $400 \text{ g pianta}^{-1}$  nel sito collinare di S. Angelo dei Lombardi. Durante il secondo anno di crescita (2015) l'accumulo di biomassa epigea nel sito di Teverola è stata pressoché lineare fino a fine inverno, periodo in cui si è registrato il massimo accumulo pari a  $1700 \text{ g pianta}^{-1}$ ; i valori riscontrati nel sito di S. Angelo invece, incrementano di poco da  $400$  a  $500 \text{ g pianta}^{-1}$ .

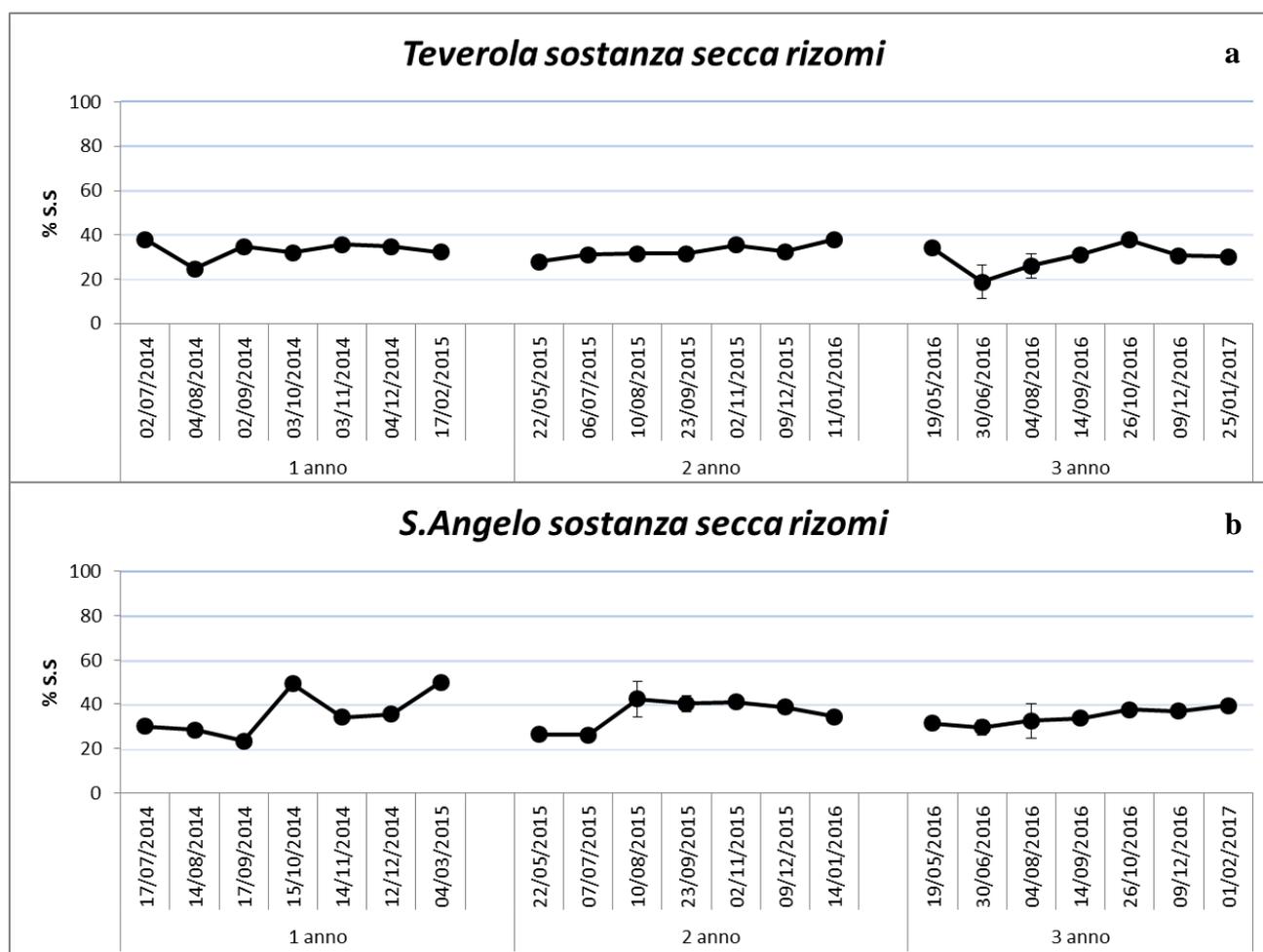
Infine, nel terzo anno, la biomassa epigea totale ha raggiunto il picco entro la fine della stagione di crescita (gennaio), con valori di  $1800 \text{ g pianta}^{-1}$  nel sito di Teverola e di  $1300 \text{ g pianta}^{-1}$  a S. Angelo dei Lombardi.

Riguardo la dinamica all'interno dell'anno è possibile notare, come la biomassa epigea totale diminuisca dall'emergenza (inizio aprile) a metà giugno, per poi aumentare fino ai rigori invernali. Questo comportamento suggerisce, con buona probabilità, una mobilitazione di riserve accumulate dalla pianta per sostenere la crescita di nuovi germogli.



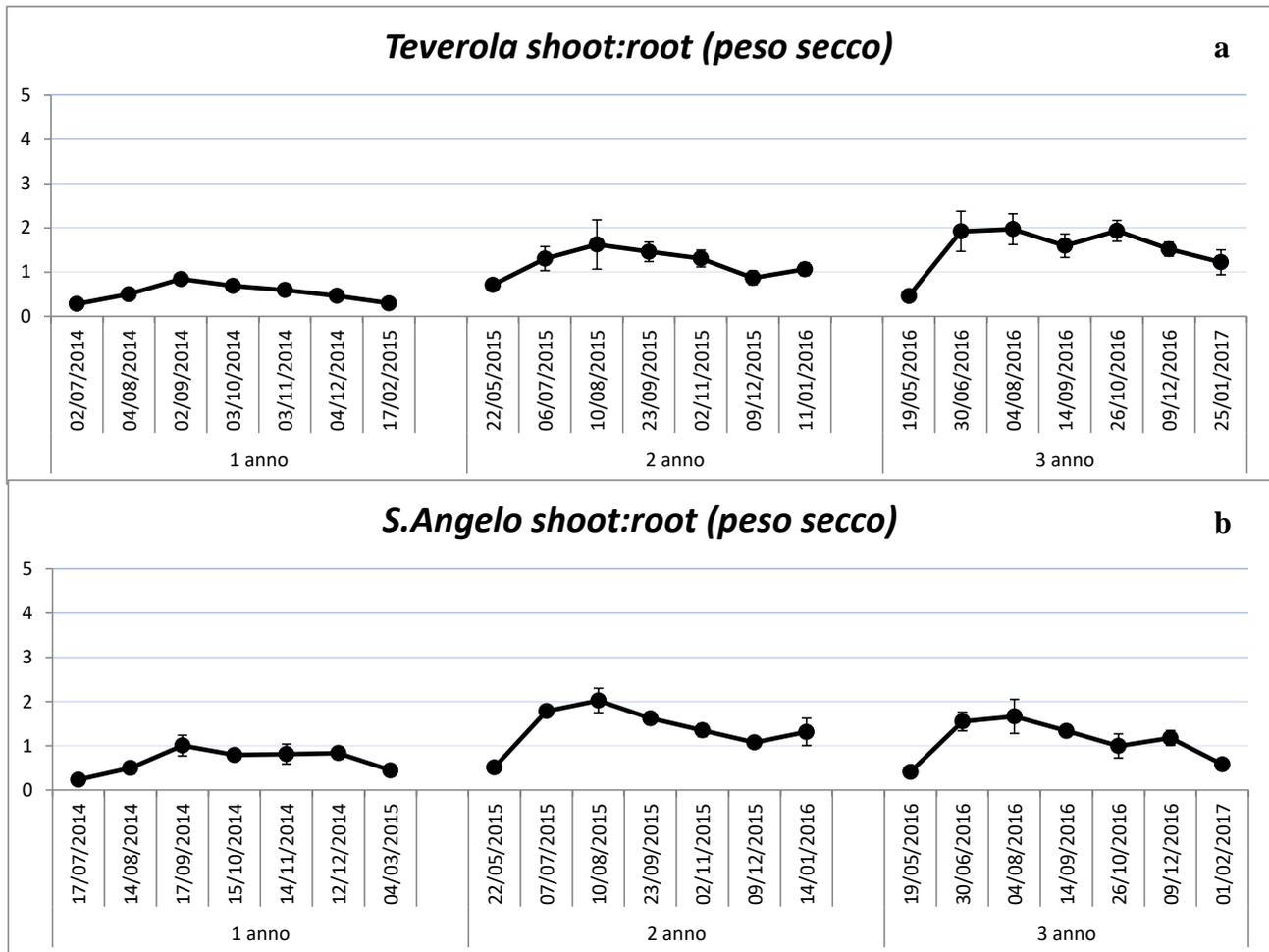
**Figura 2.8a e 2.8b.** Andamento del peso secco dei rizomi nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

Riguardo l'andamento della percentuale di sostanza secca dei rizomi, i risultati mostrano (Fig. 2.9a, e 2.9b.), un andamento pressoché identico in entrambi i siti nel corso delle stagioni colturali. In generale, in accordo con quanto riportato da Nassi o Di Nasso et al (2013) è stato registrato un graduale aumento, dal mese di maggio fino a novembre, con un picco massimo del 30% raggiunto a fine ciclo colturale in entrambi i siti prescelti.



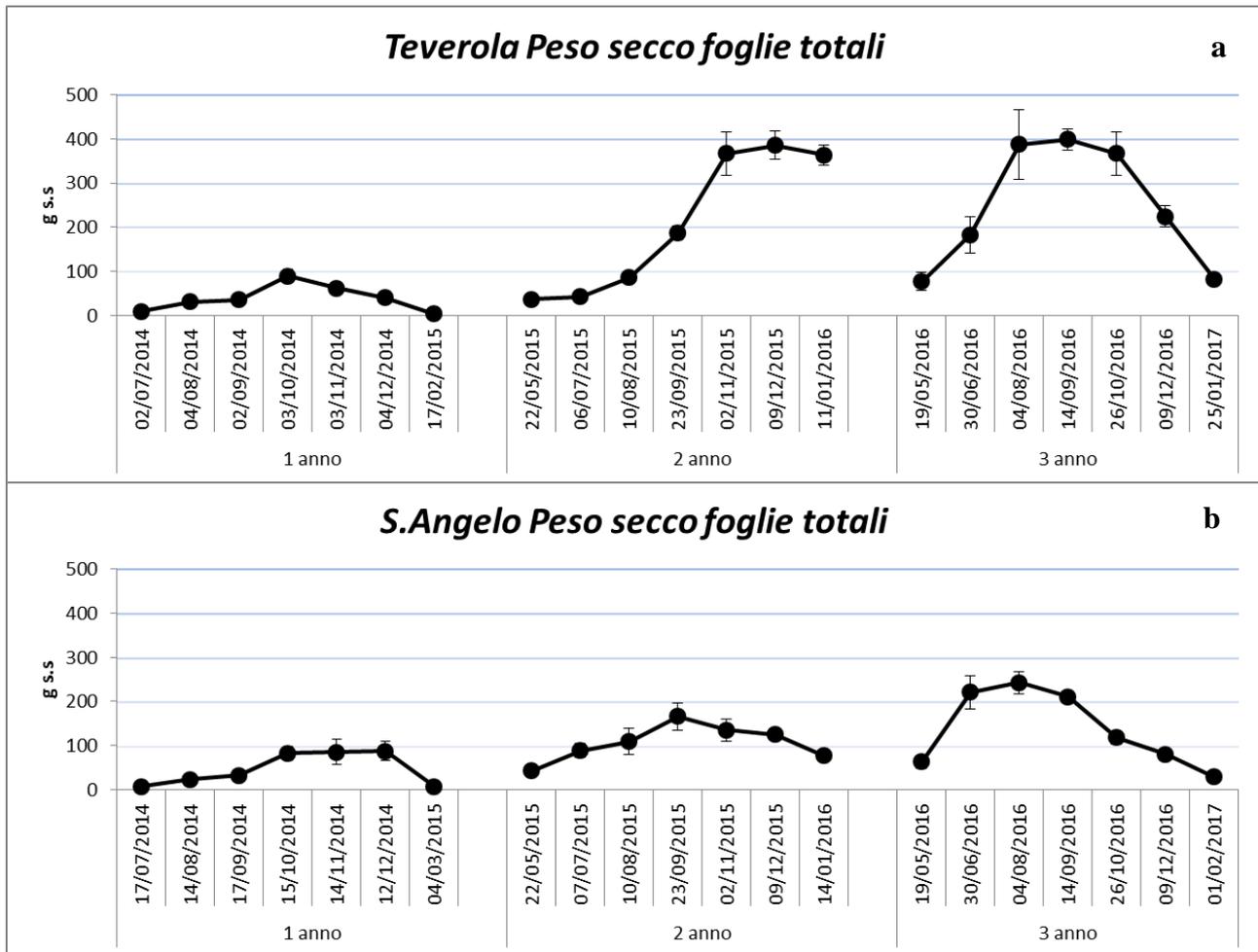
**Figura 2.9a e 2.9b.** Andamento del peso secco dei rizomi nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

Per quanto riguarda il rapporto fra peso secco del rizoma e peso secco della parte aerea (Shoot:Root Ratio, S/R), in generale, è interessante notare come nel corso delle stagioni colturali (Fig. 2.10a e 2.10b) i valori dopo una prima fase di aumento per sostenere la produzione di nuovi germogli restano stabili per poi diminuire in inverno per la traslocazione dei prodotti fotosintetici dagli organi epigei (culmi e foglie) a quelli ipogei. In particolare durante il primo anno di crescita, il rapporto è incrementato dopo l'estate a circa 0.84 per il sito di Teverola e 1.01 per il sito di S. Angelo. Nel secondo di crescita, il rapporto S/R è incrementato a Teverola di quasi il doppio (1.62) nel periodo estivo, mentre i valori di S. Angelo incrementano di poco 1.62. Durante il terzo anno d'impianto i valori registrati dopo l'estate nel sito di Teverola risultano costantemente più elevati (1.97) mentre restano stabili a S. Angelo dei Lombardi (1.66).



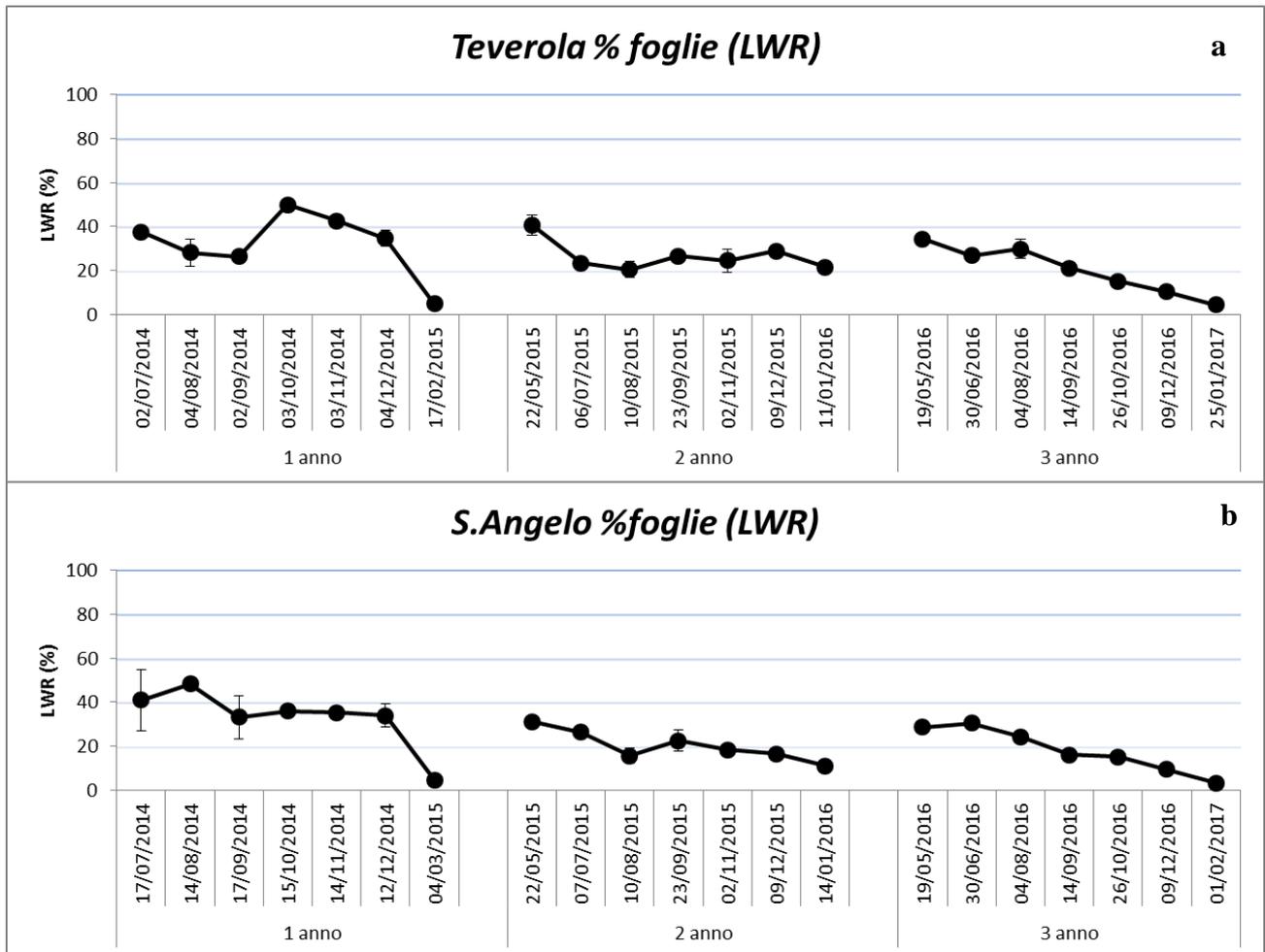
**Figura 2.10a e 2.10b.** Andamento del rapporto (S/R) tra peso secco dei rizomi e peso secco della biomassa aerea nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

Come riportato in Figura 2.11a e 2.11b, l'andamento del peso secco delle foglie nel primo anno d'impianto è della stessa entità nei due siti fino al tardo autunno con un valore pari a circa 90 g pianta<sup>-1</sup>. Tuttavia è evidente che nel sito di Teverola i valori raggiunti a metà novembre tendono a decrescere più rapidamente mentre restano costanti per altri 2 mesi circa nel sito di S. Angelo. Nel 2015, per effetto delle temperature più miti registrate nel sito di Teverola, la perdita di foglie è stata relativamente limitata, tanto che nell'inverno del 2015 la produzione di biomassa fogliare a fine ciclo è risultata pari a 364 g pianta<sup>-1</sup> vs 124 g pianta<sup>-1</sup> di S. Angelo. Diversamente, nel terzo anno d'impianto (2016), caratterizzato da temperature invernali molto più basse, è stata registrata una perdita di foglie lineare durante il ciclo colturale in entrambi i siti con valori riscontrati pari a 224 g pianta<sup>-1</sup> e di 80 g pianta<sup>-1</sup> rispettivamente per Teverola e S. Angelo dei Lombardi.



**Figura 2.11a e 2.11b.** Andamento del peso secco delle foglie (somma foglie verdi e foglie gialle) nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

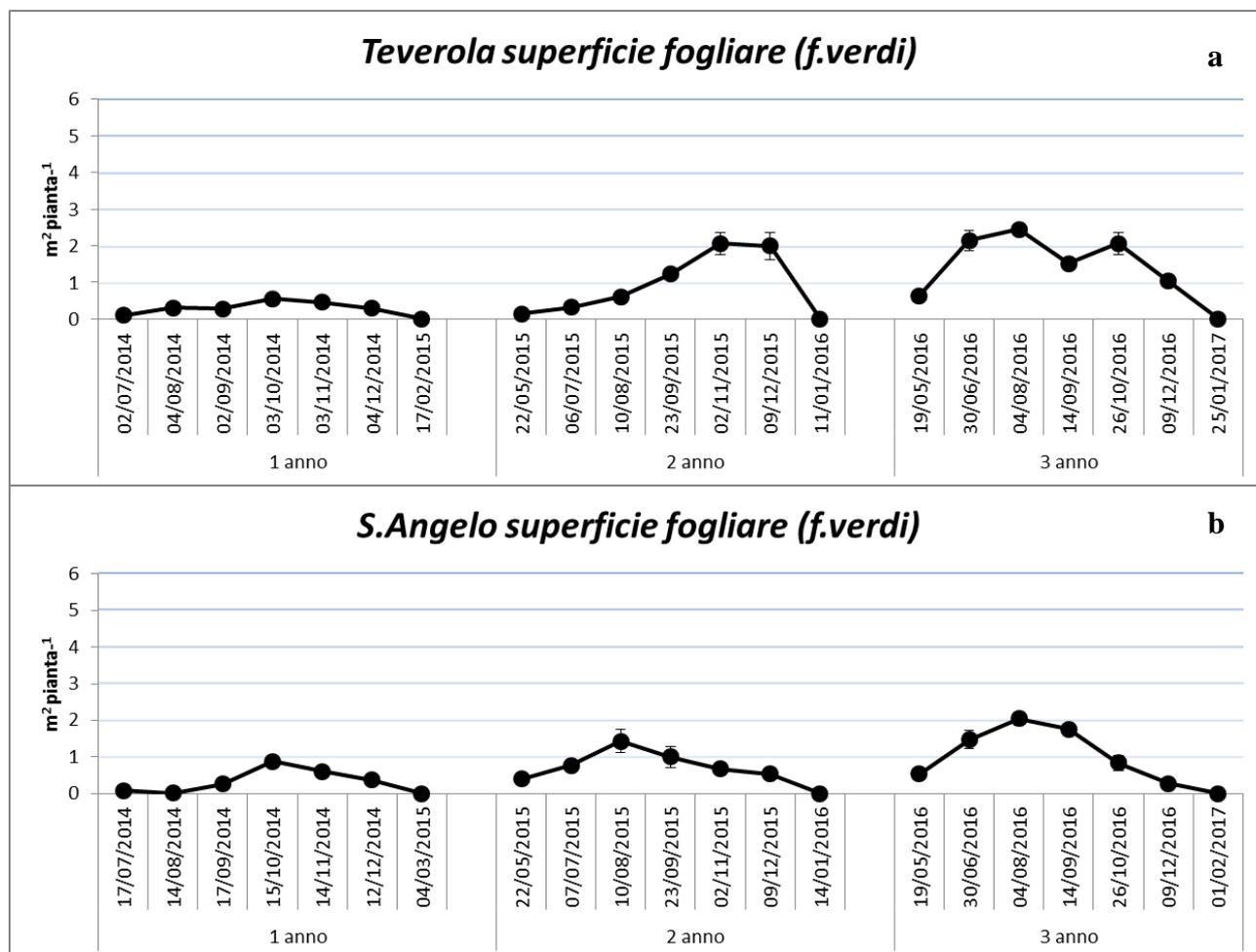
Il rapporto fra peso secco foglie e peso secco della parte aerea (Leaf Weight Ratio-LWR) registrato nei siti studiati ha mostrato durante il primo anno di accrescimento, una maggiore fogliosità (Fig. 2.12a e 2.12b) rispetto al secondo e terzo anno d'impianto. Tali differenze potrebbero essere indicative di una necessità da parte della pianta nella fase iniziale del ciclo colturale di produrre elevate quantità di fotosintetati per lo sviluppo dell'apparato rizomatoso. Successivamente nel 2015 e 2016, in entrambi i siti il rapporto tra il peso secco fogliare e il peso secco di biomassa epigea durante la stagione di crescita è diminuito dal 40% al 0% circa (periodo maggio-febbraio).



**Figura 2.12a e 2.12b.** Andamento del rapporto tra peso secco delle foglie (somma foglie verdi e foglie gialle) e peso secco totale della pianta nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

Un parametro molto importante per comprendere le dinamiche di sviluppo della pianta è l'andamento dell'indice di area fogliare (Leaf Area Index, LAI). Come è possibile osservare dalla Figura 2.13a e 2.13b, durante il primo anno d'impianto, l'andamento del LAI in entrambi i siti è caratterizzato da un incremento quasi lineare fino al mese di ottobre, mentre successivamente tende a diminuire con il sopraggiungere del freddo invernale. Diversamente, differenze più marcate sono state riscontrate a partire dal secondo anno d'impianto in entrambi i siti studiati. Precisamente, nel sito di Teverola, grazie al clima più mite, i valori più elevati sono stati registrati nel mese di dicembre ( $2.0 \text{ m}^2 \text{ pianta}^{-1}$ ); nel sito di S. Angelo invece, per effetto delle temperature più basse il valore massimo è stato raggiunto nel mese di agosto ( $1.4 \text{ m}^2 \text{ pianta}^{-1}$ ). Nel terzo anno d'impianto, le condizioni meteo climatiche più fredde registrate nel corso della stagione vegetativa hanno influito in entrambi i siti studiati, in particolare il valore massimo di LAI è stato raggiunto nel mese di agosto con valori rispettivamente di  $2.44 \text{ m}^2 \text{ pianta}^{-1}$  per il sito di Teverola e di  $2.05 \text{ m}^2 \text{ pianta}^{-1}$  per

il sito di S. Angelo dei Lombardi, successivamente con l'arrivo del freddo invernale tali valori sono diminuiti.



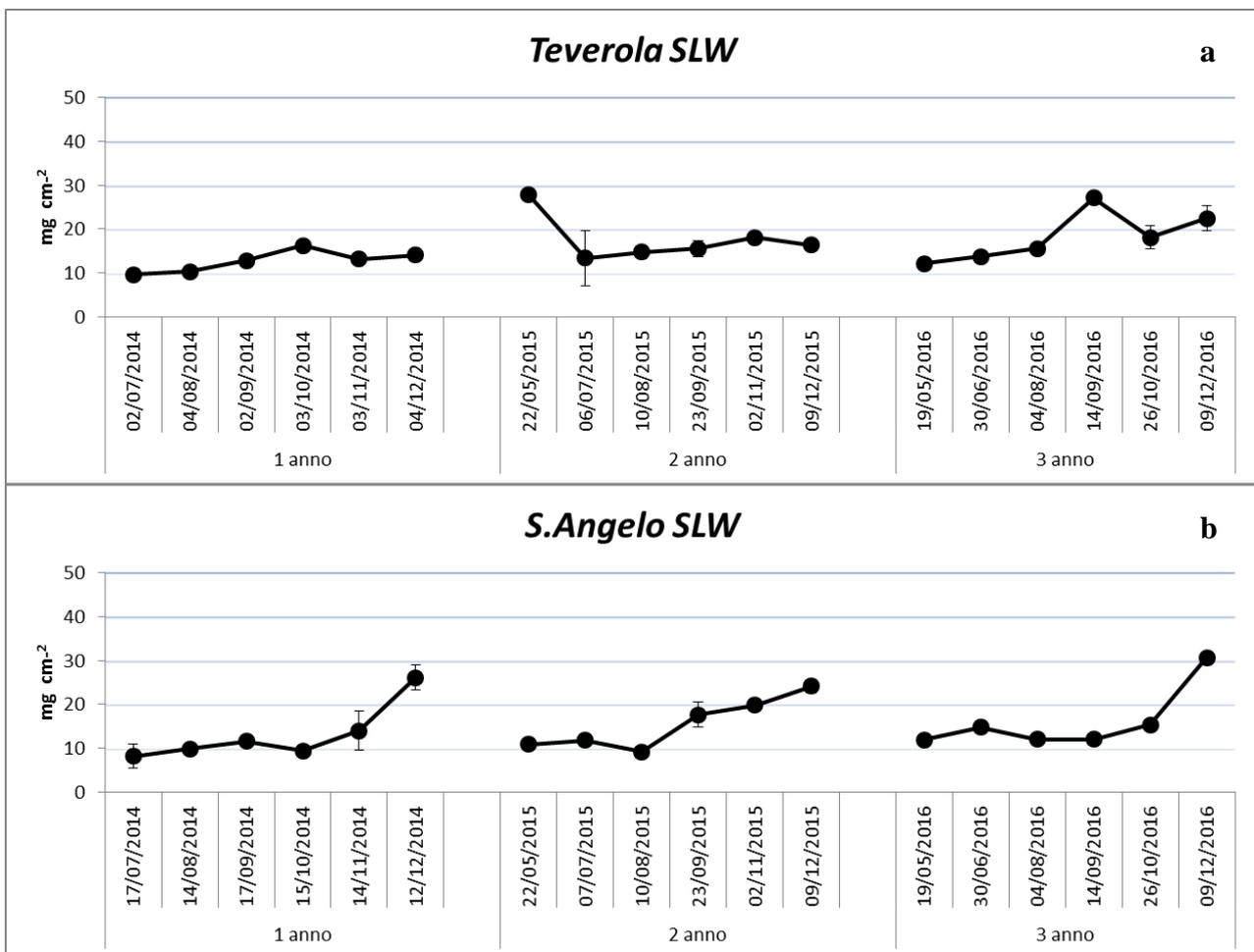
**Figura 2.13a e 2.13b.** Andamento della superficie fogliare (Leaf Area) nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

Anche il calcolo del parametro della durata dell'apparato fogliare, ossia l'integrale del LAI, espressa con l'indice LAD ha mostrato in entrambi i siti una buona persistenza dell'apparato fogliare. Dai valori riscontrati (Tab. 2.3) è possibile osservare un aumento abbastanza lineare nel tempo della persistenza dell'apparato fogliare in entrambi i siti studiati. Nel complesso, dal confronto dei valori registrati è possibile osservare incrementi notevoli della durata della superficie fogliare in relazione ai siti studiati. In particolare nel sito di Teverola, tali valori incrementano da 67 a 349 m<sup>2</sup> pianta<sup>-1</sup> giorni rispettivamente dal primo al terzo anno d'impianto, mentre a S. Angelo sono stati riscontrati valori pari da 80 a 291 m<sup>2</sup> pianta<sup>-1</sup> giorni.

**Tabella. 2.3.** Valori della durata dell'area fogliare (LAD) nei siti prescelti.

Località	LAD 1° anno (m <sup>2</sup> pt <sup>-1</sup> giorni)	LAD 2° anno (m <sup>2</sup> pt <sup>-1</sup> giorni)	LAD 3° anno (m <sup>2</sup> pt <sup>-1</sup> giorni)
Teverola	66.86	383.15	349.38
<i>E.S.</i>	4.60	26.33	20.96
S. Angelo	80.12	262.54	281.47
<i>E.S.</i>	7.25	38.15	16.74

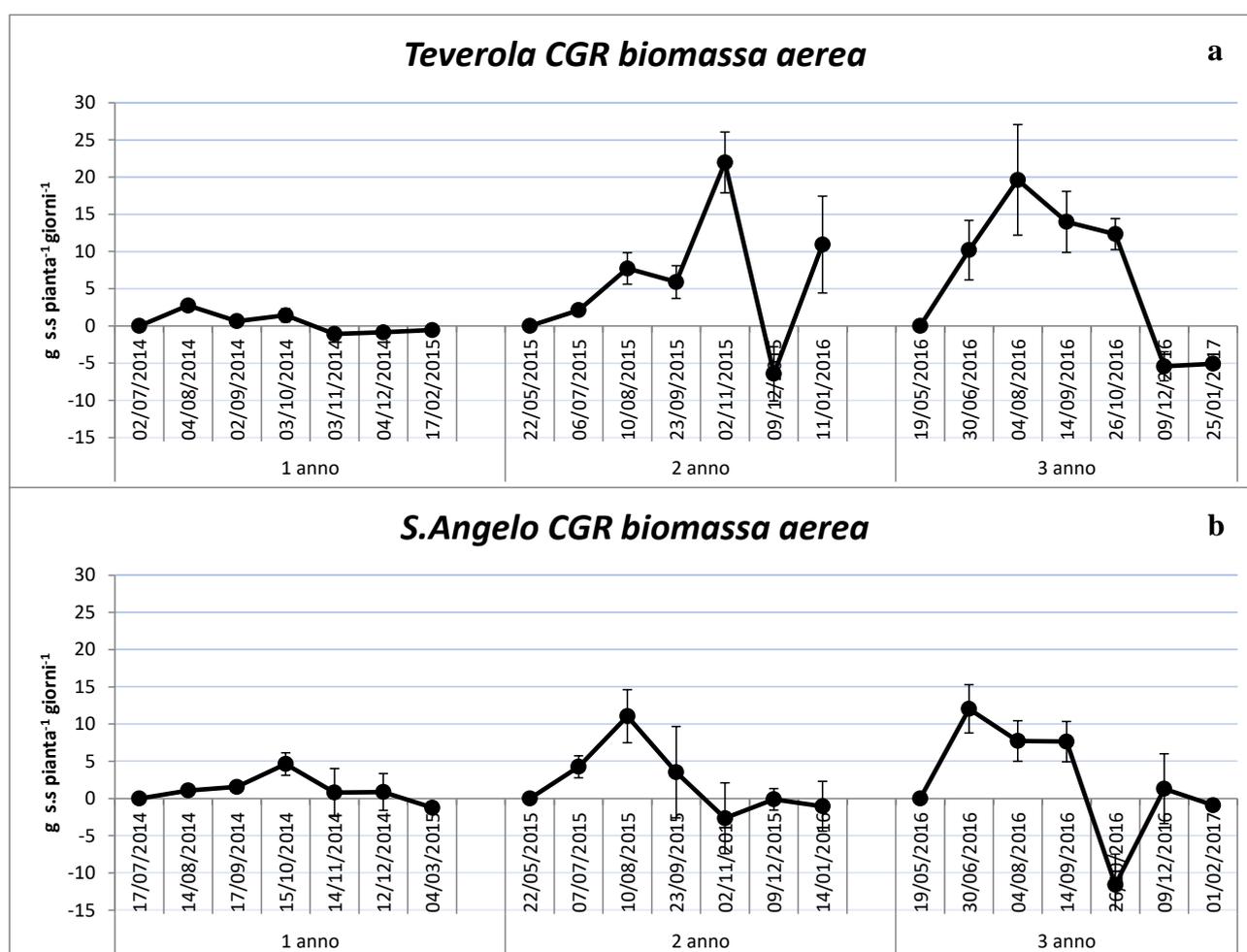
Anche l'andamento del rapporto fra peso secco totale delle foglie e area fogliare (SLW) è risultato più elevato nel secondo e terzo anno d'impianto in ciascun sito. I valori dell'indice SLW (Fig. 2.14a e 2.14b) mostrano un aumento abbastanza regolare nel tempo che potrebbe essere correlato con il progressivo aumento delle condizioni di stress.



**Figura 2.14a e 2.14b.** Andamento del rapporto fra peso secco totale delle foglie area fogliare (Leaf Area) nel sito di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre nel grafico rappresentano l'errore standard.

L'incremento giornaliero del peso secco, espresso con l'indice CGR (Fig. 2.15a e 2.15b), ha mostrato un andamento simile nel corso della sperimentazione. Nel primo anno d'impianto, il picco

della velocità di crescita è stato anticipato e più contenuto a Teverola (circa 3 g pianta<sup>-1</sup> giorno<sup>-1</sup> ad agosto) rispetto a S. Angelo (circa 5 g pianta<sup>-1</sup> giorno<sup>-1</sup> ad ottobre) che ha mostrato una crescita attiva fino a dicembre inoltrato. Nel 2015, nel sito di Teverola, i valori incrementano a fine estate (21.96 g pianta<sup>-1</sup> al giorno<sup>-1</sup>), mentre a S. Angelo tale incremento è anticipato ad agosto (11.06 g pianta<sup>-1</sup> al giorno<sup>-1</sup>). Nel terzo anno d'impianto, a Teverola valori tendenzialmente più elevati si registrano ad agosto (19.62 g pianta<sup>-1</sup> giorno<sup>-1</sup>) mentre a S. Angelo il picco massimo di crescita si registra nel mese di giugno con un valore pari a 12.04 g pianta<sup>-1</sup>giorno<sup>-1</sup>. In generale, i valori negativi, che indicano perdita di foglie o traslocazione verso gli organi di accumulo sotterranei (rizomi) iniziano a novembre a S. Angelo, e solo a fine inverno a Teverola.

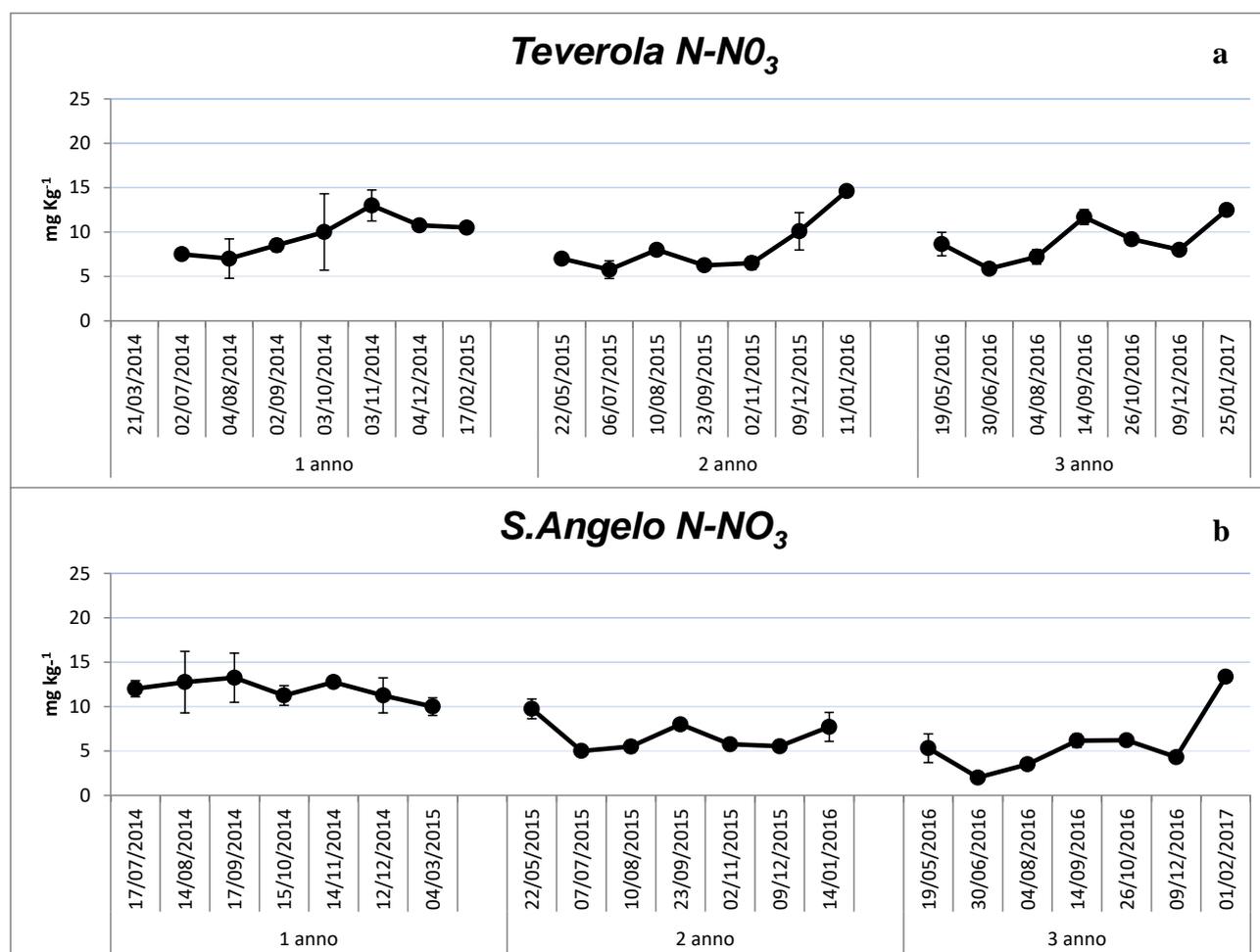


**Figura 2.15a 2.15b.** Andamento del Crop Growth Rate (CGR) nei siti di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b).

### 2.3.2 Monitoraggio delle concentrazioni di N minerale e del contenuto di carbonio organico nel suolo nel corso della sperimentazione.

I risultati delle analisi del contenuto di azoto nitrico nel suolo (strato 0-30 cm) ottenuti nel triennio di sperimentazione sono riportati nelle Figure 2.16a e 2.16b, rispettivamente per il sito di Teverola e S. Angelo dei Lombardi. Nel primo anno d'impianto, nel sito di S. Angelo, i valori di NO<sub>3</sub>-N sono risultati costanti durante tutto il ciclo colturale oscillando tra 12 e 10 mg kg<sup>-1</sup>, mentre nel sito di Teverola, i valori iniziali erano molto più bassi (7 mg kg<sup>-1</sup>) e sono incrementati fino al mese di novembre in cui è stato raggiunto un picco di circa 13 mg kg<sup>-1</sup>.

Nel 2015, concentrazioni mediamente più elevate sono state registrate nel sito di Teverola con valori crescenti durante il ciclo colturale da 8 a 15 mg kg<sup>-1</sup> vs valori da 10 a 7 mg kg<sup>-1</sup> a S. Angelo. Nel terzo anno d'impianto, tali valori restano stabili a Teverola (8 mg kg<sup>-1</sup> in media) mentre a S. Angelo sono stati osservati valori più bassi (5 mg kg<sup>-1</sup> in media).



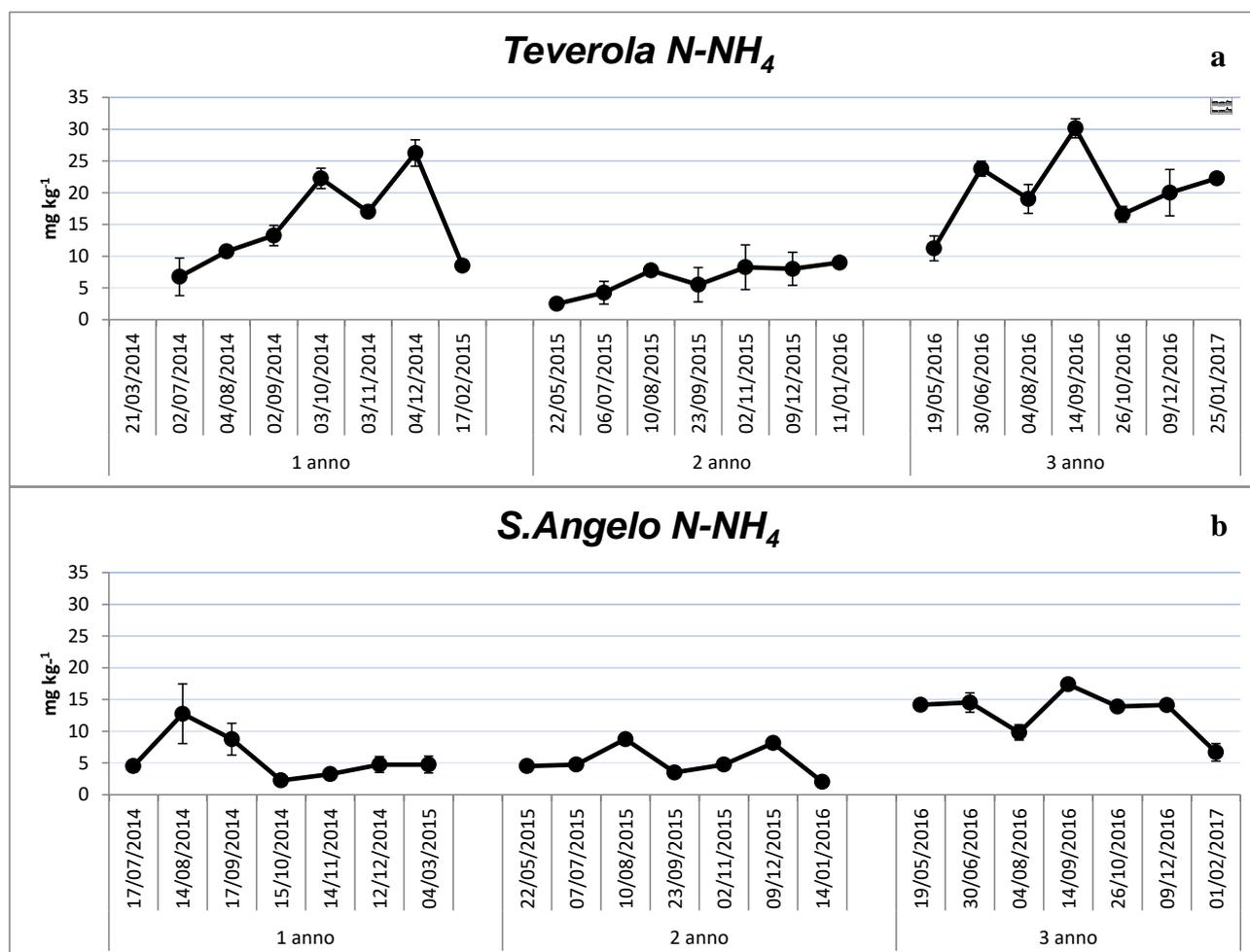
**Figura 2.16a, 2.16b.** Andamento N nitrico (N -NO<sub>3</sub>) nello strato 0-30 cm, nei siti di Teverola e S. Angelo dei Lombardi. Le barre indicano l'errore standard delle misure effettuate (n=4).

Dal confronto delle annate nei 2 siti, è possibile osservare che a Teverola i valori inizialmente erano più bassi, ma sono poi cresciuti negli anni successivi ad indicare un miglioramento della fertilità del

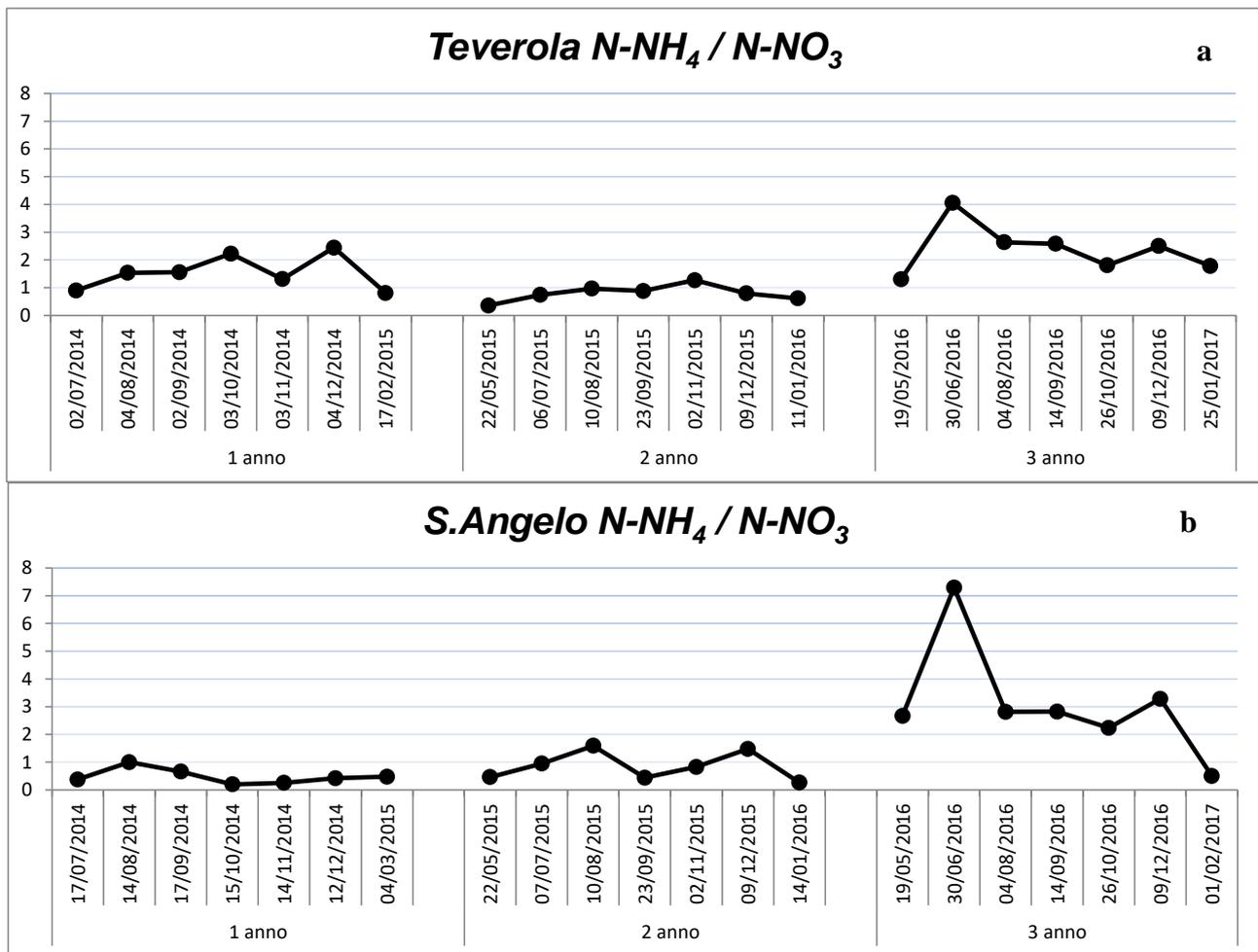
suolo. Al contrario a S. Angelo i valori iniziali erano più alti, mentre nelle annate successive sono stati costantemente più bassi ad indicare un impoverimento dei livelli di fertilità.

L'N ammoniacale (Fig. 2.17a, e 2.17b) ha fatto registrare nel primo anno valori mediamente più elevati a Teverola ( $15 \text{ mg kg}^{-1}$  vs  $6 \text{ mg kg}^{-1}$  riscontrati nel sito di S. Angelo). Tale differenza risulta meno evidente nel secondo anno d'impianto, in cui sono stati registrati valori medi di  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  in entrambi i siti. Nel 2016, sono stati registrati nuovamente valori medi più elevati a Teverola rispetto a S. Angelo ( $20$  vs  $14 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

Il rapporto tra azoto ammoniacale ed azoto nitrico (Fig. 2.18a, e 2.18b), che potrebbe indicare le condizioni anaerobiche del suolo, erano inizialmente più alte a Teverola probabilmente a causa del compattamento e della degradazione della struttura del suolo dovuto all'uso pregresso del sito (trasporto, stoccaggio e trattamento dei rifiuti). Nelle annate successive, invece i valori di Teverola sono risultati non differenti e qualche volta più bassi rispetto a S. Angelo. Questa differenza potrebbe indicare come l' *A. donax* sia stata in grado di contribuire al miglioramento della fertilità fisica dei suoli grazie all'espansione del suo apparato radicale, agli essudati radicali ed all'effetto lettiera, come già riscontrato da Fagnano et al (2015).



**Figura 2.17a 2.17b.** Andamento del contenuto di N ammoniacale (N-NH<sub>4</sub>), nello strato 0-30 cm, nei siti di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b). Le barre indicano l'errore standard delle misure effettuate (n=4).

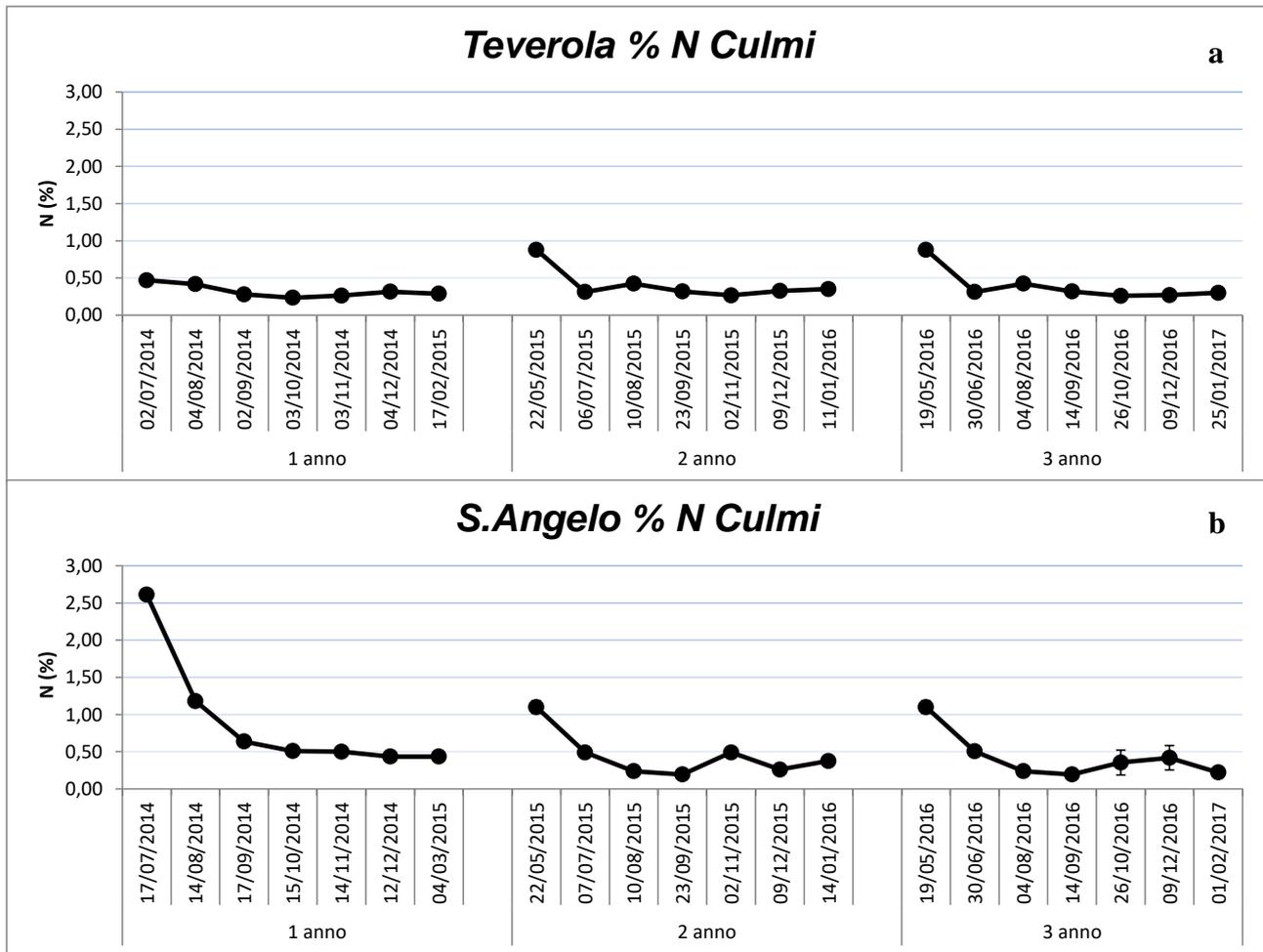


**Figura 2.18a, 2.18b.** Andamento del rapporto N ammoniacale:N nitrico nello strato 0-30 cm, nei siti di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b).

### 2.3.3 Monitoraggio delle asportazioni di N in culmi, foglie e rizomi nel corso della sperimentazione.

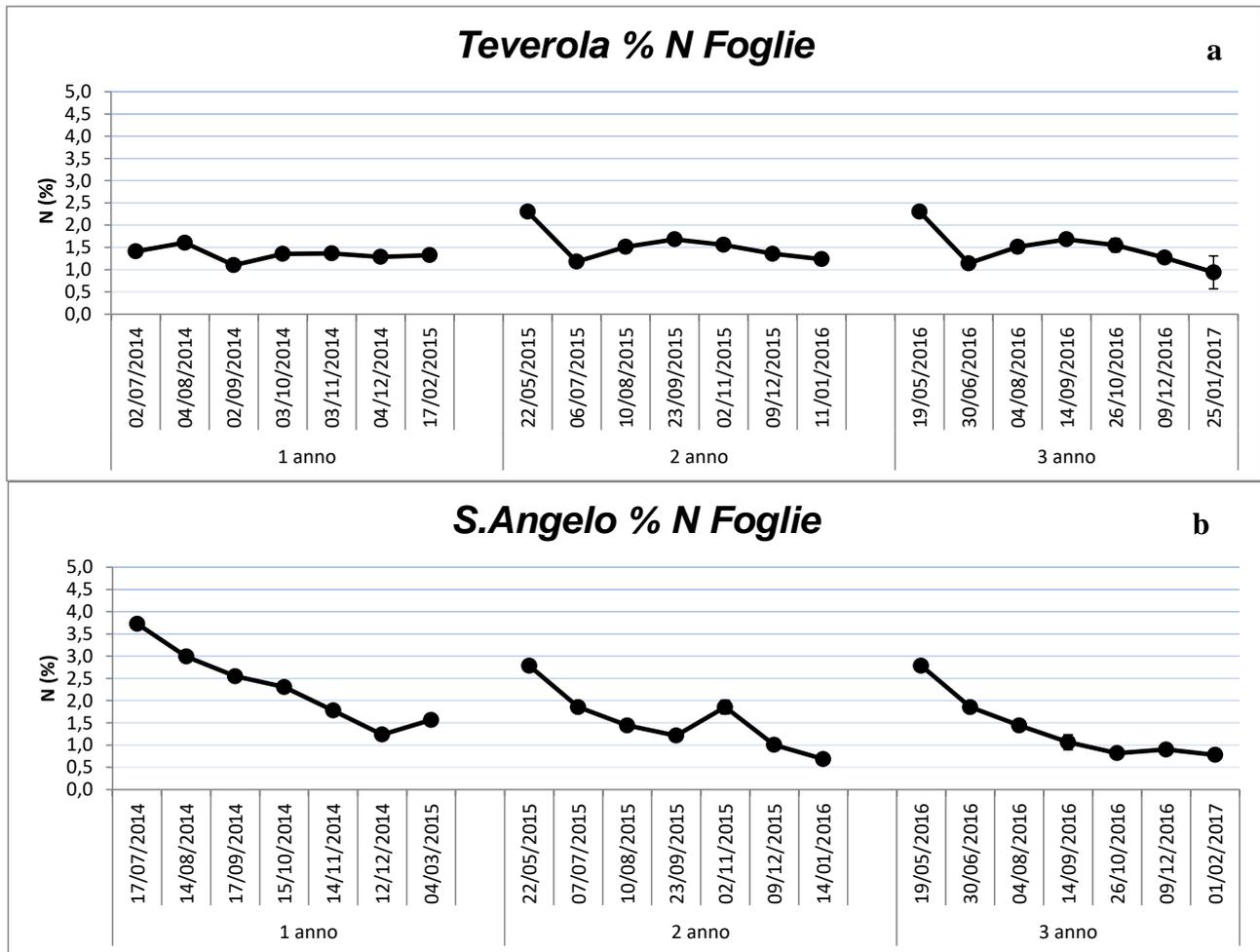
Nel primo anno, il contenuto di N totale nei culmi risulta mediamente più elevato a S. Angelo dei Lombardi, facendo registrare la massima differenza al primo rilievo con valori pari a 2.61 % (S. Angelo) e 0.47 % a Teverola (Fig.2.19 a, 2.19b).

Rispetto al primo campionamento i valori decrescono fino a 0.6% nel sito di S. Angelo, per poi rimanere costanti fino alla raccolta, mentre restano pressoché uguali (tra 0.4 e 0.2%) e significativamente più bassi a Teverola. Nel secondo e terzo anno, i valori non si differenziano tra i 2 siti a conferma del miglioramento delle condizioni fisiche del suolo di Teverola che potrebbe aver determinato una ripresa della attività nitrificante con conseguente aumento della disponibilità di azoto per la coltura.



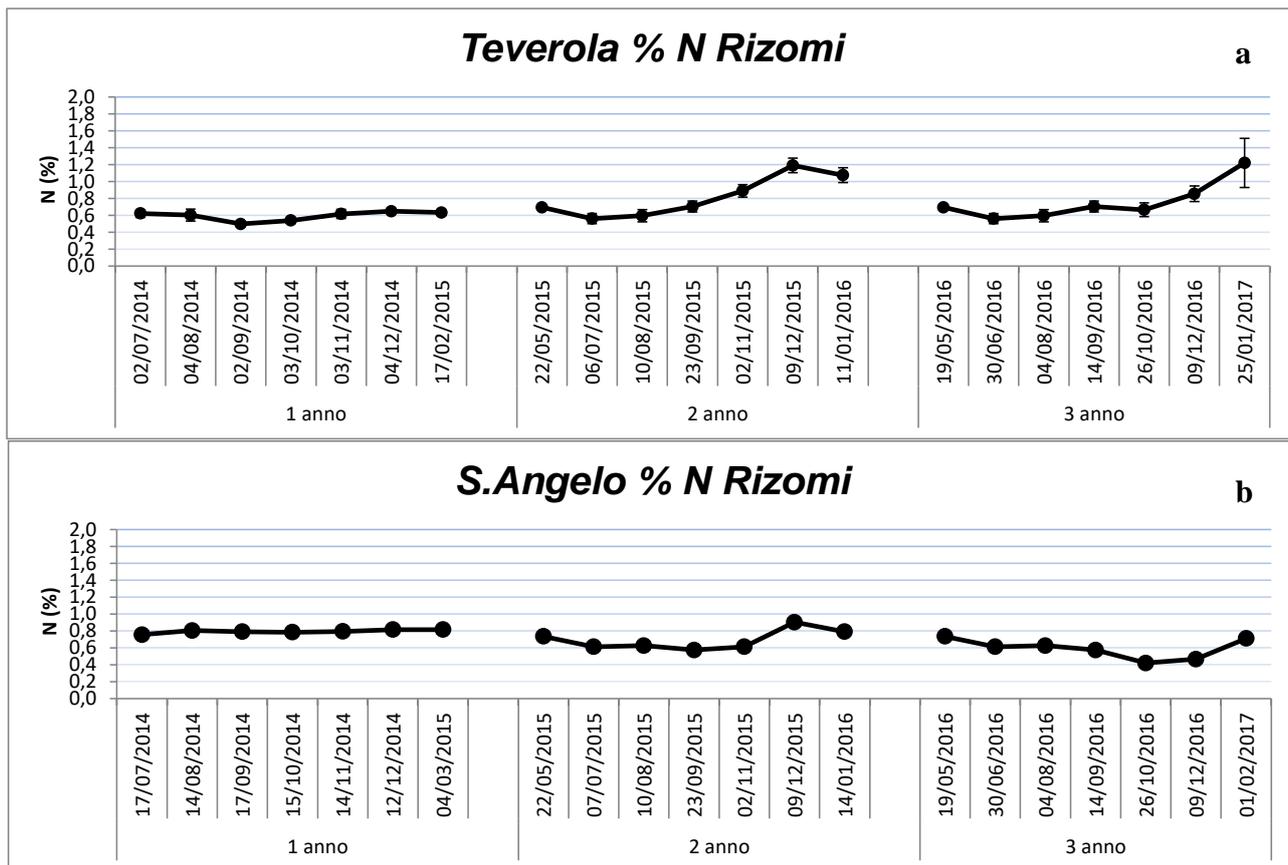
**Figura 2.19a, 2.19b.** Andamento della percentuale di N nei culmi, nei siti di Teverola e S. Angelo dei Lombardi. Le barre indicano l'errore standard delle misure effettuate (n=4).

Anche il contenuto di N nelle foglie (Fig. 2.20a, 2.20b) nel corso del primo anno ha mostrato valori decrescenti e più elevati per S. Angelo e costanti per Teverola a conferma delle difficoltà iniziali della coltura su un sito oggetto di intenso degrado di tipo fisico. Nel secondo e terzo anno d'impianto, la differenza tra i due siti nel primo rilievo risulta meno marcata con valori registrati valori iniziali di 2.30 % a Teverola e 2.79% nel sito di S. Angelo. Tuttavia, dopo l'estate tali valori decrescono costantemente in entrambi i siti facendo registrare in corrispondenza della senescenza fogliare, valori più elevati a Teverola pari a circa 1.27 vs 0.96 % di S. Angelo.



**Figura 2.20a, 2.20b.** Andamento della percentuale di N nelle foglie, nei siti di Teverola e S. Angelo dei Lombardi. Le barre indicano l'errore standard delle misure effettuate (n=4).

L'andamento del contenuto di N nei rizomi è riportato in Figura 2.21a, 2.21b. Al contrario di quanto notato nella parte aerea, nei rizomi il contenuto di azoto non è differente tra i due siti e tende a crescere durante il ciclo culturale.



**Figura 2.21a, 2.21b.** Andamento N nitrico (NO<sub>3</sub>-N) nello strato 0-30 cm, nei siti di Teverola e S. Angelo dei Lombardi. Le barre indicano l'errore standard delle misure effettuate (n=4).

### 2.3.4 Asportazioni di N in culmi, foglie e rizomi nel corso della sperimentazione.

L'andamento delle curve di asportazioni di azoto in culmi, foglie e rizomi è riportato rispettivamente nelle Figure 2.22, 2.23, 2.24 a,b. Come è possibile osservare nel primo anno d'impianto, le asportazioni risultano più elevate per culmi, foglie e rizomi nel sito di S. Angelo rispetto a Teverola a conferma delle difficoltà iniziali di crescita e di assorbimento di azoto in questo sito.

Negli anni successivi, invece, i valori risultano sempre più alti a Teverola, a conferma che la pianta di *A. donax* è riuscita a colonizzare questo sito degradato, non solo adattandosi alle condizioni, ma anche contribuendo a migliorarne gli aspetti fisici.

Nei culmi i valori risultano sempre crescenti, mentre nelle foglie si registra una più o meno intensa diminuzione a fine ciclo, confermando l'importanza della caduta delle foglie, e del conseguente effetto lettiera, nel mantenimento della fertilità del suolo.

Anche nei rizomi si registra un andamento crescente più marcato nel periodo autunno-invernale (soprattutto a Teverola nel 2° e 3° anno), probabilmente per effetto della traslocazione dei fotosintetati verso l'apparato rizomatoso (Nasso o Di Nasso, 2013).

Da notare che la maggior parte dell'azoto viene accumulato proprio nei rizomi, con valori molto più alti (20 g pt<sup>-1</sup> a Teverola e fino 10 g pt<sup>-1</sup> a S.Angelo), sia rispetto ai culmi (fino a 5 g pt<sup>-1</sup> a Teverola e fino a 3 g pt<sup>-1</sup> a S.Angelo), sia rispetto alle foglie (6-7 g pt<sup>-1</sup> a Teverola e fino a 2-3 g pt<sup>-1</sup> a S.Angelo), ad indicare l'importanza degli organi di riproduzione sotterranea nelle strategie di sopravvivenza di questa specie. Da sottolineare anche il suo andamento crescente durante il ciclo vegetativo e la sua diminuzione tra l'inverno (senescenza) e la primavera (ricaccio), tipico degli organi di accumulo sotterraneo delle colture poliennali.

Da sottolineare che le asportazioni dei culmi, il principale prodotto asportato dal campo, se proiettate per unità di superficie, arrivano a valori intorno a 100 kg ha<sup>-1</sup> di N a Teverola ed a 60 kg ha<sup>-1</sup> a S.Angelo, a conferma che la concimazione azotata è fondamentale per garantire la sostenibilità di questa coltura (Impagliazzo et al, 2017).

Il ruolo della grandissima presenza di azoto nei rizomi (fino a circa 400 kg ha<sup>-1</sup>) andrebbe indagato con apposite sperimentazioni per verificare il suo rilascio nel terreno in seguito al turn-over radicale e la sua mobilizzazione verso la parte aerea per sostenere le fasi iniziali del ricaccio primaverile.

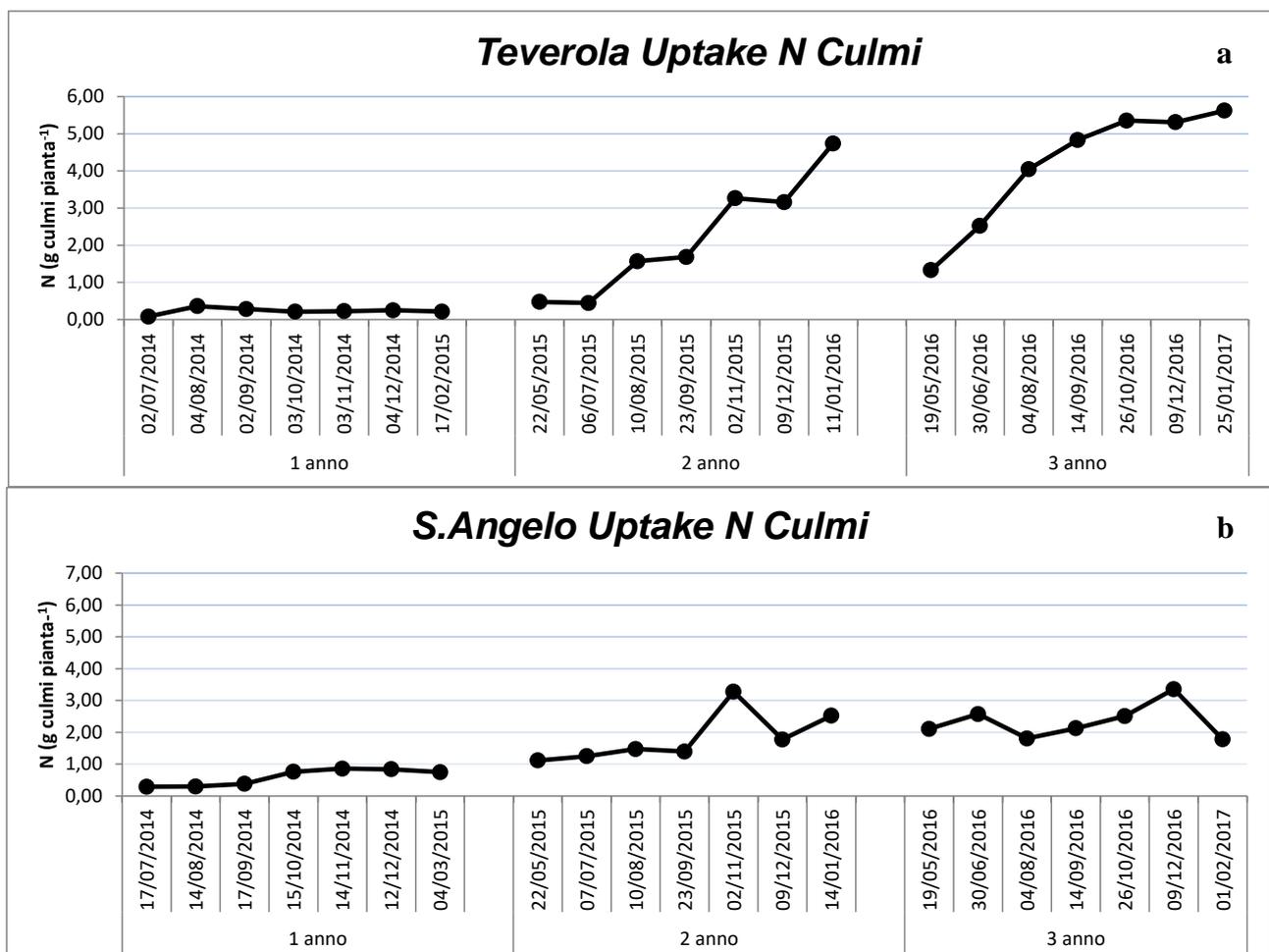


Figura 2.22a, 2.22b. Uptake di N (culmi) nei siti di Teverola(a) e S. Angelo dei Lombardi (b).

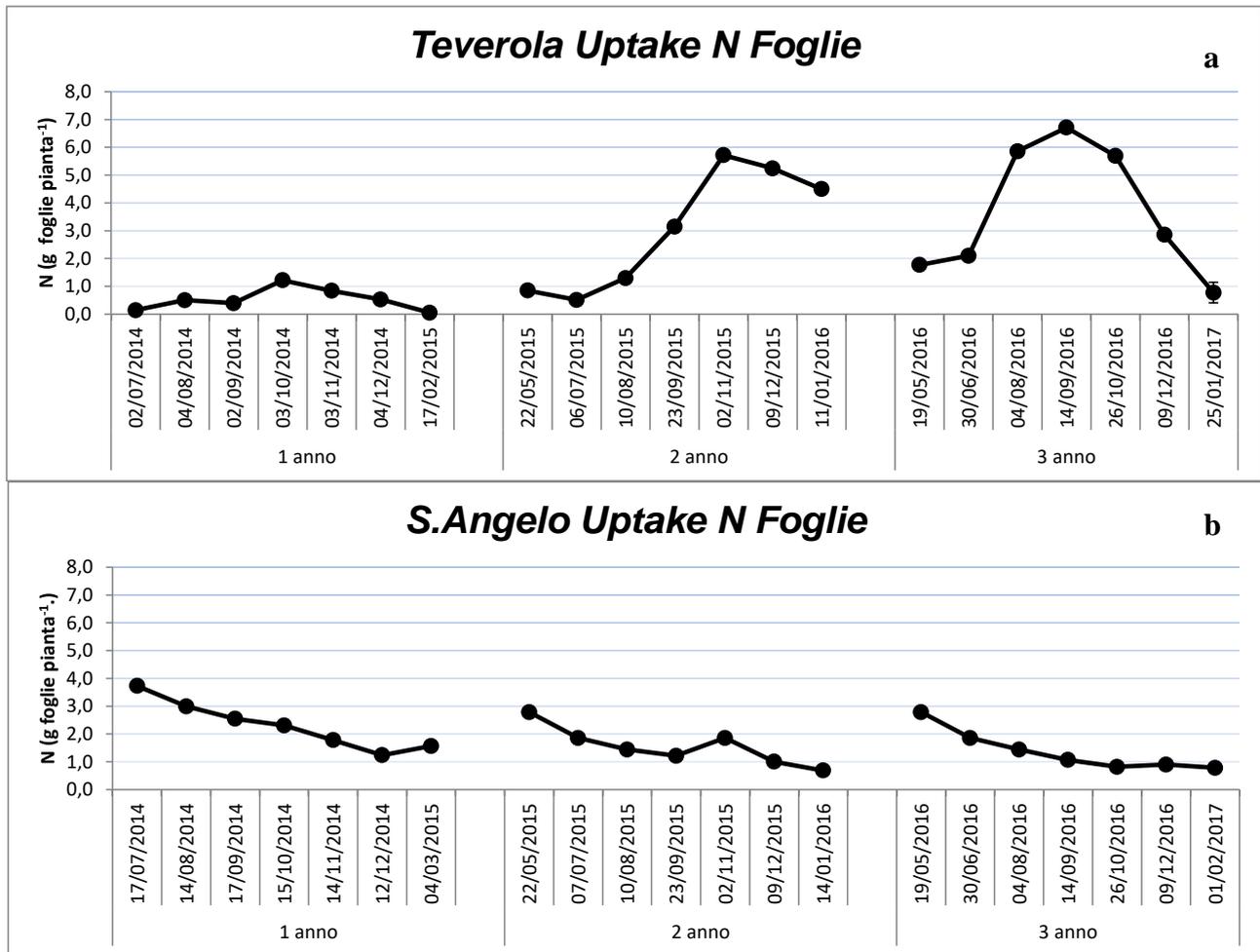
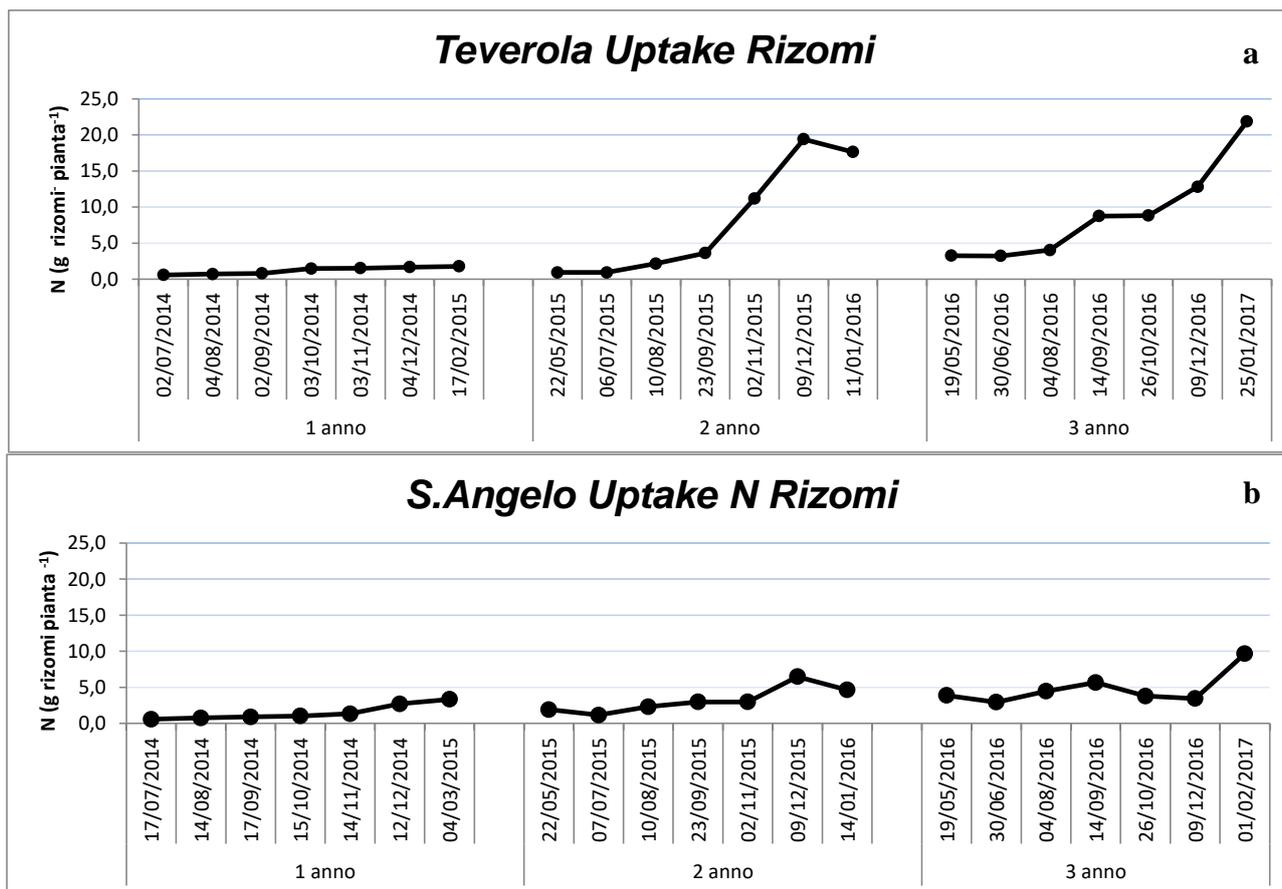


Figura 2.23a, 2.23b. Uptake di N ( foglie) nei siti di Teverola (a) e S. Angelo dei Lombardi (b).



**Figura 2.24a, 2.24b.** Uptake di N ( rizomi) nei siti di Teverola e S. Angelo dei Lombardi. Le barre indicano l'errore standard delle misure effettuate (n=4).

## 2.4 Discussioni

La netta differenza nella produzione di biomassa epigea ed ipogea nonché delle asportazioni, è in parte ampiamente supportata dalle differenze dell'andamento termo-pluviometrico nei due siti sperimentali.

Infatti, il sito Sant'Angelo dei Lombardi è situato nella collina interna dell'Irpinia (AV) a 700 m s.l.m. che, diversamente dalla Piana Campana, in cui è collocato il sito di Teverola, è caratterizzato da un clima più freddo e da una piovosità mediamente più elevata come riportato nella sezione risultati (Fig. 2.3, 2.4). In particolare, durante il triennio di monitoraggio, le temperature medie sono risultate inferiori rispetto a Teverola di circa 2°; a questo va aggiunto che ad eccezione dei mesi estivi, le temperature minime per buona parte dell'anno, si sono attestate al di sotto di 10°C. Inoltre il regime pluviometrico ha fatto registrare nel corso delle stagioni di monitoraggio, frequenti eventi piovosi, talvolta a carattere temporalesco, tali da produrre danni all'apparato fogliare. Questi andamenti giustificano in parte il maggior rigoglio vegetativo della coltura nel sito di Teverola e il veloce accrescimento epigeo registrato a partire dal secondo anno d'impianto.

Oltre che dall'andamento termopluviometrico, la produzione è stata influenzata anche dalle condizioni del terreno dei due siti che comunque conservano aspetti di marginalità. I risultati delle analisi (tabelle 2.1 e 2.2, sezione materiali e metodi) dimostrano che il suolo di Teverola che in passato è stato utilizzato come sito di stoccaggio temporaneo dei rifiuti (RSU), presentava inizialmente una fertilità notevolmente più bassa rispetto al suolo di S. Angelo. In particolare gli andamenti di N minerale del suolo evidenziano una netta differenza in termini di potenziale di mineralizzazione che rappresenta un presupposto fondamentale per l'accrescimento delle colture. Probabilmente, è possibile ipotizzare che le numerose lavorazioni del terreno eseguite per ripulire il sito, insieme all'effetto della colonizzazione e della crescita della coltura, abbiano contribuito a migliorare le condizioni fisiche del suolo, stimolando l'attività dei batteri nitrificanti così da favorire una maggiore disponibilità di azoto per le colture. Questo ha consentito un flusso di N minerale costante durante tutto il periodo di accrescimento in grado di soddisfare le esigenze della coltura come evidenziato dalle maggiori asportazioni.

Inoltre dal rapporto tra N ammoniacale:nitrico è evidente che il suolo di Teverola inizialmente aveva valori molto alti, a causa del compattamento dovuto agli anni di smaltimento dei rifiuti, mentre negli anni successivi i valori sono stati più alti a S. Angelo per le maggiori condizioni di anossia, tipiche dei suoli argillosi che limitano l'ultimo *step* della mineralizzazione della sostanza organica operato dai ceppi aerobi nitrificanti.

Partendo da questa evidenza, può essere interessante interpretare gli andamenti degli altri indici biometrici identificando le strategie adottate dall'*Arundo donax* per adattarsi alle condizioni sfavorevoli riscontrate nel primo anno a Teverola e successivamente nel sito di S. Angelo dei Lombardi.

L'andamento della sostanza secca delle foglie e dell'area fogliare (Figure 2.11a,b e 2.13a,b) evidenzia, ad esempio, che in entrambi i siti la coltura reagisce allo stress dovuto alle basse temperature riducendo la superficie fogliare. Fra l'inizio e la fine del ciclo colturale c'è un incremento in valore assoluto del peso secco delle foglie che tende a ridursi, precocemente, a S. Angelo, suggerendo una senescenza anticipata. Anche l'incidenza sul peso della biomassa epigea è notevolmente differente nei due siti come mostrato dall'andamento dell'LWR (Fig. 2.12a , 2.12b, sezione risultati). L'indice di fogliosità ha fatto registrare un campo di variazione simile nei due siti (da 0.50 a 0.10 circa) e risulta in accordo con quanto mostrato da Nassi o Di Nasso et al, (2013). Le differenti condizioni dei due siti hanno condizionato la mobilizzazione delle riserve carboniose all'interno degli organi della pianta. E' infatti possibile notare dall'accrescimento epigeo ed ipogeo (Figura 2.5a,b. e 2.8a,b) che in condizioni limitanti come quelle di Teverola e S. Angelo, la pianta, nel primo anno investe per tutto il periodo da primavera a fine autunno nella crescita di culmi e

foglie, a scapito dei rizomi che restano su livelli quasi costanti di peso. Raggiunto il valore massimo di accrescimento epigeo (novembre) inizia la fase di riempimento dei rizomi a scapito dei culmi. Nel secondo e terzo anno d'impianto, superata la fase di acclimatamento, grazie alle migliori condizioni meteorologiche nel sito di Teverola, sia la biomassa aerea che ipogea crescono rapidamente e con un tasso anche superiore a S. Angelo, arrestandosi al loro massimo a fine ciclo colturale, escludendo una ulteriore traslocazione nei rizomi.

Più precisamente dal rapporto tra biomassa aerea e parte ipogea (S/R) è evidente (Fig. 2.10a, 2.10b, sezione risultati pp. 50) che a Teverola la coltura trasloca una proporzione maggiore delle riserve direttamente nei rizomi, dimostrando che in previsione di una persistenza di condizioni favorevoli si assicura un accumulo delle riserve ipogee che rappresentano il punto di partenza per il ciclo di crescita successivo. Tali andamenti sono anche confermati dal CGR che raggiunge i valori negativi, tipici della traslocazione verso i rizomi sotterranei, in un periodo più precoce a Teverola.

I valori di S/R registrati nel nostro esperimento a Teverola sono coerenti con quelli riportati da Nassi o Di Nasso et al, (2013) che in ambienti dell'Italia centrale hanno registrato un incremento da 0.5 a 2 durante il primo ciclo colturale. La minore disponibilità di N minerale nel sito di S. Angelo ha causato una concentrazione nettamente più bassa di azoto nelle foglie, praticamente pari a quella registrata a Teverola alla fine del ciclo colturale. Questo ha con molta probabilità ridotto la capacità fotosintetica della coltura essendo l'azoto un costituente fondamentale della clorofilla; è inoltre possibile che per consentire l'accrescimento ipogeo la coltura abbia mobilizzato le riserve di N presenti nei rizomi come dimostrato della Figura 2.14 a,b in cui è evidente una riduzione del contenuto di N nei rizomi a S. Angelo tra il secondo e terzo anno.

## **2.5 Conclusioni**

Il lavoro descritto in questo esperimento dimostra che l'*Arundo donax* può essere una coltura interessante per ottenere redditi in ambienti marginali attraverso l'attivazione di una filiera di produzione di biomasse lignocellulosiche per la produzione di energia e biochemicals. Va tuttavia precisato che in ambienti collinari caratterizzati da limitazioni fisiche e nutrizionali, è necessario prevedere un incremento degli input (fertilizzazione o ammendamento per il miglioramento della struttura) per consentire delle produzioni che abbiano anche un significato economico. Resta comunque inteso che una maggiore produzione di biomassa da parte di questa coltura poliennale riveste anche un importante ruolo in ambienti degradati e marginali visto che comporterebbe un incremento dell'effetto lettiera e dell'essudazione degli apparati radicali che andrebbero ad accrescere le riserve di Carbonio nel suolo.

Di sicuro un passo ulteriore da fare per esplorare il potenziale di questa coltura, potrebbe essere lo studio dell'andamento dei principali costituenti della biomassa (lignina, cellulosa e carboidrati non strutturali) durante cicli di crescita consecutivi. Questo consentirebbe di modulare l'agrotecnica (es. anticipo del taglio della biomassa epigea; raccolta dei rizomi) con lo scopo di orientare la coltivazione di questa coltura verso scopi produttivi più specifici (es. produzione di zuccheri facilmente fermentescibili).

### **3 CRESCITA, ASSORBIMENTO E TRASLOCAZIONE DI METALLI PESANTI IN *A. DONAX* COLTIVATA SU SUOLI INDUSTRIALI DELL'ILVA DI BAGNOLI**

#### **3.1 Introduzione**

Negli ultimi decenni, le attività industriali hanno determinato gravi problemi di inquinamento del suolo in varie parti del mondo, con il rilascio nell'ambiente di elementi potenzialmente tossici (PTE). Grazie alla loro elevata persistenza e potenziale tossicità, la decontaminazione di terreni inquinati rappresenta una sfida notevole e diventa un problema serio per la salute umana e per l'ambiente (Wu et al, 2004). Generalmente, nelle aree agricole, gli elementi potenzialmente tossici possono essere trasferiti agli esseri umani attraverso la catena alimentare (Luo et al, 2009). Nelle aree residenziali e industriali, i rischi per la salute umana sono principalmente legati all'ingestione, inalazione e contatto dermico (Heal et al, 2012) di particelle di suolo contaminato, nonché alla lisciviazione degli inquinanti nelle acque sotterranee (Prasanna et al, 2011). Le tecnologie convenzionali possono essere in grado di ripristinare i suoli inquinati, ma sono estremamente costose e possono produrre un grave impatto ambientale sul sistema suolo, causando un notevole calo della fertilità e dell'attività biologica (Lynch et al, 2005). Il soil washing, è una tecnica utilizzata per bonificare i suoli delle aree dismesse e ridurre il volume di suolo da conferire in discarica. Il metodo prevede il lavaggio (washing) con acqua (con o senza additivi) dei terreni e sedimenti contaminati per rimuovere le particelle contenenti alti quantitativi di contaminanti (García Frutos et al, 2012). Anche se il soil washing è una metodologia relativamente economica e di facile utilizzazione, produce fanghi altamente tossici, adatti esclusivamente allo smaltimento in discarica, con un conseguente aumento dell'impatto ambientale. Diversamente, le "green technologies" costituiscono una valida alternativa ai metodi tradizionali di bonifica e messa in sicurezza di siti contaminati risultano più convenienti e di facile applicazione, in particolare, il fitorimediale assistito (che prevede l'ammendamento del terreno con agenti chelanti e la coltivazione di specie ad elevata biomassa) migliora le proprietà del suolo, impedisce la dispersione di inquinanti da acqua o erosione del vento e riduce la mobilità degli elementi potenzialmente tossici attraverso il loro assorbimento e l'accumulo nelle radici o la precipitazione all'interno della zona radicale (Adamo et al, 2014; Fiorentino et al, 2010, 2013). Le fitotecnologie applicate alla bonifica dei siti contaminati, stanno incontrando un interesse sempre maggiore sia fra gli addetti ai lavori che fra gli amministratori pubblici che devono trovare soluzioni economiche, sostenibili e a basso impatto ambientale. Oltre a proteggere il suolo dall'erosione, la vegetazione migliora il paesaggio e la fertilità del terreno, riducendo la diffusione di contaminanti verso altri comparti ambientali,

potenziando il metabolismo della microflora biodegradatrice degli inquinanti organici e contribuendo ad estrarre la quota biodisponibile dei metalli PT dai suoli per ridurre il livello di rischio sanitario. L'uso di specie poliennali a rapido accrescimento ed elevata produzione di biomassa offre la possibilità di mantenere il terreno coperto durante tutto l'anno e costituisce pertanto una barriera fisica che impedisce l'accesso al sito, limitando il rischio di esposizione e di lisciviazione degli inquinanti in falda (Fagnano, 2015). L'utilizzo di biomassa da energia su terreni contaminati, oltre a ridurre l'uso di combustibili fossili permetterebbe di conservare l'uso agricolo dei suoli, evitando inoltre la sottrazione di terreno agricolo alle colture alimentari (Fagnano, 2015). Tra queste, la canna comune o domestica (*A. donax* L.), utilizzata nel nostro esperimento è tra quelle più promettenti per i progetti di risanamento ambientale. E' una pianta dai molteplici usi che è stata globalmente diffusa dall'uomo, sin dai tempi antichi (Pilu et al, 2012). E' una pianta rizomata, dai cui rizomi si originano delle radici fibrose che possono raggiungere 5 m di profondità (Frandsen,1997). E' capace di crescere in un ampio range di suoli diversi, incluso in terreni poveri, inhospitali e marginali, in condizioni di elevata salinità e stress idrico (Pilu et al, 2012). Non ha particolari esigenze agronomiche in termini di lavorazioni, irrigazione e fertilizzazione e si mostra estremamente competitiva nei confronti delle altre piante, tanto da poterla definire invasiva in ecosistemi semplificati. Queste caratteristiche, insieme con l'elevata produzione di biomassa (fino a 40-50 t ha<sup>-1</sup>) (Angelini et al, 2005; Fagnano e Fiorentino, 2009; Nasso o Di Nasso et al, 2013), rendono l' *A. donax* una specie ideale come coltura ligno-cellulosica da biomassa. E' stato ampiamente dimostrato (Chary et al, 2008; Fagnano et al, 2010; Fiorentino et al, 2013; Guo and Miao, 2010; McGrath et al, 2006; Papazoglou et al, 2005), che l' *A. donax* è una specie accumulatrice in grado di crescere anche in terreni altamente inquinati in presenza di numerose elementi potenzialmente tossici come l'arsenico (As), il cadmio (Cd), il cromo (Cr), il rame (Cu), il nickel (Ni) e il piombo (Pb). E' stata anche indicata come una delle specie più promettenti per la produzione di bioenergia in zone marginali dell'Europa meridionale (Fagnano et al, 2015; Lewandowski et al, 2003), dove ha fatto registrare un impatto ambientale positivo (Forte, 2015). La fertilizzazione organica, utilizzata per migliorare la qualità dei suoli agricoli (Lima et al, 2009), potrebbe contribuire ad aumentare la fertilità del suolo anche in siti inquinati caratterizzati da condizioni avverse per la crescita delle piante. Ad esempio, il biochar può essere utilizzato per ridurre la disponibilità MPT, limitando la tossicità indotta dai metalli pesanti (Herath et al, 2015) e favorire l'aumento di stoccaggio di Carbonio nel suolo (Galvez et al, 2012). Un'altra possibilità è l'utilizzo di acidi umici per promuovere la crescita delle piante sul suolo bassa con fertilità e aumentare la disponibilità di nutrienti (es. P, Fe e Zn) per le comunità microbiche del suolo (Varanini e Pinton, 2001). Le sostanze umiche possono anche aumentare l'attività dell'enzima

coinvolto nella respirazione e la glicolisi, migliorare l'assorbimento di N (Nardi et al, 2007) (Albuzio et al, 1986; Canellas and Olivares, 2014; Piccolo et al, 1992) e stimolare la produzione di metaboliti secondari, migliorando così la resistenza agli stress biotici e abiotici (Schiavon et al, 2010). L'applicazione di acidi umici contribuisce ad aumentare l'essudazione degli acidi organici (Puglisi et al, 2008), che favorisce la disponibilità dei nutrienti, l'assorbimento e l'attività microbica nella rizosfera. Gli acidi umici potrebbero essere utilizzati per la bonifica di suoli inquinati da MPT. Soprattutto, la formazione di forti complessi metallo-umici e la modifica delle condizioni redox (von Wandruszka, 2000) possono essere un fattore chiave nelle strategie di bonifica, cambiando la biodisponibilità degli MPT nel terreno.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'adattabilità di *A. donax* in terreni inquinati da attività industriali, in particolare, sono stati studiati: 1) le produzioni di biomassa per energia o recupero biomateriale; 2) la capacità di fitoestrazione dei MPT e 3) la capacità di ripristino della fertilità del suolo. La fertilità chimica è stata monitorata misurando il contenuto di Carbonio organico mentre la fertilità microbiologica del terreno è stata stimata quantificando l'abbondanza di geni funzionali batterici che regolano la fissazione dell'azoto (*nifH*) e nitrificazione (*AMO*A). Un fertilizzante commerciale a base di acidi umici da Leonardite è stato testato come promotore della crescita delle piante e per migliorare la fertilità del suolo. L'effetto dei diversi trattamenti sulla fertilità biologica del suolo è stata stimata anche quantificando l'abbondanza di geni funzionali batterici che regolano la fissazione dell'azoto (*nifH*) e nitrificazione (*AMO*A).

### 3.2 Materiali e metodi

I substrati utilizzati per l'allestimento della sperimentazione sono un suolo inquinato da attività industriale (S) e relativi fanghi di lavaggio derivati dal soil washing (F). Entrambi i substrati utilizzati sono stati prelevati dal sito siderurgico dismesso ex ILVA situato nella piana di Bagnoli-Fuorigrotta (latitudine 40 ° 48.570'N, longitudine 14 ° 10.557'E, 2-10 m slm), parte del sistema vulcanico quaternario attivo dei Campi Flegrei. Dal 1910 il centro siderurgico ILVA produceva acciaio per coils laminati a caldo mediante un ciclo integrale, definitivamente cessato nel 1991. Con la Legge 23 dicembre 2000, n. 388 (Legge finanziaria 2001) l'area è stata ricompresa tra i siti ad alto rischio ambientale per i quali rivestivano carattere di urgenza i necessari interventi di bonifica e, conseguentemente, veniva istituito il sito di interesse nazionale di Bagnoli-Coroglio (“**SIN Bagnoli-Coroglio**”). Nel 2003, nel sito è iniziato un progetto di bonifica basato principalmente su tecniche di scavo e di lavaggio per ridurre le concentrazioni delle sostanze inquinanti nel suolo, nel sottosuolo, nelle acque sotterranee a valori di concentrazione limite accettabili stabiliti per la destinazione d'uso prevista dagli strumenti urbanistici. L'esame delle stratigrafie dei sondaggi

superficiali eseguiti nella prima fase di monitoraggio dell'area, hanno indicato la presenza di una coltre di riporto ricca in MPT e IPA costituita principalmente da residui di lavorazione prodotti all'interno dell'area industriale, in particolare loppe d'altoforno e scorie di fusione, frammisti a terreni di origine vulcanica (ceneri e tufi) e materiale grossolano vario di origine antropica (calcestruzzo, laterizi) sovrastante i terreni di origine piroclastica (suolo originario). Le loppe, un sottoprodotto della produzione della ghisa, derivano dalla fusione del calcare con le ceneri presenti nel coke e con le ganghe silico-aluminose che rimangono dopo la riduzione e la separazione del Fe dalla massa. Le scorie di acciaierie sono un sottoprodotto della produzione dell'acciaio e risultano dalla ossidazione delle impurezze e dei composti generati dagli additivi inerti nella carica dei forni. Le stratificazioni di materie prime e di scorie dell'attività siderurgica, la natura particolare dei materiali di origine industriale e le conseguenti proprietà e caratteristiche dei profili, scarsamente differenziati pedologicamente, ha suggerito per la classificazione di tali suoli, la creazione nell'ordine degli Entisuoli (secondo la classificazione della Soil Taxonomy) di un sottogruppo ad hoc, il "foundric xeronthents" (Buondonno et al, 1998).

L'esperimento di campo è stato condotto da maggio 2011 a febbraio 2013 nel Parco Gussone di Portici (NA), presso le strutture del Dipartimento di Agraria dell'Università di Napoli Federico II (Portici, latitudine 40 ° 49'N, longitudine 14 ° 21'E). Le principali caratteristiche fisico-chimiche dei substrati utilizzati nella sperimentazione sono riportate in Tabella 3.1. La tessitura è sabbiosa in S, prevalentemente argillosa in F. Entrambi i substrati hanno un pH alcalino, un basso contenuto di sostanza organica e livelli di As, Be, Pb e Zn al di sopra delle Concentrazioni Soglia di Contaminazione (CSC) stabilite dal Dlgs.152 del 2006 per Siti ad uso Verde pubblico, privato e residenziale, (As: 20, Be: 2, Pb: 100, Zn: 150 mg kg<sup>-1</sup>). Le concentrazioni dei metalli sono superiori in F rispetto a S. Il livello di vanadio è superiore alle CSC (V: 90 mg kg<sup>-1</sup>), ma solo in S. Le unità sperimentali sono costituite da lisimetri di 0,70 m<sup>3</sup> (Ø = 1.00 m, h = 0.77), ognuno riempito con 840 kg di substrato nei quali sono stati trapiantati rizomi di Canna comune (*A. donax* L.). I rizomi sono stati raccolti da un impianto di 10 anni situato a Bellizzi (Italia, latitudine 40° 37'N, longitudine 14° 58'E) e tagliati in modo da ottenere una dimensione omogenea con tre gemme attive. Le talee sono state trapiantate (1 per vaso) nel maggio 2011 e le unità sperimentali sono state spaziate per simulare una distanza di 1.00 m tra le piante.

**Tabella 3.1** Principali caratteristiche fisico-chimiche e relativi livelli di metalli pesanti del suolo industriale (S) e fanghi (F) comparati con il suolo agricolo non contaminato utilizzato per il controllo.

Parametri	Unità	S (suolo)	F (fanghi)	Controllo
Sabbia	%	65	30	45
Limo	“	33	62	24
Argilla	“	2	8	31
pH		8.7	8.6	7.2
Carbonati	%	6.5	5.7	-
N Org	g kg <sup>-1</sup>	0.8	1.1	0.9
C Org	“	8.9	12.2	7.1
C:N		11.1	11.1	7.9
Fe	%	6.26±0.09	4.96±0.06	3.2±0.08
Mn	mg kg <sup>-1</sup>	2689±107	1822±49.0	412±54
As	“	<b>39.5±0.99</b>	<b>44.2±0.48</b>	<b>26.3±0.61</b>
Ba	“	810±15.8	652±7.71	521±0.10
Be	“	<b>7.80±0.31</b>	<b>9.30±0.49</b>	<b>12.0±0.52</b>
Cd	“	0.83±0.05	1.97±0.07	0.68±0.09
Co	“	14.4±0.31	10.7±0.15	18.1±0.25
Cr	“	106±6.51	27.8±0.75	85±0.32
Cu	“	57.0±1.27	63.0±1.23	74.6±7.05
Mo	“	3.38±0.14	3.93±0.15	3.00±0.10
Ni	“	62.1±5.19	18.7±0.32	48.0±0.54
Pb	“	<b>214±46.7</b>	<b>270±4.98</b>	43.0±2.20
Sn	“	10.6±0.97	12.9±0.24	6.33±0.63
Sb	“	8.25±2.47	10±0.25	7.05±0.56
Sr	“	488±4.72	395±9.26	350±3.20
V	“	<b>120±2.64</b>	75.5±1.18	80±1.11
Zn	“	<b>334±19.4</b>	<b>1139±19.2</b>	75±9.21

L'esperimento si è svolto in aria ambiente dove è stato adottato uno schema sperimentale completamente randomizzato con tre ripetizioni per confrontare i seguenti trattamenti: *i*) 2 substrati: suolo industriale (S) e relativi fanghi di lavaggio (F) e *ii*) 2 livelli di fertilizzazione con acidi umici: fertilizzato (H) e non fertilizzato (NOH). Un comune suolo agricolo non inquinato è stato adoperato come controllo senza aggiungere fertilizzanti durante la coltivazione (Tabella 3.1). Successivamente al trapianto dei rizomi, le unità sperimentali sono state fertilizzate con l'aggiunta di 0,5 g kg<sup>-1</sup> di un ammendante contenente acidi umici estratti in soluzione alcalina (KOH) da Leonardite (FERTENIA®, Bellizzi, Italia) (SO 87% s.s; N 0.75% s.s; C/N 78; CE 0.16 mS cm<sup>-1</sup> 18 ° C; pH 9.4). Le principali caratteristiche degli acidi umici utilizzati sono riportate in Tabella 3.2. Le quantità di soluzione da somministrare sono state calcolate in riferimento ad uno strato di suolo di 40 cm con densità apparente di 1.2-1.3 kg dm<sup>-3</sup>. Nel periodo primaverile-estivo delle due annate sperimentali la riserva idrica è stata assicurata da irrigazioni manuali settimanali con volumi che

variavano da 10 a 15 litri per vaso a seconda dell'andamento meteorologico. Non è stato effettuato nessun trattamento chimico per il contenimento dei fitopatogeni, mentre si è provveduto manualmente alla rimozione delle infestanti.

**Tabella 3.2** Caratteristiche dell'ammendante utilizzato nella sperimentazione.

<b>Sostanza organica sul tal quale (%)</b>	15.5
<b>Sostanza organica (% s.s)</b>	87
<b>Sostanza organica umificata (% della s.o totale)</b>	96
<b>Sostanza organica umificata (% della s.o totale)</b>	0.75
<b>C/N</b>	78
<b>Densità (Kg dm<sup>-3</sup>)</b>	1.1
<b>Conducibilità elettrica (dS m<sup>-1</sup> 18°C)</b>	0.16
<b>pH</b>	9.4

### 3.3 Rilievi e misure

#### 3.3.1 Suolo: analisi pedologiche

I substrati Suolo (S) e Fanghi (F) sono stati caratterizzati ad inizio esperimento e alla fine di ogni stagione di crescita. Il prelievo dei campioni è stato effettuato a 50 cm di distanza dal rizoma nello strato superficiale 0-30 cm di ogni vaso (bulk-soil) utilizzando una trivella manuale, mentre il suolo rizosferico (rhizo-soil) è stato prelevato per scuotimento dalle radici e dalla superficie del rizoma. Dopo il prelievo, i campioni di suolo sono stati trasportati in laboratorio in sacchetti di plastica e seccati all'aria fino a raggiungimento del peso costante; essi sono stati poi setacciati con setaccio con maglie di 2 mm per separare la terra fine dallo scheletro e sottoposti alle seguenti determinazioni analitiche: pH (rapporto suolo:acqua 1:2.5); contenuto di carbonio organico (metodo Walkley e Black); contenuto di azoto totale (metodo Kjeldahl); contenuto totale di carbonato per calcimetria volumetrica (metodo calcimetro Dietrich-Frühling, Loeppert e Suarez, 1996).

#### 3.3.2 Elementi totali e biodisponibili (In collaborazione con la sezione di chimica agraria, prof.ssa P.Adamo)

Per valutare la biodisponibilità di PTE in suoli e fanghi si è scelto di operare due estrazioni singole in modo da avere una stima delle frazioni biodisponibile e potenzialmente biodisponibile nell'orizzonte di suolo in cui avviene il radicamento delle piante. Gli estraenti selezionati sono stati i seguenti:

Frazione prontamente biodisponibile: estrazione con ammonio nitrato (ISO/DIS 19730). 20 g di terreno sono stati aggiunti 50 ml di una soluzione di NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 1M e posti in agitazione per 2 ore. I

campioni sono poi centrifugati, filtrati, con filtri di carta Whatman al fine di trattenere le eventuali impurità presenti diluiti 10 volte con acqua ultrapura e analizzati.

Frazione potenzialmente biodisponibile: estrazione con EDTA (UNI EN 12457). L'estrazione avviene agitando il campione di suolo con una soluzione di ammonio EDTA 0.05 M in rapporto 1:10 (peso/volume). Un'aliquota di 3 g di campione è stata pesata in un tubo da centrifuga da 50 mL; successivamente sono stati aggiunti 30 mL di soluzione estraente di EDTA 0.05 M. Il tubo è stato agitato prima a mano per alcuni secondi e poi agitato con agitatore meccanico per 1 ora. Alla fine dell'agitazione la sospensione è stata centrifugata (3500 rpm, 10 min) e filtrata con filtri Whatman. La concentrazione di PTE nelle soluzioni è stata determinata mediante spettrometria in assorbimento atomico (modello Perkin Elmer ICP-AES Optima 7300DV). Le analisi hanno portato alla determinazione delle concentrazioni dei seguenti elementi: As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Tl, V, Zn.

### *3.3.3 Quantificazione dei geni funzionali batterici (In collaborazione con la sezione di microbiologia, prof.ssa O.Pepe)*

Il DNA microbico totale è stato estratto dai campioni bulk e rhizo.soil di ogni trattamento raccolti al termine delle due stagioni di crescita utilizzando il kit FastDNA Spin per il suolo (MP Biomedicals, Illkirch Cedex, Francia) seguendo le indicazioni del produttore. Su tutti i campioni di DNA estratto ( 50 ng) sono state effettuate le amplificazioni qPCR utilizzando un sistema Chrom4 Termociclature (Bio-Rad, Milano, Italia) per quantificare i seguenti geni: nifH (nifH-F, 5'-AAAGGYGGWATCGGYAARTCCACCAC-3'; nifH-R, 5'-TTGTTSGCSGCRTACATSGCCATCAT-3') (Rösch et al, 2002).; AmoA (AmoA-1F, 5'-GGGGTTTCTACTGGTGGT-3'; AmoA-2R, 5'-CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC-3') (Rotthauwe et al, 1997). Per calcolare l'abbondanza di geni funzionali batterici valutati, le curve standard sono state generate amplificando i geni bersaglio nifH e AMOA con due tipi di ceppi batterici rispettivamente: Sinorhizobium meliloti 1.021 e Nitrosomonas europaea,. In sintesi, le amplificazioni sono state purificate utilizzando un kit di estrazione gel QIAquick (Qiagen S.p.A., Milano, Italia) e clonati mediante l'utilizzo del kit TOPO-TA Cloning (Invitrogen, Milano, Italia) e incorporati in batteri resi competenti (Escherichia coli) in grado di incorporare il DNA estraneo. Il plasmide contenente una sola copia del gene bersaglio è stato purificato con QIAprep Spin Kit Miniprep (Qiagen S.p.A), quantificato utilizzando il QuantiFluor™ (Promega, Milano, Italia) e il numero di copie per micro-litro di ciascun gene clonato è stato calcolato utilizzando la seguente formula:  $(A \times B) / (C \times D)$  dove A è la concentrazione del DNA stampo (ng ml<sup>-1</sup>), B è il numero di Avogadro ( $6.023 \times 10^{23}$  copie mol<sup>-1</sup>), C è il peso molecolare medio di una coppia di basi del DNA ( $6.6 \times 10^{11}$  ng mol<sup>-1</sup>), e D è la dimensione DNA (bp). Infine il DNA plasmidico purificato è stato poi quantificato e diluito (1:10)

in modo opportuno e le copie di ciascun campione sono state adoperate per sviluppare una curva standard per ciascun gene target (nifH e AMOA).

#### 3.3.4 Piante

L'intera biomassa epigea di *A. donax* è stata raccolta alla fine di ogni stagione di crescita, mentre nel secondo anno sono stati raccolti e pesati anche i rizomi. I campioni di piante sono stati trasportati in laboratorio in sacchetti di carta aperti, sono stati quindi separati nelle diverse frazioni: radici, culmi e foglie. Le parti delle piante raccolte, sono state lavate con acqua corrente e sciacquate con acqua distillata e quindi essiccate in stufa a 60° C fino a raggiungimento del peso costante. Le radici sono state lavate accuratamente con acqua di rubinetto, spazzolate in modo da eliminare le particelle di suolo che rimanevano adese alle pareti del rizoma e risciacquate con acqua distillata. Un'aliquota di ciascun campione è stata macinata con un mulino a lame di acciaio inossidabile, pesata (0,1 g) e sottoposta a digestione acida in contenitori di teflon chiusi con l'aggiunta di HNO<sub>3</sub> e di perossido di idrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). I contenitori chiusi sono stati posti in microonde e disgregati utilizzando lo strumento (MARS5-CEM). Le soluzioni così ottenute sono state filtrate con filtro di carta Whatman per trattenere le impurità, e la concentrazione di tutti gli elementi minerali contenuti nella soluzione è stata determinata mediante spettrometria di massa accoppiato induttivamente (Agilent ICP-MS, 7500ce). Insieme ai campioni sono state analizzate anche repliche di materiali standard di vegetali BCR-CRM 281 (foglie di loietto); NIST-SRM 1573° (foglie di pomodoro); NIST-SRM 1547 (foglie di pesco) e una serie di tre bianchi per ciascuna serie di analisi o cambio di reagenti. I valori relativi al materiale certificato CRM e NIRST nei campioni analizzati mediante ICP-OES sono risultati buoni, con una precisione per la maggior parte degli elementi analizzati compresi entro il ± 15% . Infine, sui campioni di foglie, culmi e rizomi sono state anche determinati il contenuto di carbonio e azoto totale.

#### 3.3.5 Analisi statistica

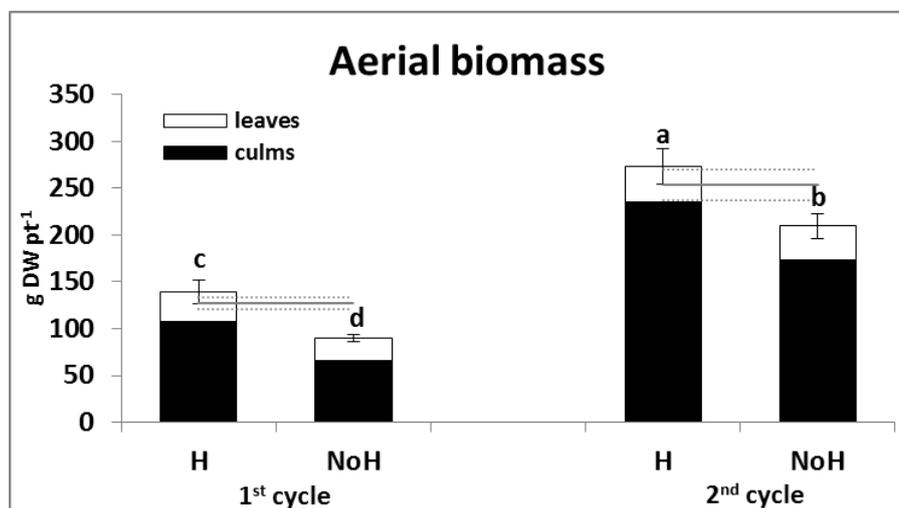
I dati sono stati elaborati statisticamente utilizzando il software SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Questi sono stati analizzati tramite ANOVA utilizzando un disegno completamente randomizzato a due fattori (substrato e fertilizzazione) considerando gli anni di crescita come misure ripetute. Tutte le medie sono state separate utilizzando il test delle DMS di Sidak per un p-value ≤ 0.05. La normalità di distribuzione e omogeneità della varianza sono stati verificati utilizzando rispettivamente il test di Kolmogorov-Smirnov e Levene. Il peso secco delle foglie, dei culmi e del rizoma è stato calcolato moltiplicando il peso fresco per la percentuale di sostanza secca di ogni tessuto. Il peso medio dei culmi (g culmo<sup>-1</sup>) è stato calcolato come rapporto tra il peso secco dei culmi per il numero di culmi; l'harvest index (HI) è stato calcolato come rapporto tra il peso dei culmi e il peso totale della biomassa epigea della pianta. I dati sono presentati come valori medi

delle tre repliche con errori standard relativi. Tutti i dati relativi ai substrati inquinati sono stati confrontati con il controllo non contaminato (Tabella 1).

### 3.4. Risultati

#### 3.4.1. Produzione di biomassa ipogea ed epigea

In entrambi i cicli colturali, F e S hanno mostrato lo stesso livello produttivo in assenza di fertilizzazione con una produzione di biomassa aerea pari a 89 e 199 g pianta<sup>-1</sup> rispettivamente nel 1° e 2° ciclo di crescita (Fig. 3.1). La biomassa aerea su substrati contaminati è stata inferiore rispetto al controllo (-16%, in media dei due cicli colturali), ma la fertilizzazione con acidi umici ha incrementato in maniera significativa ( $p < 0,01$ ) il peso secco della biomassa aerea, determinando un aumento del 55% il primo anno e del 30% il secondo, con una produzione paragonabile a quella del controllo.

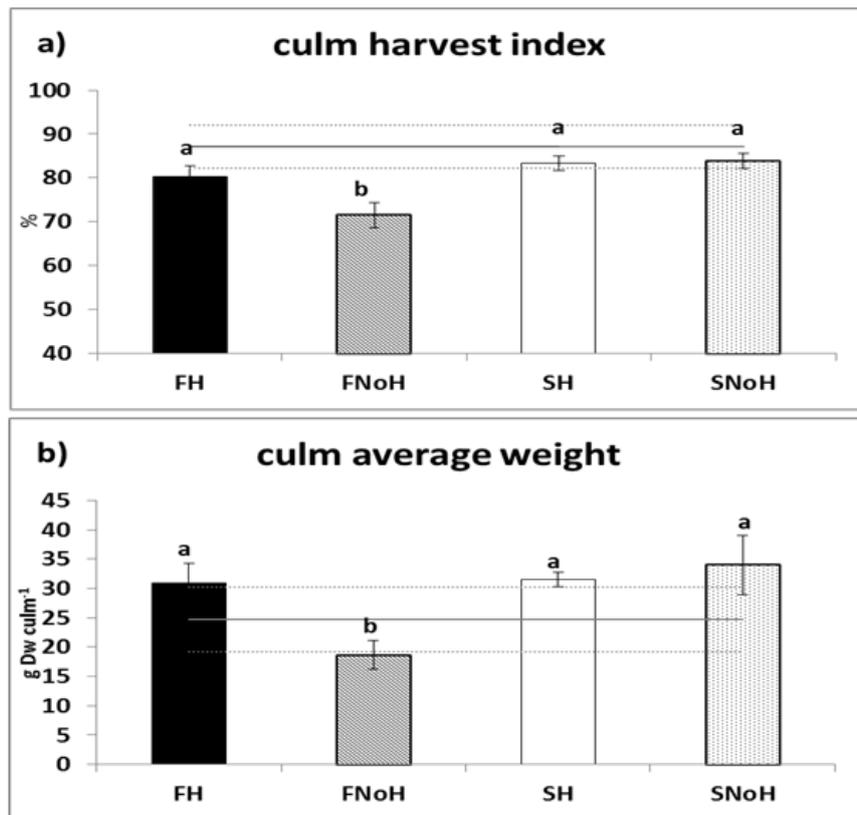


**Figura 3.1.** Effetto degli acidi umici sulla produzione di biomassa aerea nel 1° e 2° ciclo di crescita. Le linee continue e tratteggiate sono i valori medi e l'intervallo di confidenza per il controllo non inquinato. H è il trattamento fertilizzato con acidi umici; NoH è un trattamento non fertilizzato. I valori medi con la stessa lettera non differiscono in base al test LSD ( $p < 0,05$ ). Le barre indicano  $\pm 1$  errore standard ( $n = 6$ ).

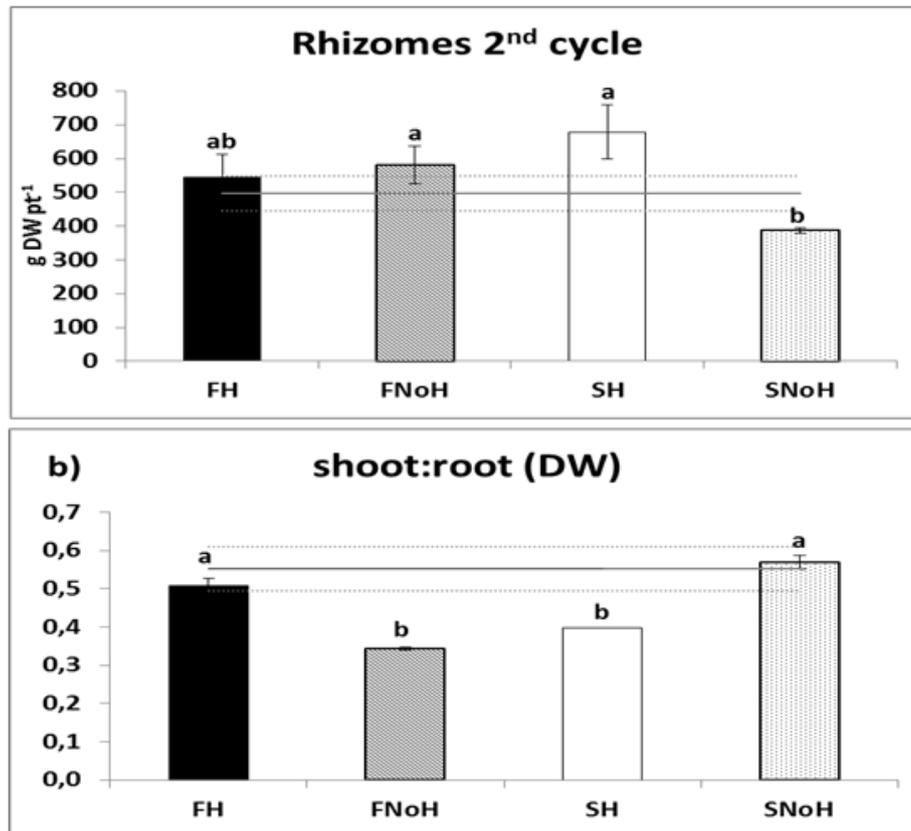
L'indice di raccolta dei culmi (harvest index –HI) dei culmi (Fig. 3.2a) ha raggiunto su substrati inquinati valori paragonabili al controllo non inquinato, ad eccezione del trattamento FNoH. L'harvest index è risultato significativamente inferiore ( $p < 0,01$ ) in F (72%) rispetto a S (84%), ma ha fatto registrare incrementi dell'80% nelle tesi fertilizzate con acidi umici, mentre nessun effetto significativo della fertilizzazione è stato registrato per S (media 84%). Un andamento simile è stato registrato nel peso medio dei culmi (Fig. 3.2b) con un valore di 33 g p.s. culmo<sup>-1</sup> per S indipendentemente da H e un aumento significativo in FH (da 19 a 31 g p.s. culmo<sup>-1</sup>).

La fertilizzazione con acidi umici ha esercitato un effetto significativo sull'indice di raccolta dei culmi (Fig. 3.3a) e sul rapporto biomassa aerea: rizomi (Fig. 3.3b), con una risposta diversa delle

piante nei substrati S e F. Il peso secco dei rizomi è stato superiore in F (581 g p.s. pt<sup>-1</sup>) rispetto a S (381 g p.s. pt<sup>-1</sup>) e gli acidi umici hanno influenzato solo le piante coltivate su S con un aumento del 75%.

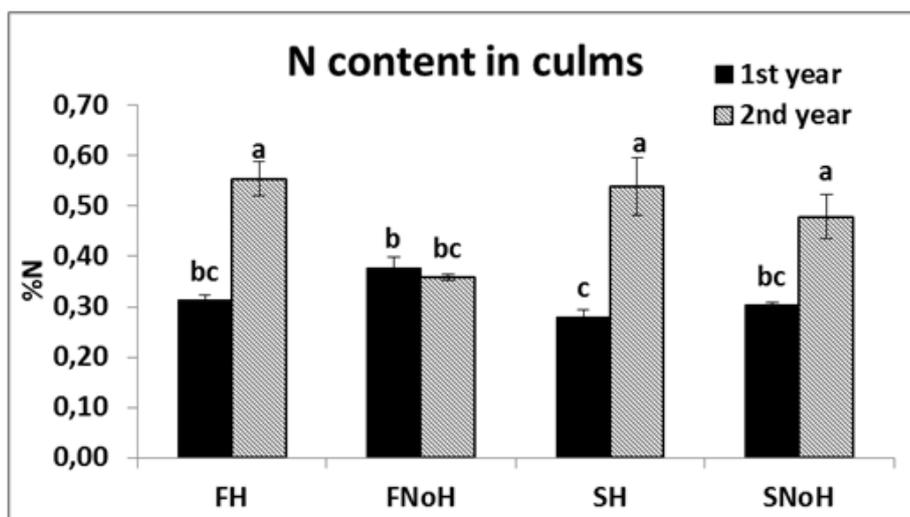


**Figura 3.2.** Effetto degli acidi umici sull'harvest index (a) e sul peso medio di culmi (b) di *A. donax* coltivate su suolo e fanghi. Le linee continue e tratteggiate sono rispettivamente i valori medi e l'intervallo di confidenza per il controllo non inquinato. H è il trattamento fertilizzato con acidi umici; NoH è il trattamento non fertilizzato; F è il substrato fanghi; S è il suolo. I valori medi con la stessa lettera non differiscono in base al test LSD ( $p < 0.05$ ). Le Barre indicano  $\pm$  gli errori standard ( $n = 6$ ).



**Figure 3.3.** Effetto degli acidi umici sul peso a secco (a) e sul rapporto parte aerea:radici (b) di *A. donax* sui substrati S e F. Le linee continue e tratteggiate sono i valori medi e l'intervallo di confidenza per il controllo non inquinato, rispettivamente. H è il trattamento con acidi umici; NoH è il trattamento non concimato; F è il substrato fanghi; S è il suolo tal quale. I valori medi con la stessa lettera non differiscono in base al test LSD ( $p < 0.05$ ). Barre indicano  $\pm$  errori standard ( $n = 3$ ).

I valori sono stati sempre uguali al controllo non inquinato, con l'eccezione di SNoH che ha mostrato valori inferiori (-22%). Per quanto riguarda il rapporto tra biomassa epigea e biomassa ipogea (S/R) la fertilizzazione con acidi umici ha mostrato un andamento opposto in S ed F, con valori decrescenti in S (da 0.51 a 0.31) e crescenti in F (da 0.34 a 0.51). Inoltre, la percentuale di sostanza secca ha seguito lo stesso andamento del controllo non contaminato in FH e SNoH, mentre la traslocazione nei rizomi è risultata più elevata (minore rapporto shoot: root) in FNoH e SH. È risultata significativa l'interazione anno d'impianto x effetto di fertilizzazione ( $p = 0.04$ ) per il contenuto N nei culmi (Fig. 3.4). Alla fine del 1° ciclo di crescita, il contenuto N è risultato uguale in entrambi i trattamenti H e NOH con un valore medio di 0.32 g N: 100 g. Un aumento medio di 0.22 g N: 100 g si è verificato nel 2° anno per S, indipendentemente dalla fertilizzazione con acidi umici, mentre un aumento della stessa entità è stata registrato in F solo con l'apporto di acidi umici. In assenza di fertilizzazione, i valori registrati per F nel 2° anno non differiscono da quelli del 1° anno.



**Figura 3.4.** Effetti degli acidi umici sul contenuto di N nel 1° e nel 2° ciclo di crescita. Le linee continue e tratteggiate rispettivamente sono i valori medi e l'intervallo di confidenza per il controllo non inquinato. H rappresenta il trattamento fertilizzato con acidi umici; NoH è il trattamento non fertilizzato. F è il fango; S è suolo tal quale. I valori medi con la stessa lettera non differiscono in base al test LSD ( $p < 0.05$ ). Le barre indicano  $\pm$  gli errori standard ( $n = 3$ ).

### 3.4.2 Contenuto di metalli nei tessuti vegetali

La concentrazione di piombo e zinco nei tessuti vegetali di *A. donax* (Tab. 3.2) è diminuita in modo significativo nel 2° anno di crescita, mentre è stato registrato un andamento opposto nell'asportazione dei metalli nella parte aerea (Tab. 3.2), con un aumento medio dell'80% per il Piombo (da 0.054 a 0.097 mg pianta<sup>-1</sup>) e del 55% per lo Zinco (da 8.4 a 13.0 mg pianta<sup>-1</sup>). Questo comportamento è principalmente legato alla maggiore biomassa vegetale prodotta dalla pianta durante il secondo anno di crescita. Un contenuto maggiore di metalli nei tessuti epigei è stato osservato in F, con una differenza marcata soprattutto per lo Zinco, in relazione al maggior contenuto totale iniziale di Zinco nel substrato F rispetto a S. Nessun effetto significativo è stato registrato con la fertilizzazione, con l'eccezione dell'asportazione di Zinco dai culmi che è aumentata da 6.5 a 9.4 mg pianta<sup>-1</sup> con l'apporto di acidi umici (Tab. 3.3). Nelle foglie, il contenuto di Pb è di un ordine di grandezza superiore rispetto al controllo (0.39 vs. 0.03 mg kg<sup>-1</sup>), mentre nei culmi le concentrazioni registrate sono state simili (0.68 vs. 0.59 mg kg<sup>-1</sup>). Il contenuto di Zinco è stato tre volte superiore rispetto al controllo nei culmi (49 vs 9 mg kg<sup>-1</sup>) e cinque volte superiore nelle foglie (77 vs. 16 mg kg<sup>-1</sup>).

**Tabella 3.3.** Effetti medi (media ed errore standard) del ciclo di coltivazione, del substrato e degli acidi umici su Pb e Zn contenuti nei tessuti vegetali. H rappresenta la fertilizzazione con acidi umici ; NoH è il trattamento non fertilizzato.

	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )				Zn (mg kg <sup>-1</sup> )			
	Culmi	Foglie	Shoot	Rizoma	Culmi	Foglie	Shoot	Rizomi
<b>1° anno</b>	0.42±0.04	0.68±0.02	0.48±0.04	----	71.4±10.96	92.5±10.80	76.6±11.24	----
<b>2° anno</b>	0.36±0.04	0.67±0.02	0.41±0.03	9.2±1.67	50.1±4.62	74.9±8.00	54.2±5.07	86.6±12.29
<b>F</b>	0.46±0.04	0.71±0.02	0.52±0.03	13.0±2.10	82.5±8.16	108.8±8.52	88.6±8.30	121.2±14.46
<b>S</b>	0.32±0.03	0.65±0.02	0.38±0.03	5.3±1.38	39.0±3.11	58.6±3.39	42.2±2.84	52.0±4.28
<b>H</b>	0.35±0.02	0.65±0.02	0.41±0.02	8.5±2.90	60.8±8.56	79.6±9.83	64.5±8.75	88.9±20.73
<b>NoH</b>	0.43±0.05	0.71±0.02	0.49±0.04	9.8±1.92	60.7±9.43	87.8±9.92	66.3±9.90	84.3±15.12
<i>Significatività</i>								
<b>Anno</b>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>		---	**	<i>n.s.</i>		---
<b>Substrato</b>	*	<i>n.s.</i>	*	*	**	**	**	*
<b>Fertilizzazine</b>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	*	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	<i>n.s.</i>	**	<i>n.s.</i>

\* e \*\* indicano differenze significative tra i valori p<0.05 e 0.01.

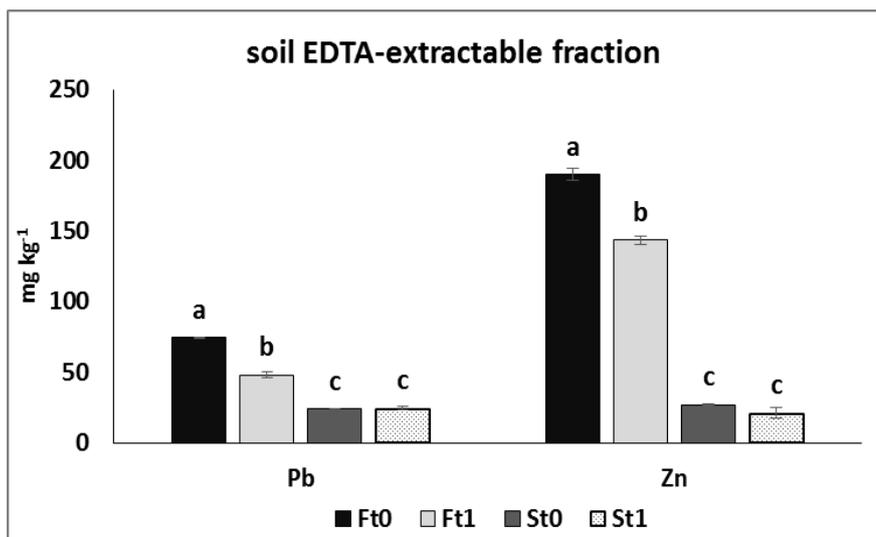
La concentrazione media di Piombo e Zinco nei rizomi è risultata significativa e più elevata in F, mentre i valori di Zinco sono più elevati e significativi rispetto al controllo sia in F (121 vs 25 mg kg<sup>-1</sup>) che in S (55 vs 25 mg kg<sup>-1</sup>). Diversamente, il contenuto di Piombo è risultato uguale al controllo in S (5 mg kg<sup>-1</sup>) ma presenta valori maggiori in F (13 vs 5 mg kg<sup>-1</sup>).

### 3.4.3 Proprietà chimiche e microbiologiche del suolo

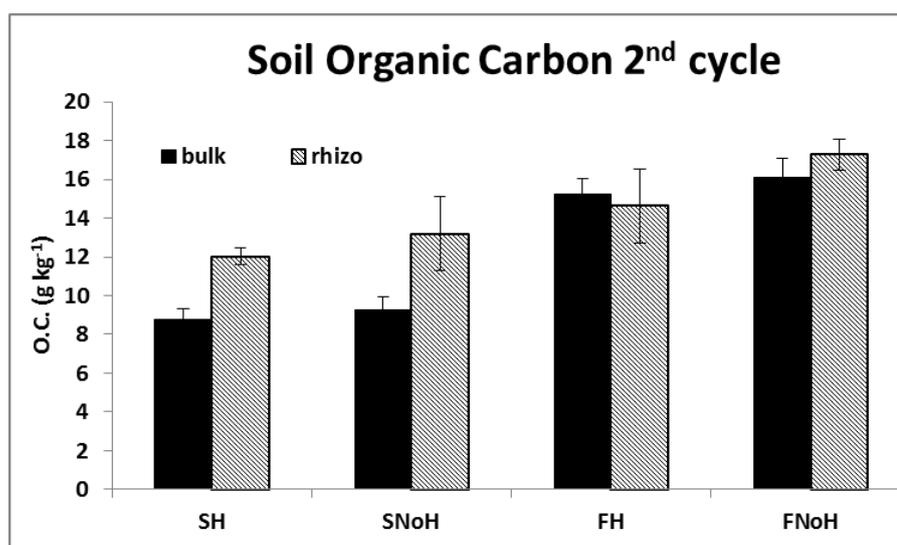
Le quantità biodisponibili di Piombo e Zinco, registrate all'inizio dell'esperimento e alla fine del secondo ciclo di crescita sono riportate in Figura 3.5. La biodisponibilità totale di entrambi i metalli è risultata maggiore e statisticamente significativa in F rispetto a S. Diversamente, la frazione solubile ha fatto registrare valori medi pari a 0.14 mg kg<sup>-1</sup>, sia per F che per S. Le quantità di Zinco riscontrate sono risultate sette volte più elevate in F rispetto a S (144 vs. 21 mg kg<sup>-1</sup> rispettivamente per F e S), e nessuna interazione significativa è stata riscontrata tra il substrato e gli acidi umici.

In media, la frazione metallica estratta con EDTA dal substrato F è diminuita alla fine del 2° ciclo colturale con una variazione pari a -26.4 mg kg<sup>-1</sup> e -46.4 mg kg<sup>-1</sup> rispettivamente per Piombo e Zinco. Nessuna variazione significativa è stata registrata per S.

Il contenuto di carbonio organico (CO, Figura 3.6) di entrambi i substrati (S e F) non ha mostrato una variazione significativa alla fine del 2° ciclo colturale, e nessun effetto è stato rilevato per la fertilizzazione con acidi umici. In S, il CO del suolo rhizosferico risulta superiore al bulk (9.0 vs 12.6 g CO kg<sup>-1</sup> rispettivamente bulk e rhizo soil), mentre nessuna differenza è stata registrata in F, con un contenuto medio di CO pari a 15.8 g kg<sup>-1</sup>.



**Figura 3.5.** Concentrazione di Pb e Zn (estratti in EDTA) di suolo e fanghi. t0 è il campionamento all'inizio dell'esperimento; t1 è il campionamento alla fine del 2° ciclo colturale; F è il fango; S è il suolo. I valori medi con la stessa lettera non differiscono in base al test LSD ( $p < 0.05$ ). Le barre indicano  $\pm$  errori standard ( $n = 6$ ).

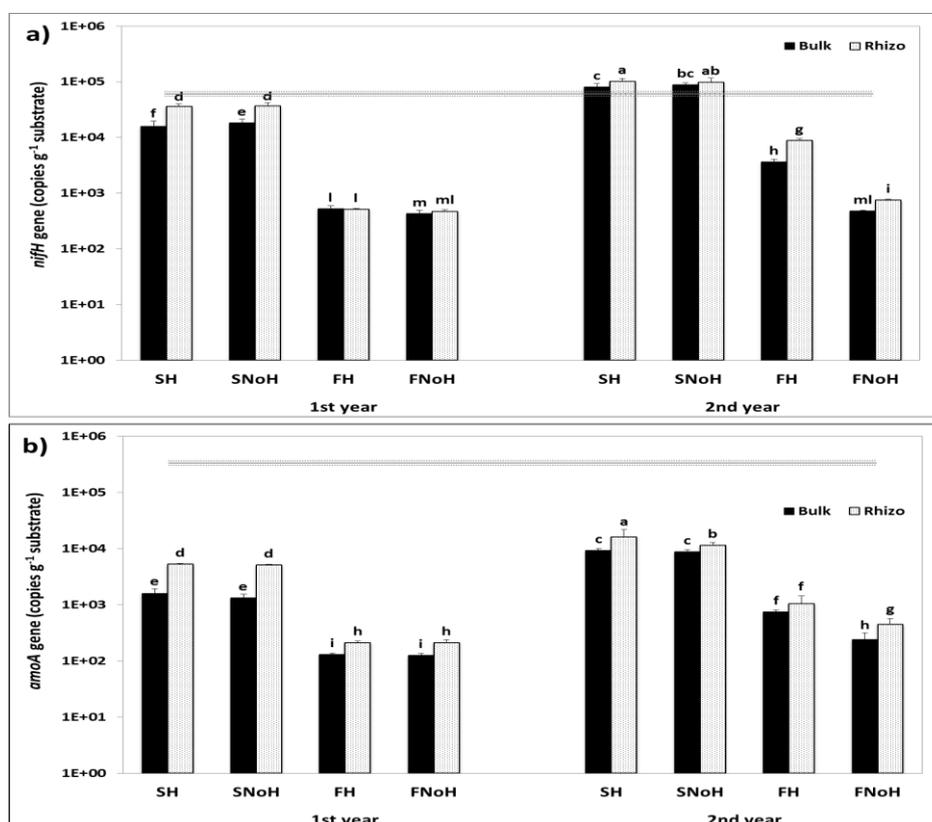


**Figura 3.6.** Effetto degli'acidi umici sul contenuto di C organico del bulk e rhizo soil. H è il trattamento fertilizzato; NoH è il trattamento non fertilizzato; F è il fango; S è il suolo. I valori medi con la stessa lettera non differiscono in base al test LSD ( $p < 0.05$ ). Le barre indicano  $\pm$  errori standard ( $n = 3$ ).

L'abbondanza di specifici geni funzionali codificanti enzimi azoto fissatori e nitrificanti è stato stimato mediante qPCR alla fine di ogni ciclo di crescita per valutare l'influenza della crescita delle piante e l'effetto della fertilizzazione con acidi umici sulla microflora microbica in rapporto al ciclo dell'N sia in bulk che nello strato rizosferico (rhizo soil) dei due substrati inquinati utilizzati nell'esperimento. Dal confronto dei suoli, è stata registrata una differenza significativa nelle dimensioni della popolazione nitrificante, con l'abbondanza di geni nifH e AMOA statisticamente

significativa in S rispetto a F ( $p < 0.01$ ) indipendentemente dal ciclo di crescita e dal trattamento del biostimolante (Fig. 3.7).

L'abbondanza del gene *nifH* risente di un'interazione tra i due tipi di substrato, anni di campionamento e tipo di trattamento. In effetti, anche se alla fine del 1° anno di crescita nel substrato S l'abbondanza del gene *nifH* è risultata inferiore (da  $1.56 \times 10^4$  a  $3.70 \times 10^4$  copie  $g^{-1}$  substrato) rispetto al controllo non inquinato ( $6.2 \times 10^4$  copie  $g^{-1}$  suolo), un aumento marcato è stato osservato alla fine del 2° anno di crescita (da  $7.97 \times 10^4$  a  $1.01 \times 10^5$  copie  $g^{-1}$  substrato). È interessante notare, che tale aumento è stato registrato sia nel bulk (circa 4 volte superiore rispetto al 1° anno) che nel rhizo (circa 2 volte superiore rispetto al 1° anno) indipendentemente dai trattamenti effettuati (Fig. 3.7a).



**Figura 3.7.** Quantificazione del gene *nifH* (a) e del gene AMOA (b) alla fine del 1° e 2° ciclo di crescita in bulk e Rhizo soil di suolo e fanghi. Le linee continue e tratteggiate sono i valori medi e l'intervallo di confidenza per il controllo non inquinato. H è l'acido umico trattamento fertilizzato; NoH è il trattamento non fertilizzato. F è il fango; S è il suolo. Bulk è lo strato superiore dei substrati; rhizo è lo strato rizosferico dei substrati. I valori medi con la stessa lettera non differiscono in base al test LSD ( $p < 0,01$ ). Le barre indicano  $\pm$  errori standard ( $n = 3$ ).

Nei Fanghi il numero di copie del gene *nifH* è risultato inferiore e statisticamente non significativo rispetto a quello del controllo non contaminato in entrambi gli anni. Tuttavia, al termine del secondo ciclo di coltivazione il trattamento con acidi umici in F ha comportato un aumento della abbondanza del gene *nifH* da  $5.21 \times 10^2$  a  $3.61 \times 10^3$  copie  $g^{-1}$  nel suolo bulk e da  $5.11 \times 10^2$  a  $8.83 \times 10^3$  copie

$\text{g}^{-1}$  nel suolo rhizo (Fig. 3.7a). Al contrario, piccole differenze tra i due anni sono stati rilevati nella rizosfera di *A. donax* nel trattamento FNoH; mentre nella maggior parte, l'abbondanza del gene *nifH* era stabile nei due anni sperimentali (Fig. 3.7a).

La presenza di piante e/o di acidi umici esercita effetti analoghi sulla popolazione degli ammonio ossidanti nel suolo e nei fanghi (Fig. 3.7b). Infatti, anche se in entrambi i substrati contaminati l'abbondanza del gene AMOA è risultata sempre notevolmente inferiore (da  $1.25 \times 10^2$  a  $1.61 \times 10^4$  copie  $\text{g}^{-1}$  substrato) rispetto al controllo non contaminato ( $5.45 \times 10^5$  copie  $\text{g}^{-1}$  suolo), un significativo aumento degli ammonio ossidanti è stata osservata alla fine del secondo ciclo di coltivazione in ogni condizione (Fig. 3.7b). In particolare, il maggior numero di gene AMOA è stato osservato nel comparto bulk del substrato S (circa  $9 \times 10^3$  copie  $\text{g}^{-1}$  di substrato) e nel bulk e rhizo di F trattati rispettivamente con acidi umici ( $7.34 \times 10^2$  e  $1.04 \times 10^3$  copie  $\text{g}^{-1}$  di substrato), raggiungendo valori a fine impianto quattro o cinque volte superiori a quelli osservati nel 1° anno. Tuttavia, come riscontrato per il gene *nifH*, al termine del secondo ciclo coltivazione, un leggero aumento significativo degli ammonio ossidanti è stato osservato in F non trattato con acidi umici rispetto al 1° anno (Fig. 3.7b). Inoltre, nel complesso l'abbondanza dei geni *nifH* e AMOA è risultata significativamente più elevata sia nel rhizo soil che in bulk soil (Fig. 3.7).

### 3.5. Discussione

#### 3.5.1 Accrescimento di *A. donax* su substrati inquinati

I risultati dell'esperimento indicano chiaramente che la produzione di biomassa aerea di *A. donax* coltivata su substrati inquinati e fanghi è risultata inferiore rispetto al controllo non inquinato (-16% in media nei due anni). Nessuna differenza è stata registrata tra la biomassa epigea prodotta sui due substrati, anche se la significativa riduzione dell'indice di raccolto dei culmi (HI) e del peso medio dei culmi nei fanghi indica chiaramente un probabile stress delle piante coltivate su questi substrati. Questi risultati sono in accordo con quelli riportati da Barbosa et al (2015) con un decremento della produzione del 20% in *A. donax* coltivata su terreni industriali contenenti 450-900 mg di Zinco  $\text{kg}^{-1}$  e 450-900 mg Piombo  $\text{kg}^{-1}$  con una frazione biodisponibile (EDTA) compresa tra 165-357 mg  $\text{kg}^{-1}$  per Zinco e 192-515 mg  $\text{kg}^{-1}$  per Piombo. Nel nostro esperimento è stata registrata una diminuzione dell'accrescimento della biomassa epigea su entrambi i substrati inquinati, mostrando una frazione biodisponibile minore (25-48 mg  $\text{kg}^{-1}$  per Pb e 20-143 mg  $\text{kg}^{-1}$  per Zn). Ciò suggerisce che lo stress da trapianto non è solo dovuto al contenuto di metalli, ma anche ad altri aspetti legati alla fertilità fisica e biologica dei substrati.

Questo aspetto può essere evidenziato, concentrandosi sull'uptake di N e sull'abbondanza delle popolazioni microbiche coinvolte nel ciclo dell'N: il contenuto di N è raddoppiato nel secondo

anno, con l'eccezione del trattamento FNoH, così come la biomassa secca. E' noto che il contenuto di N nei tessuti vegetali può variare in base ad maggiore disponibilità di N (ad esempio fertilizzazione), e di solito tende a diminuire quando la biomassa della pianta aumenta a causa di un effetto di diluizione. In questo studio, in assenza di input di N esterni, la biomassa e il contenuto di N nei culmi è aumentato nel 2° anno, indicando una maggiore disponibilità di N nel suolo. In assenza di input di N, l'attività delle comunità microbiche del suolo coinvolte nel ciclo dell'N è la principale fonte di N e svolge un ruolo significativo nei processi di assorbimento e di lisciviazione (Canfield et al, 2010). In particolare, per aumentare il contenuto di N disponibile nel suolo, i batteri azotofissatori e nitrificanti sono le popolazioni chiave nel ciclo di trasformazioni dell' N (Zhang et al, 2006). Pertanto, l'aumento significativo e l'incremento di queste popolazioni microbiche osservati alla fine del 2° anno sperimentale potrebbero spiegare l'aumento del contenuto N nei tessuti vegetali. Inoltre, l'incremento dei geni azotofissatori (*nifH*) e nitrificanti (*Amoa*) ha anche consentito di valutare lo stato biologico dei suoli, evidenziando così le differenze tra substrati S e F. L'uso di parametri microbiologici per valutare lo stato del suolo è una pratica comune in diversi programmi di monitoraggio (Nielsen, 2002), a causa della loro sensibilità ai cambiamenti delle condizioni ambientali derivanti da attività umane, lo stress e fattori di disturbo (Chinnadurai et al, 2014; Nannipieri et al, 1990; Yakovchenko et al, 1996). In particolare, l'attività di questi gruppi funzionali microbici è essenziale per il funzionamento e la fertilità del suolo (Pepe et al, 2013; Ventorino et al, 2016) e quindi potrebbero rappresentare degli indicatori sensibili di qualità del suolo (Cardoso et al, 2013; Fiorentino et al, 2016). Pertanto, i valori più elevati di batteri azotofissatori e nitrificanti registrati in S rispetto F indicano uno stress nutrizionale inferiore per N in piante coltivate in S. Al contrario, nel substrato F l'azione di questi gruppi microbici appare fortemente limitata specialmente in assenza di trattamento con acidi umici. Questi risultati potrebbero spiegare bene segnali di stress come ad esempio un indice di raccolto più basso, peso medio e il contenuto N di culmi registrati in piante coltivate in questo substrato. Anche se non diversa da quella di controllo, la produzione di biomassa epigea è risultata più bassa in S che in F, mentre la biomassa ipogea ha seguito la tendenza opposta. Ciò indica che *A. donax* tende ad accumulare la biomasse nei rizomi, quando la fertilità del suolo è un fattore limitante per la crescita delle piante. E' ben noto che, per superare stress abiotici, colture poliannuali indirizzano gli assimilati agli organi di stoccaggio sotterranei come strategia di sopravvivenza (Chapin et al, 1990; Hutchings e John, 2004; Puijalon et al, 2000). Dai risultati ottenuti nel nostro esperimento è evidente che il maggior contenuto di Zn e Pb nei tessuti è stato registrato nelle piante cresciute su fanghi, nei quali le concentrazioni totali e biodisponibili degli elementi sono più elevate di partenza rispetto ai suoli. Nel nostro esperimento F presenta le principali condizioni limitanti per la crescita

delle piante a causa del maggiore contenuto di Pb e Zn, che rappresentano il più elevato accumulo di biomassa rizomi in F che in S (anche se i valori non si discostano dal controllo). I nostri risultati hanno dimostrato che i rizomi e le foglie sono il principale sito di accumulo di Zn mentre il Pb viene immobilizzato soprattutto nel rizoma. Questa strategia di compartimentalizzazione è dovuta al diverso ruolo svolto dai due metalli nel metabolismo vegetale. Lo zinco svolge un ruolo chiave nella attività enzimatica come la deidrogenasi, proteinasi, peptidasi, e fosfoidrolasi, e alti livelli di questo metallo sono allocati nella biomassa epigea di diverse colture coltivate in siti inquinati (Kabata e Pendias, 2001). Al contrario, il Pb non gioca alcun ruolo nel metabolismo della pianta e si accumula prevalentemente nei vacuoli della radice con una traslocazione agli organi epigei al di sotto del 3%. Inoltre, i valori di pH elevati come quelli dei substrati utilizzati nel nostro esperimento possono far precipitare il Pb sottoforma di idrossidi, fosfati, o carbonati, nonché promuovere la formazione di complessi Pb-organici che limitano la disponibilità da parte delle piante (Kabata e Pendias, 2001). Inoltre, i nostri risultati hanno evidenziato una allocazione preferenziale di Zn nei rizomi anche nei substrati a più alto contenuto di Zn. Secondo l'attuale regolamento UE (Normativa Cippato UNI EN 14961-2), le biomasse coltivate sui nostri substrati inquinati possono essere tranquillamente utilizzate per la produzione di energia così come i rizomi coltivati su substrato S. Al contrario, la biomassa coltivata su terreni altamente inquinati deve essere inviata in discarica o utilizzata come combustibile per uso industriale (es. in sostituzione del coke di petrolio).

### *3.5.2 Recuperare la fertilità chimica e biologica del suolo utilizzando l'*A.donax* in programmi di phytoremediation*

Nel corso dei due anni di sperimentazione, è stato registrato un effetto positivo di *A.donax* sulle proprietà del suolo, in particolare, è stata registrata una riduzione delle quantità estraibili in EDTA di Zinco e Piombo, dando un'utile indicazione del potenziale uso di *A.donax* in protocolli di fitostabilizzazione/fitoestrazione di suoli inquinati da attività industriali. La dinamica dei metalli biodisponibili (Pb e Zn) è probabilmente in relazione a quella dei batteri azotofissatori e nitrificanti. Infatti, l'effetto inibitorio di F (superiore S), a causa degli elevati livelli di Piombo e Zinco, può anche limitare la sopravvivenza dei batteri nel suolo (Hu et al, 2002, 2003; Keeling and Cater, 1998; You et al, 2009). Pertanto, l'aumento delle popolazioni di azotofissatori e nitrificanti registrato nel secondo anno potrebbe essere in linea con la riduzione significativa dei metalli disponibili osservati in entrambi i substrati a causa del maggiore assorbimento dei metalli da parte della pianta.

L'effetto della fitodepurazione sulla qualità del suolo può essere evidenziato dal monitoraggio del contenuto del CO<sub>2</sub>, riconosciuto come un fattore chiave per la fertilità del suolo. In effetti, la variazione di CO<sub>2</sub> nella rizosfera, rispetto al bulk, può essere direttamente correlata alla produzione di essudati radicali e all'aumento dell'attività microbica che influenzano in modo significativo il

CO disponibile nel suolo. In F sono state registrate differenze nel contenuto CO di rhizo e bulk, probabilmente a causa della limitata interazione radice-substrato e dell'attività microbica più bassa in questo substrato altamente degradato. In questo caso, un apporto diretto di CO stabilizzato, piuttosto che l'utilizzo di biostimolanti, può incrementare il contenuto di CO, oltre a promuovere l'attività delle radici, aumentando l'essudazione e l'attività microbica (Fagnano et al, 2003, 2011; Fiorentino et al 2016).

Diversamente, il contenuto di CO nel substrato S ha fatto registrare una differenza significativa tra i compartimenti bulk e rhizo soil. Questo potrebbe significare che in substrati inquinati in cui non si verificano condizioni limitanti per la crescita delle piante (nel nostro caso nessuno stress è stato registrato per la canna comune in S), la fitodepurazione può essere una strategia efficace per incrementare la fertilità del suolo, senza alcun input di C esterno. Un effetto positivo generale sull'accrescimento delle piante e sull'attività microbica del terreno è stato registrato in entrambi i substrati, con un aumento significativo dei batteri nitrificanti nel corso degli anni. Questo è un punto chiave per valutare l'efficienza di una tecnica di fitorisanamento, un aumento di batteri nitrificanti può essere correlato ad una maggiore disponibilità di N per le piante, permettendo una maggiore colonizzazione del suolo da parte delle specie vegetali. I batteri azotofissatori hanno mostrato un aumento significativo nel corso degli anni solo nel substrato S, raggiungendo livelli non diversi dal controllo non inquinato. L'incremento del gene AMOA nei nostri substrati inquinati, ha evidenziato l'effetto positivo di *A. donax* sui batteri nitrificanti ed è risultato in accordo con quanto riportato da Briones et al. (2003) e Cocking (2003). Diversamente, il gene nifH è risultato più sensibile al substrato inquinato con un incremento significativo nel rhizo-soil solo per S nel primo anno, mentre notevoli differenze tra rhizo e bulk sono stati registrati in F solo nel secondo anno. Questo risultato è in linea con i pattern di accrescimento di CO nella rizosfera, dimostrando che il contenuto di C e il ciclo dell'azoto possono essere usati per valutare l'effetto di fitodepurazione in terreni contaminati da metalli pesanti (Epelde et al, 2008, 2009).

### *3.5.3 Gli acidi umici come strumento per superare lo stress delle piante e migliorare la fertilità biologica del suolo in programmi di fitorimediazione*

La fertilizzazione con acidi umici ha incrementato la produzione di biomassa ipogea ed epigea nei substrati S, con una allocazione preferenziale nei rizomi. Questo probabilmente significa che l'utilizzo di biostimolanti in condizioni di crescita vicine a quelle ottimali, come per il substrato S, può essere uno strumento utile per aumentare la biomassa dei rizomi. Diversamente, in F gli acidi umici hanno aumentato il rapporto culmi:radici, aprendo un nuovo scenario nell'uso di biostimolanti per aumentare l'indice di raccolta dei culmi (*HI*) in terreni con condizioni di crescita fortemente limitanti. In accordo con le dinamiche microbiche, in F gli acidi umici hanno contribuito ad

aumentare il contenuto di N dei culmi nel secondo anno. Ciò significa che in substrati molto degradati l'uso di biostimolanti, così come l'ammendamento con sostanza organica, dovrebbe essere preso in considerazione per aumentare le performance delle piante attraverso una migliore interazione pianta radice (Fagnano et al, 2011; Fiorentino et al, 2013). L'applicazione di acidi umici in S e F ha provocato una risposta diversa nell'abbondanza di geni nifH e AMOA. In S nessun effetto degli acidi umici è stato registrato per i suddetti geni. Questo risultato è coerente con uno studio precedente di Ventorino et al (2010), che ha mostrato che il trattamento a lungo termine del terreno con acidi umici non ha influenzato significativamente le popolazioni batteriche di azoto fissatori e ammonio ossidanti sia nei rhizo che nei bulk soil. Diversamente, in F il biostimolante ha comportato un effetto positivo su entrambi i fissatori di N e ammonio ossidanti. Infatti, le sostanze umiche potrebbero migliorare la crescita e la dimensione delle popolazioni microbiche intorno alla radice delle piante e l'attività di diversi enzimi del suolo (Sellamuthu e Govindaswamy, 2003). Vallini et al (1997) hanno riportato la stimolazione della crescita dei batteri nitrificanti del suolo in presenza di leonardite, probabilmente a causa di un assorbimento maggiore di nutrienti minerali (Bünemann et al, 2006). Inoltre nel nostro esperimento, gli acidi umici hanno aumentato le popolazioni microbiche del substrato F solo nel 2° anno. Dal momento che l'applicazione è stata eseguita all'inizio dell'esperimento, possiamo ipotizzare che i valori più elevati di geni AMOA e nifH nel 2° anno potrebbe essere causa di un aumento dell'essudazione radicale (biostimolazione), piuttosto che un effetto diretto degli acidi umici. Questa ipotesi è in accordo con Nelson et al. (2015) che hanno osservato un aumento nel numero di geni nifH e Amoa nella rizosfera nel corso di un esperimento di fitostabilizzazione, dimostrando che la loro abbondanza relativa è un indicatore adeguato del potenziale degli ecosistemi e dell'efficienza delle piante. Grazie alla loro elevata sensibilità a inquinamento da metalli pesanti, questi gruppi microbici sono stati frequentemente suggeriti come bioindicatori per la tossicità da metalli in tracce (Brooks, 1995; Brooks et al, 2005).

Tuttavia, il tipo e la fonte di sostanze umiche potrebbero influenzare la risposta dei batteri. Suárez-Estrella et al (2008) riportano un effetto stimolante su diverse popolazioni batteriche che utilizzano bassi tassi di composti umici, anche se l'uso del compost a base di rifiuti orticoli ha mostrato un effetto significativamente più alto sulle popolazioni di batteri azoto-fissatori e batteri nitrificanti rispetto al compost a base di Leonardite.

### **3.6 Conclusioni**

Secondo i nostri risultati, la canna comune è in grado di crescere su terreni contaminati di origine industriale, producendo quantità interessanti di biomasse ligno-cellulosiche (culmi) con bassi livelli di elementi potenzialmente tossici (PTE). Pertanto, l'uso di tali biomasse coltivate su suoli inquinati

per le energie rinnovabili o per la produzione di biopolimeri può essere promosso senza alcun rischio per la salute umana. Maggiori informazioni sono necessarie per quanto riguarda la qualità della biomassa in termini di contenuto di lignina, cellulosa e zuccheri per verificarne l'idoneità a processi specifici della chimica verde. Il contenuto più elevato di PTE nei rizomi suggerisce l'importanza della loro raccolta e rimozione nei programmi di fitoestrazione. Inoltre, la biomassa dei rizomi potrebbe essere usata come biocarburante industriale (es. come sostituto di coke di petrolio nelle fonderie). In terreni a bassa fertilità, i promotori della crescita come gli acidi umici possono essere efficaci nel prevenire stress ambientali, permettendo alle colture bioenergetiche di crescere in terreni con scarsa fertilità biologica e chimica. Inoltre, il fitorimedio o protocolli di fitorimedio che includano la canna comune e acidi umici possono essere strategie utili per migliorare la fertilità del suolo, riducendo i rischi dovuti alla mobilità dei PTE e l'attivazione di modelli biogeochimici tramite essudati radicali. Gli effetti di diversi fertilizzanti organici a basso costo contenenti acidi umici (cioè compost da rifiuti solidi urbani) dovrebbero essere studiati con il fine di ridurre i costi dei programmi di fitorimedio, ampliando così la loro applicabilità. L'abbondanza relativa dei geni coinvolti nella fissazione dell'azoto e ammonio ossidanti è stata positivamente correlata alla disponibilità di N alle colture in terreni sottoposti a fitorimedio. Questo dimostra la consistenza di questi indicatori biomolecolari nel monitoraggio e ripristino dei suoli inquinati industriali.

## Publicazioni realizzate

Fiorentino N., Ventorino V., Rocco C., Cenvinzo V., Agrelli D., Gioia L., Di Mola I., Adamo P., Pepe O., Fagnano M. 2017. Giant reed growth and soil biological fertility in assisted phytoremediation of an industrial polluted soil. *Science of Total Environment*, 575, 1375-1383. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.220>



## Giant reed growth and effects on soil biological fertility in assisted phytoremediation of an industrial polluted soil

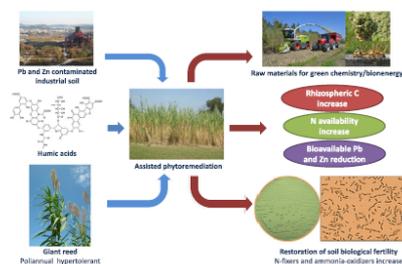
N. Fiorentino\*, V. Ventorino, C. Rocco, V. Cenvinzo, D. Agrelli, L. Gioia, I. Di Mola, P. Adamo, O. Pepe, M. Fagnano

Department of Agricultural Sciences, University of Naples Federico II, via Università, 100, 8055 Portici, Italy

### HIGHLIGHTS

- Giant reed allocates more biomass in rhizomes under growth limiting conditions.
- Culms grown on polluted soils have low Pb and Zn content and are suitable for industrial use.
- Rhizomes accumulate Pb and Zn and must be removed to improve phytoremediation efficiency.
- Humic acids help giant reed to overcome stress due to low fertile polluted soils.
- Giant reed rhizosphere increases N-cycling bacteria abundance after 2 growth cycles.

### GRAPHICAL ABSTRACT



### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 1 August 2016  
Received in revised form 27 September 2016  
Accepted 28 September 2016  
Available online xxxx

Editor: Dr. J Jay Gan

#### Keywords:

*Arundo donax*  
Biosimulants  
N-cycling bacteria  
Lead  
Zinc  
Rhizomes

### ABSTRACT

Phytoremediation is a cost-effective "green technology" that uses plants to improve the soil properties of polluted sites, preventing the dispersion of pollutants and reducing the mobility of potentially toxic elements (PTEs) through their adsorption and accumulation by roots or precipitation within the root zone. Being highly tolerant to pollutants and other abiotic stresses, giant reed (*Arundo donax* L.) is a suitable biomass crop for phytoremediation of contaminated soils.

We report the results of a two-year open-air lysimeter study aimed at assessing the adaptability of giant reed to grow on industrial substrates polluted by Pb and Zn and at testing commercial humic acids from leonardite as improvers of plant performance. We evaluated giant reed potential for: 1) biomass production for energy or bio-material recovery; 2) PTE phytoextraction and 3) soil fertility restoration. Chemical fertility was monitored by measuring soil C while soil biological fertility was estimated by quantifying the abundance of bacterial functional genes regulating nitrogen fixation (*nifH*) and nitrification (*amoA*).

Giant reed above-ground growth on the polluted soils was slightly lower (–16%) than on a non-polluted soil, with a preferential storage of biomass in the rhizome acting as a survival strategy in limiting growing conditions. Humic acids improved plant stress tolerance and production levels. As aerial biomass (shoots) did not accumulate PTEs, the plant in question can be used for bioenergy or biopolymer production. In contrast, below-ground biomass (rhizomes) accumulated PTEs, and can thus be harvested and removed from soil to improve phytoremediation protocols and also used as industrial biofuel. Giant reed growth increased the abundance of N-cycling bacteria and soil C in the rhizospheric soil, as well as reduced soil Pb and Zn EDTA extractable fraction.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

\* Corresponding author at: Department of Agricultural Sciences, Division of Plant Biology and Crop Science, University of Naples Federico II, via Università, 100, 8055 Portici, Italy.  
E-mail address: nunzio.fiorentino@unina.it (N. Fiorentino).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.220>  
0048-9697/© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

Please cite this article as: Fiorentino, N., et al., Giant reed growth and effects on soil biological fertility in assisted phytoremediation of an industrial polluted soil, *Sci Total Environ* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.220>

## **4. ACCRESCIMENTO E PRODUTTIVITÀ DI *A.DONAX* IN SUOLI CON FALDA SALINA AFFIORANTE**

### **4.1 Introduzione**

In una prospettiva di futuri cambiamenti climatici, dovrebbero essere sviluppati nuovi sistemi di produzione agricola, che integrino le filiere bioenergetiche, alimentari e mangimistiche. In un contesto del genere, le colture perenni a basso impatto ambientale sono considerate tra le più idonee per la fornitura di biomassa per la produzione di biocarburanti e biomateriali (Smith and Olesen, 2010).

Tuttavia, è fondamentale che le colture energetiche non sottraggano terra alle colture alimentari, pertanto esse devono essere necessariamente destinate a terreni marginali quali quelli salini, inquinati o magari soggetti ad erosione (Fagnano et al, 2015), in cui la coltivazione delle specie alimentari è impossibile o fortemente limitata.

Gli scenari di cambiamenti climatici nel bacino settentrionale del Mediterraneo mostrano un aumento di temperatura, soprattutto in estate e nei valori massimi (Brunetti et al, 2000). Conseguenza diretta di questo innalzamento della temperatura, dovrebbe essere l'incremento della salinità dei suoli agricoli (Yeo, 1998); ciò significa che le colture coltivate nel bacino del Mediterraneo, nei prossimi anni potrebbero essere sottoposte a molteplici sollecitazioni, direttamente o indirettamente, in relazione agli effetti serra e ai cambiamenti climatici.

Nei prossimi 30-40 anni è previsto un incremento di circa 5-29 cm del livello del mare a causa dell'aumento della temperatura, con effetti quali: allagamenti delle zone umide costiere; erosione costiera più veloce; intrusione del cuneo salino ed aumento delle infiltrazioni d'acqua salina nelle falde delle zone costiere.

La salinità è uno dei principali fattori limitanti per la resa delle colture in molte parti del mondo. Infatti, le colture alimentari sono principalmente glicofite, cioè con una tolleranza massima al cloruro di sodio (NaCl) pari a 150 mM (Levitt, 1980).

I primi sintomi di stress salino sono una diminuzione della crescita (Maas, 1986) ed una riduzione dell'indice di area fogliare, seguita da un aumento del peso specifico della foglia (peso foglia/superficie fogliare) (Longstreth e Nobel, 1979), una riduzione del numero e della dimensione degli stomi (De Pascale et al, 1999), senescenza prematura delle foglie ed una diminuzione complessiva della resa produttiva.

Rispetto all'esposizione delle colture alla salinità, Greenway e Munns (1980) riportano tre diverse tipologie di stress: osmotico, nutrizionale e tossico. Lo stress osmotico è dovuto ad una riduzione

del potenziale idrico del suolo con conseguente riduzione dell'assorbimento radicale, del potenziale idrico fogliare, della conduttanza stomatica ed, infine, del tasso fotosintetico. Quando lo stress salino diventa più intenso, la fotosintesi è limitata anche dalla resistenza mesofillica diffusiva e dai danni metabolici (Flexas et al, 2004; Cornic e Massacci, 1996; Chaves et al, 2009).

Lo stress nutrizionale dipende principalmente dalla modifica nell'assorbimento dei nutrienti dovuta all'assorbimento di Na<sup>+</sup> (Munns e Termaat, 1986). Infine, lo stress tossico dipende dall'accumulo di sali nei diversi organi della pianta che, a sua volta, accelera la senescenza fogliare (Munns e Termaat, 1986). Quando il tasso di mortalità delle foglie più vecchie supera l'emissione di nuove foglie, il tasso fotosintetico diminuisce, con conseguente morte della pianta. Tutti questi meccanismi provocano la diminuzione della resa nelle colture glicofite.

Tra le diverse colture da biomassa per la produzione di energia rinnovabile, la canna comune (*Arundo donax* L.) è considerata una delle specie più interessanti (Fagnano et al, 2015), grazie alla sua capacità di adattamento. Può crescere in diverse tipologie di suolo; preferisce quantitativi di acqua abbondanti ma in ogni caso riesce a sopportare prolungati periodi di siccità (Lewandosky et al, 2003).

Poiché è una pianta sterile, la variabilità naturale può essere causata da mutazioni spontanee e dalla selezione naturale come risposta a diverse condizioni ambientali, e in particolare alle sollecitazioni climatiche (Cosentino et al, 2006). Produce alte rese di biomassa lignocellulosica in aree marginali, come i terreni inquinati (Fiorentino et al, 2010), terreni collinari sottoposti ad erosione del suolo accelerata (Fagnano et al, 2015) e terreni salini (Williams et al, 2008).

L'A. donax è una specie C3 con elevati tassi di assimilazione e di traspirazione (Rossa et al, 1998; Webster et al, 2016), paragonabili a diverse specie C4. Attualmente, l'A. donax non è considerata un'alofta perché invade soprattutto gli habitat di acqua dolce (Nackley e Kim, 2015), ma la sua tolleranza al sale è stata dimostrata in tutto il mondo (Bell, 1997; Rossa et al, 1998, Williams et al, 2008).

Recenti studi riportano la canna comune come una specie moderatamente tollerante allo stress salino (Nackley e Kim, 2015), con un tasso di assimilazione di 7-12 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> con 40 dS m<sup>-1</sup> salinità dell'acqua. Analogamente, Sánchez et al (2015) hanno classificato la canna comune come specie tollerante alla salinità, secondo l'Indice di Suscettibilità allo Stress.

Lo scopo della presente ricerca è stato valutare l'adattabilità dell'*Arundo donax*, in particolare in termini di produttività, a crescenti livelli di salinità dell'acqua di falda (simulazione di quanto accade in molte zone costiere anche italiane) per ipotizzare un futuro utilizzo di questa coltura energetica in terreni marginali con problemi di salinità.

## 4.2 Materiali e metodi

La prova sperimentale è stata condotta nel sito sperimentale del Dipartimento di Agraria, Parco Gussone, a Portici (N 40° 48.870'; E 14° 20.821'; 70 m s.l.m.). Nella primavera del 2013 è stata avviata la prova con la costruzione di riserve idriche, realizzate con assi di legno, rivestite da teli di plastica, al fine di simulare una falda superficiale, tipica di molti ambienti costieri meridionali. All'interno di questi contenitori sono stati posti vasi in plastica dal diametro di 54 cm, opportunamente forati nella parte basale (sul fondo e sui lati fino ad un'altezza di 10 cm) al fine di consentire la risalita dell'acqua lungo il profilo di suolo.



**Figura 4.1.** Allestimento prova: costruzione riserve idriche e preparazione vasi.

I vasi sono stati riempiti con un terreno di riporto avente le caratteristiche indicate in Tabella 4.1 a cui sono stati addizionati 4.4 kg di compost, prodotto dall'Orto Botanico afferente al Dipartimento, e che presentava le caratteristiche riportate in Tabella 4.2.

**Tabella 4.1.** Caratteristiche fisico-chimiche del terreno di riporto

<b>Tessitura:</b>		
- Sabbia grossa	%	36.8
- Sabbia fine	%	48.2
- Limo	%	11.0
- Argilla	%	4.0
<b>pH</b>		8.25
<b>Conducibilità elettrica</b>	dS m <sup>-1</sup>	0.223
<b>N - total</b> (metodo Kjeldahl)	%	0.046
<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b> (metodo Olsen)	ppm	9.9
<b>K<sub>2</sub>O</b> (metodo Tetraphenylborate)	ppm	268.6
<b>Organic matter</b> (metodo Bichromate)	%	0.46

**Tabella 4.2.** Caratteristiche chimiche del compost.

<b>pH</b>		7.3
<b>Conducibilità elettrica</b>	dS m <sup>-1</sup>	0.276
<b>N - total</b> (metodo Kjeldahl)	%	0.525
<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b> (metodo Olsen)	ppm	4.37
<b>K<sub>2</sub>O</b> (metodo Tetraphenylborate)	ppm	280.72
<b>Organic matter</b> (metodo Bichromate)	%	9.19

Lo schema sperimentale ha previsto il confronto tra 4 livelli di “falda” salina (controllo, 2.5, 5.0 e 7.5 dS m<sup>-1</sup>) e 2 tipologie di terreno (salinizzato a circa 2 dS m<sup>-1</sup> e non salino). Il disegno sperimentale era a blocchi randomizzati ed ogni trattamento era ripetuto 4 volte per un totale di 32 vasi. La salinizzazione del terreno è stata effettuata irrigandolo, prima dell’avvio della coltura, con acqua addizionata di sale commerciale e testando il livello di salinità raggiunto mediante campionamento di terreno e determinazione analitica con conducimetro a cella (Basic 30 CRISON). I rizomi sono stati impiantati, uno per vaso, nella terza decade di maggio; la differenziazione delle tesi di acqua di falda salina è stata effettuata dopo circa 2 mesi al fine di lasciare ai rizomi un periodo di adattamento per l’emissione delle piante. A partire dalla seconda decade di luglio (punto zero), all’incirca ogni 3 settimane sono stati effettuati campionamenti biometrici non distruttivi delle piante al fine di misurare: numero, altezza e diametro basale degli steli, numero delle foglie

verdi e gialle, se presenti, lunghezza e larghezza di foglie basali, mediane ed apicali. Inoltre, in corrispondenza di questi rilievi sono stati effettuati anche campionamenti di terreno per monitorarne la conducibilità, il pH e il contenuto idrico. Infine, all'incirca ogni 7-10 giorni sono stati fatti campionamenti dell'acqua di falda per monitorare ed eventualmente correggere la conducibilità rispetto ai livelli prescelti; inoltre solo nei mesi estivi, per ovviare all'evaporazione dal pelo libero dell'acqua e all'assenza di precipitazioni, il livello della falda (altezza di 8-10 cm) è stato mantenuto con 1 o 2 rabbocchi settimanali. La prova ha avuto durata biennale; la prima raccolta è stata effettuata a febbraio 2014, la seconda a marzo 2015. Alla raccolta sono stati determinati, oltre alla resa: numero, altezza, diametro basale, peso fresco e peso secco degli steli, numero, peso fresco e peso secco delle foglie verdi, se presenti, e gialle. In corrispondenza della seconda raccolta sono stati anche espianati i rizomi, puliti dal terreno, pesati e anche essi messi ad essiccare in stufa per la determinazione della sostanza secca.

Sulle parti vegetali campionate alla raccolta è stato determinato anche il contenuto in azoto totale e nitrico. Tutti i dati sono stati analizzati con il software IBM SPSS (versione 22).

## 4.3 Risultati e discussioni

### 4.3.1 Andamento termo-pluviometrico

Durante il primo anno di ciclo (Fig. 4.2), l'andamento termo-pluviometrico è stato quello tipico del clima mediterraneo con i mesi estivi (giugno-settembre) caratterizzati da temperature massime e minime alte, rispettivamente 28.3°C con picchi superiori ai 30°C ad agosto, e 19.0°C (media dei 4 mesi). A partire dalla prima decade di settembre, le temperature hanno avuto un trend decrescente, anche se solo a novembre sono diminuite in maniera considerevole, raggiungendo il minimo proprio nella terza decade di novembre con 6°C. Le precipitazioni totali (maggio 2013-febbraio 2014) sono state pari a circa 970 mm, concentrate prevalentemente nei mesi autunno-invernali con picchi superiori ai 100 mm nella prima decade di ottobre 2013 e nella terza di gennaio 2014; mentre nei 4 mesi estivi il totale delle precipitazioni è stato pari a solo 117 mm, quindi circa il 12% delle precipitazioni totali.

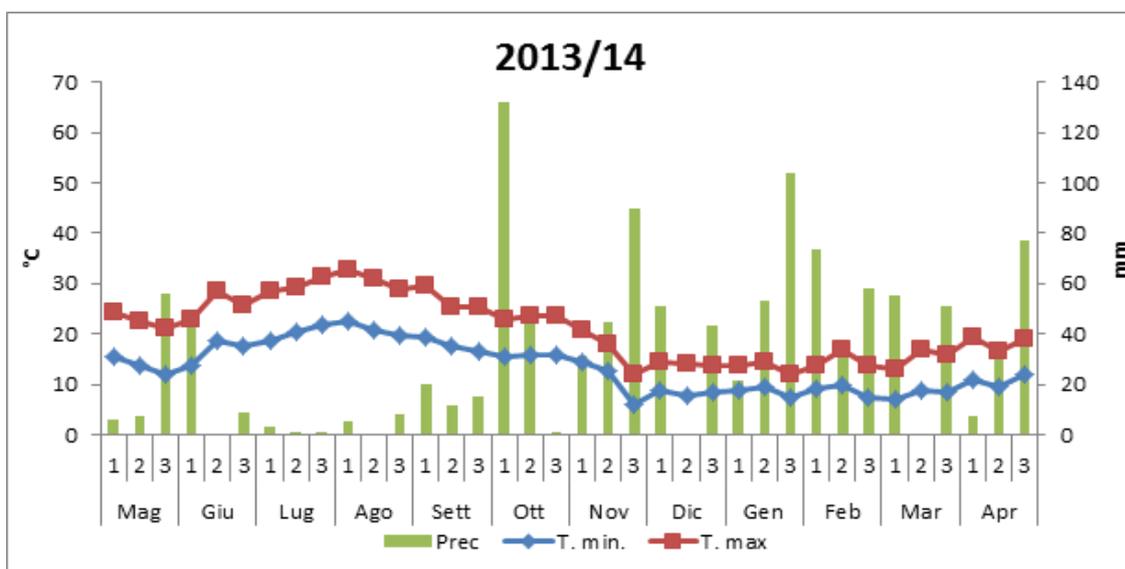


Figura 4. 2. Andamento termo-pluviometrico del primo anno di prova

Nella seconda annata (Fig. 4.3), l'andamento termo-pluviometrico è stato completamente differente; in particolare le temperature hanno avuto un trend crescente dalla prima decade di maggio fino agli inizi di agosto per poi decrescere, raggiungendo il minimo nella prima decade di febbraio con circa 4°C. Nei mesi estivi (giugno-settembre), le temperature massime e minime sono state simili a quelle dell'annata precedente (in media 27.8°C e 18.5°C rispettivamente). L'andamento pluviometrico è stato differente rispetto all'anno precedente; le precipitazioni totali (maggio 2014-febbraio 2015) sono state leggermente inferiori e pari a circa 866 mm e distribuite in maniera differente con periodi di assoluta assenza (agosto 0.4 mm) o esigua presenza di piogge (ottobre 5.6 mm) e periodi di abbondanti precipitazioni da metà novembre alla prima decade di marzo (circa 580 mm). Inoltre, il

14 giugno 2014 si è verificato un evento piovoso a carattere temporalesco, con un'intensità di pioggia pari a 30 mm/h e raffiche di vento di 100 km orari.

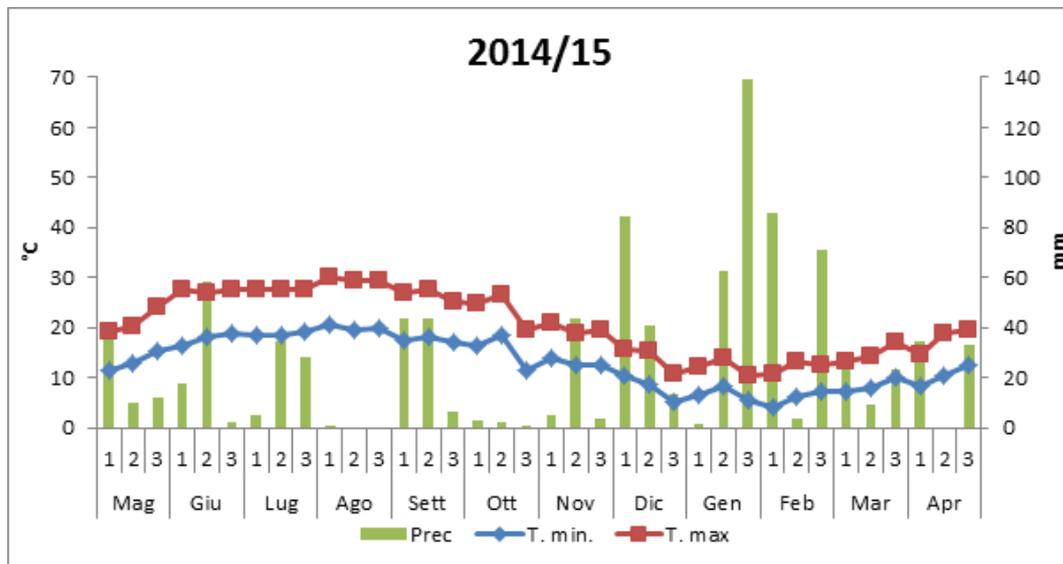


Figura 4.3. Andamento termo-pluviometrico del secondo anno di prova

#### 4.3.2 Caratteristiche del terreno: andamento della conducibilità elettrica e del contenuto idrico

Durante i due cicli sono stati monitorati il pH, la conducibilità elettrica e il contenuto idrico del terreno.

Per il pH (Tab. 4.3) non sono state riscontrate differenze significative: nel primo anno in media è stato pari a 7.5, con piccole variazioni (da 7.4 a 7.6). Nel secondo anno, in media è stato pari a 7.3.

Relativamente all'umidità del terreno (Tab. 4.3), ugualmente non sono state riscontrate differenze significative, tuttavia in entrambi gli anni si può osservare che il contenuto idrico del terreno del controllo è più basso rispetto alla media delle tesi saline, rispettivamente 22.5% vs 24.1 per il primo anno e 16.9% vs 20.4% per il secondo anno, analogamente a quanto trovato da Di Mola et al, 2017.

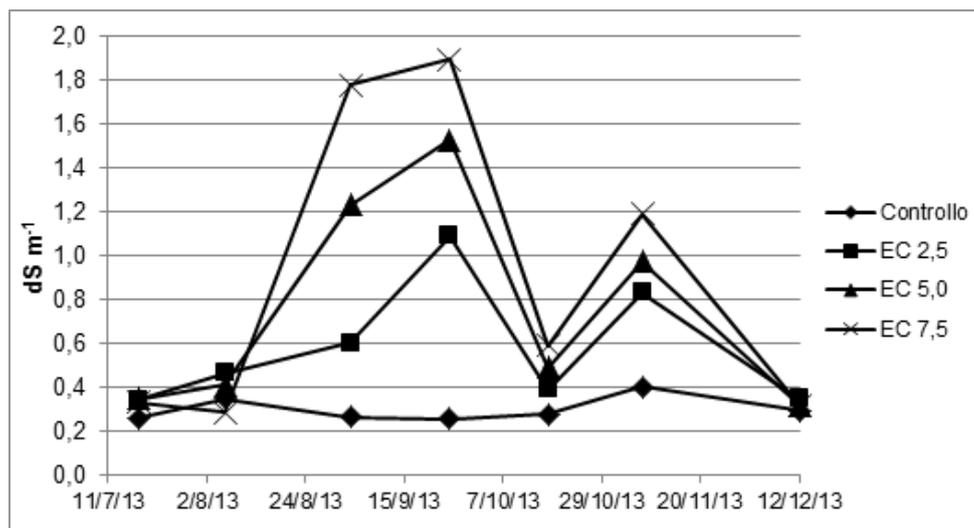
In assoluto nel secondo anno i valori medi di umidità sono risultati inferiori, in virtù anche delle minori precipitazioni stagionali (970 vs 866 mm rispettivamente).

**Tabella 4.3.** Contenuto idrico (percentuale del terreno e pH nei due cicli di crescita. I valori sono la media di tutti i campionamenti effettuati per ciascun ciclo.

Trattamenti	Contenuto idrico del suolo (%)		pH	
	2013	2014	2013	2014
Controllo	22,5	16,9	7,6	7,6
EC 2.5 dS m <sup>-1</sup>	24,2	20,7	7,4	7,2
EC 5.0 dS m <sup>-1</sup>	23,7	20,2	7,4	7,1
EC 7.5 dS m <sup>-1</sup>	24,4	20,2	7,5	7,1

Relativamente alla conducibilità elettrica del terreno (metodo 1:5), essa ha avuto ovviamente un carattere stagionale ed è stata influenzata dall'andamento delle precipitazioni e delle temperature, in accordo con Munns (1999) che sostiene che la salinità di un suolo è legata alla precipitazione media annua che lo interessa.

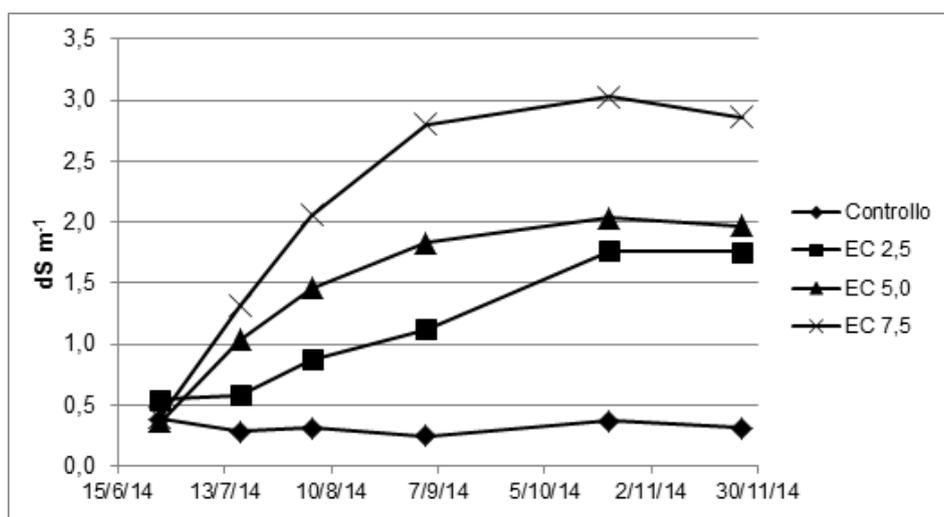
In particolare nel primo ciclo di crescita (Fig. 4.4), ha avuto un andamento altalenante ma comunque crescente fino a fine settembre, quando si è registrato un picco massimo per tutte e tre le tesi saline, cui è seguito un crollo nel rilievo successivo e, quindi, un nuovo picco di incremento agli inizi di novembre per poi decrescere nuovamente. L'innalzamento dei livelli di conducibilità elettrica sono stati ovviamente legati agli innalzamenti di temperatura nei primi mesi del ciclo, quelli estivi, che comportano una maggiore perdita di acqua dal terreno per evaporazione e conseguente risalita e concentrazione dei sali negli strati superficiali, soprattutto se associati a scarsa precipitazione (solo 26.4 mm dalla seconda decade di giugno a fine agosto). Al contrario i due decrementi sono strettamente connessi alle abbondanti precipitazioni che sono state registrate nei giorni immediatamente antecedenti; infatti, nella prima decade di ottobre sono stati registrati oltre 130 mm di pioggia, così come nella terza decade di novembre e nella prima di dicembre sono piovuti circa 140 mm. D'altra parte anche Tanji (2002) riporta che la salinità è soggetta a fenomeni ciclici di concentrazione, dovuti proprio alle perdite evapotraspirative, e di diluizione dovuti all'eccesso idrico (piogge).



**Figura 4.4.** Andamento della conducibilità elettrica del terreno (metodo 1:5) nel primo ciclo di crescita.

Nel secondo anno, la conducibilità elettrica (Fig. 4.5) ha avuto un trend differente; è stata crescente fino a fine ottobre per poi mantenersi all'incirca costante fino all'ultimo rilievo. Questo andamento è strettamente legato al diverso andamento pluviometrico: non solo la quantità di pioggia durante il ciclo è stata inferiore (circa 100 mm in meno) ma, soprattutto, non ci sono stati, come nell'annata precedente, periodi con elevati livelli di precipitazioni fino a fine novembre (ultimo rilievo).

In entrambi gli anni è risultata crescente all'aumentare del livello di salinità dell'acqua di falda; tuttavia mediamente durante il ciclo la conducibilità elettrica delle tre tesi saline nel primo anno è stata pari a 0,6, 0,8 e 0,9 dS m<sup>-1</sup> rispettivamente per i trattamenti EC 2,5, EC 5,0 ed EC 7,5, mentre nel secondo anno i valori sono stati più elevati e rispettivamente pari a 1,1, 1,4 e 2,1 dS m<sup>-1</sup>.



**Figura 4.5.** Andamento della conducibilità elettrica del terreno (metodo 1:5) nel primo ciclo di crescita.

## 4.4 Produzioni

Dall'analisi statistica è risultato che la produzione al secondo anno (Tabella 4.4) è stata significativamente superiore al primo, in accordo con Fagnano et al (2015), che ugualmente hanno evidenziato un trend crescente nella produzione nei primissimi anni. D'altra parte, Angelini et al (2009) hanno osservato per la canna comune allevata in Italia, tre fasi: la prima di incremento produttivo fino al terzo anno, la seconda di produttività stazionaria, all'incirca dal quarto al nono anno, e la terza di decremento produttivo. L'incremento produttivo al secondo anno è probabilmente dovuto sia al maggior numero di steli che alla maggiore altezza delle piante anche se per entrambi i parametri non ci sono differenze significative. Anche la composizione della biomassa è migliorata al secondo anno, con un incremento dell'incidenza percentuale degli steli rispetto alla biomassa totale, che addirittura hanno superato il 95% rispetto al 70% circa trovato da Fagnano et al. (2015) nei primi due anni di crescita.

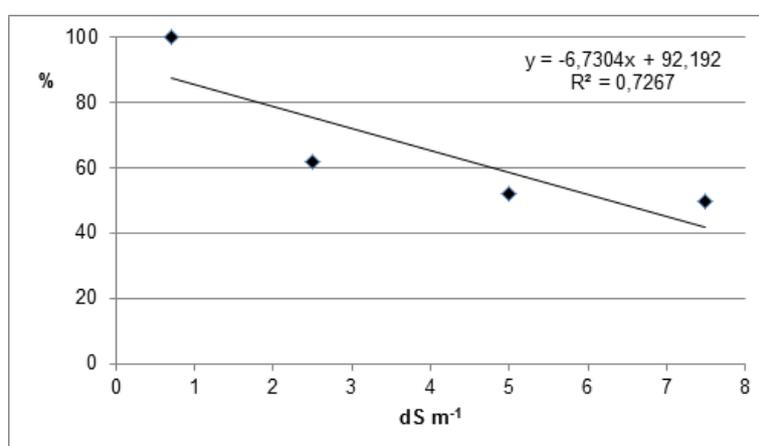
La salinità ha determinato un decremento significativo della biomassa prodotta, in accordo con Nackley e Kim (2015), ma senza differenze tra le tre tesi, che mediamente hanno mostrato un decremento di circa il 46% (0.58 vs 1.08 kg m<sup>-2</sup> di sostanza secca). Andamento analogo è stato riscontrato anche per l'altezza delle piante, anche se il decremento percentuale è stato meno marcato, pari circa al 36% (106 vs 158 cm, rispettivamente media dell'altezza delle piante dei 3 trattamenti salini e altezza delle piante del controllo). Il numero di culmi a metro quadrato, pur non raggiungendo la significatività statistica, ha comunque mostrato un trend decrescente all'aumentare della conducibilità elettrica dell'acqua di falda. Al contrario dell'incidenza percentuale degli steli sulla biomassa totale che, sempre non raggiungendo la significatività statistica, ha mostrato valori leggermente più alti solo per il controllo.

**Tabella 4.4.** Effetti principali di anno e salinità dell'acqua di falda su numero degli steli a metro quadrato, diametro e altezza degli steli, produzione (sostanza fresca) e percentuale di umidità delle piante di *Arundo donax* alla raccolta.

Trattamenti	Numero steli $n^{\circ} m^{-2}$	Altezza steli $cm$	Culmi % s.s. su biomassa totale	Produzione $kg m^{-2} s.f.$	Umidità %
<b>Anno</b>					
2013/14	21.2	113.8	88.7 b	1.08 b	54.2 a
2014/15	29.4	124.2	95.7 a	1.52 a	41.8 b
<b>Tesi salina</b>					
Controllo	28.3	158.0 a	94.8	1.99 a	46.2 a
2.5 dS $m^{-1}$	27.2	111.4 b	91.7	1.24 b	48.2 b
5.0 dS $m^{-1}$	25.0	102.4 b	90.6	1.03 b	49.2 b
7.5 dS $m^{-1}$	20.6	104.1 b	91.7	0.96 b	48.2 b
<b>Significatività</b>					
Anno (Y)	ns	ns	**	*	**
Salinità (S)	ns	**	ns	**	*
Y × S	ns	ns	ns	ns	***

ns, \*, \*\*, \*\*\* Non-significativo o significativo per  $P \leq 0.05$ , 0.01 and 0.001, rispettivamente. Le medie sono state separate con il test di Duncan.

La relazione tra la produzione (espressa come percentuale rispetto al controllo-100%) e la salinità dell'acqua di falda è riportata anche in Figura 4.5; l'equazione ( $R^2 = 0.73$ ) stima una perdita del 50% per livelli di salinità di circa 6 dS  $m^{-1}$  e una perdita totale per valori pari a 13.5 dS  $m^{-1}$ , con un decremento pari quasi al 7.0% per ogni incremento di salinità dell'acqua di 1 dS  $m^{-1}$ .



**Figura 4.5.** Produzione percentuale delle tesi saline rispetto al controllo (100%) vs la salinità dell'acqua di falda.

La salinità ha mostrato un effetto significativo sull'accumulo di sostanza secca di rizomi e radici (Tab. 4.5), ma con un trend inverso. Infatti, il quantitativo di radici per pianta è diminuito all'aumentare dello stress salino ma comunque senza differenza tra i tre trattamenti, e con la tesi meno stressata non differente dal controllo; in particolare, le due tesi più stressate hanno mostrato un decremento rispetto al controllo pari al 33% circa. Al contrario, per i rizomi il valore più basso è stato registrato per le piante del controllo anche se esso è stato statisticamente differente solo dalla

tesi più stressata, rispetto alla quale ha mostrato una riduzione di circa il 24%. Visto il trend crescente nell'accumulo di sostanza secca nei rizomi rispetto ai livelli di salinità, è possibile ipotizzare che questo sia un meccanismo di difesa che mette in atto la pianta, traslocando le sostanze nutritive verso gli organi di riserva (i rizomi appunto), come “strumento” di sopravvivenza della specie in condizioni di stress.

E' ben noto infatti che, per superare stress abiotici, le colture poliennali come strategia di sopravvivenza traslocano le sostanze nutritive assimilate agli organi di riserva sotterranei (Chapin et al, 1990; Hutchings e John, 2004; Puijalón et al, 2008).

A conferma di questa ipotesi, le tesi salinizzate hanno fatto registrare un significativo decremento del rapporto parte aerea/parte ipogea (S/R), ma senza differenze tra i 3 livelli (Tab. 4.5). Infine, su rizomi e radici è stato calcolato anche il contenuto percentuale di azoto e sono state determinate le asportazioni totali della biomassa ipogea (Tab. 4.5), ma per nessuno dei tre parametri sono state evidenziate differenze significative, benchè i trattamenti salini hanno mostrato sempre valori più bassi del controllo. D'altra parte, è noto che uno dei danni fisiologici determinati dalla salinità è quello di tipo nutrizionale (Greenway e Munns, 1980), in quanto si creano degli sbilanciamenti nella disponibilità ed assorbimento dell'azoto, per fenomeni di competizione tra la molecola del nitrato e lo ione cloro.

**Tabella 4.5.** Effetto della salinità dell'acqua di falda su peso secco e contenuto in azoto di radici e rizomi, asportazioni parte ipogea e rapporto parte epigea/parte ipogea (S/R) delle piante di *Arundo donax* alla seconda raccolta.

Trattamenti	Radici <i>gr vaso<sup>-1</sup> s.s.</i>	Rizomi <i>gr vaso<sup>-1</sup> s.s.</i>	Contenuto azoto (%)		Asportazioni <i>(kg ha<sup>-1</sup>)</i> <i>Radici+Rizomi</i>	S/R
			Radici	Rizomi		
<b>Tesi salina</b>						
Controllo	271.8 a	282.1 b	0.29	0.45	88.85	0.30 a
2.5 dS m <sup>-1</sup>	229.2 ab	316.6 ab	0.23	0.36	72.16	0.21 b
5.0 dS m <sup>-1</sup>	184.4 b	325.9 ab	0.22	0.29	69.69	0.20 b
7.5 dS m <sup>-1</sup>	178.4 b	371.4 a	0.24	0.32	67.68	0.20 b
<b>Significatività</b>						
Salinità (S)	L*	L*	NS	NS	NS	L*

ns, \*, \*\*, \*\*\* Non-significativo, significativo per  $P \leq 0.05$ , 0.01 and 0.001, rispettivamente. Le medie sono state separate con il test di Duncan.

Il contenuto percentuale di azoto è stato determinato anche per le foglie e gli steli (Tab. 4.6), risultando per entrambi significativamente più basso al secondo anno. In effetti un trend decrescente nel contenuto in azoto di foglie e steli è stato trovato anche da Fagnano et al (2015) anche se significativo solo dal quinto anno in poi. Lo stress salino ha influenzato in maniera significativa solo il contenuto in azoto degli steli, che è diminuito all'aumentare della concentrazione salina, probabilmente sempre per i suddetti disordini nutrizionali, che possono

identificarsi in un'alterazione delle disponibilità di nutrienti, in una competizione per le asportazioni a livello dei siti di assorbimento radicale o in un alterato trasporto e partitioning all'interno della pianta (Grattan e Grieve, 1999).

Il minore tenore in azoto della biomassa epigea delle piante sottoposte a stress salino, nonché la minore produzione di biomassa di queste, hanno determinato anche un significativo decremento nelle asportazioni azotate (Tab. 4.6).

**Tabella 4.6.** Effetti principali di anno e salinità dell'acqua di falda su contenuto in azoto di steli, foglie, e asportazioni delle piante di *Arundo donax* alle due raccolte.

Trattamenti	Contenuto azoto (%)		Asportazioni ( $kg\ ha^{-1}$ )
	Foglie	Steli	Biom. epigea
<b>Anno</b>			
2013/14	1.19 a	0.24 a	19.51
2014/15	0.92 b	0.19 b	19.70
<b>Tesi salina</b>			
Controllo	1.07	0.25 a	32.47 a
2.5 dS $m^{-1}$	1.01	0.21 ab	17.78 b
5.0 dS $m^{-1}$	1.02	0.20 b	14.63 b
7.5 dS $m^{-1}$	1.11	0.20 b	13.53 b
<b>Significatività</b>			
Anno (Y)	L**	L**	NS
Salinità (S)	NS	L*	L***
Y × S	NS	NS	NS

ns, \*, \*\*, \*\*\* Non-significativo, significativo per  $P \leq 0.05$ , 0.01 and 0.001, rispettivamente. Le medie sono state separate con il test di Duncan.

## 4.5. Conclusioni

L' *A. donax* ha mostrato una buona adattabilità alla salinità del terreno determinata dalla risalita di acqua di falda salina, con una perdita del 50% della produzione per valori di conducibilità elettrica dell'acqua pari a circa 6 dS  $m^{-1}$ .

Pertanto, questa specie da energia può essere una buona alternativa all'abbandono di aree, quali quelle costiere dell'Italia meridionale (per esempio zona di Villa Literno -CE), in cui negli ultimi anni si è registrato un incremento della salinità del terreno, tale da rendere difficoltosa la coltivazione di specie alimentari.

## 5 Conclusioni generali e prospettive future

Con la presente ricerca, sono state analizzate le capacità di adattamento e le risposte produttive di *A. donax* coltivato in differenti tipologie di suoli marginali dell'areale Mediterraneo. I risultati di tre anni di ricerche hanno permesso di mettere in evidenza quanto segue.

Con riferimento alla prima linea di ricerca relativa al monitoraggio dell'accrescimento epigeo ed ipogeo della Canna comune in 2 ambienti marginali dell'areale campano, i risultati ottenuti hanno consentito di evidenziare una netta differenza di produzione di biomassa secca in relazione ai siti sperimentali studiati. In particolare, nel sito di pianura (Teverola), grazie alle migliori condizioni del suolo che si realizzano a partire dal secondo anno d'impianto e le condizioni termo-pluviometriche più favorevoli, sia la biomassa aerea (+50%) che ipogea crescono rapidamente rispetto al sito collinare di S. Angelo. Anche il contenuto di N totale in culmi foglie e rizomi è risultato più elevato a Teverola. Analogamente, l'andamento delle curve di asportazione di azoto in culmi, foglie e rizomi ha mostrato nel primo anno d'impianto, valori più elevati nel sito di S. Angelo rispetto a Teverola a conferma delle difficoltà iniziali di crescita e di assorbimento di azoto in questo sito. Negli anni successivi, invece, i valori risultato sempre più alti a Teverola, a conferma che la pianta di *A. donax* è riuscita a colonizzare questo sito degradato, non solo adattandosi alle condizioni limitanti del suolo di partenza, ma anche contribuendo a migliorarne gli aspetti fisici.

Relativamente all'esperimento di crescita, asportazione e traslocazione di metalli pesanti in *A. donax* coltivata su suoli industriali ex ILVA di Bagnoli, dall'analisi statistica dei parametri di crescita colturale è risultato significativo l'effetto della fertilizzazione. In particolare, la fertilizzazione con acidi umici ha incrementato in maniera significativa il peso secco della biomassa aerea sia nel primo che nel secondo ciclo di crescita. Durante il primo anno, i substrati fertilizzati hanno raggiunto una biomassa aerea paragonabile a quella del controllo per superarlo durante il secondo anno. Il sito preferenziale di accumulo del Pb sono risultati i rizomi. Il contenuto di Pb in rizomi, culmi e foglie è risultato significativo e più elevato per i fanghi, rispetto ai suoli. Anche per lo Zn, tra i fattori presi in considerazione, il substrato ha influenzato l'assorbimento da parte della pianta. In particolare, il contenuto di Zn dei differenti organi della pianta è risultato essere più elevato nei fanghi rispetto ai suoli. Sia nei fanghi che nei suoli la specie tende a distribuire lo zinco maggiormente nei rizomi. In conclusione, l' *A. donax* cresciuta su sedimenti dell'Ex-Ilva non presenta particolari sintomi di sofferenza legati all'inquinamento del suolo, con valori produttivi analoghi a quelli di suoli agricoli non inquinati. In tutti i casi, la qualità della biomassa, ad eccezione dei rizomi, rispetta i parametri per il suo riutilizzo nella filiera energetica. Per quanto riguarda i fanghi, caratterizzati da valori di MPTs biodisponibili più elevati, i contenuti di MPT nei

rizomi superano la normativa sui cippati, per cui è necessario ipotizzare l'utilizzo di altre tecnologie in grado di recuperare molecole utili o produrre biocombustibili. L'effetto positivo degli acidi umici sulla crescita delle piante, suggerisce la sua utilizzazione nei progetti di recupero ambientale.

Relativamente alla linea di ricerca relativa allo studio del potenziale produttivo della Canna comune in terreni salinizzati per risalita di acqua di falda, i risultati del nostro esperimento hanno mostrato in tutte le tesi trattate produzioni interessanti, in particolare nel secondo anno le produzioni dei trattamenti salini sono raddoppiate (+ 50%). La concentrazione salina dell'acqua di falda che ha determinato un dimezzamento della produzione è stata molto alta ( $6 \text{ dS m}^{-1}$ ), confermando la buona resistenza di questa specie. I risultati di questo studio dimostrano che l'*A. donax* mostra una buona adattabilità alla salinità del terreno determinata dalla risalita di acqua falda salina. Pertanto, questa specie da energia può rappresentare una buona alternativa all'abbandono di aree costiere dell'Italia meridionale, in cui negli ultimi anni si è registrato un incremento della salinità del terreno, tale da rendere difficoltosa la coltivazione di specie d'interesse alimentare.

In definitiva, le ricerche svolte hanno fornito importanti indicazioni in termini di conoscenza delle reali possibilità di utilizzo di questa specie in suoli marginali. I risultati suggeriscono che impianti colturali funzionali alla produzione di energia o materie prime per lo sviluppo della chimica verde potrebbero essere applicati per il recupero e la valorizzazione di aree che altrimenti resterebbero improduttive o abbandonate apportando notevoli vantaggi ambientali, sociali ed economici. Tuttavia, ulteriori ricerche sono necessarie per poter valutare le potenzialità di questa coltura nel lungo periodo in termini di produzioni durante cicli di crescita consecutivi. Infine, un ulteriore passo da fare potrebbe essere lo studio dell'andamento dei principali costituenti della biomassa (lignina, cellulosa e carboidrati non strutturali) durante cicli di crescita consecutivi. Questo consentirebbe di modulare l'agrotecnica (es. anticipo del taglio della biomassa epigea; raccolta dei rizomi) con lo scopo di orientare la coltivazione di questa coltura in ambienti limitanti verso scopi produttivi più specifici (es. produzione di zuccheri facilmente fermentescibili).

## Bibliografia

- Adamo, P., A. Mingo, I. Coppola, R. Motti, A. Stinca & D. Agrelli, 2014. Plant colonization of brownfield soil and post-washing sludge: effect of organic amendment and environmental conditions. *Int. J. Environ. Sci. Te.* 12: 1811-1824.
- Albuzio, A., S. Nardi & G. Concheri, 1986. Effects of humic substances on nitrate uptake and assimilation in barley seedlings. *Can. J. Soil Sci.* 66: 731-736.
- Angelini, LG, L.Ceccarini & E. Bonari, 2005a. Biomass yield and energy balance of giant reed (*Arundo donax* L.) cropped in central Italy as related to different management practices. *Eur. J. Agron.* 22: 375-389.
- Angelini, LG, L.Ceccarini, N. Nassi o Di Nasso & E. Bonari, 2005b. Long term evaluation of biomass production of giant reed (*Arundo donax* L.) to different fertilisation input, plant density and harvest time in a Mediterranean environment. In: Grassi A, Maniatis K. (Eds.), *Proc. of the 14th European Biomass Conference and Exhibition*. Paris, October 17-21, pp. 141-4.
- Angelini, LG, L. Ceccarini, N. Nassi o di Nasso & E. Bonari, 2009. Comparison of *Arundo donax* L. and *Miscanthus x giganteus* in a long-term field experiment in Central Italy: Analysis of productive characteristics and energy balance. *Biomass Bioenerg.* 33:635-43.
- Baffes, J. & T. Haniotis, 2010. Placing the 2006/07 Commodity Price Boom into Perspective, The World Bank Development Prospects Group, Working Per 5371, July
- Barbosa, B., S.Boléo, S.Sidella, J. Costa, M.P. Duarte, B. Mendes, S.L. Cosentino & A.L. Fernando, 2015. Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soils Using the Perennial Energy Crops *Miscanthus* spp. and *Arundo donax* L. *Bioenerg. Res.* 8: 1500-1511.
- Bell, G.P. 1997. Ecology and management of *Arundo donax*, and approaches to riparian habitat restoration in southern California. In: Brock J.H., Wade M., Pysek P, Green D. (eds). *Plant invasions: studies from North America an Europe*. Leiden, The Netherlands, Backhuys Publishers: 103-113.
- Boland, J.M. 2008. The role of floods and bulldozers break-up and dispersal of *Arundo donax* (Giant Reed). *Madroño* 53:216-22.
- Bonari, E., M. Galli & E. Piccioni, 2004. Le funzioni agroecologiche delle colture "dedicate" ad uso energetico. In: Faini A., Nocentini G. (Eds.), *Le funzioni agroecologiche delle colture "dedicate" ad uso energetico: il progetto Bioenergy Farm*. Quaderno ARSIA, 6/2004: 79-85. Arsa Firenze.
- Briones, A.M., S. Okabe, Y. Umemiya, N.B. Ramsing, W. Reichardt & H.Okuyama, 2003. Ammonia-oxidizing bacteria on root biofilms and their possible contribution to N use efficiency of different rice cultivars. *Plant Soil* 250: 335-348.
- Brooks, P.C. 1995. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biol. Fertil. Soils* 19: 269-279.
- Broos, K., J. Mertens & E. Smolders, 2005. Toxicity of heavy metals in soil assessed with various soil microbial and plant growth assays: a comparative study. *Environ. Toxicol. Chem.* 24: 634-640.
- Brunetti, M., M. Maugeri, F. Monti & T. Nanni, 2006. Temperature and precipitation variability in Italy in the last two centuries from homogenised instrumental time series. *Int. J. Climatol.* 26: 345-381.
- Bünemann, E.K., G.D. Schwenke & L.Van Zwieten, 2006. Impact of agricultural inputs on soil organisms-a review. *Aust. J. Soil Res.* 44: 379-406.
- Buondonno, C., A.Buondonno, A. Ermice, M. Murolo, M.L. Pugliano, G. Caligiuri, N. Pascale & C. Tia, 1998. I suoli delle aree industriali dismesse del golfo di Napoli. Caratteristiche, genesi e classificazione dei suoli dell'acciaieria (ILVA) di Bagnoli. In atti del convegno: Il ruolo della

- Pedologia nella pianificazione e gestione del territorio, 6-10 Giugno 1995, Cagliari, Italy. pp. 249-260.
- Canfield, D.E., A.N. Glazer & P.G. Falkowski, 2010. The evolution and future of earth's nitrogen cycle. *Science* 330: 192-196.
- Cardoso, E.J.B.N., R.L.F. Vasconcellos, D. Bini, M.Y.H. Miyauchi, C.A. dos Santos, P.R.L. Alves, A.M. de Paula, A.S. Nakatani, J.D. Pereira & M.A. Nogueira, 2013. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? *Sci. Agric.* 70: 274-289.
- Centemero, M. & E. Favoino, 2008. Atti del convegno "Utilizzo del compost da frazione organica dei rifiuti solidi urbani: attualità e prospettive" – Napoli, Città della Scienza, 30 novembre 2006: 11-25.
- Ceotto, E. & M. Di Candilo, 2010a. Shoot cutting propagation of giant reed (*Arundo donax* L.) in water moist soil: The path forward? *Biomass and Bioenergy*, 34: 1614-1623.
- Chapin, F.S. III., E.D. Schulze & H.A. Mooney, 1990. The ecology and economics of storage in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21: 423-447.
- Chary, N.S., C.T. Kamala & D.S.S. Raj, 2008. Assessing risk of heavy metals from consuming food grown on sewage irrigated soils and food chain transfer. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 69: 513-524.
- Chaves, M.M., J. Flexas & C. Pinheiro, 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annual Botany* 103: 551-560.
- Chinnadurai, C., G. Gopaldaswamy & D. Balachandar, 2014. Long term effects of nutrient management regimes on abundance of bacterial genes and soil biochemical processes for fertility sustainability in a semi-arid tropical Alfisol. *Geoderma* 232-234: 563-572.
- Christou, M., M. Mardikis & E. Alexopoulou, 2000. Propagation material and plant density effects on the *Arundo donax* yields. In: *Biomass for energy and industry: Proc. 1th World Conf.*, Sevilla, Spain, June 5-9, pp. 1622-8.
- Christou, M., M. Mardikis, E. Alexopoulou, S.L. Cosentino, V. Copani & E. Sanzone, 2003. Environmental studies on *Arundo donax*. *Proceedings of the 8th International Conference on Environmental Science and Technology*, London:102-10.
- Cleveland, C.J., R. Costanza, C.A.S. Hall & R. Kaufmann, 1984. Energy and the U.S. Economy: A Biophysical Perspective. *Science*, 225: 890-897.
- Cocking, E.C. 2003. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant Soil* 252: 169-175.
- Cornic, G. & A. Massacci, 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. In *Photosynthesis and the Environment* (Baker, N.R., ed.), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 347-366.
- Cosentino, S., S. Foti, G. Venturi, R. Giovanardi, V. Copani, M. Mantineo, G. D'Agosta, G. Bezzi & T. Mazzocco, 2005. Colture erbacee annuali e poliennali da biomassa per energia di possibile coltivazione in Italia. *Agroindustria* 4:35-48.
- Cosentino, S.L., V. Copani, G.M. D'Agosta, E. Sanzone & M. Mantineo, 2006. First results on evaluation of *Arundo donax* L. clones collected in Southern Italy. *Ind. Crop. Prod.*, 23: 212-222.
- Coulson, M., J. Dahl, E. Gansekoele, A.V. Bridgwater, I. Obernberger, & L. van de Beld, 2004. Ash characterization of perennial energy crops and their influence on thermal processing. In: Van Swaaij W.P.M., Fjällstrom T., Helm P. and Grassi A. (Eds.) *Proceedings of the 2 World Biomass Conference on Biomass for Energy, Industry and Climate Protection ETA-Florence and WIP-Munich pub.* (2004), Vol II, 359-362.

- Dahl, J. & I. Obernberger, 2004. Evaluation of the combustion characteristics of four perennial energy crops (*Arundo donax*, *Cynara cardunculus*, *Miscanthus giganteus* and *Panicum virgatum*). 2nd World Conference on Biomass Energy, Industry and Climate Protection:1265–70.
- Decreto Legislativo 3 Aprile, n. 152. 2006. Norme in materia ambientale. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n. 88, Supplemento Ordinario n. 96, 14 April 2006.
- De Pascale, S. C. Ruggiero & G. Barbieri, 1999. Risposta fisiologica del fagiolino da industria all'irrigazione con acque saline. *Rivista Di Agronomia*, 2: 79-89.
- Di Candilo, M. & E. Ceotto, 2012. Canna comune nel Nord Italia. Supplemento n.2 a *Sherwood* n.183 anno 18 n.4 maggio.
- Di Mola, I., G. Guida, C. Mistretta, P. Giorio, R. Albrizio, D. Visconti, M. Fagnano & M. Mori, 2017. Agronomic and physiological response of giant reed (*Arundo donax* L.) to soil salinity. Sottomesso to *Italian J. Agron.*
- Duce, P. 2005. Progetto Climagri-Cambiamenti Climatici e Agricoltura, Risultati 1° anno: "Individuazione delle aree agricole e delle colture a forte rischio per variazioni climatiche". <http://www.climagri.it/FinaleDUCE.htm#ancora>.
- Edrisi, S.A. & P.C. Abhilash, 2016 Exploring marginal and degraded lands for biomass and bioenergy production: an Indian scenario. *Renew Sustain Energy Rev* 54:1537–1551
- Epelde, L., J.M. Becerril, J. Hernández-Allica, O. Barrutia & C. Garbisu, 2008. Functional diversity as indicator of the recovery of soil health derived from *Thlaspi caerulescens* growth and metal phytoextraction. *Appl. Soil Ecol.* 39: 299-310.
- Epelde, L., J.M. Becerril, I. Mijangos & C. Garbisu, 2009. Evaluation of the efficiency of a phytostabilization process with biological indicators of soil health. *J. Environ. Qual.* 38: 2041-2049.
- Facchini, P. 1941. La Canna gentile per la produzione della cellulosa nobile, l'impresa agricoloindustriale di Torviscova. SNIA VISCOSA, Milano.
- Fagnano, M., G. Merola, A. Zena, F. Quaglietta Chiarandà, G. Moschetti, A. Protopapa & A. Piccolo, (2003). Apporti di sostanza organica in un ordinamento orticolo ad agricoltura biologica: risultati preliminari sugli effetti di breve periodo. *Riv. Agron.*, 37: 133-138.
- Fagnano, M. & N. Fiorentino, 2009. La fito-estrazione assistita per il recupero della fertilità dei suoli agricoli contaminati. In: Arpa Umbria (Ed.). Atti del convegno "Bonifica, recupero ambientale e sviluppo del territorio: esperienze a confronto sul fitorimediazione", Supplemento alla rivista quadrimestrale *Micron*, 11: 125-137.
- Fagnano, M., A. Impagliazzo, M. Mori & N. Fiorentino, 2010. Produzione dell'*Arundo donax* in ambiente collinare campano. In: Mastrorilli, M. (Ed.), *Proceedings XXXIX Convegno Società Italiana di Agronomia*, Rome, 20-22 September 2010. pp 207-208.
- Fagnano, M., P. Adamo, M.V. Zampella & N. Fiorentino, 2011. Environmental and agronomic impact of fertilization with composted organic fraction from municipal solid waste. *Agric. Ecosyst. Environ.* 141: 100-107.
- Fagnano, M., L. Boccia, S. Pindozi, R. Infascelli & S. Faugno, 2012. Aree potenzialmente convertibili a colture energetiche: caso studio della Regione Campania, in. *XLI Convegno Società Italiana di Agronomia*, Bari, September19–21, pp 464-466.
- Fagnano, M., A. Impagliazzo, M. Mori & N. Fiorentino, 2015. Agronomic and environmental impacts of giant reed (*Arundo donax* L.): results from a long-term field experiment in hilly areas subject to soil erosion. *Bioenerg. Res.*, 8: 415-422.

- Fagnano, M. 2015. Il contributo del progetto LIFE-Ecoremed per l'identificazione e il risanamento dei suoli agricoli inquinati. Slide del workshop: Chimica, ambiente e territorio. 30 settembre 2015, Caserta.
- Farrell, A.E., R.J. Plevin, B.T. Turner A.D. Jones, M. O'Hare & D.M. Kammen, 2006. Ethanol can contribute to energy and environmental goals. *Science*, 311: 506-508.
- Fiorentino, N., A. Impagliazzo, V. Ventrino, O. Pepe, A. Piccolo & M. Fagnano, 2010. Biomass accumulation and heavy metal uptake of giant reed on polluted soil in southern Italy. *J. Biotechnol.*, 150, S1: 261.
- Fiorentino, N., M. Fagnano, P. Adamo, A. Impagliazzo, M. Mori, O. Pepe, V. Ventrino & A. Zoina, 2013. Assisted phytoextraction of heavy metals: compost and *Trichoderma* effects on giant reed (*Arundo donax* L.) uptake and soil N-cycle microflora Ita. *J. of Agro.*, 8: 244-254.
- Fiorentino, N., V. Ventrino, C. Rocco, V. Cenvinzo, D. Agrelli, L. Gioia, I. Di Mola, P. Adamo, O. Pepe & M. Fagnano, 2016. Giant reed growth and soil biological fertility in assisted phytoremediation of an industrial polluted soil. *Sci. Total Environ.* 575: 1375–1383.
- Fiorentino, N., V. Ventrino, C. Bertora, O. Pepe, G. Moschetti, G. Grignani & M. Fagnano, 2016. Changes in soil mineral N content and abundances of bacterial communities involved in N reactions under laboratory conditions as predictors of soil N availability to maize under field conditions. *Biol. Fertil. Soils* 52: 523-537.
- Flexas, J., J. Bota, F. Loreto, G. Cornic & T.D. Sharkey, 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology* 6(3): 269-279.
- Forte, A., A. Zucaro, M. Fagnano, S. Bastianoni, R. Basosi & A. Fierro, 2015. LCA of *Arundo donax* L. lignocellulosic feedstock production under Mediterranean conditions. *Biomass and Bioenergy* 73:32-47.
- Frandsen, P.R. 1997. Team Arundo: Interagency Cooperation to Control Giant Reed Cane (*Arundo donax*). In: James OL and Thiert JW (Eds.). *Assessment and Management of Plant Invasions*, Springer, New York, USA, 244-247.
- Galvez, A., T. Sinicco, M.L. Cayuela, M.D. Mingorance, F. Fornasier & C. Mondini, 2012. Short term effects of bioenergy by-products on soil C and N dynamics, nutrient availability and biochemical properties. *Agric. Ecosyst. Environ.* 160: 3–14.
- García Frutos, F.J., R. Pérez, O. Escolano, A. Rubio, A. Gimeno, M.D. Fernandez, G. Carbonell, C. Perucha & J. Laguna, 2012. Remediation trials for Hydrocarbon-contaminated sludge from a soil washing process: Evaluation of bioremediation technologies. *J. Hazard. Mater.*: 199-200, 262-271.
- Georgakakos, K.P. 1992. Advances in forecasting flash floods. In: *Proceedings of the CCNAA-AIT Joint Seminar on Prediction and Damage Mitigation of Meteorologically Induced Natural Disasters*, 21–24 May 1992, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, pp. 280–293.
- Gerland, P., AE. Raftery, H. Sevcíková, N. Li, D. Gu, T. Spoorenberg, L. Alkema, BK. Fostick, J. Chunn, N. Lalic, G. Bay, T. Buettner, GK. Heilig & J. Wilmoth, 2014. World population stabilization unlikely this century. *Science* 346: 234-237.
- Grattan, S.R. & C.M. Grieve, 1999. Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 78: 127–157.
- Greenway, H. & R. Munns, 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual review of plant physiology*, 31(1): 149-190.
- Guo, ZH. & XF. Miao, 2010. Growth changes and tissues anatomical characteristics of giant reed (*Arundo donax* L.) in soil contaminated with arsenic, cadmium and lead. *J Cent South Univ* 17:770–7.

- Hattori, T. & S. Morita, 2010. Energy crops for sustainable bioethanol production; which, where and how? *Plant Prod. Sci.*, 13: 221-234.
- Hill, J., E. Nelson, D. Tilman, S. Polasky & D. Tiffany, 2006. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103: 11206-11210.
- Hunt, R. 1990. *Basic Growth Analysis*. University Park Press, Baltimore. Causton D R, Venus J C (1981). *The Biometry of Plant Growth*. Ed Arnold.
- Hutchings, M.J. & E.A. John, 2004. The effects of environmental heterogeneity on root growth and root/shoot partitioning. *Ann. Bot.* 94:1-8.
- Impagliazzo, A., M. Mori, N. Fiorentino, I. Di Mola, L. Ottaiano, D. De Gianni, S. Nocerino & M. Fagnano, 2017. Crop growth analysis and yield of a lignocellulosic biomass crop (*Arundo donax* L.) in three marginal areas of Campania region. *Ita. J. Agron.*, 12:755.
- IPCC, 2014. Fifth Assessment Report, (AR5). Synthesis report. Climate Change 2014 Synthesis Report Summary for Policymakers Contribution of Working Groups I, II, III and IV to the fifth assessment report. IPCC, Geneva.
- Kabata-Pendias, A. & H. Pendias, 2001. *Trace elements in soils*. 3rd ed. Boca Raton, London.
- Kaur, A., J. Singh, K. Sukhdev Singh, AK. Sexana, R.M. Pandita & M. Shamnugavel, 2005. Isolation of an N-acetyl-D-glucosamine specific lectin from the rhizomes of *Arundo donax* with antiproliferative activity. *Phytochemistry*, 66: 1933–1940.
- Keeling, A.A. & G.L. Cater, 1998. Toxicity of copper, lead, nickel and zinc in agar culture to aerobic, diazotrophic bacteria extracted from waste-derived compost. *Chemosphere* 37: 1073-1077.
- Khuzhaev, VU. & SF. Aripova, 1994. SF. Dynamics of the accumulation of the alkaloids of *Arundo donax*. *Chem Nat Compd.* 30:637–8.
- Khuzhaev, VU. 2004. Alkaloids of *Arundo donax*. XVIII. Nitrogenous bases in flowers of cultivars. *Chem Nat Compd.* 40:516–7.
- Khuzhaev, VU. & SF. Aripova, 1998. Alkaloids of *Arundo donax*. *Chem Nat Compd.* 34 108–9.
- Khuzhaev, VU., IZh. Zhalolov, MG. Levkovich, SF. Aripova & AS. Shashkov, 2004b. Alkaloids of *Arundo donax*. 15. A new dimeric indole alkaloid arundarine from the roots of *Arundo donax* L. *Russ Chem B* 53:1765–7.
- Levitt, J. 1980. Response of plant to environmental stresses. Academic Press, N.Y., 2:, 365–488.
- Lewandosky, I., JMO. Scurlock, E. Lindvall M. Christou, 2003. The development and current status of perennial rhizomatous grasses as energy crops in the US and Europe. *Biomass and Bioener.* 25:335-61.
- Lewandowski, I., U. Schmidt, M. Londo & A. Faaij, 2006. The economic value of the phytoremediation function. *Agr. Sys.* 89/1:68-89 .
- Lima, D.L.D., S.M. Santos, H.W. Scherer, R.J. Schneider, A.C. Duarte, E.B.H. Santos & V.I. Esteves, 2009. Effects of organic and inorganic amendments on soil organic matter properties. *Geoderma* 150: 38-45.
- Longstreth, DJ. & PS. Nobel, 1979. Salinity Effects on Leaf Anatomy. Consequences for photosynthesis. *Plant Physiol.*, 63: 700-703.
- Luo, L., Y. Ma, S. Zhang, D. Wei & Y.G. Zhu, 2009. An inventory of trace element inputs to agricultural soils in China. *J. Environ. Manage.* 90(8):2524–2530.
- Lynch, J.M. & A.J. Moat, 2005. Bioremediation- prospects for the future application of innovative applied biological research. *Ann. Appl. Biol.* 146: 217-221.
- Maas, EV. 1986. Salt tolerance of plants. *Applied Agricultural Research* 1(1): 12-26.

- Mantineo, M., GM. D'Agosta, V. Copani, C. Patanè & SL. Cosentino, 2009. Biomass yield and energy balance of three perennial crops for energy use in the semi-arid Mediterranean environment. *Field Crops Res.* 114:204-13.
- McGrath, S.P., E. Lombi, C.W. Gray, N. Caille, S.J. Dunham & F.J. Zhao, 2006. Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*. *Environ. Pollut.* 141: 115-25.
- McKendry, P. 2002. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresource Technology*, 83:37-46.
- Meers, E., S. Lamsalb, P. Vervaeke, M. Hopgood, N. Lustic & F.M.G. Tack, 2004. Availability of heavy metals for uptake by *Salix viminalis* on a moderately contaminated dredged sediment disposal site. *Environmental Pollution Volume 137*: 354–364.
- Mirza, N., Q. Mahmood, A. Pervez, R. Ahmad, R. Farooq, M.M. Shah & M.R. Azim, 2010. Phytoremediation potential of *Arundo donax* in arsenic contaminated synthetic wastewater. *Bioresour. Technol.* 101: 5815-5819.
- Mori, M., M. Amato, I. Di Mola, R. Caputo, F. Quaglietta Chiarandà & T. Di Tommaso 2008. Productive behaviour of “cherry”-type tomato irrigated with saline water in relation to nitrogen fertilization. *Eur. J. Agron.* 29: 135–143.
- Mori, M., I. Di Mola & F. Quaglietta Chiarandà, 2011. Salt stress and transplant time in snap bean: growth and productive behaviour. *International Journal of Plant Production*, 5(1): 49-64.
- Munns, R. & A. Termaat, 1986. Whole-plant response to Salinity. *Aus. J. Plant Physiol.*, 13, 143-160.
- Munns, R. 1999. The impact of salinity stress. *The Foundation for Sustainable Agriculture – Coping with Plant Environment Stress*.
- Nackley, LL. & SH. Kim, 2015. A salt on the bioenergy and biological invasions debate: salinity tolerance of the invasive biomass feedstock *Arundo donax*. *Global Change Biology Bioenergy*, 7(4): 752-762.
- Nannipieri, P., B. Ceccanti & S. Grago, 1990. Ecological significance of biological activity in soil. In: Bollag JM, Stotzky G (Eds), *Soil Biochem.* Marcel Dekker, CRC Press, New York, pp 413.
- Nardi, S., A. Muscolo, S. Vaccaro, S. Baiano, R. Spaccini & A. Piccolo, (2007). Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and krebs cycle in maize seedlings. *Soil Biol. Biochem.* 39: 3138-3146.
- Nassi o Di Nasso, N., LG. Angelini & E. Bonari, 2010. Influence of fertilisation and harvest time on fuel quality of giant reed (*Arundo donax* L.) in central Italy. *Eur. J. of Agron.*, 32(3):219- 27.
- Nassi o Di Nasso, N., N. Roncucci, T. Triana, C. Tozzini & E. Bonari 2011a. Productivity of giant reed (*Arundo donax* L.) and miscanthus (*Miscanthus x giganteus* Greef et Deuter) as energy crops: growth analysis. *It. J. of Agron.*, 6:e22: 141-7.
- Nassi o Di Nasso, N., N. Roncucci, T. Triana, C. Tozzini & E. Bonari, 2011b. Seasonal nutrient dynamics and biomass quality of giant reed (*Arundo donax* L.) and miscanthus (*Miscanthus x giganteus* Greef et Deuter) as energy crops. *It. J. of Agron.*, volume 6:e24.
- Nassi o Di Nasso, N., N. Roncucci & E. Bonari, 2013. Seasonal dynamics of aboveground and belowground biomass and nutrient accumulation and remobilization in giant reed (*Arundo donax* L.): a three year study on marginal land. *Bioenerg. Res.* 6:725-736.
- Nelson, K.N., J.W. Neilson, R.A. Root, J. Chorover & R.M. Maier, 2015. Abundance and Activity of 16S rRNA, AmoA and NifH Bacterial Genes During Assisted Phytostabilization of Mine Tailings. *Int. J. Phytoremediation* 17: 493-502.
- Nielsen, M.N. & A. Winding, 2002. Microorganisms as indicators of soil health. NERI Technical Report No. 388. Ministry of the Environment, National Environmental Research Institute, Denmark.

- Norbiato, D., M. Borga, S. Degli Esposti, E. Gaume & S. Anquetin, 2008. Flash flood warning based on rainfall thresholds and soil moisture conditions: An assessment for gauged and ungauged basins. *J. of Hydr.* 36: 274–290.
- Onofry, A. 1940. *La canna comune (Arundo donax L.)*. Cremonese Libraio Editore. Roma.
- Papazoglou, EG., GA. Karantounias, SN. Vemmos & DL. Bouranis, 2005. Photosynthesis and growth responses of giant reed (*Arundo donax L.*) to the heavy metals Cd and Ni. *Environ Int.* 31:243–249.
- Papazoglou, EG., KG. Serelis & DL. Bouranis, 2007. Impact of high cadmium and nickel soil concentration on selected physiological parameters of *Arundo donax L.* *Eur J Soil Bio*;43:207–15.
- Park, Y., W.O.S. Doherty & P.J. Halleya, 2008. Developing lignin-based resin coatings and composites. *Indus. Crops and Products*, 27:163-167.
- Parlamento Italiano, 2000. Legge 23 Dicembre, n. 388. Disposizione per la formazione del bilancio annuale e pluriennale dello Stato (legge finanziaria 2001). *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* n. 302, Supplemento Ordinario n. 219, 29 December 2000.
- Pepe, O., V. Ventorino & G. Blaiotta, 2013. Dynamic of functional microbial groups during mesophilic composting of agro-industrial wastes and free-living (N<sub>2</sub>)-fixing bacteria application. *Waste Manag.* 33: 1616-1625.
- Piccolo, R.S.J., F. Santos & E. Frollini, 1997. Sugar cane bagasse lignin in resol-type resin: alternative application for ligninphenol-formaldehyde resins. *Journal of Macromolecular Science Part A-Pure and Applied Chemistry*, 34:153-164.
- Piccolo, A., S. Nardi & G. Concheri, 1992. Structural characteristic of humic substances as related to nitrate uptake and growth regulation in plant system. *Soil Biol. Biochem.* 24: 373-380.
- Pilu, R., A. Bucci, F. C. Badone & M. Landoni, 2012. Giant reed (*Arundo donax L.*): A weed plant or a promising energy crop. *Afr J Biotechnol*, 11(38): 9163-9174.
- Pirozzi, D., A. Yousuf, M. Fagnano, M. Mori, N. Fiorentino & A. Impagliazzo, 2010. Lipids production by yeast grown on giant reed biomass. *J. Biotechnol.*, 150:167-8.
- Pirozzi, D., N. Fiorentino, A. Impagliazzo, F. Sannino, A. Yousuf & M. Fagnano, 2015. Lipid production from *Arundo donax* growth under different agronomical conditions. *Renewable Energy*, 77:456-62.
- Pizzolongo, P. 1962 Osservazioni cariologiche su *Arundo donax* e *Arundo plinii*. *Annali di botanica*, 27:173–87.
- Pompeiano, A., F. Vita, S. Miele & L. Guglielmetti, 2013. Freeze tolerance and physiological changes during cold acclimation of giant reed [*Arundo donax (L.)*]. *Grass Forage Sci* 70: 168-175.
- Prasanna, M.V., S. Chitamparam, A.S. Hameed & K. Srinivasamoorthy, 2011. Hydrogeochemical analysis and evaluation of groundwater quality in the Gadilam river basin, Tamil Nadu, India. *J. Earth Syst. Sci.* 120(1):85–98.
- Puglisi, E., G. Fragoulis, A.A. Del Re, R. Spaccini, A. Piccolo, G. Gigliotti & M. Trevisan, 2008. Carbon deposition in soil rhizosphere following amendments with compost and its soluble fractions, as evaluated by combined soil-plant rhizobox and reporter gene systems. *Chemosphere* 73: 1292-1299.
- Puijalon, S., F. Piola & G. Bornette, 2008. Abiotic stresses increase plant regeneration ability. *Evol. Ecol.* 22, 493-506.
- Qin, Z., Q. Zhuang, X. Zhu, X. Cai & X. Zhang, 2011. Carbon consequences and agricultural implications of growing biofuels crops on marginal agricultural lands in China. *Environ Sci Technol.* 45:10765–72.

- Rossa, B., AV. Tüffers, G. Naidoo & DJ. von Willert, 1998. *Arundo donax* L. (Poaceae) a C3 species with unusually high photosynthetic capacity. *Bot. Acta* 111:216-21.
- Sabeen, M., Q. Mahmood & M. Irshad, 2013. Cadmium Phytoremediation by *Arundo donax* L. from Contaminated Soil and Water., *BioMed Research International*, vol. 2013, Article ID 324830
- Sánchez, E., D. Scordia, G. Lino, C. Arias, SL. Cosentino & S. Nogués, 2015. Salinity and Water Stress Effects on Biomass Production in Different *Arundo donax* L. Clones. *Bioenergy Research* 8: 1461–1479.
- Schiavon, M., D. Pizzeghello, A. Muscolo, S. Vaccaro, O. Francioso & S. Nardi, 2010. High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (*Zea mays* L.). *J. Chem. Ecol.* 36: 662-669.
- Scordia, D., SL. Cosentino, J. Lee & TW. Jeffries, 2011. Dilute oxalic acid pretreatment for biorefining giant reed (*Arundo donax* L.). *Biomass Bioenerg.* 35:3018–24.
- Sellamuthu, K.M. & M. Govindaswamy, 2003. Effect of fertiliser and humic acid on rhizosphere microorganisms and soil enzymes at an early stage of sugarcane growth. *Sugar Tech.* 5: 273-277.
- Skevas, T., S.M. Swinton & N.J Hayden, 2014. What type of landowner would supply marginal land for energy crops? *Biomass Bioenergy* 67: 252–259.
- Smith, P. & JE. Olesen, 2010. Synergies between the mitigation of, and adaptation to, climate change in agriculture. *Journal of Agricultural Science*, 148: 543-552.
- Smith, R. & FM. Slater, 2011. Mobilization of minerals and moisture loss during senescence of the energy crops *Miscanthus x giganteus*, *Arundo donax* and *Phalaris arundinacea* in Wales, UK. *GCB Bioenergy* 3:148–57.
- Suárez-Estrella, F., M.C. Vargas-García, M.J. López & J. Moreno, 2008. Effect of Humic Substances Extracted from Compost to Plant Growth and Soil Microorganisms. *Dynamic Soil, Dynamic Plant* 2: 96-102.
- Tanji, K. K. 2002. Salinity in the soil environment. In *salinity: environment- Plants-Molecules*. Läuchli, A., Lüttge, U. (eds). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht (The Netherlands), pp. 21-52.
- Tolbert, V.R. & A. Schiller, 1995. Environmental enhancement using short-rotation woody crops and perennial grasses as alternatives to traditional agricultural crops. In: *Proceedings of Conference “Environmental Enhancement Through Agriculture”*, Boston, Massachusetts, November 15-17.
- Vallini, G., A. Pera, M. Agnolucci & M.M. Valdrighi, 1997. Humic acids stimulate growth and activity of invitro tested axenic cultures of soil autotrophic nitrifying bacteria. *Biol. Fertil. Soils* 24: 243-248.
- Varanini, Z. & R. Pinton, 2001. Direct versus indirect effects of soil humic substances on plant growth and nutrition. In: *Pinton R., Varanini Z., Nannipieri P. (Eds.), The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. Dekker, New York.
- Ventorino, V., A. De Marco, O. Pepe, A. Virzo, A. Piccolo & G. Moschetti, 2010. Response of soil microbial communities to iron-porphyrin catalytic amendments. *J. Biotechnol.*, 150: 293-294.
- Ventorino, V., R. Parillo, A. Testa, S. Viscardi, F. Espresso & O. Pepe, 2016. Chestnut green waste composting for sustainable forest management: microbiota dynamics and impact on plant disease control. *J. Environ. Manag.* 166: 168-177.
- Ververis, C., K.Georghiou, N. Christodoulakis, P. Santas & R. Santas, 2004. Fiber dimensions, lignin and cellulose content of various plant materials and their suitability for paper production. *Industrial Crops and Products*, 19:245-54.
- von Wandruszka, R. 2000. Humic acids: Their detergent qualities and potential uses in pollution remediation. *Geochem. Trans.* 1: 1-6.

- Webster, R.J., S.M. Driever, J. Kromdijk, J. McGrath, A.D. Leakey, K. Siebke, T. Demetriades-Shah, S. Bonnage, T. Peloe, T. Lawson & S.P. Long, 2016. High C3 photosynthetic capacity and high intrinsic water use efficiency underlies the high productivity of the bioenergy grass *Arundo donax*. *Scientific reports*, 6: 20694.
- Wiegmann, K., K.J. Hennenberg & U.R. Fritsche, 2008. Degraded Land and Sustainable Bioenergy Feedstock Production. Issue Paper of the Joint International Workshop on High Nature Value Criteria and Potential for Sustainable Use of Degraded Lands, Paris. Oeko-Institut (Darmstadt): 1–10.
- Williams, C.M.J., T.K. Biswas, G. Schrale, J.G. Virtue & S. Heading, 2008. Use of saline land and wastewater. Paper presented at Irrigation Australia 2008 Conf., held May 20-22, Melbourne.
- Williams, C. & T. Biswas, 2010. Commercial Potential of Giant reed for Pulp, Paper and Biofuel Production. Rural Industries Research and Development Corporation. Australia.10:215.
- Wu, L.H., Y.M. Luo, X.R. Xing & Christie, P. 2004. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk. *Agr. Ecosyst. Environ.* 102: 307-318.
- Xu X., B. Gao, Y. Zhao, S. Chen, X. Tan, Q. Yue, J. Lin & Y. Wang, 2012. Nitrate removal from aqueous solution by *Arundo donax* L. reed based anion exchange resin. *J Hazard Mater.* 203– 4:86–92.
- Yakovchenko, V.I., L.J. Sikora & D.D. Rauffman, 1996. A biologically based indicator of soil quality. *Biol. Fertil. Soils* 21: 245-251.
- Yeo, A. 1998. Predicting the interaction between the effects of salinity and climate change on crop plants. *Scientia Horticulturae*, 78: 159-174.
- You, S.J., Y.P. Tsai & R.Y. Huang, 2009. Effect of heavy metals on nitrification performance in different activated sludge processes. *J. Hazard. Mater.* 165: 987-994.
- Zhalolov, I., B. Tashkhodzhaev, V.U. Khuzhaev & S.F. Aripova, 2002a. Alkaloids of *Arundo donax*. IX. Crystal structure of arundamine. *Chem Nat Compd.* 38:83–6.
- Zhang, Q.R., Q.X. Zhou, L.P. Ren, Y.G. Zhu & S.L. Sun, 2006. Ecological effects of crude oil residues on the functional diversity of soil microorganisms in three weed rhizospheres. *J. Environ. Sci.* 18, 1101-1106.