

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI “FEDERICO II”



**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA STRUTTURALE E FUNZIONALE
DOTTORATO IN BIOLOGIA APPLICATA
INDIRIZZO ECOLOGIA TERRESTRE
XVIII CICLO**

TESI DI DOTTORATO

**Applicazione di compost in suoli agrari.
Valutazione dell'attività biologica e monitoraggio di
metalli pesanti e di alcuni microrganismi potenzialmente
patogeni.**

**Coordinatore
Ch.ma Prof.ssa Amalia Virzo De Santo**

**Candidata
Dott.ssa ANNA LEONE**

**Tutor
Ch.ma Prof.ssa Anna Alfani**

ANNO ACCADEMICO 2005 – 2006

INDICE

INTRODUZIONE

I. 1 – Il Suolo	pag. 6
I. 1.1 – Composizione del suolo.....	pag. 6
I. 2 – La sostanza organica nel suolo.....	pag. 8
I. 3 – La risorsa rifiuti.....	pag. 12
I. 4 – Il compost.....	pag. 13
I. 4. 1 – Il compostaggio.....	pag. 15
I. 4. 1. 1 – Parametri di controllo nel processo di compostaggio	pag. 19
I. 4. 1. 2 – Metodi di compostaggio.....	pag. 23
I. 4. 1. 3 – Il prodotto finale.....	pag. 24
I. 4. 2 – “Il Compost di Qualità”	pag. 25
I. 4. 3 – Utilizzo del compost in agricoltura.....	pag. 26

CAPITOLO II – INDICI DI QUALITA’ DEL SUOLO

Premessa.....	pag. 29
II. 1 – Attività biologiche del suolo	
II. 1. 2 – La respirazione.....	pag. 30
II. 1. 3 – Enzimi del suolo.....	pag. 31
II. 1. 3. 1– Le attività enzimatiche	
II. 1. 3. 1. 1 – Attività idrolasica totale.....	pag. 33

II. 1. 3. 1. 2 – Attività fosfatasica.....	pag. 34
II. 1. 3. 1. 3 – Attività arilsolfatasica.....	pag. 35
II. 1. 3. 1. 4 – Attività β -glucosidasica.....	pag. 35
II. 2 – Metalli pesanti nel suolo.....	pag. 36
II. 2. 1 – Metalli pesanti nel compost.....	pag. 40
II. 2. 1. 1 – Cadmio.....	pag. 41
II. 2. 1. 2 – Cromo.....	pag. 42
II. 2. 1. 3 – Ferro.....	pag. 42
II. 2. 1. 4 – Manganese.....	pag. 43
II. 2. 1. 5 – Nichel.....	pag. 43
II. 2. 1. 6 – Piombo.....	pag. 44
II. 2. 1. 7 – Rame.....	pag. 45
II. 2. 1. 8 – Zinco.....	pag. 45
II. 3 – Macronutrienti	
II. 3. 1 – Magnesio.....	pag. 46
II. 3. 2 – Potassio.....	pag. 46
II. 4 – Contaminazione microbica.....	pag. 47
II. 4. 1 – Coliformi totali e fecali.....	pag. 50
II. 4. 2 – Enterobacteriaceae.....	pag. 51
II. 4. 3 – Salmonelle.....	pag. 52
II. 4. 4 – Streptococchi fecali.....	pag. 53
 CAPITOLO III – LAVORO SPERIMENTALE	
III. 1 – Scopo della ricerca.....	pag. 54

CAPITOLO IV – AREA DI STUDIO

IV. 1 – Suoli agrari dell'area mediterranea.....	pag. 55
IV. 2 – Stazioni sperimentali.....	pag. 56
IV. 2. 1 – Caratteristiche del terreno di Pontecagnano.....	pag. 58
IV. 2. 2 – Caratteristiche del terreno di Battipaglia.....	pag. 58
IV. 3 – Tesi sperimentali e colture impiegate.....	pag. 59
IV. 4 – Caratteristiche del compost impiegato.....	pag. 60
IV. 5 – Campionamento.....	pag. 65

CAPITOLO V – MATERIALI E METODI

V. 1 – Attività biologiche	
V. 1. 1 – Tenore idrico.....	pag. 66
V. 1. 2 – Respirazione.....	pag. 66
V. 1. 3 – Attività idrolasica totale.....	pag. 67
V. 1. 4 – Attività fosfatasica, arilsolfatasica, β -glucosidasica.....	pag. 67
V. 2. – Metalli pesanti	
V. 2. 1 – Contenuto totale.....	pag. 68
V. 2. 2 – Frazione disponibile.....	pag. 68
V. 3 – Contaminanti microbici	
V. 3. 1 – Conta batterica totale.....	pag. 69
V. 3. 2 – Metodo del numero più probabile o dei tubi multipli (MPN).....	pag. 69
V. 3. 3 – Conta dei Coliformi totali e fecali.....	pag. 70
V. 3. 4 – Conta delle Enterobacteriaceae.....	pag. 71
V. 3. 5 – Identificazione delle Salmonelle.....	pag. 71
V. 3. 6 – Conta degli Streptococchi fecali.....	pag. 72

V. 4 – Analisi Statistica.....	pag. 72
--------------------------------	---------

CAPITOLO VI – RISULTATI E DISCUSSIONE

VI. 1 – Attività biologiche

VI. 1. 1 – Respirazione.....	pag. 74
------------------------------	---------

VI. 1. 2 – Attività enzimatiche

VI. 1. 2. 1 – Attività idrolasica.....	pag. 75
--	---------

VI. 1. 2. 2 – Attività fosfatasica.....	pag. 77
---	---------

VI. 1. 2. 3 – Attività arilsolfatasica.....	pag. 79
---	---------

VI. 1. 2. 4 – Attività β -glucosidasica.....	pag. 80
--	---------

VI. 2 – Metalli pesanti

VI. 2. 1 – Risultati.....	pag. 84
---------------------------	---------

VI. 2. 1. 1 – Cadmio	pag. 84
----------------------------	---------

VI. 2. 1. 2 – Cromo	pag. 85
---------------------------	---------

VI. 2. 1. 3 – Ferro.....	pag. 85
--------------------------	---------

VI. 2. 1. 4 – Manganese.....	pag. 86
------------------------------	---------

VI. 2. 1. 5 – Nichel.....	pag. 87
---------------------------	---------

VI. 2. 1. 6 – Piombo.....	pag. 87
---------------------------	---------

VI. 2. 1. 7 – Rame.....	pag. 88
-------------------------	---------

VI. 2. 1. 8 – Zinco.....	pag. 89
--------------------------	---------

VI. 3 – Macronutrienti

VI. 3. 1 – Risultati

VI. 3. 1. 1 – Magnesio.....	pag. 89
-----------------------------	---------

VI. 3. 1. 2 – Potassio.....	pag. 90
-----------------------------	---------

VI. 4 – Discussione.....	pag. 90
VI. 5. – Contaminanti microbici	
VI. 5. 1 – Carica Batterica Totale.....	pag. 93
VI. 5. 2 – Coliformi totali e fecali.....	pag. 94
VI. 5. 3 – Enterobacteriaceae.....	pag. 95
VI. 5. 4 – Salmonelle.....	pag. 95
VI. 5. 5 – Streptococchi fecali.....	pag. 95
Tabelle, Figure, Foto.....	pag. 97
CAPITOLO VII – CONCLUSIONI.....	pag. 127
Ringraziamenti.....	pag. 129
BIBLIOGRAFIA.....	pag. 130

I

INTRODUZIONE

1.1. Il Suolo

Il suolo è un sottile involucro che ricopre la crosta terrestre a contatto con l'atmosfera, la sua natura e composizione dipendono da un equilibrio tra fattori ambientali di carattere chimico, fisico e biologico. Il suolo è stato definito come un sottosistema degli ecosistemi terrestri (Evans, 1956; Di Castri, 1970). Esso rappresenta una risorsa naturale importante, grazie alla presenza di una ricca microflora e microfauna, in esso si completano i cicli dell'azoto, del carbonio, del fosforo e di tutti gli altri elementi che sono fondamentali per tutti gli esseri viventi. Si è formato inizialmente attraverso la disintegrazione e la decomposizione della roccia originale mediante processi di natura fisica e chimica, ed è influenzato dall'attività di piante e animali nonché dai rifiuti da essi prodotti. Il suolo copre circa un terzo dell'intera superficie terrestre, con uno strato di spessore variabile da pochi centimetri ad una decina di metri, a seconda dell'intensità e della durata dei processi di trasformazione subiti dalle rocce dalle quali deriva.

I. 1.1. Composizione del suolo

Il suolo è costituito da una fase solida, di natura inorganica o organica, una fase liquida ed una fase gassosa, strettamente interconnesse tra di loro. La fase solida presenta una componente inorganica costituita in massima parte da silicati, ossidi e idrossidi di ferro, alluminio, manganese e da una componente organica. Le particelle minerali che costituiscono la fase solida si distinguono in scheletro e terra fine, a seconda che il loro diametro sia superiore o inferiore ai 2 mm. La terra fine, a sua volta, è suddivisa in varie classi granulometriche, secondo lo schema seguente:

Diametro delle particelle in μm

- Ghiaia > 2000
- Sabbia grossolana 2000-200
- Sabbia fine 200-20
- Limo 20-2
- Argilla < 2

Queste derivano dall'alterazione della roccia in materiale più piccolo e incoerente che si accumula a formare i depositi superficiali. L'accumulo del materiale incoerente può avvenire nel luogo dove è stata disgregata la roccia (suoli autoctoni) o in altri luoghi dove le particelle vengono trasportate dai fiumi, dal vento, dai ghiacciai e dalla forza di gravità (suoli alloctoni).

La composizione percentuale delle diverse classi granulometriche determina la tessitura del suolo. Suoli con la stessa tessitura possono presentare strutture differenti in relazione al modo in cui le particelle sono associate tra di loro nella formazione degli aggregati, sulle cui superfici vivono i microrganismi.

Tessitura e struttura del suolo influenzano direttamente la porosità, la permeabilità, il contenuto in acqua, l'aerazione ed in una certa misura la temperatura, determinando così le caratteristiche dei microhabitat del biota del suolo.

Dai processi di degradazione cui vanno incontro i residui di vegetali (foglie, frutti, rami secchi o intere piante) ed animali morti deriva, invece, la frazione organica del suolo. La fase solida organica, quindi, è rappresentata da una componente vivente, costituita da tutti gli organismi edafici collettivamente indicati con il termine "edaphon" e da una componente non vivente che include residui di piante, di animali, e di microrganismi, in vari stadi di decomposizione e da sostanze sintetizzate dagli organismi.

I composti organici possono mantenersi inalterati per lunghi periodi (composti non-umici) o andare incontro a profonde e veloci trasformazioni della loro struttura chimica originaria (composti umici o humus). I processi di trasformazione che la materia organica subisce nel suolo sono operati principalmente dalla microflora edafica (mineralizzazione), con liberazione di nutrienti minerali, ma anche da processi di natura fisico-chimica (umificazione) che conducono alla formazione dell'humus, un composto colloidale amorfo, eterogeneo e complesso, di colore scuro. La presenza dell'humus migliora la struttura del suolo, rendendo più sciolti i suoli compatti per eccessiva quantità di argilla e più corposi i suoli sabbiosi. Le sostanze umiche, analogamente alla frazione argillosa, sono componenti della frazione colloidale del suolo. Esse sono idrofile ed essendo cariche negativamente legano i cationi scambiabili. L'acqua e l'aria occupano gli spazi liberi tra le particelle solide (pori), collegati fra loro a formare una fitta ed estesa rete che rende possibile il movimento dell'acqua nel suolo (Marchetti, 1998).

La fase liquida del suolo è rappresentata dall'acqua e dalle sostanze in essa disciolte, la quale deriva principalmente dalle precipitazioni, dalla falda acquifera o dalle acque di superficie. Non tutta l'acqua presente nel suolo è disponibile per la vegetazione. Gli organismi possono utilizzare l'acqua contenuta nei pori di dimensione superiore a 50 µm, la

quale però viene rapidamente drenata sotto l'influenza della forza di gravità (acqua gravitazionale) per cui la principale risorsa idrica per il biota del suolo è l'acqua contenuta nei pori di dimensioni inferiori a 50 μm (acqua di capillarità) mentre è inutilizzabile l'acqua igroscopica perché fortemente adsorbita dalle particelle minerali.

Il tenore idrico del terreno varia nel corso dell'anno in relazione alla distribuzione delle precipitazioni; le misure di umidità hanno scarso significato come valori assoluti, mentre hanno grande interesse comparativo quando più suoli vengono studiati contemporaneamente (Pignatti, 1976).

La fase gassosa, ossia l'atmosfera del suolo è rappresentata dall'aria che occupa gli interstizi vuoti. Questa non ha la medesima composizione chimica dell'aria atmosferica poiché, mancando uno scambio rapido con l'atmosfera, la respirazione delle radici e di tutti gli organismi edafici aerobi, porta allo stabilirsi di un gradiente di CO_2 che aumenta verso gli strati più profondi, mentre diminuisce l'ossigeno. Inoltre l'aria del suolo contiene gas come NH_3 e CH_4 derivanti dall'attività microbica. La quantità di aria contenuta è funzione della tessitura. Così i suoli sabbiosi contengono più aria dei suoli argillosi.

1. 2. La sostanza organica nel suolo

La fertilità agronomica del terreno, cioè la sua capacità di sostenere produzioni vegetali di quantità e qualità soddisfacenti e soprattutto costanti nel tempo, dipende da una molteplicità di fattori fisici, chimici e microbiologici.

Un ruolo fondamentale nella regolazione e nell'armonizzazione di questi fattori è svolto dalla sostanza organica presente nel suolo e in particolare dalla sua forma più preziosa e stabile, l'humus.

La sostanza organica del terreno ha una profonda influenza su tutti gli aspetti della vita degli organismi (piante, batteri, funghi, e molti altri) che vivono nel suolo.

Essa ha un ruolo determinante nella formazione della struttura fisica del terreno in quanto contribuisce ad aggregare le particelle minerali, favorendo l'equilibrio fra le componenti del suolo: aria, acqua e fase solida. Nella pratica agricola una presenza significativa di sostanza organica nel terreno, come si ha, ad esempio, dopo un prato poliennale, corrisponderà ad una migliore lavorabilità; consentirà tempi di intervento più ampi e migliori condizioni di abitabilità per le colture; permetterà una adeguata ritenzione dell'acqua favorendone la disponibilità alle piante; diminuirà l'erosione, il compattamento e la formazione di croste e di crepe.

Molteplici e importantissime sono le azioni della sostanza organica sulla disponibilità degli elementi nutritivi per le piante. Come è noto, la fertilità dei terreni naturali è regolata, nel periodo successivo all'avvio del processo pedogenetico, dalle caratteristiche del substrato litologico, dall'orientamento e dalla velocità dei processi che ne determinano la disgregazione.

Successivamente, nelle fasi più avanzate dell'evoluzione del suolo la fertilità è regolata, in modo via via più consistente, dall'attività biologica responsabile del riciclo dei residui organici che si accumulano sul terreno e della loro mineralizzazione, da cui dipende la disponibilità dei nutrienti. Le molecole organiche, per la loro natura polianionica, hanno una forte tendenza ad adsorbire cationi nutritivi solubili (come il potassio e l'azoto ammoniacale) per renderli disponibili alle radici e limitando le perdite di elementi dal terreno per lisciviazione durante i periodi piovosi. Nello stesso tempo l'attività metabolica dei microrganismi che vivono sulla sostanza organica svolge un ruolo importante nella solubilizzazione e quindi nell'assorbimento radicale di sostanze nutritive presenti in forme chimiche poco assimilabili, come il fosforo e i microelementi, nonché nella produzione di sostanze ormonosimili che hanno effetti biostimolanti per alcune funzioni proprie delle piante quali la germinazione, la radicazione e l'accrescimento. Infine i terreni ben dotati di sostanza organica hanno una microflora e una microfauna attive e ben equilibrate in grado di contrastare lo sviluppo di organismi patogeni radicali (Vizioli, 1997).

La quantità e la qualità della sostanza organica presente nel terreno dipendono non solo dai residui organici che pervengono al suolo, ma anche dal particolare orientamento e dalla velocità relativa dei processi di umificazione e di mineralizzazione a cui tali residui sono sottoposti, in rapporto al clima e ad alcune caratteristiche fisiche e chimiche dei suoli che regolano l'attività dei microrganismi e della fauna edafica (Stevenson, 1982).

Le caratteristiche dell'humus dipendono fortemente da quelle dei materiali di partenza. La sostanza organica di origine animale (come liquami o pollina) non è infatti, in grado di produrre humus stabile senza il contributo di materiali ligno-cellulosici (paglia, trucioli, residui di potatura e altri). Una buona umificazione si ha quindi a partire da materiale organico di provenienza diversa, in presenza di un'alta complessità della popolazione microbica e di condizioni ambientali idonee (arieggiamento, umidità e temperatura). Un classico esempio di questo processo è la maturazione di un cumulo di letame ricco di paglia che porta dopo alcuni mesi alla formazione di un materiale omogeneo ricco appunto di sostanze umiche. Per aumentare la fertilità del terreno, occorre comunque lavorare su tempi lunghi, anche incorporando sostanza organica in condizioni ottimali.

L'humus, per la sua natura di sostanza organica va incontro a un processo lento di mineralizzazione ad opera dei microrganismi, restituendo gli elementi nutritivi (azoto, fosforo, zolfo, microelementi) che lo costituivano. L'intensità della mineralizzazione dell'humus varia in funzione del tipo di terreno, del clima, dell'arieggiamento del terreno dovuto alle lavorazioni e della presenza di copertura vegetale, è maggiore nei terreni leggeri, nei periodi caldo umidi, con arature profonde e operazioni energiche come le fresature e quando il terreno viene lasciato a lungo senza la protezione di una copertura vegetale. Il rilascio di nutrienti dovuto alla mineralizzazione dell'humus è notevole. Allo stesso tempo, però, con la mineralizzazione viene meno l'influenza dell'humus sulla fertilità fisica del terreno e si esaurisce la sua funzione di riserva di sostanze nutritive per le piante coltivate e per i microrganismi del terreno. Considerate le importanti funzioni svolte dalla sostanza organica (Tab. I. 1), è evidente che la diminuzione del suo contenuto è un fenomeno di importanza primaria nel determinare il grado di desertificazione di un suolo.

I terreni agricoli coltivati con tecniche intensive sono caratterizzati da un sempre più basso contenuto di sostanza organica (meno dell' 2%) e da una conseguente limitazione dell'attività biologica del suolo. E' per questo di grande importanza compensare la naturale perdita annuale di humus con l'interramento di ammendanti organici, in modo da mantenere un adeguato livello di fertilità (Bastian e Ryan, 1986). Infatti, come dimostrato da molti autori (Clapp et al., 1986; Tate, 1987; Costantini, 1995) il decremento della sostanza organica nel suolo è responsabile della riduzione della fertilità nel suolo.

Influenza sul suolo	Proprietà della sostanza organica	Tipo di azione
Proprietà fisiche	<p>Miglioramento della struttura</p> <p>Influenza sul colore</p> <p>Influenza sulla capacità di ritenzione idrica</p>	<p>Nei terreni argillosi: limitazione dei fenomeni di crepacciatura.</p> <p>Nei terreni sabbiosi: maggiore stabilità strutturale</p> <p>Nei terreni limosi: minor formazione di croste superficiali</p> <p>Modificazione della temperature del suolo</p> <p>Aumenta della capacità di trattenere l'acqua</p>
Proprietà chimiche	<p>Funzioni nutrizionali</p>	<p>DIRETTE: rilascio dovuto a processi di mineralizzazione di N, S, P, C, ecc</p> <p>INDIRETTE: influenza sulla disponibilità di ferro, fosforo, metalli pesanti attraverso fenomeni di chelazione e adsorbimento</p>
Proprietà biologiche	<p>Azione su microfauna e microflora tellurica</p> <p>Azione sulla pianta</p>	<p>Fonte di nutrimento per i microrganismi</p> <p>Stimolazione dell'accrescimento radicale</p>

Tab.I. 1 Funzioni della sostanza organica nel suolo (Centemero et al., 2004)

1. 3. La risorsa rifiuti

Il ciclo naturale che regola la vita di tutti gli esseri viventi non prevede il concetto di rifiuto, in quanto, ciò che viene scartato da alcuni organismi, rappresenta una risorsa per gli altri. Al contrario, le attività gestite dall'uomo sono basate su un modello in cui, a fronte di un prelievo di materia ed energia dall'ambiente per produrre beni di consumo, fa seguito una produzione di rifiuti che vengono poi scaricati nell'ambiente stesso. Infatti, uno dei tratti caratterizzanti le società umane più sviluppate, direttamente derivato dagli stili di vita che le contraddistinguono e le regolano, risulta indubbiamente la massiccia produzione di rifiuti di diversa natura e tipologia, che negli ultimi decenni è andata progressivamente aumentando fino a diventare un vero e proprio problema sociale e ambientale.

Il rifiuto, come emerge sia dalla sua definizione comune, che da quella tecnica, è un semplice scarto che, ponendosi al di fuori del ciclo della materia e dell'energia, rappresenta un serio problema per il Pianeta, ma che l'uomo potrebbe trasformare progressivamente in una preziosa e abbondante risorsa.

Lo sviluppo agricolo, civile e industriale delle attività umane ha come conseguenza, l'aumento dei rifiuti la cui quantità e composizione riflettono lo stato di sviluppo di una Nazione. Infatti, è stata dimostrata una correlazione tra reddito e produzione di rifiuto ed è stato evidenziato come l'uno cresca in maniera direttamente proporzionale all'altro.

La produzione di questi enormi quantitativi di rifiuti è da addebitarsi a numerose cause, convergenti tra loro nell'effetto, tra le quali è in primo luogo da annoverare il rilevante incremento dei consumi che è stato fatto registrare da parte delle popolazioni dei paesi ad economia avanzata.

Per un rilevante arco di tempo, le modalità di tale smaltimento sono state basate sulla destinazione delle diverse tipologie di materiali di rifiuto all'interramento in discarica o alla termodistruzione, con conseguenti inconvenienti legati all'impatto ambientale di questi impianti.

Tra le diverse tipologie di rifiuti prodotti nell'ambito delle diverse attività umane, la componente organica che li caratterizza risulta sicuramente una tra le più difficili da gestire, dal momento che in discarica produce fermentazioni che causano emissioni maleodoranti e formazione di percolati, e l'incenerimento presenta una resa calorica molto bassa, a causa dell'elevata presenza di acqua.

La grande crisi ecologica che affligge tutti i paesi industrializzati spinge studiosi e ricercatori a trovare una soluzione al problema "smaltimento rifiuti", nell'ottica di riciclare il più possibile onde minimizzare l'inquinamento. Il trattamento dei rifiuti in inceneritori

comporta enormi costi di costruzione, di gestione e inoltre, determina l'emissione di gas e sostanze tossiche (Lee et al., 2004).

Negli ultimi anni numerose iniziative sono state attivate da parte di Amministrazioni ed Enti locali, per ridurre i quantitativi di rifiuto smaltiti con le modalità descritte, promuovendo sistemi di raccolta differenziata di diversi tipi di materiali, nella prospettiva di un loro idoneo smaltimento o recupero. Infatti, fino agli anni Settanta, i rifiuti solidi urbani (RSU) erano raccolti in modo indifferenziato e, per la maggior parte, smaltiti direttamente sul/nel suolo, come ammassi incontrollati. A partire dagli anni Settanta ha cominciato a diffondersi il concetto di riciclaggio, effettuato prevalentemente recuperando materiali, ed eventualmente energia, "a valle" della raccolta degli RSU indifferenziati. Negli anni Ottanta si cominciò a capire che un efficace recupero di materiali è possibile solo se si opera una separazione "alla fonte" delle sostanze da recuperare (raccolta differenziata), prima del loro ingresso nella massa dei rifiuti indifferenziati.

Negli anni Novanta ha cominciato poi a farsi strada l'idea che bisogna passare a forme di raccolta differenziata integrata, basate sostanzialmente sulla separazione a livello domestico della frazione "umida" dalla frazione "secca".

La possibilità di sottrarre i rifiuti organici a destinazioni quali, discariche e inceneritori, indirizzandoli verso percorsi di smaltimento più specifici e sicuri e limitando perciò le problematiche indicate, risulta quindi una opzione di rilevante importanza ambientale, anche in considerazione dell'incidenza che la componente organica riveste nella composizione complessiva dei rifiuti solidi urbani (in genere superiore al 30%).

L'opportunità di trasformare i rifiuti organici in un fertilizzante da destinare all'impiego in agricoltura, deriva non soltanto dalla necessità di sottrarre tali materiali alla discarica o all'incenerimento, ma anche in considerazione della scarsa dotazione di sostanza organica che caratterizza i terreni agricoli.

1. 4. Il compost

Il "compost" è un prodotto derivato dalla trasformazione della sostanza organica contenuta nei rifiuti ad opera di microrganismi durante un processo controllato dall'uomo e definito appunto di "compostaggio". Il compost è un prodotto umificato che si ottiene da una miscela di sostanze organiche derivate da rifiuti solidi, generalmente urbani ed agricoli, privata di materiali metallici, vetrosi, plastici e talvolta cellulósici, biodegradabile, con pH intorno a 8, sottoposta a parziale decomposizione microbica e successiva stabilizzazione.

Il termine “compost” deriva dal latino *compositum*, cioè *miscelato*: infatti, all'origine del processo del compostaggio c'è quasi sempre la miscelazione di scarti diversi (Ciccotti et al., 1988), che possono derivare sia dall'attività agricola che da altri settori (rifiuti domestici, urbani, industriali, ecc.).

Trasformare i residui organici in compost può essere uno dei modi per contribuire in modo significativo all'uso sostenibile delle risorse. L'impiego del compost come ammendante dei terreni, oltre a mantenerne la fertilità, permette di ridurre l'impiego di risorse non rinnovabili utilizzate per produrre fertilizzanti chimici, riducendo allo stesso tempo la quantità di scarti organici da avviare alle operazioni di smaltimento. Come per tutti gli ammendanti, l'impiego del compost ha la funzione di migliorare la qualità del suolo, consentendo di conservarne nel lungo periodo la fertilità, il suo stato strutturale, la capacità di assorbire e rilasciare acqua e di trattenere gli elementi nutritivi in forma facilmente assimilabile da parte della pianta, promuovendo tutte le attività biologiche del suolo (Elsgaard et al., 2001); è anche in grado di ostacolare la colonizzazione di eventuali patogeni grazie a meccanismi di antibiosi e competizione da parte dei saprofiti in esso presenti.

Il compost, essendo un prodotto derivato da un processo di tipo conservativo dal punto di vista energetico, mantiene una elevata dotazione di carbonio nella sostanza organica di cui è ben dotato (Centemero e Caimi, 2001).

Per le sue caratteristiche chimiche, in particolare per il suo pH, il compost crea e mantiene nel terreno l'ambiente adatto per la decomposizione della sostanza organica. Siccome tale decomposizione procede molto lentamente, il compost agisce come una riserva di nutrimento immessa nel terreno. Inoltre, si ritiene che per l'azione adsorbente che svolge, il compost ha la capacità di rallentare le migrazioni di contaminanti nel terreno.

Negli ultimi anni si è sviluppato un forte interesse sul potenziale ruolo del compostaggio nella lotta contro l'effetto-serra ed il cambiamento climatico che esso comporta. Sotto tale profilo, va menzionato il ruolo della sostanza organica nel terreno come “sink” –“pozzo” – di carbonio altrimenti disperso in atmosfera come CO₂.

Le pratiche di fertilizzazione organica continuate nel tempo consentono di mantenere o aumentare il tenore in sostanza organica nel suolo, limitando il trasferimento di carbonio, sotto forma di CO₂ all'atmosfera (Centemero e Zanardi, 2006).

La Direttiva della Commissione Europea sulla Strategia per il Suolo sottolinea fortemente il ruolo della fertilizzazione organica sia per la lotta alla desertificazione che per promuovere il “sequestro” di carbonio all'interno del suolo, contribuendo alla lotta al “cambiamento climatico”.

Va ancora ricordato come l'Europa Mediterranea sia inclusa nelle aree a "rischio desertificazione" secondo la Convenzione Internazionale per la Lotta contro la Desertificazione. La diminuzione tendenziale del livello di fertilità dei suoli è un fenomeno rilevante nei paesi del Sud Europa, con notevoli evidenze proprio in Italia, dove si sono registrati molti casi di suoli, e non solo nel Sud, ma persino nelle pianure settentrionali, con un contenuto di sostanza organica inferiore all'1%, laddove da sempre si sono registrati valori superiori a 2%. Oltre a ciò assistiamo nel nostro paese a forti processi di salinizzazione con l'intrusione di acque marine nei corpi acquiferi continentali che innalzano il livello di sali nei terreni agrari con evidenti ripercussioni sulle rese produttive. Anche i processi di erosione che si verificano dove il passaggio dell'acqua causa l'asportazione di suolo, interessano l'Italia per oltre un quarto del territorio. Laddove si ravvisano diminuzioni sensibili del contenuto di sostanza organica dei suoli si possono riscontrare questi effetti negativi sia per quanto riguarda le rese produttive, nel caso di suoli coltivati, che per i rischi ambientali legati ad un territorio (per esempio fenomeni erosivi).

In sintesi si dice che un suolo che perde progressivamente il proprio contenuto in sostanza organica "diminuisce il proprio potenziale biologico".

L'impiego del compost, ammendante organico, migliora la permeabilità dei terreni, evita l'erosione e trattiene l'umidità. Esso può rappresentare una delle risposte a questi problemi, così come l'impiego di altri ammendanti naturali quale per esempio il letame che, però non sempre è disponibile per il regredire dell'allevamento diffuso.

Il compost, una volta aggiunto al suolo, diviene fattore di crescita per le piante e fonte di produzione di nuova sostanza organica (Gallardo-Lara e Nogales, 1987). Inoltre, il compost incrementa la biodiversità e l'attività delle popolazioni microbiche nel suolo, influenzando la struttura, il ciclo dei nutrienti e molti altri parametri fisici, chimici e biologici (Albiach et al. 2000). Infatti, la ricchezza biologica del compost rappresenta un elemento di rilevante importanza, dovuta alle colonie batteriche in esso contenute, in grado di aumentare il livello delle componenti organiche del terreno (Scagliarini, 1999). Alcuni effetti dell'utilizzo del compost sulle caratteristiche del suolo, dipendono dalla quantità di carbonio organico, di azoto organico e inorganico, dal grado di maturazione del compost, dal contenuto di metalli pesanti e dall'aggiunta di fertilizzanti minerali (Crecchio, 2004).

I. 4. 1. Il Compostaggio

Il processo di compostaggio è del tutto analogo a quello che avviene a carico dei residui vegetali ed animali che giungono al suolo: a partire da una matrice organica fermentescibile

e instabile si giunge alla produzione di una componente organica altamente umificata e stabile, in grado di svolgere un'azione positiva sulla fertilità. Il compostaggio è dunque l'anello che consente di chiudere il ciclo della sostanza organica.

La tecnica del compostaggio consente di controllare, accelerare e migliorare il processo naturale a cui va incontro qualsiasi sostanza organica per effetto della flora microbica naturalmente presente nell'ambiente.

Si tratta di un "processo aerobico di decomposizione biologica della sostanza organica che avviene in condizioni controllate (Garcia et al., 1992; Schelegel, 1992), che permette di ottenere un prodotto biologicamente stabile in cui la componente organica presenta un elevato grado di evoluzione; la ricchezza in humus, in flora microbica attiva e in microelementi fa del compost un ottimo prodotto, adatto ai più svariati impieghi agronomici, dal florovivaismo alle colture praticate in pieno campo. I processi di trattamento aerobico consistono in reazioni biologiche ossidative ed esotermiche attraverso le quali le frazioni organiche più labili e fermentescibili sono ossidate ad anidride carbonica ed acqua mentre le più recalcitranti sono concentrate. In seguito a ciò la sostanza organica evolve verso una lenta decomposizione che determina una maggior complessità molecolare in virtù anche dei processi d'umificazione (Adani et al., 2004).

Il compostaggio è un processo "noto" da millenni alle aziende agricole. Gli agricoltori hanno da sempre posto a "maturare" nelle concimaie, i cumuli formati dalle deiezioni del bestiame, dai residui di paglia e da ogni scarto organico che potesse provenire dalle attività aziendali, fino a produrre una sostanza organica parzialmente umificata di alto valore agronomico, il "letame maturo" appunto. Questo, una volta distribuito al terreno agrario, è in grado di produrre tutti i suoi ben noti effetti positivi sulla fertilità.

Il compostaggio prevede un trattamento meccanico di triturazione, vagliatura, selezione e omogenizzazione del materiale di partenza, al fine di giungere alla separazione della sostanza organica, un intenso processo di ossidazione biologica operata da microrganismi aerobi (batteri, funghi e attinomiceti), che porta alla stabilizzazione del rifiuto, e un processo finale di trasformazione chimica, detto maturazione, al termine del quale si ottiene un prodotto utilizzabile come ammendante in agricoltura. Quindi, il processo di compostaggio si compone essenzialmente di due fasi:

- **bio-ossidazione**, nella quale si ha l'igienizzazione della massa: è questa la fase attiva (nota anche come high rate, active composting time), caratterizzata da intensi processi di degradazione delle componenti organiche più facilmente degradabili (Adani, et al., 1997). In questa fase, che si svolge tipicamente in condizioni termofile,

la frenetica attività microbica, operata da organismi appartenenti alla microflora ed alla microfauna del terreno, determina un notevole sviluppo di calore. Si raggiungono elevate temperature, si palesa la necessità di smaltire l'eccesso di calore dal sistema e si ha un'elevata richiesta di ossigeno necessario alle reazioni biochimiche. Diversi gruppi specializzati entrano in gioco man mano che procede l'attacco alla sostanza organica. Dapprima viene demolita la cellulosa e poi vengono attaccate le proteine con produzione di ammoniaca e di nitrati. Le molecole così prodotte seguono destini diversi. In parte vengono liberate come acqua, anidride carbonica e ammoniaca, altre vengono mineralizzate, diventando subito disponibili per le colture (nitrati, fosfati, e altri sali), altre ancora vanno a produrre la sostanza organica stabile seguendo il processo dell'umificazione;

- **maturazione** (o fase di curing), durante la quale si completano i fenomeni degradativi a carico delle molecole meno reattive ed in cui intervengono reazioni di trasformazioni e polimerizzazione a carico delle stesse (con particolare riferimento alla lignina) che portano alla sintesi delle sostanze umiche (Chen e Inbar, 1993).

L'evoluzione della sostanza organica nei processi di compostaggio procede quindi sia in termini quantitativi (variazione del peso totale di ogni singola frazione della sostanza organica contenuta) che qualitativi (modificazione della struttura molecolare delle frazioni). E' in seguito a tali processi che la sostanza organica diviene stabile, matura ed umificata, raggiungendo un grado di evoluzione che dipenderà dai tempi di processo e dalle modalità adottate (Adani e Tambone, 1998). Inoltre, tale processo è tipicamente:

- **aerobico**, ovvero necessita di ossigeno per la mineralizzazione delle componenti a maggiore fermentescibilità, con conseguente stabilizzazione;
- **esotermico**, cioè viene prodotto calore che va in certa misura allontanato dal sistema, onde evitare il surriscaldamento della massa in eccesso rispetto al range di temperature ottimali per i microrganismi coinvolti.

La trasformazione della sostanza organica nel corso del processo di compostaggio è rappresentata nello schema riportato in Fig. I. 1. Qualsiasi tipo di sostanza organica può essere compostata:

- a) scarti vegetali;
- b) rifiuti ad elevato contenuto di sostanza organica biodegradabile, derivanti da attività produttive, commerciali e di servizio;
- c) frazioni organiche provenienti da utenze domestiche;

- d) fanghi di depurazione civili ed agro-industriali;
- e) deiezioni zootecniche.

L'utilizzo del compost in agricoltura contribuisce a far sì che gli scarti organici, derivanti dalle diverse attività antropiche, ritornino al terreno, mantenendo adeguati livelli di fertilità, che non è possibile ottenere con il ricorso esclusivo a concimi chimici.

L'efficacia del processo di compostaggio è definita da due parametri: la stabilità e la maturità.

La stabilità, intesa come eliminazione della frazione organica più facilmente biodegradabile, è funzione dell'attività biologica, per cui la sua misura dovrà essere strettamente legata alla determinazione di quest'ultima (Adani et al., 1997).

La maturità del compost invece si raggiunge con l'assenza di fitotossicità, perciò è indipendente dalla stabilità biologica, come erroneamente si crede. È pur vero comunque che, dipendendo la fitotossicità dalla presenza di sostanze derivanti dal metabolismo intermedio delle molecole in via di decomposizione, una relazione diretta o indiretta potrebbe in taluni casi esservi.

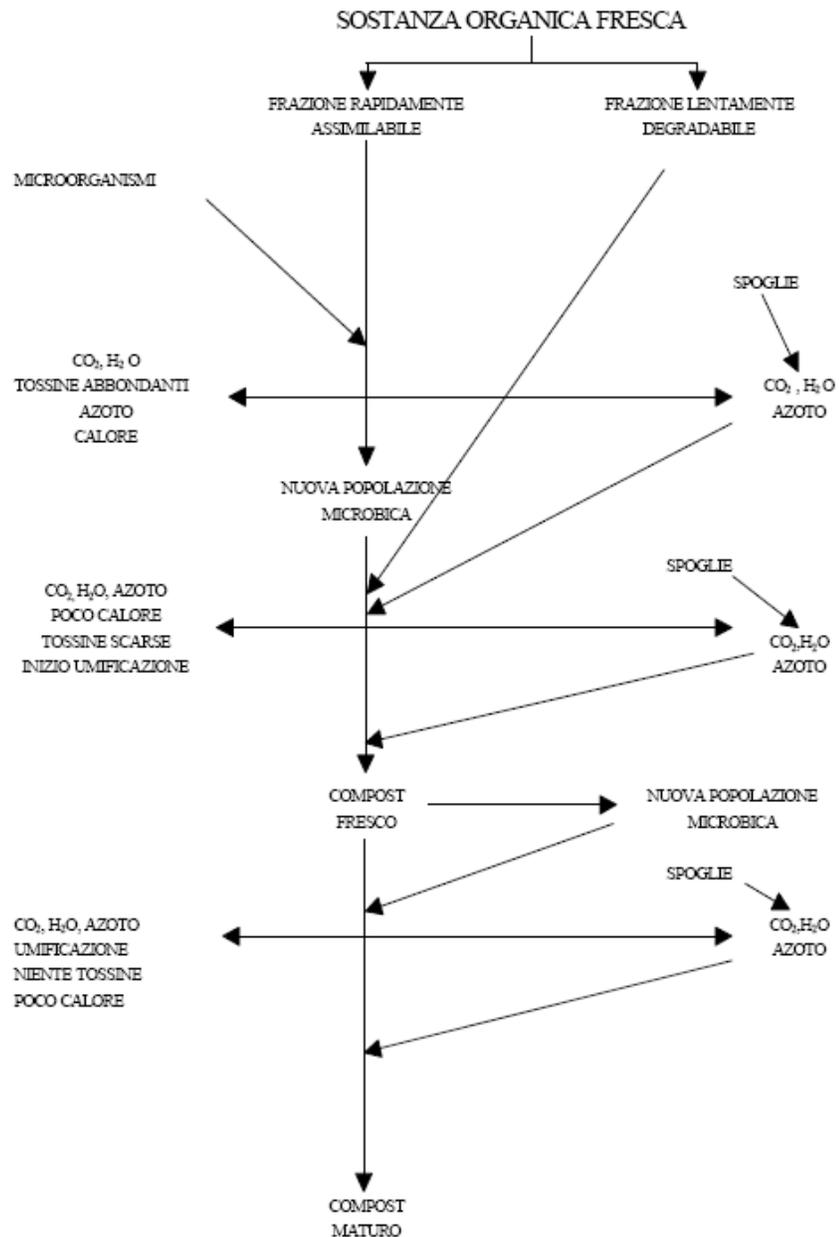


Fig. I. 1 Rappresentazione schematica della evoluzione della sostanza organica nel corso del processo di compostaggio (Barberis et al, 1988).

I. 4.1.1. Parametri di controllo nel processo di compostaggio

La gestione del compostaggio richiede un continuo controllo. Nella prima fase del processo é importante effettuare rivoltamenti frequenti della massa per omogeneizzare la distribuzione dei microrganismi; per avere un buon andamento del processo é importante

garantire la circolazione di ossigeno e l'umidità della massa, necessari per l'attività dei microrganismi decompositori, e controllare la temperatura del cumulo. Se infatti, non si raggiungono i 50-65 °C all'interno del cumulo, il processo non è completo (e in più non si devitalizzano i semi di infestanti presenti nella massa), così come se si superano queste temperature si innescano processi negativi per la qualità del compost.

I fattori principali di controllo del processo, che garantiscono condizioni ottimali di sviluppo della microflora e che consentono di accelerare le reazioni di decomposizione-trasformazione, sono rappresentate da:

Concentrazione di ossigeno (ovvero il rapporto ossigeno/anidride carbonica); la permanenza della concentrazione di ossigeno a livelli superiori al 15% garantisce il perdurare delle condizioni di perfetta aerobiosi indispensabile per l'accelerazione del metabolismo batterico aerobio; ciò, a sua volta, consente di ridurre o annullare i fenomeni putrefattivi (causa primaria di genesi di odori molesti); il flusso di aria deputato all'adduzione di ossigeno all'interno della massa di rifiuti in compostaggio, garantisce contestualmente l'asportazione del calore in eccesso e (se necessario) l'allontanamento dell'eccesso di umidità sotto forma di vapore acqueo.

Dal momento che, come abbiamo già sottolineato, il compostaggio richiede soluzioni di processo intese innanzitutto a fornire l'ossigeno necessario alla trasformazione biologica, bisogna, dunque, impedire la formazione di condizioni anaerobiche per compattamento del cumulo e scarsa circolazione dell'aria atmosferica al suo interno (Centemero e Favonio, 1994). Ciò è ottenuto con un'adeguata strutturazione del cumulo mediante l'impiego di materiale ad elevata consistenza meccanica e di grossa pezzatura (materiale ligneo, risulti di potatura, cassette, etc.), con il rivoltamento periodico del cumulo onde permettere l'ossigenazione capillare del materiale, e in alcuni impianti, mediante insufflazione di aria, che permette anche di ridurre notevolmente i tempi necessari alla stabilizzazione.

Temperatura; questo parametro è molto importante nel controllo dei processi aerobici ed è strettamente legato all'intensità delle reazioni esoenergoniche condotte dai microrganismi. Nella fase iniziale del processo si ha dapprima un repentino innalzamento della temperatura in cui è possibile distinguere un primo stadio mesofilo e un successivo termofilo, seguito dalle fasi di raffreddamento e di maturazione. Nella fase mesofila si ha l'avvio della decomposizione delle sostanze più facilmente biodegradabili (zuccheri e proteine) da parte dei batteri. La loro attività decresce con l'aumentare della temperatura fino ad annullarsi quando si superano i 40 °C. Successivamente inizia l'azione dei microrganismi termofili

(attinomiceti e funghi) che operano in condizioni di temperatura di 60-65 °C. Oltre 60 °C muore la flora termofila fungina pur proseguendo l'attività degli attinomiceti. Il processo si arresta quando il materiale facilmente biodegradabile é totalmente consumato; a questo punto inizia il raffreddamento della massa accompagnato dalla reinvasione dei funghi termofili che cominciano l'attacco dei materiali celluloseici. A digestione completata diminuisce l'attività microbica e la temperatura si avvicina a quella esterna. Da sottolineare che la temperatura si innalza come conseguenza del calore biogeno sviluppato dai processi degradativi; il suo accumulo nella massa dipende dall'equilibrio tra lo sviluppo di calore, legato alla fermentescibilità degli scarti, e la sua dispersione, legata alle dimensioni della massa ed alla sua umidità, dal momento che l'evaporazione di acqua assorbe calore sia per l'innalzamento della temperatura dell'acqua stessa che per il suo passaggio allo stato di vapore (Canditelli, 1998). Nella fase attiva, con masse non eccessivamente umide e cumuli di dimensioni adeguate, la temperatura può anche superare agevolmente i 70 °C, garantendo, in tal modo, le condizioni per l'igienizzazione del materiale (almeno 3 giorni a 55 °C per la legislazione italiana); le condizioni termometriche ottimali per i processi di stabilizzazione sono, invece, quelle tendenzialmente mesofile (attorno a 40-45 °C); per tale motivo è opportuno adottare sistemi di rimozione del calore in eccesso, utilizzando efficacemente i flussi d'aria naturali (per diffusione e convezione) o flussi d'aria indotti (sistemi di aerazione forzata della massa); in molti sistemi di processo, la temperatura viene, in realtà, mantenuta attorno ai 50 °C, per ricercare un compromesso tra le esigenze di asportazione del calore in eccesso (che richiederebbe flussi d'aria anche superiori), quelle di risparmio energetico e quelle di prevenzione dei disseccamenti precoci (che richiedono, invece, un abbassamento delle dimensioni dei flussi d'aria).

Umidità: il contenuto d'acqua della massa sottoposta a compostaggio deve essere sufficiente per lo sviluppo microbico ma al contempo non eccessivo per non saturare i pori della massa ostacolando la libera circolazione dell'aria e quindi dell'ossigeno. A seconda della composizione dei rifiuti il valore ottimale di umidità oscilla tra il 50% e il 75%. Infatti, per valori superiori al 75% il processo stenta ad innescarsi per carenza di ossigeno, mentre per valori di umidità inferiori al 50% si rallenta la moltiplicazione e lo sviluppo della flora microbica. I valori ottimali dell'umidità della massa tendono a decrescere con il procedere dei processi di stabilizzazione e conseguentemente con il decremento delle attività biologiche a carico della massa in trasformazione. Il materiale iniziale deve, invece,

presentare un'umidità relativamente elevata per esaltare le funzioni di termoregolazione collegate all'evaporazione della stessa ed evitare, al contempo, disseccamenti precoci.

pH; lo sviluppo della flora microbica presente nei rifiuti è notevolmente influenzato dal valore del pH. I valori medi di pH durante il processo variano da una fase acidogena (pH 5) ad una fase proteolitica (pH 8). Nel corso del processo questo parametro è soggetto a notevoli oscillazioni: all'inizio, la formazione di anidride carbonica e di acidi organici causa spostamenti del pH verso valori acidi (5-6); successivamente, grazie all'aerazione (che tende ad eliminare l'anidride carbonica) ed alla decomposizione delle proteine (con formazione di ammoniaca), il pH sale fino a valori di 8-8,5; vari autori concordano nel ritenere accettabili valori finali vicini alla neutralità o leggermente basici.

Nutrienti; sotto tale profilo è importante il ruolo giocato dal rapporto C/N, che rappresenta un buon indice del grado di maturazione della sostanza organica e influenza significativamente la popolazione microbica. L'attività dei microrganismi eterotrofi coinvolti nel processo è dipendente dai tenori di azoto e di carbonio; essi, infatti, utilizzano il carbonio come fonte energetica e l'azoto come mezzo di sintesi per le loro proteine. Il rapporto C/N esprime il rapporto tra sostanze che forniscono ai microrganismi energia per le loro reazioni metaboliche (composti carboniosi) e materiali plastici per la loro moltiplicazione (composti azotati). Il rapporto C/N di un composto organico può pertanto essere considerato come un indice per esprimere la differente disponibilità dell'azoto in matrici organiche aggiunte al suolo. Residui organici con un rapporto C/N inferiore a 25:1 vengono considerati in grado di liberare azoto minerale nel suolo (mineralizzazione netta positiva: azoto liberato > azoto immobilizzato dalla biomassa); di contro, residui con rapporto C/N maggiore di 25:1 inducono immobilizzazione dell'azoto inorganico già presente nel suolo, fino a che il rapporto C/N del substrato non sia sceso o parte della popolazione microbica non sia morta liberando azoto disponibile. Con questo possiamo concludere che materiali con uguale rapporto C/N hanno un comportamento simile nel suolo (Genevini, 1998). Il C/N ideale è compreso tra 25 e 30 unità, tenendo presente che ogni scostamento medio da questi valori porta a carenze o eccessi che condizionano fortemente le attività biologiche, determinando o una massiccia perdita di azoto (nel caso di valori bassi di C/N) o un rallentamento delle reazioni metaboliche (nel caso di valori alti di C/N).

I. 4.1. 2. Metodi di compostaggio

Il metodo primitivo di compostaggio é quello cosiddetto passivo, rilevabile a tutt'oggi in gran parte delle aziende agricole per il trattamento delle deiezioni animali, che consiste semplicemente nell'accumulare la matrice organica putrescibile, lasciarla indisturbata per molti mesi senza condizionarne minimamente la degradazione e la trasformazione. Sebbene la più spontanea, questa tecnica non é rilevante nel panorama biotecnologico in cui si riconoscono tre gruppi generali di metodi di compostaggio (Vallini et al., 1994):

- a) il compostaggio in cumuli periodicamente rivoltati;
- b) il compostaggio in cumuli statici aerati;
- c) il compostaggio in bioreattori.

a) In questo caso si dispone la matrice di partenza in cumuli generalmente a sezione triangolare, di altezza variabile (a seconda delle caratteristiche del substrato e delle macchine movimentatrici utilizzate), periodicamente rivoltati (anche con le più comuni pale meccaniche) in modo che il materiale interessato sia efficientemente aerato. L'aumento della superficie disponibile all'attacco microbico ne facilita l'aerazione (il materiale in superficie viene rimpiazzato da quello delle zone interne) e ne regola la temperatura (esposizione uniforme del materiale alle alte temperature) in modo da garantire una sufficiente igienizzazione ed una omogenea stabilizzazione. La frequenza dei rivoltamenti dipende dal tasso di decomposizione, dal contenuto di umidità e porosità del substrato, per cui sarà maggiore nelle prime fasi del processo, in caso di emissioni maleodoranti e di accumulo eccessivo di calore (rischioso per la vitalità dei microrganismi), mentre tenderà a diminuire con l'aumentare della stabilizzazione. Con questo metodo, la fase di compostaggio attivo dura solitamente da tre a nove settimane a seconda della natura del substrato di partenza e della frequenza dei rivoltamenti.

b) Questa tecnica non prevede la movimentazione del materiale in quanto l'ossigenazione è assicurata da appositi sistemi di tubi diffusori in cui circola aria in forma passiva o forzata. Nel primo caso, l'apparato di tubi bucherellati é posto sul basamento (che ospita il cumulo) sopra uno strato di compost maturo e termina all'esterno del cumulo con estremità aperte; i tubi posizionati con i fori rivolti verso il basso (per evitare rischi di ostruzione ed il drenaggio della condensa) permettono la diffusione dell'aria attraverso il profilo del cumulo e a processo ultimato vengono semplicemente rimossi. Nel secondo caso, sono previsti apparati di tubi, anch'essi opportunamente bucherellati, che costringono l'aria a passare forzatamente attraverso la matrice in compostaggio per aspirazione dalla superficie o per

insufflazione nel substrato; anche in questo caso é necessario miscelare accuratamente il materiale di partenza, conferirgli la giusta porosità, sistemarlo in cumuli (di altezza non superiore a 2,5 m per una diffusione uniforme dell'aria) su una platea ricoperta da uno strato di materiale poroso in cui si localizza l'apparato di aerazione che é connesso ad un ventilatore in grado di aspirare o insufflare aria.

c) Nel compostaggio in bioreattore la stabilizzazione del substrato avviene in particolari strutture contenitive dove si combinano tecniche di movimentazione e di aerazione forzata della matrice. In questi bioreattori la matrice organica subisce una prima parziale omogeneizzazione e trasformazione mentre la biostabilizzazione aerobica vera e propria del materiale avviene, generalmente, con uno dei sistemi in cumulo.

I. 4.1.2. Il prodotto finale

Il compost ottenuto è un prodotto caratterizzato da un contenuto di sostanza secca pari al 60-70%, stabilizzato e inodore. Infatti, l'evoluzione della sostanza organica durante il compostaggio procede sia quantitativamente, con un'evidente riduzione volumetrica e ponderale, che qualitativamente, con una modificazione anche consistente delle caratteristiche chimiche della sostanza organica contenuta nel compost rispetto a quella originaria presente nei rifiuti ad inizio trattamento. Dal punto di vista qualitativo la sostanza organica, una volta terminato il processo di compostaggio, si presenta:

1. **stabile**, cioè con processi degradativi di natura biologica alquanto rallentati. La misura della stabilità di una massa si può ottenere mediante la determinazione analitica del contenuto residuo in sostanza organica (o in solidi volatili) oppure attraverso l'indice di respirazione statico o dinamico legato all'attività metabolica residua o, ancora, misurando la concentrazione di ammoniaca legata alla persistenza di attività di degradazione e proteolisi in misura superiore a quella di nitrificazione dell'ammoniaca;
2. **matura**, cioè non presenta fenomeni di fitotossicità, misurabili con l'omonimo test;
3. **umificata**, cioè dotata di molecole umiche (humus) originatesi da reazioni di umificazione a carico delle componenti della sostanza organica più recalcitranti alla mineralizzazione.

I. 4. 2. Il "Compost di Qualità"

In Italia e in altri paesi del Sud Europa la ricerca di materiali alternativi alla torba d'importazione ha sviluppato negli ultimi anni una richiesta crescente di compost per la costituzione di terricci per il florovivaismo. Inoltre, sempre nei paesi del bacino del Mediterraneo la carenza di sostanza organica a causa dello sfruttamento a scopi produttivi dei suoli implica la necessità di reperire sempre ingenti quantità di materiali organici di diversa origine. Tra questi materiali il compost rappresenta un ammendante di facile reperibilità, quantitativamente sufficiente e con prezzi relativamente bassi.

La qualità del compost prodotto in Italia è migliorata, raggiungendo ottimi indici agroambientali grazie alla migliore selezione degli scarti (accurata differenziazione, selezione di matrici idonee, protocolli di accettazione di scarti presso l'impianto) e all'abbandono dell'impiego di compost da rifiuti indifferenziati (Centemero e Corti, 2000). Ne sono testimonianza il minor contenuto in metalli pesanti, e le performance agronomiche attestate da innumerevoli prove applicative su diverse colture (in pieno campo ed in serra).

La caratterizzazione chimica del compost è generalmente basata su due criteri: valore agronomico del compost e contenuto di metalli pesanti. Per quanto concerne il valore agronomico deve essere valutato il contenuto di N, P, K, e elementi in traccia (per es. Cu, Zn, Mn, Fe, Co, Mo). Invece, per il contenuto di metalli pesanti, molti paesi sviluppati hanno stabilito differenti leggi riguardanti le specifiche del compost (Soumaré et al., 2003).

Ovviamente, non tutti i compost sono uguali. Proprio perché prodotti a partire da rifiuti di origine molto diverse, altrettanto variabili sono le caratteristiche chimico fisiche del prodotto finale. Poiché il pericolo più grande nell'utilizzo del compost in agricoltura è quello di apportare al terreno sostanze di rifiuto potenzialmente nocive o pericolose (Giusquiani et al., 1995), è importante definire standard chimico-fisici da rispettare affinché possa essere garantito un uso agronomico del compost privo di rischi.

Il compost che risponde a tali standard, fissati per legge, offrendo adeguate garanzie per il suo utilizzo in agricoltura è definito "*compost di qualità*". In Italia la principale normativa di riferimento è rappresentata da:

- "Decreto Ronchi" (D. L.vo n° 22/97), aggiornato dal D. M. del 05/02/98;
- Legge n° 748/84 sui fertilizzanti, così come modificata dal D.lgs. 217 del 29/04/06.

Al fine di ottemperare agli obblighi previsti dalla legge, si impone perciò la selezione alla fonte dei rifiuti (alcuni dei quali possono essere compostati, altri no) e un attento controllo su tutto il processo produttivo. Molta attenzione viene posta al contenuto in metalli pesanti, in sostanze inerti non biodegradabili, alla presenza di patogeni o di sostanze fitotossiche

(Bettiol e Camargo, 2001). Inoltre devono essere fornite garanzie in merito ad un adeguato contenuto di sostanza organica e in particolare di sostanza organica ben umificata, espressione della corretta maturazione e della stabilità biologica del compost (Matsuda et al., 1996; Bernal et al., 1998; Gomez, 1998; Cambardella et al., 2003).

La validità della scelta del "sistema compostaggio" è però legata alla capacità di collocare sul mercato il prodotto finale; a sua volta questa capacità è strettamente correlata alla qualità del compost finale, cioè alla quantità ed alla qualità della sostanza organica contenuta nel compost, al suo grado di maturità e di stabilità e ad un basso contenuto di sostanze inquinanti.

In particolare i requisiti di un buon compost sono:

- alto tenore di sostanza organica umificata;
- assenza o bassissimi contenuti di sostanze inquinanti (metalli pesanti, composti organici di sintesi, vetri e materiali plastici);
- stabilità biologica;
- assenza di sostanze fitotossiche, microrganismi patogeni, semi di infestanti;
- buona dotazione di elementi nutritivi in forme facilmente disponibili per i vegetali;
- idonee caratteristiche chimiche e fisiche generali quali: pH intorno alla neutralità, bassa concentrazione salina, adeguata porosità e capacità di ritenzione idrica.

E' possibile ottenere compost di buona qualità impiegando materiali idonei ed operando con una corretta tecnica di trattamento ed una adeguata attrezzatura impiantistica. La qualità dei materiali di partenza influenza in modo determinante la qualità del compost finale (Zorzi, 1997; Smith et al., 1998; Centemero e Corti, 2000; Petersen, 2001).

I. 4. 3. Utilizzo del compost in agricoltura

La produzione e l'utilizzo di compost derivante da rifiuti organici è in grado di fornire una soluzione congiunta a due ordini di problemi: da un lato la necessità di privilegiare quelle forme di smaltimento dei rifiuti che contemplino il recupero di materia e di energia e che minimizzino l'impatto ambientale, dall'altro l'esigenza di apportare fertilizzanti organici al terreno per sopperire alla crescente carenza di sostanza organica, conservare la fertilità dei terreni agrari e preservare gli equilibri ambientali (Felipò, 1996; Ozores-Hampton et al., 1998). Questi principi sono chiaramente ribaditi dalla recente legislazione comunitaria, nazionale e regionale, unitamente alla necessità di diminuire drasticamente la quantità di

rifiuti organici destinati allo smaltimento in discarica, separando la frazione organica dei rifiuti già in fase di raccolta ed avviandola al recupero.

La scomparsa degli allevamenti dalle piccole imprese familiari e la conseguente concentrazione in ristrette aree produttive, così come lo sviluppo di un modello agricolo imperniato sulla monocoltura e sulla monosuccessione e le forzature colturali dell'attuale sistema produttivo sono fattori che hanno portato ad un deficit di sostanza organica di numerosi terreni coltivati. L'elevato fabbisogno di sostanza organica da parte dei terreni italiani emerge molto chiaramente in tutti i comparti ed in tutte le zone a forte vocazione agricola. Le indagini finora condotte hanno evidenziato come più del 50% dei terreni coltivati siano classificati come poveri di sostanza organica con situazioni molto diversificate da zona a zona in funzione delle realtà territoriali. In questo contesto, l'utilizzo del compost in agricoltura contribuisce a far sì che gli scarti organici derivanti dalle diverse attività antropiche ritornino al terreno, mantenendo adeguati livelli di fertilità che non è possibile ottenere con il ricorso esclusivo a concimi chimici (Ciccotti et al., 1988). Nel suo utilizzo agricolo diretto, il compost deve essere essenzialmente un ammendante, il cui principale valore agronomico è dato dalla dotazione di sostanza organica umificata che lo caratterizza, mentre la presenza di elementi nutritivi risulta modesta (Scagliarini, 1999).

Il compost, utilizzato come ammendante in pieno campo sulle colture erbacee ed ortive, è distribuito in pre-semina. Per le colture arboree il compost può essere utilizzato sia nelle concimazioni di fondo, che precedono l'impianto, sia in quelle di produzione.

L'apporto di sostanza organica al terreno attraverso i compost rappresenta una strategia promettente per l'adozione di sistemi di produzione ecosostenibili.

Un'attività si può definire sostenibile quando viene garantita la sostenibilità delle risorse, la sostenibilità della salute umana e la sostenibilità economica (Sequi, 1996).

Infatti, la pratica del compostaggio ed il suo utilizzo in agricoltura:

- rispetta il principio della **sostenibilità dell'impiego delle risorse** in quanto evita l'impiego di elevate quantità di energia (necessarie per il trattamento dei rifiuti, per la produzione di fertilizzanti di sintesi, ecc.);
- rispetta i principi di **sostenibilità economica** per i bassi costi di produzione. I vantaggi sono a favore sia dell'utilizzatore che della collettività che non deve affrontare costose soluzioni per eliminare i rifiuti;
- rispetta il principio della **sostenibilità della salute**: il compostaggio evita ai residui organici un destino improprio (Rolle, 2001).

In commercio si possono trovare tre tipologie di compost commerciabili come ammendanti per l'agricoltura:

- **ammendante compostato verde:** prodotto ottenuto attraverso un processo di trasformazione e stabilizzazione controllato di rifiuti organici costituiti da scarti della manutenzione del verde ornamentale, residui delle colture, altri rifiuti di origine vegetale con esclusione di alghe e altre piante marine;
- **ammendante compostato misto:** prodotto ottenuto attraverso un processo di trasformazione e stabilizzazione controllato di rifiuti organici che possono essere costituiti dalla frazione organica degli RSU provenienti da raccolta differenziata, da rifiuti di origine animale compresi i liquami zootecnici, da rifiuti di attività agroindustriali e da lavorazione del legno e del tessile naturale non trattati, da reflui e fanghi, nonché dalle matrici previste per l'ammendante compostato verde;
- **ammendante torboso composto:** prodotto ottenuto per miscela di torba, minimo il 50%, con ammendante compostato verde e/o misto.

II

INDICI DI QUALITÀ DEL SUOLO

Premessa

Il suolo contiene una enorme quantità (biomassa) e varietà (biodiversità) di organismi che sono indispensabili per il funzionamento dell'ecosistema stesso, mediante l'attivazione di processi metabolici catalizzati da specifici enzimi, che determinano il ciclo dei nutrienti e i processi di decomposizione della sostanza organica. Pertanto, la conservazione e la corretta gestione del suolo sono vitali per assicurare uno sviluppo agronomico sostenibile e per proteggere altre risorse naturali (acqua, foreste, forme di vita) che rischierebbero molto in caso di degradazione e perdita di suolo. La qualità del suolo viene comunemente definita come “la capacità del suolo di interagire con l'ecosistema per mantenere la produttività biologica, la qualità ambientale, e promuovere la salute animale e vegetale” (Doran e Parkin, 1994). Pertanto, le funzioni che definiscono la qualità del suolo possono essere riassunte come:

- La capacità di sostenere la produzione vegetale;
- La capacità di funzionare come filtro, ossia di ridurre gli effetti sull'ambiente di agenti contaminanti e patogeni;
- La capacità di degradare i substrati organici, anche eventualmente inquinanti.

La qualità del suolo può essere compromessa attraverso tre tipi di processi: la degradazione chimica, intesa come apporto di sostanze tossiche, la degradazione fisica che comprende l'erosione eolica e idrica e la compattazione, e la degradazione biologica che include la diminuzione della sostanza organica e della biodiversità (ANPA, 2000).

Per poter valutare la qualità del suolo è necessario individuare degli indicatori base che esprimano in maniera completa le sue funzioni, anche al fine di valutare gli effetti della gestione sulle sue proprietà. Poiché la qualità e lo svolgimento delle funzioni del suolo dipendono dall'interazione degli aspetti chimico-fisici e biologici, i parametri indicatori devono essere legati a tali aspetti e l'interpretazione deve tener conto di una valutazione integrata dei parametri misurati.

Un buon indicatore deve rispondere in tempi rapidi ai cambiamenti chimico-fisici e biologici e deve essere il più possibile applicabile ad altri ecosistemi suolo, anche in condizioni pedo-climatiche diverse. Inoltre, gli indicatori devono essere analiticamente semplici e poco costosi, facili da interpretare, misurabili, attendibili, riproducibili e scientificamente validi.

I parametri chimico-fisici sono poco sensibili ai cambiamenti che avvengono nel suolo dovuti alle condizioni ambientali, alle pratiche di gestione, ecc., mentre quelli biologici rispondono rapidamente a qualsiasi evento che altera le sue condizioni. I parametri biologici e biochimici si possono studiare (Trasar-Cepeda et al., 2003) a livello di:

- popolazione microbica che indica la dinamica delle specie sensibili a perturbazioni specifiche (singola specie microbica);
- comunità biotica tramite la stima della diversità delle specie (biodiversità);
- ecosistema, cioè basati sui processi coinvolti nella trasformazione della sostanza organica e nei cicli dei nutrienti (enzimi).

Fare uno studio a livello di ecosistema significa quantificare la biomassa microbica del suolo e la sua attività per studiare i processi controllati microbiologicamente mediante le attività enzimatiche. Quindi, i parametri biologici e biochimici (biomarcatori), che rappresentano direttamente o indirettamente la biomassa microbica del suolo, sono i più indicati ad esprimere le funzioni del suolo in quanto sensibili a qualsiasi tipo di cambiamento e sono di semplice determinazione e valutazione. Singoli parametri come il contenuto totale di C o la biomassa microbica (Brookes, 1995), il rapporto tra i due, così come le attività enzimatiche (Nannipieri et al., 1990) sono stati proposti come indicatori. Una possibile soluzione per trovare un buon indice di qualità del suolo è la combinazione delle informazioni offerte tra i diversi parametri (Trasar-Cepeda et al., 1998; Leiròs et al., 1999).

II. 1. Attività biologiche del suolo

II. 1.2. La respirazione

Una stima dell'attività della popolazione microbica del suolo è possibile attraverso la misura di CO₂ prodotta nell'ossidazione della sostanza organica che rappresenta la respirazione del suolo (le tecniche di laboratorio utilizzano terreno setacciato, per cui viene escluso il contributo dovuto alla respirazione della macrofauna e delle radici). La

respirazione del suolo è un indicatore capace di valutare le differenze o i cambiamenti nella popolazione microbica perché dipende dallo stato fisiologico delle cellule microbiche ed è influenzata dall'umidità, temperatura e struttura del suolo. E' inoltre, altamente relazionata con la sostanza organica e influenzata dai trattamenti e tecniche di coltura, essendo frequentemente usata per la valutazione degli effetti dell'apporto di prodotti chimici come pesticidi e metalli pesanti al suolo. Questo tipo di approccio è utile per determinare l'influenza di vari fattori ambientali sui processi di ossidazione della materia organica (Nannipieri et al., 1990). Questo parametro è in relazione non tanto, alla quantità di biomassa microbica del suolo, quanto alla quantità di carbonio facilmente mineralizzabile e, quindi, alla quantità di sostanza organica (Shen et al., 1978).

II. 1.3. Enzimi del suolo

L'attività biologica del suolo è strettamente collegata con le proprietà fisiche del suolo stesso, ad esempio le lavorazioni hanno un'influenza sulla fauna del suolo, che si distribuisce a profondità diverse. La distruzione della struttura del suolo, ad esempio per fenomeni di compattamento, può ridurre o impedire l'apporto di ossigeno, favorendo gli organismi anaerobici.

Il suolo da un punto di vista enzimatico è un sistema particolare, poiché può manifestare una carica enzimatica indipendente da quella degli organismi che vi abitano. L'attività di un determinato enzima dipende dalle diverse localizzazioni nel suolo; si possono infatti, avere per un determinato enzima le seguenti localizzazioni (Burns, 1982):

- enzimi presenti in cellule metabolicamente attive con localizzazione intracellulare, periplasmatica o sulla superficie esterna della cellula;
- enzimi in cellule non proliferanti quali spore batteriche e cisti;
- enzimi ancora attivi presenti nelle cellule morte o nei residui cellulari che derivano dalla degradazione delle cellule morte;
- enzimi extracellulari che sono stati rilasciati nella fase acquosa del suolo durante la normale vita di una cellula microbica o dopo la morte e lisi cellulare;
- enzimi immobilizzati dai fillosilicati e/o dalle molecole umiche del suolo.

E' evidente che un enzima può appartenere ad una o più categorie e può mutare localizzazione con il tempo; così può essere presente in cellule metabolicamente attive ed allo stesso tempo mostrare un'attività residua in cellule morte o in residui cellulari o rimanere attivo dopo una sua "associazione" con colloidali del suolo.

Gli enzimi catalizzano alcune specifiche reazioni, le quali dipendono da una grande varietà di parametri come: pH, temperatura, presenza o assenza di inibitori (Burns, 1978), clima, tipo di ammendanti, tecniche di coltivazione, tipi di colture e proprietà edafiche (Skujins, 1976).

Le attività enzimatiche sono usate come indicatori nello studio dell'influenza dei trattamenti al suolo sulla sua fertilità (Chen et al., 2003), in quanto essi catalizzano numerose reazioni del suolo, sono coinvolti nei cicli di azoto (ureasi e proteasi), di fosforo (fosfatasi), e di carbonio (β -glucosidasi), e sono attivi nei processi di mineralizzazione di composti organici naturali (cellulose, proteine, lipidi, lignine) (Masciandaro et al., 2000; Masciandaro et al., 2004). E' possibile, quindi, stimare l'attività enzimatica e le relazioni con le perturbazioni apportate alla biologia e biochimica del suolo come conseguenza di fattori ambientali e/o antropici (ANPA, 2000).

Batteri e funghi sintetizzano e secernono enzimi extracellulari, chiamati enzimi abiotici (Sinsabaugh, 1994), come fosfatasi, proteasi, ureasi e pectinasi.

Processi relativi alla degradazione della sostanza organica possono essere seguiti attraverso le idrolisi, in quanto esse riflettono l'evoluzione dei substrati (Ceccanti e Garcia, 1994). Nannipieri et al (1990) indicarono che le attività enzimatiche sono substrato-specifiche e relative a specifiche reazioni. Per questo motivo è chiaro che l'attività di un singolo enzima non può essere utilizzata per determinare lo stato metabolico globale di un suolo, o lo stato totale dei nutrienti, anche perché ogni singola attività enzimatica riflette la specificità di substrato e può fornire informazioni solo sul relativo processo metabolico. Al contrario la misurazione contemporanea dell'attività di vari enzimi risulta efficace come parametro dell'attività biologica generale del suolo, con particolare interesse verso quelle attività che agiscono sui processi fondamentali di biodegradazione della materia organica (Gil-Sotres et al., 1992).

I saggi enzimatici misurano l'attività totale di un campione di suolo che è dovuto a microrganismi attivi e/o a enzimi stabilizzati nella matrice suolo; poiché è difficile estrarre dal suolo enzimi intatti (Knight e Dick, 2004). Le attività enzimatiche sono sensori dello stato del suolo, in quanto integrano informazione sull'attività microbiologica e sulle caratteristiche chimico-fisiche (Baum et al., 2003).

Le misure delle attività enzimatiche intra e extra-cellulari sono necessarie per comprendere la risposta delle stesse ai cambiamenti alle pratiche agricole, alle condizioni ambientali e alla presenza di sostanze tossiche (Nannipieri, 1995).

L'attività degli enzimi intracellulari può essere collegata all'attività microbica, mentre l'attività degli enzimi stabilizzati del suolo, protetti dalla denaturazione chimica e termica e dalla proteolisi, possono essere insensibili a tali cambiamenti (Nannipieri, 1995).

La determinazione dell'attività enzimatica del suolo è basata sulla velocità di scomparsa del substrato o di formazione del prodotto ricorrendo a metodi analitici. L'incorporazione di compost influenza le attività enzimatiche del suolo in quanto esso può contenere enzimi intra ed extra-cellulari e può anche stimolare l'attività microbica del suolo (Goyal et al., 1993). Tuttavia l'apporto di matrici organiche al suolo non necessariamente ne incrementa le attività enzimatiche. Ad esempio, Nannipieri (1995) ha riportato che l'effetto dei fanghi sulle attività enzimatiche è molto complesso ed è dovuto a :

- Inibizione di attività da metalli pesanti o altri componenti,
- Repressione o stimolazione di sintesi enzimatica.

Gli effetti negativi dei metalli pesanti sulle attività enzimatiche sul suolo sono state a lungo dimostrate (Deng e Tabatabai, 1995) e il problema urgente del continuo arricchimento dei suoli in metalli pesanti ha portato a sfruttare le potenzialità delle attività enzimatiche come indicatori biochimici della qualità e dell'inquinamento del suolo (Nannipieri, 1995).

Al momento, la determinazione di specifiche attività enzimatiche (fosfatasi, idrolasi, solfatasi etc.) o di altri parametri (respirazione, biomassa microbica etc.), insieme all'utilizzo dei parametri generali del suolo, sembra essere il migliore approccio per valutare lo stato di attività microbica del suolo e per comprendere la risposta agli ammendamenti con compost, alle coltivazioni, ed infine ai fattori ambientali (Perucci, 1992).

II. 1. 3.1. Le attività enzimatiche

II. 1. 3. 1. 1. Attività idrolasica totale

L'attività idrolasica totale è indicativa dell'abbondanza e dell'attività eterotrofica della microflora. Le idrolasi trasformano le macromolecole in composti più semplici, rompendo legami covalenti per aggiunta di una molecola d'acqua (reazione di idrolisi). La degradazione di macromolecole quali carboidrati, proteine e composti organici del fosforo e la conseguente mineralizzazione dei loro prodotti monomerici riveste una grande importanza

nei cicli biologici dei nutrienti (C, N, P, S). Tale attività è svolta da cellule metabolicamente attive ed è dovuta ad un ampio gruppo di enzimi ad attività lipasica, proteasica ed esterasica, capaci, in condizioni sperimentali, di idrolizzare il diacetato di fluorescina (FDA) (Schnurer e Rosswall, 1982., Gaspar et al., 2001).

Questo metodo è stato usato su un'ampia varietà di campioni, dalle muffe cresciute su terreni forestali e su materiali organici (Bjurman, 1993), a residui di piante (Zablotowicz et al, 1998), a biofilm di sedimenti fluviali (Battin, 1997), a fanghi attivi (Fontvieille, 1992), ad argilla di mari profondi e a profili di sedimenti sabbiosi (Gumprecht et al., 1995).

Schnurer e Rosswall (1982) hanno dimostrato che l'idrolisi di FDA aumenta quasi linearmente con il tempo di incubazione, con la quantità di terreno e con la biomassa batterica e fungina, mentre terreni sterilizzati in autoclave non mostrano alcuna attività idrolasica.

II. 1. 3. 1. 2. Attività fosfatasica

Le fosfatasi sono considerate enzimi chiave del ciclo del fosforo nel suolo (Dick e Tabatabai, 1993). Esse sono coinvolte nella trasformazione del fosforo organico nella forma inorganica essendo, questa, l'unica forma assimilabile dalle piante (Amador et al, 1997).

Variazioni nell'attività fosfatasica, oltre ad indicare cambiamenti nella qualità e quantità dei substrati fosforilati (Rao e Tarafdar, 1992), sono anche indicatori dello stato biologico del suolo. L'attività fosfatasica del suolo è dovuta principalmente agli enzimi accumulati nel terreno (Tiwary et al., 1988), mentre può essere considerato irrilevante il contributo dei microrganismi proliferanti (Kiss et al., 1975).

Il fosforo organico, contenuto principalmente negli acidi nucleici e nei fosfolipidi, rappresenta gran parte del fosforo presente nel suolo (Halstead e McKercher, 1975). Le fosfomonoesterasi sono le fosfatasi del suolo più studiate e sono classificate in acide e alcaline (Eivazi e Tabatabai, 1977). Esse catalizzano l'idrolisi di legami esteri. Le fosfatasi acide sono prodotte da batteri (Heppel, 1971; Hollander, 1971), funghi (Ingham e Klein, 1984), lieviti (Weinberg e Orton, 1963), protozoi (Martin e Byers, 1976) e radici di piante (Talafaldar e Chonkar, 1978). Le fosfatasi alcaline sono prodotte da batteri (Torriani, 1968), funghi (Ingham e Klein, 1984) e vermi (Satchell e Martin, 1984).

L'attività fosfatasica come anche la β -glucosidasica, essendo svolta da enzimi extracellulari, accumulati nel terreno e stabilizzati dalla sostanza organica, mediante la

formazione di complessi umo-enzimatici, consente una valutazione degli effetti a lungo termine dell'applicazione di matrici organiche umificate.

II. 1. 3. 1. 3. Attività arilsolfatasica

Le solfatasi sono enzimi che idrolizzano esteri solforici e sono state trovate in piante, animali e microrganismi, sebbene possano esplicare la loro azione anche in situazioni di non integrità cellulare (Nannipieri et al, 1990). L'attività solfatasica è importante nel ciclo dei nutrienti in quanto rilascia SO_4^{2-} disponibile per la pianta. Diversi studi hanno mostrato che gran parte dello zolfo, presente nello strato superficiale del suolo si trova sotto forma di esteri solforici (Freney, 1961, 1967) e ciò suggerisce che le solfatasi svolgono un ruolo importante nel rendere disponibile il solfato inorganico assimilabile dalle piante.

Tale attività può essere anche un indicatore indiretto di funghi, poiché solo i funghi (e non i batteri) che contengono esteri solforici, ovvero il substrato dell'arilsolfatasi. (Bandick, e Dick, 1999).

In relazione al tipo di substrato idrolizzato, sono stati classificati diversi tipi di solfatasi: arilsolfatasi, alchilsolfatasi, glucosolfatasi, solfatasi steroidee (Tabatabai e Bremner, 1970).

II. 1. 3. 1. 4. Attività β -glucosidasica

La β -glucosidasi appartiene ad un gruppo di enzimi, le glicosidasi, che catalizzano l'idrolisi di differenti glucosidi (Eivazi e Tabatabai, 1988). Le β -glucosidasi, che catalizzano l'idrolisi del maltosio in glucosio, sono enzimi prodotti da vari organismi come piante, animali, funghi e batteri (Knight e Dick, 2004). Questa attività può dare un'idea della decomposizione della sostanza organica. Insieme alle β -galattosidasi, le β -glucosidasi svolgono un ruolo importante nella demolizione di carboidrati a basso peso molecolare con produzione di zuccheri semplici che rappresentano un'importante fonte di energia per i microrganismi del suolo (Eivazi e Tabatabai, 1990; Bandick e Dick, 1999).

Esen (1993), Hayano e Katami (1977), avendo trovato una relazione tra volume di suolo scelto e attività β -glucosidasica, hanno dedotto che gli enzimi sono adsorbiti dai colloidali del suolo.

L'attività β -glucosidasica è stata trovata sensibile alla gestione del suolo (Madejòn, 2001), relativamente ad un breve periodo di tempo (1-3 anni) ed è relativamente stabile con le stagioni (Ndiaye et al, 2000), per tali motivi è stata proposta come indicatore della qualità del suolo. Quest'ultima caratteristica la rende estremamente efficiente, come indicatore della

qualità del suolo, sulla maggioranza delle misure biologiche che possono variare di molto nel breve periodo, con difficoltà di interpretazione (Knight and Dick, 2004).

L'attività β -glucosidasi è correlata positivamente con il C organico, suggerendo che l'aggiunta di residui organici mineralizzabili forniscono substrati per questi enzimi e aumentano la crescita microbica (Albiach et al., 2000; Crecchio et al., 2001).

II. 2. Metalli pesanti nel suolo

L'immissione nell'ambiente di quantità massive di prodotti chimici organici ed inorganici, provenienti da attività urbane, industriali e agrarie, porta ad un'alterazione profonda degli equilibri chimici e biologici del suolo. Nel tempo sono diventate sempre più consistenti le produzioni e l'uso di una vasta serie di composti organici ed inorganici come fitofarmaci, agenti antimicrobici, farmaci, antifementativi, antibiotici, detergenti, solventi, lubrificanti, e così via.

Alcuni di questi composti e i loro prodotti di degradazione, una volta entrati nell'ambiente possono permanervi per lungo tempo. Molti sono poi anche gli elementi e le sostanze che arrivano al suolo, tramite il riciclaggio di fanghi derivanti dalla depurazione di acque reflue, di rifiuti, di effluenti di allevamenti zootecnici, di scarti industriali. Si tratta in genere di residui che comportano come elemento positivo l'utilizzazione di sostanza organica e di elementi nutritivi ma possono presentare alcuni problemi in relazione alla presenza, nelle matrici organiche, di metalli e di sostanze indesiderate provenienti dalle attività antropiche. Per tali motivi, un secondo gruppo di indicatori definisce il livello di presenza, e quindi eventualmente il grado di contaminazione, di alcuni fra gli elementi chimici che con maggiore facilità possono essere accumulati nel suolo a seguito delle pratiche di concimazione o difesa antiparassitaria normalmente eseguite in agricoltura; fra questi vi sono:

- gli elementi nutritivi, *fosforo e potassio*, che sono normalmente apportati con le concimazioni minerali ed organiche, il primo pericoloso solo per la possibilità di trasporto alle acque superficiali mediante fenomeni di erosione e ruscellamento superficiale, il secondo innocuo sia per il mantenimento della fertilità del suolo, sia rispetto alla possibilità di trasferimento nelle acque;
- *i metalli pesanti*, che possono arrivare al suolo attraverso la distribuzione di fitofarmaci (rame, arsenico), di concimi minerali (molte fosforiti utilizzate per produrre i concimi fosfatici sono ricche di arsenico, cadmio e cromo), di concimi organici (il cuoio torrefatto, ad

es., contiene fino al 3 % di p.s. di cromo, così come i sottoprodotti dell'industria conciaria), di liquami zootecnici (per la presenza di rame e zinco), ma soprattutto di fanghi di depurazione o di compost.

In particolare oltre alla misura della quota totale di arsenico, cadmio, cromo, rame, mercurio, nichel, piombo e zinco, diventa sempre più importante conoscere anche la quota assimilabile per definire la loro potenziale mobilità e pericolosità ambientale (ANPA, 2000).

Con il termine di “metalli pesanti” si considerano, di solito, tutti quegli elementi metallici che presentano una densità superiore a $4,5 - 5 \text{ g/cm}^3$ e generalmente, con un numero atomico superiore a 30, che hanno diversi stati di ossidazione (elementi metallici di transizione), una bassa solubilità dei loro idrossidi, una grande attitudine a formare complessi, una elevata affinità per i solfuri (Riffardi e Levi-Minzi, 1989) ed infine, di solito sono dei cationi.

Possono essere definiti metalli pesanti, da un punto di vista chimico, elementi come piombo, cadmio, mercurio; si considerano tali, in base a conoscenze bio-ecologiche, anche elementi come ferro, manganese, rame, zinco ed anche non metalli quali alluminio, molibdeno, selenio, boro, vanadio e arsenico per origine e meccanismo di azione. Sovente si preferisce parlare di “metalli in traccia” per indicare complessivamente tutti quei metalli che rivestono un importante significato biologico, ma che possono indurre disturbi cronici nell'uomo e in altri organismi; nei quali sono presenti normalmente in concentrazioni molto basse.

La presenza dei metalli pesanti, che alterano la qualità dell'ambiente, è riconducibile a fonti sia naturali, quali il substrato pedogenetico, sia antropiche, quali le attività industriali, civili e agricole.

I metalli originati dal substrato pedogenetico si possono definire inquinanti geochimici, ma i fenomeni di contaminazione del suolo, attribuibili al materiale originario e in grado di produrre danni biologici sono, di norma, limitati ad aree ristrette.

La diffusione dei metalli pesanti nell'ambiente è legata all'attività antropica. Il problema dei metalli pesanti si accentua se solo si pensa che molti processi produttivi ne richiedono la presenza e parallelamente aumenta la possibilità di una loro dispersione nell'ambiente. Le fonderie, le industrie elettrolitiche, i processi di fotoincisione, di vulcanizzazione ed in genere tutti quelli che utilizzano l'elettrolisi sono fra le maggiori fonti di metalli pesanti quali Cu, Ni, Zn, Pb, Cr, Cd e Hg (Sequi, 1993). I più direttamente esposti a questa eventuale contaminazione sono i terreni agrari in genere; inoltre i tentativi di migliorare i raccolti, hanno comportato in agricoltura un lievitato utilizzo di fertilizzanti e pesticidi che contengono questi elementi come impurezze. Ulteriori apporti al terreno provengono

dall'utilizzo di residui di varia natura, ad esempio le biomasse di riciclo (come fanghi e compost) che, oltre ad elementi di fertilità, contengono anche questi elementi metallici spesso in quantità superiori alla normale dotazione dei terreni agrari, raggiungendo facilmente quella soglia di valori oltre la quale vengono compromesse la fertilità del suolo e la catena alimentare. Spesso il metallo pesante presente in concentrazioni maggiori risulta lo Zn, seguito da Cu, Pb, Cr, e Ni.

Ad elevate concentrazioni intracellulari, i metalli possono essere la causa di danni alla membrana cellulare e al DNA con effetti genotossici per la cellula, possono modificare la specificità enzimatica e le funzioni cellulari. La tossicità dei metalli è dovuta alle interazioni che i medesimi stabiliscono con componenti cellulari essenziali mediante legami ionici e/o covalenti e che determinano una alterazione delle attività metaboliche cellulari (Bruins et al, 2000).

Pb e Cd si liberano prevalentemente nei processi di combustione dei carburanti e dei lubrificanti, mentre il processo di usura dei pneumatici libera soprattutto Cd e Zn. Tali metalli raggiungono il suolo attraverso la deposizione atmosferica secca ed umida.

Anche l'esercizio dell'agricoltura può costituire una fonte di contaminazione per i terreni. E' stato calcolato, infatti, che più del 10% dei fungicidi e degli insetticidi tradizionalmente utilizzati apportano Cu, Hg, Mn, Pb e Zn (Sequi, 1993). Infine gli stessi concimi chimici possono essere la causa di inquinamento dato che, talora, contengono metalli pesanti (Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn) derivanti sia dalle materie prime che dai processi industriali; fra questi i perfosfati risultano particolarmente indiziati per il loro possibile apporto di Cd e di Pb.

Contrariamente ai composti organici, i metalli non possono essere metabolizzati. La bonifica di suoli contaminati con metalli consiste primariamente nel modificare la mobilità dei contaminanti metallici per ottenere un suolo che presenti livelli accettabili nel contenuto di metalli. La mobilità dei metalli dipende da una serie di fattori, ovvero dal tipo e dalla natura del suolo, dalla concentrazione del contaminante di interesse, dalla concentrazione e dal tipo di ioni che possono essere competitivi, dai leganti complessati, sia organici che inorganici, dal pH, e dallo stato di ossidazione. In genere, è difficile prevedere il comportamento dei metalli in un determinato tipo di suolo (McLean et al., 1992).

Lo studio del comportamento nel suolo dei metalli pesanti che vi pervengono è reso estremamente complesso dal fatto che essi non permangono nella forma di combinazione in cui sono stati introdotti, ma seguono il destino dei corrispondenti ioni di origine geochimica

già presenti nel suolo. Destino che è, ovviamente, diverso per ogni elemento in relazione alle sue proprietà chimico-fisiche.

Orientativamente, i metalli si possono trovare nel suolo nelle seguenti forme:

- come parte integrante dei reticoli cristallini;
- come impurezza interstrato;
- come precipitati semplici o complessi;
- come ioni inorganici semplici o complessi;
- come complessi organici solubili o insolubili;
- addensanti come cationi di scambio sulle superfici attive dei colloidi minerali e organici.

Infine possono far parte di varie e complesse combinazioni delle associazioni di cui sopra.

Le radici delle piante, mediante l'energia derivante dalla respirazione, assimilano ioni metallici come tali o come chelati. Nel terreno nulla è statico e si modificano quindi in continuazione anche gli equilibri che regolano l'assimilabilità degli ioni metallici. Difatti l'insolubilità dei precipitati metallici contrasta la stabilità degli ioni e dei complessi metallici solubili stabili in ambiente acido (rame, zinco, manganese), i precipitati insolubili di metalli allo stato di massima ossidazione vengono solubilizzati se si instaurano condizioni di ambiente riducente (tipici esempi il ferro e il manganese). Da quanto è stato detto risulta evidente che la valutazione della pericolosità dei metalli pesanti presenti nel suolo o che ad essi pervengono, costituisce un problema di grande attualità ma anche di difficile soluzione (Izza et al., 1994).

L'assorbimento da parte delle piante oltre i limiti di tolleranza è, il più delle volte, conseguenza di apporti di microelementi al suolo dovuti a correzioni incontrollate di una carenza, acque di scarico di particolari industrie, inquinamento atmosferico. Anche l'acidità del suolo, provocando una più rapida alterazione dei minerali e consentendo quindi una maggiore mobilità degli elementi liberati, può dar luogo ad un eccessivo assorbimento di microelementi (ferro, rame, manganese, zinco, boro e molibdeno) da parte dei vegetali. L'effetto tossico di un microelemento varia da pianta a pianta. Specie diverse mostrano sensibilità diversa per la stessa quantità di microelemento e la stessa specie sensibilità diversa in relazione al proprio stadio di sviluppo (Sequi, 1993). Così come il grado di tossicità di un microelemento può variare per fenomeni di antagonismi (la tossicità dello zinco, del manganese, del rame e del boro viene attenuata dalla presenza di sali di calcio),

anche il suo effetto può essere esaltato per sinergismo (sinergia delle coppie ferro-rame e molibdeno-boro).

II. 2.1. Metalli pesanti nel compost

L'applicazione di compost ai suoli richiede una attenta valutazione per quanto concerne la presenza di vari inquinanti organici ed inorganici, tra i quali di particolare rilevanza sono i metalli pesanti (Marcote et al, 2001; Reddy et al, 1987). Questi ultimi possono trovarsi nel compost in diverse forme chimiche (sali, ioni scambiabili, legati alla sostanza organica), ognuno di essi mostra uno specifico comportamento durante il processo di compostaggio e dopo l'applicazione di compost al suolo (Marschner, 1986; Henry e Harrison, 1997).

I metalli pesanti rappresentano uno dei parametri fondamentali per la valutazione della qualità del compost; quantità sostenute di questi elementi ne pregiudicano l'uso agronomico poiché tendono a persistere ed accumularsi arrecando contaminazione a carattere irreversibile del suolo.

Le principali sorgenti di metalli pesanti nei rifiuti solidi urbani (RSU) sono rappresentate da pile (mercurio, cadmio e zinco), pellame (cromo), vernici (cromo, piombo e cadmio), plastiche (cadmio), carta (piombo) e cosmetici (cadmio e zinco). Il loro diverso contenuto può essere dovuto ai seguenti fattori: diversa industrializzazione della zona di raccolta, diversi metodi di raccolta dei RSU, diversi sistemi usati per la preparazione della sostanza organica da compostare, diversi metodi analitici. Tenendo conto della importante diversità delle forme chimiche dei metalli presenti nel compost, è soprattutto nel terreno che si svolgono i processi fondamentali per l'assunzione di questi elementi da parte delle piante coltivate. In questo senso i principali fattori che influenzano l'assimilabilità dei metalli, come già detto prima, sono il pH, il potenziale redox, l'attività biologica, la sostanza organica, la quantità e il tipo di argilla e la capacità di scambio cationico del terreno.

Le applicazioni di compost comportano evidenti effetti sulle condizioni chimiche e fisiche del terreno, che possono alterare il comportamento dei metalli pesanti e quindi la loro disponibilità per i vegetali. In particolare l'impiego di compost comporta aggiunta di metalli pesanti in forme chimiche diverse da quelle normalmente presenti nel terreno, apporti di sostanze organiche di differente struttura molecolare e, infine, influenza la reazione del substrato pedogenetico. E' evidente che tali effetti possono modificare gli equilibri esistenti tra le diverse forme chimiche dei metalli pesanti nel terreno, inducendo quindi importanti variazioni della loro assimilazione. Infatti, gli apparati radicali delle piante sono in grado di

assorbire non solo gli ioni liberi presenti nella soluzione del terreno, ma anche di interagire con i complessi più deboli metalli-sostanza organica e con le forme adsorbite e scambiabili.

E' importante inoltre considerare la distribuzione di questi elementi anche nelle diverse frazioni fisiche; è stato dimostrato (Petruzzelli, 1992) che la più alta concentrazione di metalli pesanti si riscontra nella frazione più fine < 1mm. Il contenuto di metalli pesanti è la principale causa della restrizione dell'utilizzo di compost in agricoltura (Paris e Lucianer, 1986). Incrementi dei livelli di Cu, Pb e Zn sono spesso osservati sia nelle piante che nel suolo, mentre non sono riportati incrementi per altri metalli come Cd, Cr e Ni (Businelli e Gigliotti, 1994).

II. 2. 1.1. Cadmio

Il cadmio (Cd) è un metallo nocivo per qualsiasi essere vivente, con sperimentato potere cancerogeno. Comunque, le concentrazioni di Cd che normalmente ci sono nell'ambiente non sono causa di tossicità acuta. Il maggior rischio per la salute umana è rappresentato dall'accumulo cronico nei reni, dove esso può causare delle disfunzioni (Fassett, 1980). Raramente si trova come composto puro, di solito si trova sotto forma di CdS e CdCO₃. Molto ricche di Cd sono le miniere di piombo, zinco, e ferro. Esso è ritrovato come coprodotto quando questi minerali sono processati.

Fonti di inquinamento sono gli inceneritori, i depositi di spazzatura, il fumo di sigaretta, le industrie chimiche o petrolchimiche, siderurgiche, i rifiuti urbani, la combustione del carbonio, i settori della galvanoplastica, delle vernici e dei coloranti (Alloway, 1995).

La concentrazione di cadmio nel suolo è funzione delle caratteristiche dei materiali originari e dell'utilizzo di sostanze contenenti metalli pesanti utilizzate per la difesa antiparassitaria o per la fertilizzazione (concimi fosfatici, fanghi di depurazione, pesticidi). In generale, il suolo contiene quantità < 1 mg/kg, eccetto i suoli contaminati da sorgenti discrete o sviluppati originariamente su materiali con contenuti alti di Cd.

Kabata-Pendias e Pendias (1992) conclusero che il contenuto medio di Cd riportato dalla maggior parte degli esami analitici dei livelli di background di metalli nei suoli è compreso nel range di 0,06-1,1 mg/kg.

Il Cd si trova normalmente concentrato nell'orizzonte superficiale, ciò è dovuto alla combinazione di vari fattori: è la zona con il più alto contenuto di sostanza organica e i metalli possono essere trattenuti in questo orizzonte dopo applicazioni di fertilizzanti o concimi contenenti Cd, o dopo le deposizioni secche o umide provenienti dall'atmosfera.

Comunque, diversamente da Cu e Pb, il Cd (insieme a Zn e Ni) ha una tendenza a penetrare lungo il profilo sebbene l'estensione e la percentuale dipendono da vari fattori del suolo (Kabata-Pendias e Pendias 1992).

II. 2. 1.2. Cromo

Il cromo (Cr) è dei metalli meno comuni sulla crosta terrestre e si trova solo come composto. Il più comune è il minerale cromite (FeCr_2O_4). Metallo molto tossico per piante e animali, cancerogeno per l'uomo se intensamente esposto a tale elemento.

La sua presenza in atmosfera è imputabile ad impianti di cromatura, viene utilizzato come pigmento nelle vernici, nelle fotocopiatrici fotomeccaniche, come anticorrosivo nell'industria del petrolio. E' presente nelle concerie, nelle cartiere, nelle tintorie, nella lavorazione di acciaio e di metalli vari. In particolare il contenuto di cromo può essere molto elevato in alcuni sottoprodotti dell'industria conciaria utilizzati per la produzione di concimi organici.

La concentrazione di cromo nel suolo è riconducibile in parte a naturali processi di degradazione dei substrati geologici, da cui i suoli stessi traggono origine, attività vulcanica, incendi di foreste; in parte è funzione dell'utilizzo sul suolo di sostanze contenenti metalli pesanti utilizzate per la difesa antiparassitaria o per la fertilizzazione. Le concentrazioni di Cr in forma disponibile per le piante sono estremamente basse nella maggior parte dei suoli, e questa carenza di solubilità rispecchia le basse concentrazioni dell'elemento nelle piante. Concentrazioni delle piante mostrano una piccola relazione con il contenuto totale del Cr nel suolo; le concentrazioni di background nelle piante sono dell'ordine di 0,23 mg/kg, ed in generale le concentrazioni sono più basse di 1 mg/kg nel suolo (Bowen, 1979).

II. 2. 1.3. Ferro

Il ferro (Fe) è uno dei metalli più abbondanti nella crosta terrestre, viene prodotto in grandi quantità negli altiforni per riduzione di suoi minerali (ossidi di ferro) con carbone. Il ferro è un microelemento catalitico indispensabile alla vita dei vegetali perché entra nella costituzione di vari enzimi e perché regola numerosi processi biochimici come la sintesi della clorofilla, la fotosintesi, la respirazione cellulare. Il Fe è uno dei maggiori componenti della gran parte dei suoli. Nel terreno il ferro è contenuto normalmente in quantità soddisfacente nella forma di ione ferrico (Fe^{3+}), ma per essere assimilato ed utilizzato dalla pianta deve essere ridotto nella forma ferrosa (Fe^{2+}), anche per effetto delle secrezioni radicali. Non è quindi certamente la mancanza di ferro a provocare fenomeni di carenza,

quanto quella di forme assimilabili per la vegetazione. Il pH del terreno ha un ruolo assai importante nella disponibilità del ferro. Nei terreni caratterizzati da pH elevato, con un alto contenuto in calcare, non si ha la riduzione dello ione ferrico a ferroso, determinando il mancato assorbimento dell'elemento per insolubilizzazione. Altre cause di Fe-carenza sono da ascrivere a fenomeni di antagonismo da parte dei cationi bivalenti (Ca, Mg, Zn e Cu) che competono nella formazione di complessi, e alla presenza eccessiva di ioni fosfato che provocano l'insolubilizzazione del ferro (Allen, 1989).

II. 2. 1. 4. Manganese

Il manganese (Mn) è un elemento largamente rappresentato in ecosistemi naturali, è estratto in grande quantità e trova importanti applicazioni in molti prodotti industriali. Esso ha origine litogena ed è tra i meno tossici sia per gli animali che per le piante (per queste ultime diviene tossico solamente su suoli acidi). Fonti secondarie possono essere la presenza di fonderie, la combustione di carbone o petrolio, gli inceneritori e l'uso di fertilizzanti.

Tale elemento svolge un ruolo essenziale nella vita degli organismi: microrganismi, piante e animali. Il contenuto di Mn nel suolo riflette la composizione del substrato pedogenetico. Nei suoli il Mn si trova comunemente come ossido. Gli ossidi di manganese variano nella loro solubilità e ciò può implicare una relazione con la loro capacità di fornire Mn alle radici delle piante. L'assorbimento di Mn da parte delle piante è in funzione della concentrazione di questo elemento in forma ionica (Smith, 1995)

II. 2. 1.5. Nichel

In natura il nichel (Ni) è uno degli elementi più abbondanti, è due volte più abbondante del rame. Come gli altri metalli in traccia anche il nichel è tossico per le piante e gli animali in concentrazioni superiori ai livelli medi di esposizione. Le sorgenti naturali di emissione di Ni sono dovute all'attività vulcanica, agli incendi, allo spray marino, ecc. Ma più dell'80% delle emissioni di Ni sono di origine antropogenica. La maggiore sorgente antropogenica di suddetto metallo è la fusione di combustibili e residui di olii.

Il livello naturale di nichel nei suoli in alcune aree è particolarmente elevato, raggiungendo valori di gran lunga superiori a quelli previsti dalla Direttiva 86/278/CEE. La concentrazione di nichel nel suolo è funzione delle caratteristiche dei materiali originari (ricoducibili a naturali processi di degradazione dei substrati geologici) e dell'utilizzo, per la difesa antiparassitaria o per la fertilizzazione di sostanze contenenti metalli pesanti. La concentrazione media di Ni nel suolo è intorno ai 20 mg/kg. In diversi suoli il Ni, come il Fe

e il Mn, possono essere accumulati nell'orizzonte B come ossidi, mentre in altri il Ni si può accumulare nella lettiera e nell'humus (McGrath, 1995).

Questo accumulo in superficie comporta effetti deleteri sull'attività microbica, sulla germinazione dei semi e sulla crescita delle piante nell'area (Hutchinson, 1981).

Inoltre, la solubilità del Ni aumenta a pH bassi. Le concentrazioni di Ni nelle piante e nel suolo variano generalmente tra circa 0,1-5 mg/kg (Hutchinson, 1981). La concentrazione di Ni nelle piante riflette la concentrazione dell'elemento nel suolo, sebbene la relazione è più direttamente collegata alla concentrazione di ioni di Ni solubili.

II. 2. 1. 6. Piombo

Il piombo (Pb) è un metallo tossico sia per le piante che per gli animali. Le sue emissioni sono dovute principalmente al traffico veicolare, altre fonti sono le fonderie, le miniere e la combustione di carbone.

La concentrazione di piombo nel suolo è riconducibile in parte a naturali processi di degradazione dei substrati geologici, da cui i suoli stessi traggono origine. Fonte primaria di arricchimento della preesistente dotazione è però l'attività antropica con l'apporto di sostanze per la difesa antiparassitaria o per la fertilizzazione con concimi o con fanghi e compost, ma anche attraverso processi di fallout atmosferico. Quando il Pb è rilasciato nell'ambiente esso ha un lungo tempo di residenza comparato con gli altri inquinanti.

Il Pb e le sue componenti tendono ad accumularsi nei suoli e nei sedimenti dove, a causa principalmente della sua bassa solubilità e indipendenza dalla degradazione microbica, rimarranno per molto biodisponibili (Davies, 1995).

Il Pb è presente in suoli non contaminati a concentrazioni < 20 mg/kg ma concentrazioni molto più alte sono stati riportati in molte aree come conseguenza di emissioni antropogeniche, spesso per molti anni. Tale elemento si accumula naturalmente sull'orizzonte superficiale del suolo, mentre per lisciviazione si assiste alla perdita di Pb.

La maggior parte dei metalli pesanti, incluso il Pb, rimane in una forma insolubile o stabile nello strato superficiale dopo l'applicazione di fanghi. Solo una parte del Pb totale è disponibile per la pianta. C'è una relazione positiva tra la concentrazione di Pb nel suolo e quello nella pianta. Diversi parametri del suolo influenzano l'assorbimento di Pb.

Tale elemento può influenzare le attività microbiche nel suolo e in tal modo ridurre la produttività del suolo. Per esempio il Pb potrebbe inibire la mineralizzazione dell'azoto e la nitrificazione (Davies, 1995).

II. 2. 1. 7. Rame

Il rame (Cu) è uno dei più importanti ed essenziali elementi per piante e animali. Relativamente scarso nella litosfera, 70 mg/kg, si trova, come ione idrato, solo lo ione rameico Cu^{2+} . Nei suoli è presente intorno ai 30 mg/kg. Tale elemento è associato con la sostanza organica nel suolo, con gli ossidi di ferro e di manganese, con i silicati e altri minerali.

I composti rameosi esistono solo come composti insolubili o, in soluzione acquosa, come complessi. Fonti di inquinamento sono i tubi per l'acqua, gli utensili da cucina di rame o ramati, la presenza di industrie del ferro e dell'acciaio, la combustione del carbone e i rifiuti urbani. Il rame è scarsamente tossico per l'uomo e per gli animali, al contrario può risultare tossico anche a concentrazioni basse per le piante. Fonti atmosferiche di Cu al suolo sono riconducibili alla pioggia e alle deposizioni secche considerevolmente alle emissioni industriali di Cu.

La concentrazione di rame nel suolo è funzione del tipo di suolo, delle caratteristiche dei materiali originari e dell'utilizzo di sostanze contenenti metalli pesanti utilizzate per la difesa antiparassitaria, in particolare contro gli insetti e funghi infestanti le piante, o per la fertilizzazione, soprattutto con reflui zootecnici. In particolare l'elevato contenuto di rame nelle deiezioni zootecniche è dovuto all'utilizzo di integratori e additivi alimentari che contengono questo elemento. Le concentrazioni più elevate di rame sono tipiche di molti suoli utilizzati per la viticoltura. In particolar modo, le concentrazioni di Cu nelle piante sono racchiuse in un range che va da 5 a 20 mg/kg, che può essere esteso fino a 30 mg/kg; inoltre il rame è un elemento relativamente immobile nelle piante.

II. 2. 1. 8. Zinco

Lo zinco (Zn) è un elemento non nocivo né per animali né per piante. Le fonti principali di emissioni sono il traffico veicolare, le fonderie, gli inceneritori, la combustione del carbone, preparazione di vernici e gomma, fertilizzanti e pesticidi.

Il comune range per la concentrazione totale di Zn nei suoli è 10-300 mg/kg con una media di 50 mg/kg. La concentrazione di zinco nel suolo è riconducibile in parte a naturali processi di degradazione dei substrati geologici, da cui i suoli stessi traggono origine, in parte è funzione dell'utilizzo di sostanze per la difesa antiparassitaria o per la fertilizzazione. In particolare, l'elevato contenuto di zinco nelle deiezioni zootecniche è dovuto all'utilizzo di integratori e additivi alimentari che contengono questo elemento. L'importanza relativa delle differenti sorgenti di input di Zn al suolo (Kiekens, 1995) diminuiscono secondo tale

ordine: letame (70%) > fall-out atmosferico (25%) > fertilizzanti minerali (4,5%) > compost (0,3%) > fanghi (0,2%).

Zn^{2+} sembra essere la forma predominante in cui è assorbito dalle radici delle piante, ma anche lo Zn idratato, diversi altri complessi e lo Zn organico chelato possono essere assorbiti (Kabata-Pendias e Pendias, 1992). I fattori che influiscono sulla disponibilità dello Zn nei suoli sono principalmente: il pH, la sostanza organica, l'attività microbica e l'umidità. Altri fattori che giocano un ruolo importante sono anche le condizioni climatiche e le interazioni tra Zn e altri micro-macronutrienti a livello del suolo e della pianta. Insieme con Cu, Ni e Cr, lo Zn è fitotossico, eccessive concentrazioni di suddetto metallo in traccia comportano effetti dannosi alle colture e alla fertilità del suolo. Lo Zn può essere considerato, insieme con il Cd un metallo mobile e biodisponibile, che può essere accumulato nelle colture e quindi entrare nella catena alimentare e raggiungere l'uomo.

II. 3. Macronutrienti

II. 3. 1. Magnesio

Il magnesio è da considerare un macroelemento per la funzione che svolge nella biologia delle piante, essendo il costituente centrale della molecola della clorofilla.

Nel terreno è normalmente contenuto in quantità soddisfacente, per cui, i casi di magnesio –carenza sono spesso indotti da eccessi di calcio e potassio, elementi antagonisti, che ne determinano un mancato assorbimento. Oltre ad essere importante per la fotosintesi clorofilliana, il magnesio partecipa alla formazione di pigmenti come il carotene e le xantofille, facilita il trasferimento del fosforo negli apici vegetativi e nei semi, entra nella sintesi degli zuccheri e dell'amido ed è attivatore di numerosi enzimi. In generale, la disponibilità è più alta in suoli basici e neutri e più bassi in suoli acidi dove si può trovare una deficienza (Allen, 1989). Anche il magnesio viene assorbito dalle piante nella sua forma ionica Mg^{2+} . Il contenuto di magnesio dei suoli non magnesiaci oscilla tra 0,05 e 0,5%, con punte massime nei suoli argillosi e minime in quelli sabbiosi. La distribuzione del Mg lungo il profilo non presenta di norma notevoli differenze; l'eventuale maggior contenuto negli strati superficiali dipende in genere dalle pratiche della fertilizzazione (Sequi, 1993).

II. 3. 2. Potassio

La maggior parte del potassio si trova nella crosta terrestre sotto forma di minerali, come feldspati ed argilla. Il potassio è da essi rilasciato tramite erosione, che spiega come mai c'è

molto di questo elemento nel mare (0.75 g/litro). Il potassio è un elemento strutturale della maggior parte dei minerali dei suoli. Il potassio, a differenza del fosforo e dello zolfo, ma soprattutto dell'azoto, si trova nel suolo essenzialmente in forma minerale nella quasi totalità in forma non assimilabile dai vegetali o come ione positivo (K^+) molto solubile (Sequi, 1993).

Nei terreni sabbiosi è facilmente dilavato dalle piogge, mentre nei terreni argillosi è saldamente legato alle particelle del suolo ed è facilmente assorbito dalle piante. In valore assoluto le quantità di potassio assorbito dalle piante eguagliano quelle dell'azoto e superano quelle del fosforo; eppure il potassio non partecipa alla formazione di particolari composti organici, ma si trova nelle cellule come ione libero. L'elemento è essenziale per la vita e le piante ne hanno necessità come macronutriente sebbene non abbia funzione strutturale in animali e piante. E' riconosciuta la sua indispensabilità per alcuni processi e funzioni fisiologiche, come il metabolismo dei carboidrati, il bilancio idrico della pianta e lo sviluppo dei tessuti meristemati. Il contenuto di K totale nel suolo è variabile. Nei terreni agrari il contenuto medio è dell'1,5%, in quelli non coltivati varia dallo 0,15 al 4% e nei suoli salini può superare il 6-7% (Allen, 1989).

II. 4. Contaminazione microbica

Nella realizzazione di un compost di qualità da un punto di vista igienico-sanitario, è fondamentale la valutazione di sostanze e organismi in grado di indicare il livello di stabilizzazione e di sanitizzazione del prodotto. Il contenuto in microrganismi patogeni è quindi un parametro estremamente importante nella valutazione della qualità igienico sanitaria per un sicuro utilizzo di compost in agricoltura. Sono, ad esempio, indicatori di qualità biologica del compost queglii organismi, non necessariamente patogeni, ma particolarmente resistenti alle fasi termiche del processo, la cui presenza o assenza permette di definire l'efficacia della fase termofila della catena produttiva. Il concetto su cui si fonda l'utilizzo di una specie indicatrice è che la sua assenza o limitata presenza indica l'assenza anche di altri gruppi di organismi meno tolleranti ai processi di igienizzazione.

Il compost, soprattutto se tra i materiali di partenza sono presenti fanghi di depurazione, può contenere ancora microrganismi e tra questi quelli patogeni. Infatti, i fanghi, quali prodotti di risulta derivati dai processi di trattamento dei liquami, costituiscono il concentrato di tutti gli inquinanti presenti nei reflui: sostanze organiche, composti inorganici anche difficilmente biodegradabili, metalli pesanti e microrganismi (Mezzanotte, 1987; Nurizzo,

1981). Nei fanghi possono ritrovarsi batteri patogeni, agenti eziologici di malattie a circuito orofecale (es. *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*) unitamente ad altri batteri responsabili di patologie per l'uomo (micobatteri, brucelle, leptospire, ecc).

Contemporaneamente sono presenti i batteri indicatori di contaminazione fecale (coliformi e streptococchi). Infatti, benché tutti i patogeni più comuni possono essere ritrovati nei fanghi, solo alcuni vi si trovano con una frequenza significativa. In particolare, microrganismi appartenenti alla famiglia delle *Enterobacteriaceae* (coliformi, *E. coli*, *Salmonella*) possono raggiungere nei fanghi elevate concentrazioni. Ad esempio, la concentrazione di *Salmonella*, nei reflui e conseguentemente nei fanghi derivati, può risultare maggiore rispetto a quella di altri patogeni in quanto legata anche alla possibilità di diffusione da parte di portatori sani.

Il compost, se prodotto in base a specifici criteri qualitativi, non dovrebbe contenere microrganismi patogeni. Tuttavia, secondo Burge et al. (1981) il solo rilevamento degli indicatori di contaminazione fecale (coliformi) non sarebbe significativo della presenza o meno dei patogeni in questo tipo di campioni. Al contrario, Goldstein et al. (1988) hanno valutato, in base ad analisi di regressione, che coliformi fecali e streptococchi possono essere idonei indicatori per il controllo e il monitoraggio di prodotti di compostaggio.

Con particolare riferimento alla qualità biologica del compost, l'integrazione della Legge 748/84 col DM 27/03/1998 (Modifica Allegato 1C) ha introdotto la determinazione, ed i relativi valori limite, del contenuto di microrganismi ritenuti potenzialmente patogeni o indicatori di contaminazione fecale: presenza/assenza di *Salmonella*, contenuto di streptococchi fecali e di *Enterobacteriaceae* totali (Adani, 2006).

Per l'eliminazione dei patogeni risulta, oltremodo importante, come già segnalato, il raggiungimento di elevate temperature durante il processo di compostaggio.

Nella Tab. II. 2, sono riportati i valori di temperatura e i tempi necessari per l'eliminazione di alcuni batteri, virus e parassiti.

MICROORGANISMO	TEMPO (MIN)	TEMPERATURA DI ABBATTIMENTO (°C)
<i>Salmonella typhimurium</i>	30'	0 °C (stasi sopra i 46 °C)
<i>Salmonella typhi</i>	30'	55-60 °C (20' a 60 °C)
<i>Salmonella</i> spp	20'	60 °C (60' a 56 °C)
<i>Shigella</i> spp.	60'	55 °C
<i>E. coli</i>	20'	60 °C (60' a 55 °C)
<i>Bacillus anthracis</i> (spore)	180'	140 °C
<i>Brucella abortis</i>	3'	62,5 °C (60' a 55 °C)
<i>Brucella</i> sp.	3'	61 °C
<i>Micrococcus pyogenes</i>	10'	50 °C
<i>Micrococcus</i> sp.	10'	50 °C
<i>Streptococcus</i> sp.	10'	54 °C
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	15'-20'	66 °C (<3' a 67 °C)
<i>Mycobacterium</i> sp.	20'	66°C
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	45'	55 °C
<i>Entamoeba histolytica</i> (cisti)	5'-10'	45 °C (pochi secondi a 55 °C)
<i>Giardia</i> sp.	5'	55°C
<i>Cryptosporidium</i> sp.	30'	65 °C
<i>Taenia</i> sp.	5'	71 °C
<i>Ascaris lumbricoides</i> (uova)	60'	50 °C
<i>Trichinella spiralis</i> (larve)	<3'	55 °C (pochi secondi a 60 °C)
Virus	25'	70°C

Tab II. 2. Temperatura e tempi di eliminazione di alcuni batteri, parassiti e virus sottoposti a trattamento termico (Bonadonna et al, 2002)

Tuttavia si deve tenere conto che l'aggregazione, l'adesione a particelle solide, e quindi la formazione di cluster microbici, hanno la capacità di garantire la sopravvivenza dei microrganismi presenti che, in queste condizioni possono ritrovarsi ancora nel prodotto finito (Bonadonna, 1998, 1994). Come già rimarcato, l'andamento del processo di compostaggio è fondamentale per ottenere un compost di qualità. Se, per limiti impiantistici e di gestione, nel processo non è possibile giungere alla completa degradazione della sostanza organica, alcuni patogeni, in special modo le Salmonelle, possono essere messi in grado di svilupparsi in una fase successiva alla fine del processo (Burge, 1987). Infatti, il prodotto finito può costituire

ancora un substrato di crescita per il mantenimento dei microrganismi. Essi, in presenza di sostanza organica non del tutto degradata, e con livelli idonei di umidità e temperatura, troverebbero le condizioni ottimali per il loro sviluppo. Questo fenomeno viene indicato con il termine di ricrescita (regrowth), e dipende da una serie di fattori. Dai dati ritrovati in letteratura appare chiaro che il contenuto di umidità del compost è uno dei fattori che gioca un ruolo prioritario nel mantenimento della stabilità di un compost e, conseguentemente, nella potenzialità che si verifichino eventi di ricrescita (Gibbs et al., 1997).

Di estrema importanza è anche la diversità microbica presente nel compost. Infatti l'effetto antagonista di differenti microrganismi può costituire un fattore limitante al mantenimento della vitalità dei patogeni. È, infatti, la competizione con la microflora che svolge il processo – soprattutto funghi e attinomiceti – che può permettere di ridurre o eliminare gli eventuali patogeni presenti. In questo caso, le più alte concentrazioni di microrganismi interferenti inibiscono lo sviluppo dei patogeni che, generalmente in concentrazioni inferiori, soccombono anche per la ridotta disponibilità di nutrienti. Da Hussong et al. (1984) è stato determinato che la microflora attiva in compost di derivazione da fanghi di depurazione concorre a eliminare Salmonella dopo sei settimane. La diversità può comunque esercitare un'azione sfavorevole nei confronti dei fenomeni di ricrescita anche in compost poco stabili in termini di disponibilità di carbonio.

II. 4. 1. Coliformi totali e fecali

I coliformi sono germi Gram negativi, bastoncellari, aerobi ed anaerobi facoltativi, lattosio fermentanti, che crescono a 35-37 °C producendo acidi, gas e aldeidi nell'arco di 24-48h di incubazione.

Nel gruppo dei coliformi totali sono compresi microrganismi che fanno parte della famiglia delle *Enterobacteriaceae*. Pur essendo presenti nel materiale fecale di origine umana con una densità media di 10^9 UFC/g, sono ubiquitari. Proprio a causa della loro costante presenza nell'ambiente, la loro validità come indicatori è stata più volte messa in dubbio.

Le più recenti indicazioni, in fase comunque di ulteriore evoluzione, tendono a distinguere i microrganismi appartenenti al gruppo in due principali categorie che, in base alle specie, e non più al genere, differenziano coliformi di origine acquatica e tellurica, e coliformi di origine fecale.

La prima categoria corrisponde ai coliformi totali, ovvero a specie non strettamente legate al tratto intestinale di animali a sangue caldo, ma che sono largamente distribuite

nell'ambiente, dove possono anche moltiplicarsi, colonizzando suolo, acqua e vegetazione. Nonostante ciò essi vengono ancora utilizzati per evidenziare fenomeni di inquinamento ambientale.

La seconda categoria è quella dei coliformi di riconosciuta origine fecale che, al contrario, comprende alcune specie dei generi che tra i lattosio fermentanti, posseggono idrolasi termostabili, come *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, presenti nel materiale fecale dell'uomo e degli animali a sangue caldo e in acque e suoli contaminati. Tali microrganismi hanno acquisito la prerogativa di svilupparsi a $44 \pm 0,5^\circ \text{C}$ per 24 h (Bonadonna et al, 2002)

Per questo motivo sono considerati i più significativi indicatori di contaminazione fecale e pertanto utilizzati per la valutazione di qualità microbiologica di varie matrici. I substrati colturali utilizzati nella ricerca sono costituiti da terreni a base di lattosio che sfruttano, quindi, la capacità dei colonbatteri di fermentare questo zucchero abbassando il pH e sviluppando gas (CO_2).

II. 4. 2. Enterobacteriaceae

Il termine *Enterobacteriaceae* è utilizzato in tassonomia per indicare una famiglia di batteri Gram negativi, asporigeni, aerobi facoltativi, mobili o immobili, fermentanti, capaci di ridurre i nitrati a nitriti (Nicolosi, 2002). I microrganismi provvedono al loro fabbisogno energetico attraverso la fermentazione degli zuccheri, in assenza d'aria o comunque in assenza di substrati a basso potenziale di ossido-riduzione, oppure attraverso la respirazione, se è presente ossigeno o il substrato con un elevato potenziale di ossido-riduzione.

Caratteristica comune a tutti i membri della famiglia è la capacità di fermentare il destrosio (glucosio). Molti altri idrati di carbonio, oltre al destrosio, possono essere utilizzati per le proprie esigenze bioenergetiche dalle *Enterobacteriaceae* con una specificità di attacco variabile da genere a genere e da specie a specie. La specificità di attacco del lattosio, con produzione di gas, costituisce ad esempio il criterio discriminativi del gruppo dei coliformi, mentre quella del dulcitololo contribuisce in modo determinate all'identificazione delle colture di *Salmonella* (Ottavini, 1996).

I membri di tale famiglia sono largamente distribuiti: si ritrovano nel suolo, nelle acque, sulle piante, nell'intestino dell'uomo e di numerosissimi animali. Alcuni enterobatteri sono parassiti dell'uomo e degli animali. La patogenicità di tali organismi è associata alla produzione di enterotossine.

II. 4. 3. Salmonella

Genere appartenente alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*. Sono bacilli Gram-negativi, aerobi facoltativi, mobili per flagelli peritrichi, fermentanti. La loro patogenicità è relativa all'azione di una endotossina. Le *Salmonellae* sono trasmesse attraverso escrezioni umane e animali nell'acqua e nel suolo.

La maggior parte degli studi svolti, relativamente agli aspetti igienico-sanitari legati alla presenza di microrganismi in prodotti di compostaggio, studi comunque molto limitati in numero, ha messo in evidenza la possibilità di isolare nel compost, prevalentemente *Salmonella*.

È il microrganismo patogeno più frequentemente rilevato, anche se la sua valenza sanitaria nei prodotti di compostaggio risulta di difficile valutazione e interpretazione.

Si ritiene che il genere *Salmonella*, come parametro, possa costituire un riferimento significativo per la valutazione della qualità igienico-sanitaria di prodotti di compostaggio. Pertanto è utile che venga mantenuto tra i parametri di controllo per questa matrice. Infatti, a differenza dei microrganismi precedentemente trattati, è un patogeno primario di origine enterica il cui riscontro in compost maturi può costituire un rischio per la salute ed essere il segnale di una produzione di scadente qualità igienico-sanitaria. Sebbene la *Salmonella* possa costituire un rischio diretto per la salute umana sia in fase di manipolazione del prodotto che di spandimento, bisogna comunque considerare che una volta diffusa nell'ambiente, scarsa è la sua capacità di sopravvivenza, in quanto habitat naturale sono l'uomo e gli animali e le condizioni esterne non sono comunque favorevoli al suo mantenimento nell'ambiente.

Anche considerando il caso che, per limiti impiantistici e di gestione, nel processo non sia possibile eliminare completamente tale microrganismo, lo spandimento sul suolo di compost ancora contaminato ha comunque una valenza sanitaria limitata. Infatti, l'effetto antagonista legato alla presenza di differenti microrganismi, la competizione per i nutrienti, la presenza di sostanze tossiche e metalli pesanti, le condizioni meteo-climatiche e la struttura geologica dei suoli possono costituire un fattore limitante al mantenimento della vitalità del patogeno. In generale, di particolare rilievo è l'azione svolta dalla microflora che può permettere di ridurre o eliminare gli eventuali patogeni presenti.

II. 4. 4. Streptococchi fecali

Cocchi Gram-positivi, asporigeni, aerobi facoltativi (ma in qualche caso anaerobi obbligati), immobili e lattatofermentanti. Sono microrganismi appartenenti al gruppo sierologico D di Lancefield e includono 2 generi *Streptococcus* (*S. Bovis*, *S. Equinus*) ed *Enterococcus* (*E. avium*, *coecorum*, *durans*, *faecalis*, *faecium*, *allinarum*, *hirae mundtii*) presenti nelle feci animali, (*E. casseliflaus*, *E. faecalis*, *liquefaciens*, *E. solitarium*, *E. malodoratus*) diffuse nelle piante.

Il nome *Streptococcus* deriva dal fatto che questi germi tendono a disporsi in sequenze ordinate di cellule rotonde o ovali che ricordano una collana o una catenella, ma possono anche ritrovarsi a elementi singoli o a paia. In realtà l'aspetto più caratteristico, che si riscontra soprattutto nei terreni liquidi, è quello di catene diplococchi, ciò è dovuto al loro modo di dividersi: le cellule si allungano sullo stesso asse della catena e si dividono su un unico piano perpendicolare all'asse della catena stessa.

Il genere *Streptococcus* comprende 21 specie. A questo gruppo appartengono microrganismi caratterizzati da una particolare resistenza ai trattamenti di igienizzazione, considerata in alcuni casi paragonabile a quella dei virus, che, ritrovandosi nel tratto gastrointestinale dell'uomo e degli animali a sangue caldo, sono indicatori di elezione per segnalare la presenza di condizioni di fecalizzazione e quindi di eventuale presenza di patogeni enterici. Essi hanno capacità di sopravvivenza maggiore rispetto ai coliformi e sono sicuro indice di inquinamento fecale

III

Lavoro Sperimentale

III. 1. Scopo della ricerca

L'obiettivo della ricerca, parte di un progetto interregionale triennale, finanziato dalla Regione Campania e dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (MIPAF), è lo studio degli effetti dell'applicazione del compost sul recupero della fertilità biologica dei terreni agrari, intesa come entità e complessità di attività microbiche e biochimiche, capaci di promuovere la sostenibilità delle produzioni orticole.

Alcuni indici di attività biologica sono stati assunti quali indicatori precoci delle modificazioni indotte dai trattamenti sul terreno. In particolare sono state monitorate, nel corso di ogni anno, la respirazione basale e alcune attività enzimatiche come l'attività idrolasica totale, l'attività fosfatasica, l'attività arilsolfatasica ed infine l'attività β -glucosidasica.

Tali indici, ampiamente utilizzati in letteratura, costituiscono dei parametri sintetici, che si prestano molto bene per il confronto tra diversi trattamenti apportati al terreno (Pankhurst et al., 1997).

Nell'ambito del progetto è stata anche valutata la possibilità di contaminazione del terreno da metalli pesanti, in seguito alla somministrazione di compost. A tal fine sono state determinate le concentrazioni totali di elementi quali Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn oltre a due macronutrienti, K e Mg. Degli stessi elementi è stata determinata la concentrazione della frazione disponibile che più direttamente influenza le piante e i microrganismi del suolo. Inoltre, si è proceduto anche alla determinazione di una eventuale contaminazione da microrganismi patogeni per l'uomo quali *Salmonella*, o potenzialmente patogeni quali coliformi fecali e totali, streptococchi fecali, *Enterobacteriaceae* oltre alla carica batterica totale.

IV

AREA DI STUDIO

IV. 1. Suoli agrari dell'area mediterranea

Negli anni si è assistito ad una progressiva diminuzione del contenuto in sostanza organica nei suoli soprattutto delle regioni mediterranee e in alcuni comprensori dove, per cause dovute ad un eccessivo sfruttamento della risorsa suolo, sono venuti a mancare i “ricarichi” periodici di sostanza organica (letame in primis) al fine di ripristinare la perdita di carbonio organico.

Il processo di impoverimento progressivo della fertilità dei suoli è certamente uno degli effetti più vistosi di un fenomeno più generale e complesso che, soprattutto nel bacino del Mediterraneo, sta assumendo dimensioni preoccupanti: la desertificazione.

A testimonianza della complessità del fenomeno e della indipendenza dalla collocazione geografica si riporta la definizione di desertificazione scaturita dalla Conferenza delle Nazioni Unite a Nairobi: “riduzione o distruzione del potenziale biologico del terreno che può condurre a condizioni desertiche” (Centemero et al, 2004). Tra i processi di degradazione in atto, alcuni assumono un carattere di particolare rilevanza soprattutto nei territori italiani come la salinizzazione, ovvero il crescente fenomeno di intrusione di acque marine nei corpi acquiferi continentali con una progressiva distribuzione e concentrazione di sali nei terreni agrari delle zone in questione (Centemero et al., 2004); l'erosione del suolo che, sotto l'azione dell'acqua (pioggia battente e scorrimento superficiale) e del vento, favorisce l'asportazione di suolo; ed infine la perdita di sostanza organica.

L'European Soil Bureau ha costruito una mappa (Fig. IV. 1) del territorio europeo distinguendo tra i territori con un contenuto maggiore e minore di carbonio organico nei primi 30 cm di profondità dei suoli coltivati (Centemero et al., 2004). Da tale mappa si evidenzia molto chiaramente la situazione dei territori dell'Europa del Sud (area Mediterranea) dove mediamente il 74,6% del territorio ha un contenuto di carbonio organico inferiore al 2%. L'Italia appartiene a questa categoria con una media di 86,4% del territorio nazionale con tali caratteristiche.

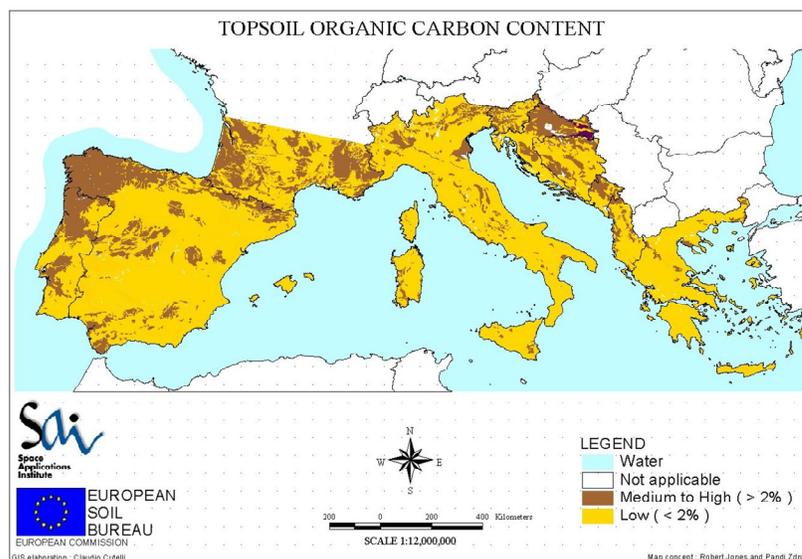


Fig. IV. 1. Mappa del territorio europeo con un diverso contenuto di C organico

Il progressivo decremento del contenuto di sostanza organica nei terreni agrari sottoposti a coltivazione intensiva ed il conseguente deterioramento delle condizioni fisiche del suolo con aumento dei rischi erosivi sono particolarmente preoccupanti in Italia, specialmente nelle regioni meridionali ove la sostanza organica si decompone più rapidamente (Garcia e Hernandez, 1996; Pascual et al., 1998). L'utilizzazione agronomica di biomasse di rifiuto e di scarto quali fanghi, compost, effluenti zootecnici, ha assunto particolare interesse quale mezzo per far fronte alla diminuzione del contenuto di sostanza organica del suolo (Gigliotti et al., 1996). Questo stimola i microrganismi naturali del suolo e riattiva i cicli biogeochimici (Pascual et al., 1998).

IV. 2. Stazioni sperimentali

Tutte le prove sperimentali sono state effettuate in situ in due stazioni sperimentali del C.R.A. (Consiglio per la Sperimentazione e la Ricerca in Agricoltura):

1. Istituto Sperimentale per l'Orticoltura di Pontecagnano, dove le prove sono state effettuate su parcelle di 72 m² all'interno di due tunnel-serra in ferro ricoperti con un film plastico Multisolar (0,18 mm), ciascuno della superficie di circa 430 m² (Fig. IV. 2), non sono riscaldati in inverno e sono dotati di sole aperture laterali;

2. Istituto Sperimentale per le Colture Industriali di Battipaglia, dove le prove sono svolte su terreni in pieno campo, suddivise in parcelle della superficie di 68 m² (Fig. IV. 3).



Fig. IV. 2. Istituto Sperimentale per l'Orticoltura di Pontecagnano.



Fig. IV. 3. Istituto Sperimentale per le Colture Industriali di Battipaglia

IV. 2. 1. Caratteristiche del terreno di Pontecagnano

Analisi Chimico-Fisica

Scheletro	Tracce
Sabbia	53%
Limo	32%
Argilla	15%
Tessitura	Franco-sabbiosa
Reazione	pH 7.8 subalcalina
Calcare	57% calcareo
Sostanza organica	4,6 %

Analisi dei nutrienti

Azoto totale	0,245% m. alto	Zinco	ppm 6,8 medio
Fosforo	ppm 43 m. alto	Calcio	ppm 3450 m. alto
Ferro	ppm 26 alto	Magnesio	ppm 350 m. alto
Manganese	ppm 1,3 basso	Potassio	ppm 309 m. alto
Rame	ppm 5,8 medio	Sodio	ppm 54 normale

IV. 2. 2. Caratteristiche del terreno di Battipaglia

Analisi Chimico-Fisica

Scheletro	Tracce
Sabbia	42%
Limo	28%
Argilla	30%
Tessitura	Franco-argillosa
Reazione	pH 7.5 subalcalina
Calcare	Tracce
Sostanza organica	1,2 % bassa

Analisi dei nutrienti

Azoto totale	0,080% basso	Zinco	ppm 1,7 medio
Fosforo	Ppm 39 m. alto	Calcio	ppm 2550 m. alto
Ferro	ppm 11 medio	Magnesio	ppm 390 m. alto
Manganese	ppm 7 medio	Potassio	ppm 480 m. alto
Rame	ppm 4,4 medio	Sodio	ppm 50 normale

IV. 3. Tesi sperimentali e colture impiegate

In entrambi i siti sperimentali i trattamenti di fertilizzazione posti a confronto, pianificati secondo uno schema a blocchi randomizzati su tre repliche, sono stati i seguenti:

1. Fertilizzazione a base di solo compost alla dose di 15 t/ha di p.s. (C15)
2. Fertilizzazione a base di solo compost alla dose di 30 t/ha di p.s. (C30)
3. Fertilizzazione a base di solo compost alla dose di 45 t/ha di p.s. (C45)
4. Fertilizzazione esclusivamente minerale con N, P₂O₅, K₂O, secondo le modalità convenzionali previste per le colture in avvicendamento. (MIN)
5. Nessun tipo di concimazione (controllo). (CNT)

Le successioni colturali adottate sono stati di tipo intensivo con tre colture all'anno a Pontecagnano e due a Battipaglia.

A Pontecagnano, il pomodoro ad allevamento verticale ha aperto la rotazione con ciclo che va da inizio marzo a metà luglio; successivamente è stato seminato il fagiolino in un ciclo che va da fine luglio a metà ottobre ed infine è stata trapiantata la lattuga in un ciclo che va da ottobre a gennaio. L'irrigazione delle colture è stata effettuata mediante ali gocciolanti predisposte anche per la fertirrigazione minerale laddove necessaria; mentre la pacciamatura è stata effettuata solo per il pomodoro.

Questa intensivazione colturale con specie il cui prodotto commerciale varia dalla bacca al baccello alla foglia, ha lo scopo di mettere meglio in evidenza l'efficacia dei diversi approcci di fertilizzazione rispetto alla produttività del sistema.

A Battipaglia per la prima coltura è stato utilizzato il pomodoro Galeon (da pelato ed a crescita limitata); il trapianto è stato eseguito il 23 aprile 2003. Per la seconda prova è stata piantata l'indivia, il 1 ottobre 2003. Nel 2004 il ciclo colturale è iniziato con la melanzana per proseguire poi con il broccoletto di rapa. Nel 2005 si sono susseguite cultivar come il pomodoro, l'indivia e il broccoletto di rapa

Alla fine di ogni ciclo colturale i residui vegetali sono estirpati e allontanati dalle parcelle in modo che la dinamica della sostanza organica possa essere attribuita principalmente agli apporti di compost.

IV. 4. Caratteristiche del compost impiegato

Il compost impiegato per la sperimentazione deriva dall'impianto di compostaggio "Pomigliano Ambiente s.r.l.", sito a Pomigliano d'Arco (NA). È stato ottenuto dalla frazione organica dei rifiuti solidi urbani (F.O.R.S.U) proveniente dalla raccolta differenziata e da ramaglia derivante da potatura del verde urbano, in rapporto 1:1.

Il compostaggio ha previsto una fase di fermentazione di circa 20-30 giorni sotto telo e una fase di maturazione di circa 60-90 giorni.

Il compost interrato a Pontecagnano e quello interrato a Battipaglia nel primo anno sono stati prodotti in due cumuli distinti. In particolare, il compost impiegato per la prova di Pontecagnano aveva caratteristiche riportate in Tab. IV. 1 ed il compost di Battipaglia aveva caratteristiche riportate in Tab. IV. 2 .

Il compost interrato a Pontecagnano e quello interrato a Battipaglia nel secondo e terzo anno sono stati prodotti in un solo cumulo (Tab. IV. 3, Tab. IV. 4)

Il compost è stato distribuito sul terreno ed immediatamente interrato, mediante fresatura a 20 cm dalla superficie. L'interramento del compost è avvenuto nel febbraio e marzo 2003 a Pontecagnano e a Battipaglia, nel marzo 2004 per entrambi i siti, e nel marzo e aprile 2005 rispettivamente a Pontecagnano e Battipaglia.

NOME PROVA	U.M.	VALORE	LIMITE
Azoto organico	% N s.s.	1,55	
Rame	mg/Kg s.s.	65,4	Max 150
Zinco	mg/Kg s.s.	186,4	Max 500
Piombo	mg/Kg s.s.	36,5	Max 140
Cadmio	mg/Kg s.s.	0,55	Max 1,5
Nichel	mg/Kg s.s.	3,2	Max 50
Mercurio	mg/Kg s.s.	<1,0	Max 1,5
Cromo esavalente	mg/Kg s.s.	<0,5	Max 0,5
Plastica <3,33mm	% s.s.	<0,01	Max 0,4
Plastica >3,33mm<10mm	% s.s.	<0,01	Max 0,05
Inerti <3,33mm	% s.s.	5,24	Max 0,9
Inerti >3,33mm<10mm	% s.s.	3,17	Max 0,1
Inerti >10mm	% s.s.	<0,01	Max 0
Plastica >10mm	% s.s.	<0,01	Max 0
Salmonella	MPN/g s.s.	assenti	Max 0
Enterobacერიaceae	UFC/g	600000	Max 100
Streptococchi fecali	MPN/g s.s.	1380	Max 1000
Cestodi	N/50 g	assenti	
Nematodi	N/50 g	assenti	
Trematodi	N/50 g	assenti	
Azoto totale	% N s.s.	1,57	

Tab IV.1. Caratteristiche del compost impiegato per i terreni di Pontecagnano (2003) (s.s.= sostanza secca)

NOME PROVA	U.M.	VALORE	LIMITE
Azoto organico	% N s.s.	1,47	
Rame	mg/Kg s.s.	129,2	Max 150
Zinco	mg/Kg s.s.	254,9	Max 500
Piombo	mg/Kg s.s.	78,5	Max 140
Cadmio	mg/Kg s.s.	1,34	Max 1,5
Nichel	mg/Kg s.s.	11,6	Max 50
Mercurio	mg/Kg s.s.	<1,0	Max 1,5
Cromo esavalente	mg/Kg s.s.	<0,5	Max 0,5
Plastica <3,33mm	% s.s.	<0,01	Max 0,4
Plastica >3,33mm<10mm	% s.s.	0,01	Max 0,05
Inerti <3,33mm	% s.s.	0,01	Max 0,9
Inerti >3,33mm<10mm	% s.s.	0,07	Max 0,1
Inerti >10mm	% s.s.	0,02	Max 0
Plastica >10mm	% s.s.	<0,02	Max 0
Salmonella	MPN/g s.s.	assenti	Max 0
Enterobacერიaceae	UFC/g	1800	Max 100
Streptococchi fecali	MPN/g s.s.	200	Max 1000
Cestodi	n/50 g	assenti	
Nematodi	n/50 g	assenti	
Trematodi	n/50 g	assenti	
Azoto totale	% N s.s.	1,7	

Tab IV.2. Caratteristiche del compost impiegato per i terreni di Battipaglia (2003)

NOME PROVA	U.M.	VALORE	LIMITE
Umidità	%	42,04	Max 50
pH		7,51	[6-8.5]
Azoto organico	% N s.s.	1,98	
Carbonio organico	% C s.s.	33,7	Min 25
Acidi unici e fulvici	% s.s.	13,4	Min 7
Rapporto carbonio/azoto		16,44	Max 25
Rame	mg/Kg s.s.	148,7	Max 150
Zinco	mg/Kg s.s.	297,5	Max 500
Piombo	mg/Kg s.s.	50,6	Max 140
Cadmio	mg/Kg s.s.	1,36	Max 1,5
Nichel	mg/Kg s.s.	12,3	Max 50
Mercurio	mg/Kg s.s.	<1,0	Max 1,5
Cromo esavalente	mg/Kg s.s.	<0,5	Max 0,5
Plastica <3,33mm	% s.s.	<0,01	Max 0,4
Plastica >3,33mm<10mm	% s.s.	0,27	Max 0,05
Inerti <3,33mm	% s.s.	0,38	Max 0,9
Inerti >3,33mm<10mm	% s.s.	3,02	Max 0,1
Inerti >10mm	% s.s.	0,02	Max 0
Plastica >10mm	% s.s.	<0,01	Max 0
Seminfestanti		negativo	
Salmonella	MPN/g s.s.	assenti	Max 0
Enterobacერიaceae	UFC/g	2000	Max 100
Streptococchi fecali	MPN/g s.s.	1200	Max 1000
Cestodi	n/50 g	assenti	
Nematodi	n/50 g	assenti	
Trematodi	n/50 g	assenti	
Azoto totale	% N s.s.	2,05	

Tab IV. 3. Caratteristiche del compost impiegato per i terreni di Pontecagnano e di Battipaglia (2004).

NOME PROVA	U.M.	VALORE	LIMITE
pH		8,49	[6-8.5]
Azoto organico	% N s.s.	1,04	
Carbonio organico	% C s.s.	29,4	Min 25
Rapporto carbonio/azoto		28	Max 25
Cadmio	mg/Kg s.s.	0,9	Max 1,5
Mercurio	mg/Kg s.s.	<1,0	Max 1,5
Cromo esavalente	mg/Kg s.s.	<0,5	Max 0,5
Plastica <3,33mm	% s.s.	<0,01	Max 0,4
Plastica >3,33mm<10mm	% s.s.	0,44	Max 0,05
Inerti <3,33mm	% s.s.	0,65	Max 0,9
Inerti >3,33mm<10mm	% s.s.	5,45	Max 0,1
Inerti >10mm	% s.s.	<0,01	Max 0
Plastica >10mm	% s.s.	<0,01	Max 0
Seminfestanti		negativo	
Salmonella	MPN/g s.s.	assenti	Max 0
Enterobacteriaceae	UFC/g	<10	Max 100
Streptococchi fecali	MPN/g s.s.	<35	Max 1000
Cestodi	n/50 g	assenti	
Nematodi	n/50 g	assenti	
Trematodi	n/50 g	assenti	

Tab IV.4. Caratteristiche del compost impiegato per i terreni di Pontecagnano e di Battipaglia (2005)

IV. 5. Campionamento

I prelievi sono stati effettuati mediante una trivella nello strato 0-20 cm da sei punti di ogni parcella; i sei subcampioni di ogni parcella sono stati mescolati per ottenere un campione medio.

I terreni sono stati setacciati con un setaccio a maglie di 2 mm e conservati a 4°C, per essere poi analizzati nel giro di pochi giorni. Tutte le analisi biologiche sono state effettuate su terreno fresco per le attività biologiche e microbiche, su terreno secco per l'analisi dei metalli pesanti.

Per ogni anno sono stati effettuati tre campionamenti per ciascun sito per le attività biologiche, un campionamento intermedio per la determinazione dei metalli pesanti ed infine due campionamenti per le attività microbiologiche rispettivamente all'inizio e alla fine dell'anno.

I campionamenti sono riportati secondo il seguente schema:

Siti	I anno	II anno	III anno
Pontecagnano	Settembre 2003	Maggio 2004	Giugno 2005
	Gennaio 2004	Ottobre 2004	Ottobre 2005
		Gennaio 2005	Dicembre 2005
Battipaglia	Dicembre 2003	Luglio 2004	Luglio 2005
	Marzo 2004	Novembre 2004	Novembre 2005
		Marzo 2005	Marzo 2006

V

MATERIALI E METODI

V. 1. ATTIVITA' BIOLOGICHE

V. 1. 1. Tenore idrico

I risultati delle analisi effettuate sono state riferite al peso secco del terreno per tale motivo è stato determinato il tenore idrico. Campioni di circa venti grammi sono stati essiccati in stufa a 105 °C, fino al raggiungimento del peso costante, per poi essere ripesati.

Il tenore idrico è stato calcolato secondo la formula:

$$\text{tenore idrico \%} = \frac{\text{peso fresco netto} - \text{peso secco netto}}{\text{peso secco netto}} \times 100$$

Per ognuno dei campioni di terreno, il tenore idrico è stato determinato su due repliche, da cui è stata calcolata la media.

V. 1. 2. Respirazione

Per misurare la respirazione basale, 3 g di terreno fresco sono stati posti in vials di vetro da 35 ml e sono state sigillate ermeticamente con tappi di butile e ghiere in alluminio. Per ogni campione sono state effettuate tre repliche di laboratorio. I campioni sono stati incubati per 48 ore a 25 °C al buio. Al termine dell'incubazione, da ogni bottiglia è stato prelevato un campione di aria mediante una siringa.

La concentrazione di CO₂ nel campione di aria è stata misurata con un gascromatografo Fision Instruments 8000, con detector ECD 800 utilizzando una colonna Porapak Q (2 m di lunghezza e 2 mm di diametro interno). Le misure sono state eseguite utilizzando come carrier una miscela al 10% di metano in argon, temperatura del forno di 60 °C e temperatura del detector di 240 °C. Mediante l'uso di una valvola pneumatica a dieci vie è stata applicata la tecnica del "front and back flush" al fine di eliminare l'interferenza di altri gas.

V. 1. 3. Attività idrolasica totale

Tale metodo analitico è stato introdotto da Schnürer e Rosswall (1982) e si basa sulla capacità di molti enzimi ad attività esterasica, lipasica e proteasica di idrolizzare il diacetato di fluorescina (3', 6' diacetil fluorescina); il prodotto della reazione, la fluorescina libera, può essere quantificato per via spettrofotometrica.

Campioni di terreno del peso fresco di un grammo sono stati posti in vials di vetro da 35 ml a cui sono stati aggiunti 6 ml di tampone fosfato 0,1 M a pH 7.6 e 0,1 ml di substrato, preparato sciogliendo il diacetato di fluorescina in acetone (2 mg ml⁻¹).

Le analisi sono state effettuate su due repliche per ogni parcella e inoltre, per ognuno dei sette trattamenti sperimentali, è stato preparato un bianco costituito da 1 g di una miscela del terreno delle tre repliche di campo a cui è stato aggiunto solo il tampone.

I campioni e i bianchi sono stati incubati a 25 °C per due ore, al buio e in agitazione. Terminata l'incubazione è stata aggiunto il substrato anche ai bianchi e, in tutti i campioni, la reazione è stata bloccata aggiungendo 6 ml di acetone. I campioni, dopo essere stati agitati con un vortex, sono stati centrifugati a 5000 giri per 5 minuti e, dopo aver filtrato il surnatante, è stata letta l'assorbanza della fluorescina a 490 nm per via spettrofotometrica. L'attività idrolasica è stata ricavata per interpolazione su una retta di taratura, impiegando quantità note di FDA idrolizzato termicamente (20 minuti a bagnomaria in acqua bollente) ed è stata espressa come µg di FDA idrolizzati per grammo di terreno secco in due ore di incubazione.

V. 1. 4. Attività fosfatasica, arilsolfatasica, β- glucosidasica

Queste attività sono state saggiate facendo riferimento allo stesso metodo (Nannipieri et al., 1979; Eivazi e Tabatabai, 1988) ma utilizzando substrati specifici: para-nitro-fenil-disodio-ortofosfato 0,115 M per la fosfatasi; para-nitro-fenil-solfato 0,115 M per la solfatasi; 4-nitrofenil-β-D-glucopiranoside 0.115 M per la β-glucosidasi.

L'analisi si basa sulla misura spettrofotometrica della quantità di paranitrofenolo prodotto dalla reazione enzimatica.

In vials da 35 ml sono stati posti 0,5 g di terreno fresco e ad ogni campione sono stati aggiunti 2 ml di tampone maleato 0,1 M a pH 6.5 e 0,5 ml di substrato, tranne nei bianchi preparati con lo stesso criterio descritto per l'attività idrolasica totale. Le analisi sono state effettuate su due repliche per ogni parcella.

I campioni sono stati incubati per un'ora alla temperatura di 37 °C in agitazione e al buio. Dopo l'incubazione è stato aggiunto il substrato anche ai bianchi ed in tutti i campioni sono stati aggiunti 0,5 ml di CaCl₂, 0,5 M e 2 ml di NaOH 0,5 N e 5 ml di acqua distillata.

I campioni sono stati agitati con un vortex, centrifugati a 5000 giri per 5 minuti e filtrati, infine è stata misurata l'assorbanza del para-nitrofenolo a 398 nm con lo spettrofotometro.

L'attività enzimatica è stata ricavata per interpolazione dell'assorbanza su una retta di taratura costruita impiegando quantità note di para-nitrofenolo ed è stata espressa come µg di PNF prodotti per grammo di terreno secco in un'ora di incubazione.

V. 2. Metalli pesanti

V. 2. 1. Contenuto totale

I campioni di suolo sono stati essiccati in stufa a 75 °C, fino al raggiungimento del peso costante, e polverizzati finemente grazie a mulini polverizzatori (Fritsch Pulverisette, Retsch mod.eatchs) dotati di biglie e mortai d'agata, per evitare contaminazione da metalli.

Per tutti i campioni, 250 mg di materiale polverizzato sono stati mineralizzati tramite aggiunta di acido nitrico (65%) e fluoridrico (50%) nel rapporto 2:1= v:v, in un fornello a microonde della Milestone (Digestor/Dryng Module mls 1200, Ethos).

La determinazione delle concentrazioni totali degli elementi è stata effettuata per spettrometria ad assorbimento atomico (Varian Spectr AA20, Perkin.Elmer AAnalyst 100); gli elementi Cd, Cr, Cu, Ni, Pb sono stati determinati mediante fornello di grafite mentre Fe, K, Mg, Mn e Zn mediante un sistema a fiamma, con bruciatori aria - acetilene.

V. 2. 2. Frazione disponibile

L'estrazione della frazione di Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn potenzialmente disponibile all'assorbimento radicale, sui terreni seccati in stufa a 75 °C, è stata effettuata secondo il metodo di Lindsay e Norwell (1978) mediante l'utilizzo di una soluzione tamponata a pH=7,3 di acido dietilentriamminopentacetico (DTPA), cloruro di calcio (CaCl₂) e trietanolamina (TEA), secondo metodiche ufficiali (Mi.R.A.A.F., 2000). A 25 g di terreno sono stati aggiunti 50 ml di soluzione estraente; i campioni sono stati posti in agitazione per 120 minuti e sono stati filtrati. L'estrazione del contenuto disponibile di K e Mg è stata effettuata mediante una soluzione di cloruro di bario (BaCl₂) e TEA a pH=8,1 (Goldberg e

Farini, 1994). In questo caso a 2,5 g di terreno, sono stati aggiunti 50 ml della suddetta soluzione, i campioni sono stati posti in agitazione per 60 minuti e poi filtrati.

Anche per la frazione disponibile si è proceduto alla determinazione quantitativa mediante spettrometria ad assorbimento atomico, come per il contenuto totale.

V. 3. Contaminanti microbici

V. 3. 1. Conta batterica totale

La procedura analitica per la conta totale dei microrganismi ha previsto un'omogeneizzazione di 10 g di terreno in 90 ml (0,9%) NaCl sterile e successiva agitazione magnetica per 30 minuti, l'allestimento di una serie di diluizioni scalari a base 10 e la semina di aliquote di 1 ml di campione per ogni diluizione in Standard Plate Count Agar (Oxoid). Dopo aver miscelato accuratamente, si è lasciato solidificare e si è incubato a 37 °C per 24-48 ore. Dopo tale periodo, sono state contate tutte le colonie ottenute, scartando le piastre a crescita confluyente, quindi si è proceduto al calcolo delle Unità Formanti Colonia (UFC) riportando la sommatoria delle colonie contate e dividendo per il numero di piastra e il fattore di diluizione considerato (APAT, 2003).

V. 3. 2. Metodo del numero più probabile o dei tubi multipli (MPN)

La conta dei microrganismi contaminanti è stata effettuata con il Metodo del Numero più Probabile (Most Probable Number, da cui l'acronimo universalmente utilizzato di MPN) (Bonadonna, et al., 2002).

Questo sistema di conteggio può essere applicato per la enumerazione di microrganismi diversi, presenti anche a basse cariche in uno stesso campione, variando esclusivamente il mezzo e le condizioni di coltura. Il presupposto teorico di questo metodo è indipendente sia dal campione che dal terreno e le condizioni di crescita dei microrganismi da ricercare. Con il suddetto metodo viene calcolato il numero più probabile di batteri capace di produrre una determinata combinazione di tubi positivi e negativi ottenuta inoculando, in repliche, diluizioni decimali del campione in esame. Per il sistema europeo si effettuano tre repliche per ogni inoculo, mentre per quello statunitense sono necessarie cinque repliche. Dopo idonea incubazione è stata individuata la più alta diluizione del campione che ha mostrato un segno caratteristico della presenza batterica (ad es: produzione di gas di fermentazione, intorbidimento del brodo di coltura etc.). La stima della carica microbica è stata effettuata

utilizzando le tabelle MPN di conversione di Mc Crady (De Medici et al., 1996). Dal valore MPN rilevato dalla tabella, si è determinato il Numero Più Probabile di microrganismi in una data quantità di campione, mediante la seguente formula:

$$C_S = N(F/V) V_S$$

dove:

C_S = concentrazione più probabile di microrganismi nella quantità di riferimento V_S

N = valore MPN letto sulla tabella

F = fattore di diluizione corrispondente alla diluizione base della serie prescelta

V = fattore di diluizione base della tabella

V_S = quantità di riferimento scelta per esprimere la concentrazione di microrganismi.

V. 3. 3. Conta dei coliformi totali e fecali

Per la conta dei Coliformi totali e fecali nei prelievi campionati (APAT, 2003) è stata effettuata utilizzando il Metodo del numero più probabile o dei tubi multipli (MPN). Esso ha previsto un:

1. **Saggio presuntivo** della presenza di coliformi totali: 10 g di ogni campione sono stati sospesi in 90 ml di soluzione fisiologica (0,9% NaCl). Di ogni sospensione è stata effettuata una diluizione scalare e tre aliquote di ogni diluizioni. Sono state insemensate in 10 ml di “Lactose broth”. Ogni tubo conteneva una campanella di Durham affinché si potesse evidenziare la eventuale produzione di gas. Tutti i campioni sono stati incubati per 48 ore a 37 °C. Alla fine del periodo di incubazione sono stati registrati i risultati, considerando positivi i tubi che presentavano produzione di gas ed intorbidimento del brodo. Infatti, la produzione di gas entro le 48 ore costituisce una reazione positiva presuntiva e per tale motivo i tubi risultati positivi sono stati sottoposti alla prova di conferma.
2. **Saggio di conferma** per la presenza di coliformi totali e di screening dei coliformi fecali: tale prova è stata effettuata prelevando, sterilmente, due aliquote da 0,1 ml di brodocoltura dai tubi positivi per il saggio presuntivo per la presenza dei coliformi totali, inoculando in due tubi contenenti “Green Brilliant Bile Lactose Broth ” e incubandone uno per 48 ore a 37 °C per la

conferma dei coliformi totali, e l'altro a 44 °C per 48 ore per lo screening dei coliformi fecali. Le differenti condizioni di incubazione hanno consentito di discriminare i coliformi fecali grazie alla presenza di un enzima termotollerante che viene sintetizzato specificatamente da questi ultimi. Alla fine del periodo di incubazione sono stati registrati i risultati in base alla disposizione dei tubi che presentavano produzione di gas ed intorbidimento del brodo. La produzione di gas entro le 48 ore costituisce una reazione positiva per i coliformi totali e fecali. Per l'espressione dei risultati è stato annotato il numero dei tubi positivi e negativi e, sulla base delle combinazioni ottenute, si è calcolato, in base alla relativa tabella, il valore dell'indice MPN.

V. 3. 4. Conta delle Enterobacteriaceae

Per la ricerca dei batteri appartenenti alla famiglia delle *Enterobacteriaceae* si è proceduto alla omogeneizzazione di 10 g di campione in NaCl 0,9% e all'allestimento di una serie di diluizioni scalari a partire dalla diluizione 10^{-1} . Inoltre, è stato prelevato, per ciascuna diluizione, 1 ml di sospensione, si è proceduto alla semina di queste in terreno selettivo Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG agar) incubando a 37 °C per 24 ore. Dopo il periodo di incubazione sono state contate le colonie di Enterobacteriaceae, colonie violette con un alone color porpora, esprimendo il risultato in UFC per g di peso secco (APAT, 2003).

V. 3. 5. Identificazione delle Salmonelle

La ricerca di batteri appartenenti al genere *Salmonella* su matrici ambientali, presenti in numero basso ed insieme ad un gran numero di altri batteri appartenenti alla famiglia delle *Enterobacteriaceae* o ad altre famiglie, necessita di quattro fasi successive:

1. prearricchimento in un terreno liquido non selettivo;
2. arricchimento in un terreno liquido selettivo;
3. isolamento su terreno solido selettivo;
4. conferma ed identificazione.

La prima fase ha previsto il trasferimento di 50 g di campione in 200 ml di "Buffered Peptone Water" sterile e successiva incubazione in termostato alla temperatura di 37 °C per 24 ore. Per la fase successiva (arricchimento selettivo), 0.5 ml di prearricchimento sono stati

trasferiti in 10 ml di “Rappaport Vassiliadis broth” ed incubati per 24 ore a 42 °C. Dai tubi sospetti positivi (viraggio del colore del terreno da verde-blu al chiaro) 200µl sono stati piastrati in terreno differenziale Hektoen Enteric Agar per 24 ore di incubazione a 37 °C in modo da ottenere delle colonie ben separate. In questo terreno le colonie appartenenti al genere *Salmonella* appaiono verdi con o senza precipitato scuro al centro della colonia. Successivamente si è proceduto, per le colonie sospette, alla prova di conferma, mediante un test di fermentazione dei carboidrati. A tale scopo mediante un’ansa a spillo si è prelevata la colonia sospetta e la si è inoculata, per infissione e successivo strisciamento, su Agar al ferro di Kliger, solidificato a becco di clarino per 24 ore a 37 °C.

In questo terreno di coltura i batteri appartenenti al genere *Salmonella* determinano una colorazione rossa o rosso-violacea della superficie inclinata dell’agar e un ingiallimento (reazione acida) del fondo della provetta con fermentazione del terreno per produzione di gas, e formazione di idrogeno solforato, annerimento del terreno, prevalentemente lungo il canale di infissione (APAT, 2003).

V. 3. 6. Conta degli Streptococchi fecali

La ricerca degli Streptococchi fecali è stata effettuata mediante un saggio presuntivo e un saggio di conferma. A questo scopo, 100 g di campione sono stati sospesi in 900 ml di soluzione fisiologica sterile, si è omogeneizzata la sospensione su un agitatore magnetico tre aliquote per almeno 30 minuti e si sono effettuate successivamente diluizioni scalari in base 10 in acqua distillata sterile.

Da 1 ml di ciascuna diluizione del campione sono state in tre tubi di “Azide Dextrose Broth”. E’ stato incubato per 48 ore a 37 °C, a 24 ore è stato registrato, per ciascuna diluizione, il numero dei tubi positivi. La stessa operazione è stata eseguita dopo 48 ore.

I tubi positivi sono stati agitati delicatamente, da ciascuno di essi è stato prelevato 0,1 ml di brodo di coltura ed è stato trasferito in “Brodo all’azide sodica ed al violetto di etile” ed incubato per 48 ore a 37 °C. Infine si è proceduto alla registrazione del numero dei tubi positivi alla prova di conferma e si è riportato il numero MPN (APAT, 2003).

V. 4. Analisi Statistica

L’analisi statistica di base è stata effettuata utilizzando il programma Sigma Stat (SPSS, Chicago, USA). La valutazione della significatività delle differenze tra i diversi trattamenti

nel tempo, per ogni attività enzimatica, per ogni metallo pesante e per ogni gruppo di microrganismo monitorato, nelle stazioni di Pontecagnano e Battipaglia, è stata effettuata mediante l'Analisi della Varianza (ANOVA) adottando un valore¹ di P (*significatività*) di 0,01.

Nel caso in cui sia stata riscontrata una differenza significativa ($P < 0,05$) tra i trattamenti è stata effettuata l'analisi dei confronti multipli, mediante il test Student-Newman-Keuls.

Nel caso in cui sia stata riscontrata una differenza significativa ($P < 0,05$) tra i trattamenti o tra i prelievi è stata effettuata l'analisi dei confronti multipli, mediante il test Student-Newman-Keuls.

Per confrontare gli andamenti dei parametri analizzati, i dati sono stati sottoposti ai test di correlazione. La distribuzione dei dati è stata previamente saggiata mediante il test di normalità di Kolmogorov-Smirnov. Per i dati con distribuzione non normale sono state applicate le funzioni di trasformazione per cercare di normalizzarli e applicare il test di Pearson; quando non è stato possibile normalizzare i dati, la significatività delle correlazioni è stata determinata secondo il test di Spearman.

¹ Laddove non è stato possibile ottenere valori di significatività di 0,01, è stato adottato un valore più basso (0,05). In altri casi invece è stato possibile raggiungere valori di significatività di 0,001.

VI

RISULTATI E DISCUSSIONE

VI. 1. Attività biologiche

VI. 1. 1. Respirazione

La respirazione è risultata generalmente più alta nelle parcelle trattate con il compost, in maniera coerente con le dosi apportate, sia nel suolo di Pontecagnano (Fig. VI. 1 a) che in quello di Battipaglia (Fig. VI. 1 b). Le differenze fra i trattamenti appaiono particolarmente evidenti durante i mesi estivi, quando in tutte le parcelle si misurano i valori più alti di respirazione, diventano decisamente meno rilevanti nel periodo invernale, quando l'attività respiratoria mostra una generale diminuzione.

Nel maggio 2004 a Pontecagnano, dopo circa due mesi dal secondo interrimento di compost, si è notato un effetto evidente dell'ammendamento organico che favorisce l'attività respiratoria in tutte le tesi trattate con compost, in particolare, alla dose di compost di 45 t/ha il valore della respirazione ($1,5 \mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}\text{p.s. h}^{-1}$) è risultato circa il doppio rispetto al controllo ($0,73 \mu\text{g CO}_2 \text{ p.s. h}^{-1}$).

Per il prelievo effettuato nel luglio 2004 a Battipaglia, dopo circa tre mesi dal secondo interrimento di compost, c'è stata una risposta positiva ai trattamenti che hanno determinato un notevole incremento dell'attività respiratoria. Infatti, per le tesi trattate con il compost si sono ottenuti valori di 1,19, 1,69 e $1,75 \mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}\text{p.s. h}^{-1}$ che risultano rispettivamente 1,5, 2,1 e 2,2 volte più elevati rispetto al controllo.

L'ammendamento con il compost ha determinato un significativo incremento della respirazione rispetto alla fertilizzazione minerale e al controllo non trattato anche in uno studio condotto da Chaoui et al. (2003), in un suolo sabbioso, verosimilmente non solo per effetto dell'apporto di C organico mineralizzabile, ma anche per effetto del miglioramento delle caratteristiche strutturali del suolo, mentre non era stato riscontrato alcun effetto della fertilizzazione minerale rispetto al controllo. Nemmeno per il suolo di Pontecagnano la fertilizzazione minerale ha sortito alcun effetto, mentre a Battipaglia, nelle parcelle a

fertilizzazione minerale, sono stati riscontrati sempre valori maggiori del controllo, in qualche caso addirittura simili a quelli misurati nelle parcelle a fertilizzazione organica. Ciò suggerisce che nel suolo di Battipaglia, non solo il carbonio organico, ma anche l'azoto, il fosforo o il potassio potrebbero essere limitanti per la respirazione microbica.

Questo incremento di attività con la fertilizzazione minerale rispetto al controllo è stato osservato e discusso anche per l'attività fosfatase e verosimilmente i due fenomeni sono legati alla stessa causa.

In uno studio comparativo tra sistemi agricoli organici o convenzionali, condotto in Olanda, per valutare gli effetti del tipo di gestione sulle caratteristiche chimico-biologiche del suolo, è stato osservato che l'ammendamento organico determinava un incremento della respirazione basale rispetto a suoli con fertilizzazione convenzionale in suoli argillosi ma non in suoli sabbiosi, per i quali non sono state riscontrate differenze (Van Diepeningen et al., 2006).

Aparecida Pavan Fernandes et al. (2005), in suoli ammendati con fanghi di depurazione, hanno riscontrato un aumento della respirazione in funzione delle dosi aggiunte, e una diminuzione con la profondità, verosimilmente in relazione alla maggior quantità di materiale organico disponibile negli strati più superficiali.

VI. 1. 2. Attività enzimatiche

VI. 1. 2.1. Attività idrolasica

L'attività idrolasica a Pontecagnano (Fig. VI. 2 a) ha mostrato valori più elevati nei terreni trattati con il compost rispetto al controllo e al terreno trattato con fertilizzazione minerale. L'incremento dell'attività enzimatica è risultato quasi sempre coerente con le dosi di compost. Nelle parcelle con la maggiore dose di compost l'attività idrolasica è risultata raddoppiata rispetto al controllo nei mesi estivi, quando sono evidenti i picchi di attività. Durante il primo anno di osservazione l'interramento del compost ha determinato un incremento modesto dell'attività idrolasica nelle parcelle C15, C30 e C45 (Iovieno et al., 2006). Nel maggio 2004, dopo circa tre mesi di distanza dal secondo interrimento di compost, si è evidenziato un incremento di tale attività in funzione delle dosi di compost, ed un aumento ancora maggiore nel giugno 2005, dopo il terzo trattamento. Alla fine di ciascun anno di sperimentazione (gennaio 2004, gennaio e dicembre 2005) si è riscontrato un

evidente decremento dei valori di attività indotti dall'aggiunta del compost, rispetto ai mesi precedenti, probabilmente legato sia all'esaurimento della frazione organica più facilmente utilizzabile da parte dei microrganismi (García-Gómez, et al., 2003), sia alle temperature stagionali più basse, che limitano l'attività microbica. Tuttavia, questo decremento risulta più modesto alla fine del secondo e, ancor più alla fine del terzo anno, rispetto al primo. Si può ipotizzare che le comunità microbiche del suolo conservino memoria dei trattamenti precedenti rispondendo più prontamente ad ogni nuova aggiunta di compost, e la loro attività risulterebbe anche più persistente nel tempo. Complessivamente l'attività idrolasica è risultata significativamente influenzata dai trattamenti (Tab. VI. 1).

A Battipaglia (Fig. VI. 2 b) l'attività idrolasica ha mostrato un andamento simile a quello di Pontecagnano, sebbene il range di valori fosse più basso. Molto probabilmente ciò è dovuto al minor contenuto di sostanza organica di base del suolo di Battipaglia (circa 1,2 %) rispetto a quello di Pontecagnano (circa 4,6 %), sebbene non si possa escludere a priori che altre caratteristiche pedologiche come ad esempio l'elevato contenuto di alcuni metalli pesanti riscontrato a Battipaglia, possano avere un effetto limitante sull'attività idrolasica di questo suolo. Soltanto per il prelievo di marzo 2004 la tesi MIN ha mostrato valori di attività idrolasica addirittura simili alla tesi C45. Ciò non è da attribuire direttamente alla fertilizzazione minerale che, generalmente, ha scarsa influenza sull'attività idrolasica (Iovieno e Morra, 2000; Iovieno et al., 2000), ma piuttosto al fatto che essa ha determinato una produttività della coltura in corso in quel periodo (indivia) maggiore rispetto agli altri trattamenti. Di conseguenza il maggiore accrescimento degli apparati radicali, potrebbe aver determinato un incremento dell'attività idrolasica a causa di un aumento dell'effetto rizosfera.

A circa quattro mesi (luglio 2004) dal secondo interrimento di compost, è stato osservato un maggiore incremento dell'attività idrolasica nel suolo di Battipaglia rispetto a quello di Pontecagnano; ciò evidenzia che l'apporto di sostanza organica ha determinato una più immediata risposta in questo suolo, nel quale l'attività microbica era maggiormente limitata dal basso contenuto di carbonio organico di quanto non lo fosse nel suolo di Pontecagnano. Dopo il terzo ammendamento con il compost si sono riscontrati incrementi dell'attività idrolasica molto più consistenti rispetto al secondo anno e in coerenza con i trattamenti. Anche a Battipaglia l'attività idrolasica è risultata significativamente differente tra i trattamenti. Le tesi CNT, MIN e C15 sono risultate significativamente differenti dalla tesi C45 (Tab. VI. 1).

In generale, l'incremento dell'attività enzimatica può dipendere o dalla facilità con cui la sostanza organica apportata come compost può essere degradata dai microrganismi, con conseguente aumento del loro tasso di crescita e della loro attività, o dal fatto che, insieme alla sostanza organica, vengono aggiunti anche microrganismi esogeni, cresciuti durante il processo di compostaggio, che vanno ad aggiungersi a quelli endogeni.

Anche altri studi riportano un incremento significativo dell'attività idrolasica in terreni trattati con compost (Perucci, 1992 e García-Gómez et al, 2003). In particolare Perucci (1992) ha riscontrato incrementi di varie attività enzimatiche e della biomassa microbica in suoli argillosi, nei quali sono stati effettuati interramenti annuali di compost proveniente da rifiuti solidi urbani. Tale incremento ha raggiunto un valore massimo alla fine dell'esperimento, durato tre anni.

VI. 1. 2. 2. Attività fosfatasica

L'attività fosfatasica del suolo di Pontecagnano (Fig. VI. 3 a) è risultata notevolmente e stabilmente incrementata dai trattamenti con il compost. Questa attività enzimatica è dovuta in massima parte ad enzimi liberi, accumulati nel suolo, e solo in minima parte ad enzimi associati a cellule microbiche proliferanti. La persistenza nel tempo di valori maggiori di attività fosfatasica in terreni trattati con il compost è dovuta alla formazione di complessi enzimatici con i colloidali umici, formati durante il processo di compostaggio, che proteggono gli enzimi dall'attacco delle proteasi e quindi dalla degradazione, consentendo loro di continuare a funzionare anche nell'ambiente extracellulare (Pascual et al., 2002).

Alla fine del primo anno di trattamento (gennaio 2004) i risultati non hanno evidenziato un incremento consistente nelle tesi trattate con le diverse dosi di compost rispetto al controllo. Solo nella parcella ammendata con la dose più alta (C45) si è riscontrato un leggero aumento dell'attività. Dopo il secondo ammendamento col compost (maggio 2004) si è notato, in generale, un incremento dell'attività fosfatasica per tutte le parcella ammendate, con più chiare differenze tra quelle trattate con compost e quelle controllo e a fertilizzazione minerale, differenze che si sono amplificate e protratte fino alla fine del periodo di sperimentazione. Come per l'attività idrolasica, anche per l'attività fosfatasica, l'incremento è risultato in linea con le dosi di compost. Perucci e Giusquiani (1990) e Perucci (1992) hanno registrato incrementi di varie attività enzimatiche tra cui l'attività fosfatasica e la solfatasica in terreni trattati con compost da rifiuti solidi urbani. L'attività

fosfatasica, dopo aver raggiunto i valori più elevati, rimaneva costante mentre le attività solfatasica, ureasica e proteasica tornavano ai livelli di partenza dopo soli 2-3 mesi.

L'attività fosfatasica è risultata significativamente differente tra i trattamenti (Tab. VI. 1). Incrementi significativi di tale attività sono stati osservati anche da Lee et al. (2004) confrontando tesi controllo e tesi ammendate con vari tipi di compost a 2, 4 e 6 settimane dai trattamenti.

L'aumento dell'attività fosfatasica è legato non soltanto all'incremento della biomassa, ma anche al miglioramento qualitativo della sostanza organica (Speir e Ross, 1978), che consente una maggiore persistenza delle fosfatasi nel terreno. Poiché queste sono enzimi prevalentemente extracellulari, che possono accumularsi e rimanere attivi, se l'interazione con la frazione umica della sostanza organica le protegge dall'attacco delle proteasi (Burns et al, 1993), è ragionevole aspettarsi che l'incremento dell'attività fosfatasica, in seguito all'ammendamento organico, sia un processo graduale e progressivo nel tempo.

L'attività fosfatasica del suolo di Battipaglia (Fig. VI. 3 b) ha presentato valori di background (tesi CNT) mediamente confrontabili con quelli di Pontecagnano. I valori misurati nelle tesi ammendate sono stati invece sensibilmente più bassi, per cui l'effetto dei trattamenti con il compost è risultato notevolmente più limitato rispetto a quanto osservato a Pontecagnano, a parità di quantitativi di compost apportati.

Alla fine del primo anno di ammendamento è presente una tale omogeneità tra le varie parcelle, che l'aggiunta di compost sembra non abbia sortito alcun effetto. In particolare la dose C15 nel marzo 2005 è apparsa insufficiente per determinare livelli di attività fosfatasica maggiori rispetto al controllo.

Marcote et al. (2001) non hanno riscontrato differenze significative dell'attività fosfatasica in un suolo fertilizzato con 20 t/ha di compost da residui solidi urbani, con letame, con fertilizzanti minerali o non fertilizzato, mentre hanno rilevato una riduzione di questa attività in conseguenza dell'applicazione del compost alla dose di 80 t/ha, attribuendo questa riduzione all'effetto inibente delle maggiori concentrazioni di Zn e Cu nel suolo trattato con la dose più elevata di compost.

Complessivamente, l'attività fosfatasica è risultata significativamente influenzata dai trattamenti come già osservato per l'attività idrolasica, anche se le tesi MIN, C15 e C30 non sono risultate significativamente differenti (Tab. VI. 1) tra di loro.

Nel suolo di Battipaglia, a differenza di quello di Pontecagnano, la fertilizzazione minerale ha mostrato un effetto positivo, che a volte risulta paragonabile alla tesi C30, sull'attività fosfatasica del suolo. L'apporto di fosfato in forma minerale dovrebbe però

inibire l'attività fosfatasica, come generalmente riportato in letteratura. Monokrousos et al., (2006) hanno osservato valori più alti dell'attività fosfatasica in suoli con ammendamento organico rispetto a suoli con trattamento convenzionale. D'altra parte è probabile che la fertilizzazione minerale abbia determinato un incremento della crescita delle colture e quindi anche degli apparati radicali che, in seguito al rilascio di essudati, può aver stimolato anche i microrganismi, fortemente limitati dalla carenza di substrati organici nel terreno, oltre al fatto che le fosfatasi, in parte, sono prodotte anche dalle radici stesse.

Un incremento dell'attività fosfatasica in seguito alla fertilizzazione minerale è stata riportata anche da García-Gil et al. (2000). Il diverso comportamento dell'attività fosfatasica nelle tesi a fertilizzazione minerale dei due suoli, rispetto ai relativi controlli, può essere dovuto anche alla diversa natura delle fosfatasi naturalmente presenti nei suoli stessi. Le fosfatasi, infatti, possono essere distinte in costitutive e reprimibili: solo le seconde sono inibite dall'aggiunta di fosfato inorganico.

VI. 1. 2. 3. Attività arilsolfatasica

In entrambi i suoli di sperimentazione l'attività arilsolfatasica è risultata generalmente incrementata, coerentemente alle dosi di compost impiegate. La dinamica durante il periodo di monitoraggio ha presentato un andamento differente rispetto alle altre attività ed anche tra le due stazioni. Infatti, a Pontecagnano (Fig. VI. 4 a) si è osservata una tendenza ad una progressiva diminuzione dell'attività arilsolfatasica nel corso dei tre anni. Alla fine del primo anno di sperimentazione (gennaio 2004) si è evidenziato solo un lieve incremento dell'attività arilsolfatasica nelle parcelle ammendate con compost. A pochi mesi dal secondo interrimento di compost (maggio 2004), diversamente dalle altre attività enzimatiche studiate, sono stati riscontrati valori inferiori a quelli del prelievo di gennaio. Solo per la tesi C45 sono stati registrati valori di attività arilsolfatasica sempre maggiori rispetto al controllo, per tutto il periodo di monitoraggio; per le tesi C15 e C30 sono stati registrati, inizialmente, valori addirittura inferiori rispetto al controllo, e solo da ottobre 2004 si sono evidenziati degli incrementi per C30, e qualche volta per C15. L'attività arilsolfatasica è risultata significativamente differente tra i trattamenti, eccetto per CNT vs C15 (Tab. VI. 1).

Nelle parcelle a concimazione minerale l'attività arilsolfatasica è risultata quasi sempre inferiore rispetto al controllo. Ciò non è da attribuire direttamente alla concimazione minerale poiché non è stato apportato zolfo inorganico, che avrebbe potuto innescare un processo di feedback negativo su questa attività enzimatica, ma potrebbe essere dovuto

piuttosto ad effetti indiretti, come, ad esempio interferenze dei fertilizzanti minerali nella via metabolica dell'attività solfatasica, come è stato osservato da Bandick e Dick (1999) per l'attività amidasica.

A Battipaglia (Fig. VI. 4 b) alla fine del primo anno (marzo 2004) si osserva un incremento della attività solfatasica, nelle tesi C30 e C45, per la tesi C15 l'attività è risultata simile al controllo e alla tesi MIN. L'effetto dei trattamenti sembra annullarsi del tutto nel novembre 2004, ma successivamente, a partire dalla fine del secondo anno (marzo 2005), si è osservato un incremento dell'attività nelle tesi trattate col compost in linea con i trattamenti, di conseguenza, anche a Battipaglia l'attività solfatasica è risultata, nel complesso, significativamente influenzata dai trattamenti, differenze significative si sono evidenziate per CNT vs MIN, C15, C30 e C45 (Tab. VI. 1).

VI. 1. 2. 4. Attività β -glucosidasica

L'attività β -glucosidasica a Pontecagnano (Fig. VI. 5 a) ha fatto registrare valori quasi sempre superiori al controllo soltanto per la dose di compost C45. Per le tesi C15 e C30 sono stati misurati valori inizialmente uguali e poi addirittura inferiori al controllo in seguito ai primi due trattamenti, hanno mostrato poi un recupero dopo il terzo trattamento, specialmente per la tesi C30 che ha raggiunto anche valori confrontabili a C45. Ciò suggerisce ancora una volta l'importanza di trattamenti ripetuti nel tempo affinché l'impiego del compost possa determinare effetti evidenti a più ampio raggio sulle comunità microbiche del suolo.

La tesi a fertilizzazione minerale ha mostrato un comportamento di difficile interpretazione, con valori inizialmente maggiori, poi minori e infine simili al controllo, tuttavia quasi sempre minori rispetto al C45, con una sola eccezione nel maggio 2004.

In uno studio durato otto anni, Ajwa et al. (1999) hanno riscontrato un incremento dell'attività β -glucosidasica in suoli fertilizzati con N, dovuto ad un incremento della crescita delle colture e dei microrganismi associati. Inoltre i significativi effetti di tale fertilizzazione e le correlazioni con diversi enzimi, tra cui l'attività fosfatase e arilsolfatase, hanno suggerito che l'attività β -glucosidasica sia un buon indicatore dei cambiamenti ecologici causati dalla fertilizzazione.

Per l'attività β -glucosidasica sono state riscontrate differenze significative tra i trattamenti (Tab. VI. 1).

La dinamica temporale evidenziata nella stazione di Pontecagnano è simile a quella dell'attività arilsolfatasica, con una progressiva tendenza al decremento nel tempo. Le dinamiche decrescenti di attività enzimatiche potrebbero essere la conseguenza dell'effetto di disturbo della comunità microbica derivante dalla messa a coltura di un terreno che prima dell'inizio di questa sperimentazione era a riposo. L'attività β -glucosidasica è risultata sensibile alla gestione del suolo (Madejòn, 2001) ed è stata proposta come indicatore della qualità del suolo (Ndiaye, et al., 2000). L'attività β -glucosidasica può individuare i cambiamenti nella gestione del suolo relativamente ad un breve periodo di tempo (1-3 anni) ed è relativamente stabile con le stagioni (Ndiaye, et al., 2000). Quest'ultima caratteristica è vantaggiosa come indicatore della qualità del suolo sulla maggioranza delle misure biologiche che possono variare di molto nel breve periodo, con difficoltà di interpretazione (Knight e Dick, 2004).

L'attività β -glucosidasica è generalmente molto sensibile ai metalli pesanti come osservato da Kuperman et al (1997), che hanno riscontrato una correlazione negativa tra attività β -glucosidasica e concentrazione totale di metalli pesanti nel suolo.

Nel suolo di Battipaglia, con più alte concentrazioni di metalli pesanti rispetto a Pontecagnano, l'attività β -glucosidasica (Fig. VI. 5 b) ha mostrato valori più elevati in tutte le tesi trattate con il compost rispetto al controllo, anche se non vi è stata una netta differenziazione delle risposte in relazione alle tre dosi (C15, C30 e C45). Le differenze tra i trattamenti sono risultate comunque significative (Tab. VI. 1).

Incrementi dell'attività β -glucosidasica non proporzionali alle dosi di compost sono stati osservati da Marcote et al. (2001). Altri autori come Ros et. al (2003) hanno riscontrato incrementi significativi di tale attività dopo ammendamento con compost di suoli semiaridi con un basso contenuto di sostanza organica o con una elevata resistenza alla decomposizione della stessa sostanza organica.

I valori registrati nel marzo 2004 sono risultati notevolmente più elevati rispetto a tutti gli altri prelievi, in cui si evidenzia, dopo un elevato decremento, una stabilizzazione dei valori, che si mantengono sempre più alti nelle tesi trattate col compost rispetto al controllo, anche se non sempre in misura coerente con le dosi. Anche la tesi a fertilizzazione minerale ha mostrato valori di attività β -glucosidasica sempre maggiori rispetto al controllo, anche se il suo andamento nei confronti delle tesi ammendate con il compost risulta poco chiaro. L'attività β -glucosidasica è stata trovata correlata positivamente con il C organico, suggerendo che l'aggiunta di residui organici mineralizzabili forniscono substrati per questi enzimi e aumentano la crescita microbica (Albiach et al., 2000; Crecchio et al., 2001).

García-Gil et al. (2000), in uno studio condotto su suoli sabbiosi e con un basso contenuto di sostanza organica, hanno riscontrato una ripresa dell'attività β -glucosidasica con valori più alti nelle parcelle trattate con letame, seguiti da quelle ammendate con due diverse dosi di compost (20 e 80 t/ha t/ha). In un suolo ammendato con diverse matrici organiche, il maggior incremento iniziale di attività β -glucosidasica è stato determinato dai fanghi e ciò è stato attribuito al maggior contenuto di composti organici disponibili per i microrganismi del suolo; tale incremento è stato però seguito da un rapido declino, così che l'attività β -glucosidasica è risultata meno stabile rispetto a quella indotta dal compost e da altri materiali organici (Pascual et al., 1998). Ciò suggerisce che è importante valutare non solo l'entità dell'incremento delle attività biologiche indotte dall'impiego di ammendanti organici, ma anche la loro persistenza nel tempo.

La riduzione nel tempo, osservata per l'attività β -glucosidasica, riflette quella osservata per l'attività arilsolfatasica e la fosfatasica e risulta in controtendenza con l'andamento riscontrato per l'attività idrolasica. Poiché questa diminuzione è stata registrata anche per il controllo e per la concimazione minerale, non è da attribuire al trattamento con il compost, ma piuttosto ad altri fattori (condizioni climatiche, disturbo indotto dalle pratiche colturali e/o le colture in corso al momento del prelievo) che avrebbero influenzato tutte le parcelle. In letteratura sono riportati altri casi di repentine variazioni di attività enzimatiche indipendenti da trattamenti sperimentali (Albiach et al., 2000).

In Tab. VI. 2 sono riportate le correlazioni riscontrate per le diverse attività enzimatiche monitorate. Simili correlazioni sono state riscontrate, rispettivamente, anche da Albiach et al. (2000) e da García et al., (1993), confermando che questi enzimi sono bioindicatori dello stato e dell'evoluzione della sostanza organica.

Alla fine dei tre anni di sperimentazione tutte le attività enzimatiche sono risultate incrementate dall'apporto di sostanza organica rispetto al controllo, quasi sempre coerentemente alle dosi di compost apportate, anche se le risposte alla dose C15 sono apparse spesso modeste. Solo in qualche caso gli effetti positivi sono stati evidenziati unicamente per la dose più elevata di compost, mentre le dosi C15 e C30 hanno addirittura sortito un effetto negativo dopo una singola applicazione per poi mostrare un recupero dopo ulteriori trattamenti. Le quattro attività enzimatiche monitorate nelle due stazioni hanno mostrato dinamiche differenti nel tempo in accordo con quanto riportato frequentemente in letteratura (Aon e Colaneri, 2001). Anche Bandick e Dick (1999), monitorando 11 attività

enzimatiche, hanno riscontrato dinamiche temporali differenti per enzimi diversi, con modalità di risposta a trattamenti organici e minerali talvolta inaspettate.

Inoltre, in letteratura sono riportati anche casi di inibizione delle attività enzimatiche per effetto di trattamenti con ammendanti organici, non solo per l'effetto tossico di metalli pesanti presenti in materiali di scarsa qualità (Gianfreda e Bollag, 1996; García-Gil et al., 2000; Marcote et al., 2001; Crecchio et al., 2004), ma anche per la presenza di elevate quantità di tannini, nel caso di impiego di vinacce tra i materiali di origine.

Nei piani di fertilizzazione organica, infatti, particolare importanza riveste non solo il quantitativo, ma anche la tipologia di sostanza organica utilizzata. Albiach et al., (2000) hanno confrontato gli effetti su alcune attività enzimatiche dell'applicazione annuale di 24 t ha⁻¹ di compost da rifiuti solidi urbani, fanghi di depurazione o letame ovino, 2,4 t ha⁻¹ di vermicompost commerciale e 100 t ha⁻¹ di una soluzione commerciale di acidi umici. Dopo 5 anni di trattamento il vermicompost e la soluzione di acidi umici non avevano sortito alcun effetto sulle attività enzimatiche, mentre il compost da rifiuti solidi urbani, i fanghi di depurazione ed il letame bovino avevano determinato incrementi evidenti e spesso statisticamente significativi rispetto al controllo, secondo l'ordine: rifiuti solidi urbani > fanghi di depurazione > letame bovino. Ciò dimostra che le attività enzimatiche del suolo possono rispondere in misura diversa all'ammendamento con residui organici di origine diversa, anche a parità di quantitativi apportati. Inoltre l'aggiunta di compost di qualità può incrementare la biomassa microbica globale ed aumentare l'attività enzimatica del suolo (Albiach et al., 2000). In uno studio condotto da Pérez-Piqueres et al. (2006) è stato dimostrato che considerevoli cambiamenti nella struttura della comunità microbica, indotta da ammendamenti con diversi tipi di compost sono da imputarsi al tipo di suolo e al tipo di ammendante utilizzato. Tali cambiamenti in alcuni casi hanno portato ad un incremento dell'attività globale del suolo (Debosz et al., 2002), come appare chiaro.

I risultati di questa ricerca hanno dimostrato che l'ammendamento con compost influenza fortemente le proprietà biologiche del suolo a breve termine, la risposta è comunque influenzata fortemente dalle caratteristiche del suolo.

VI. 2. Metalli pesanti

VI .2. 1 Risultati

I risultati delle analisi degli elementi sui suoli studiati sono stati riportati come valori iniziali nelle due stazioni sia come contenuto totale (Fig. 6) che come frazione disponibile (Fig. 7) per mostrare le differenze rilevanti fra i suoli delle due stazioni sperimentali.

Per mettere in evidenza eventuali variazioni di concentrazione degli elementi nel suolo in funzione dei trattamenti, sono state poi riportate in grafico la concentrazione totale e la frazione disponibile come variazione percentuale rispetto al controllo per ogni campionamento (Figg. 8-17). Per una valutazione dell'effetto della fertilizzazione sia organica che minerale, non si è fatto riferimento ai valori rilevati prima dell'inizio dei trattamenti, dal momento che è stata evidenziata una elevata variabilità temporale attribuibile a fattori stagionali, colturali o di lavorazione dei terreni che avrebbero creato confusione nella valutazione generale dei risultati, dal momento che hanno interessato anche i terreni delle parcelle controllo.

VI. 2. 1. 1. Cadmio

I suoli delle due stazioni, prima dei trattamenti annuali con il compost, presentavano concentrazioni totali di Cd confrontabili, ovvero 0,35 µg/g p.s. a Pontecagnano e 0,40 µg/g p.s. a Battipaglia (Fig VI. 6). Anche per la frazione disponibile si sono osservati valori simili in entrambe le stazioni sperimentali: 0,07 µg/g p.s. a Pontecagnano e 0,05 µg/g p.s. a Battipaglia (Fig. VI. 7).

Nei terreni della stazione di Pontecagnano ammendati col compost è stato registrato un incremento della concentrazione totale di Cd (Fig. VI. 8). Tale incremento è risultato più rilevante dopo la seconda e la terza applicazione di compost e per quest'ultima si è riscontrata anche una coerenza con le dosi utilizzate. Un incremento è evidente anche per le parcelle a fertilizzazione minerale. A Battipaglia (Fig. VI. 8) non si è osservato aumento della concentrazione totale di Cd da attribuire al trattamento col compost.

La disponibilità di Cd è risultata aumentata rispetto al controllo nei suoli delle due stazioni in maggior misura dopo i primi due trattamenti nelle parcelle trattate con le più alte concentrazioni di compost. Incrementi più modesti si sono notati per l'ultimo ammendamento. Il Cd è l'elemento per il quale è stato evidenziato in tutte e due le stazioni il

maggior incremento percentuale della frazione disponibile rispetto totale; dopo la seconda applicazione di compost, il Cd era presente quasi totalmente in forma disponibile.

Per entrambe le stazioni non si sono osservate differenze significative del contenuto totale di Cd tra i trattamenti (Tab. VI. 3). Il Cd è risultato correlato negativamente con Cr e Cu, e positivamente con Fe, Ni e Pb, con livelli di significatività diversi a seconda degli elementi (Tab. VI. 4 a e b) sia a Pontecagnano che a Battipaglia. A Pontecagnano si sono osservate differenze significative della frazione disponibile del Cd solo per la tesi C45 *vs* CNT e *vs* MIN (Tab. VI. 3). La frazione disponibile del Cd è apparsa correlata con quella di tutti gli altri elementi, fatta eccezione del Ni a Battipaglia, con livelli di significatività differenti (Tab. VI. 5 a e b).

VI. 2. 1. 2. Cromo

Inizialmente il suolo di Battipaglia ha mostrato un contenuto totale di Cr (67 µg/g p.s.) più alto rispetto a Pontecagnano (41 µg/g p.s.), mentre, per la frazione disponibile si sono riscontrati valori maggiori a Pontecagnano (0,03 µg/g p.s.) rispetto a Battipaglia (0,005 µg/g p.s.) come è evidenziato in Fig. VI. 6. e VI. 7.

La concentrazione totale di Cr ha mostrato una grande variabilità, con aumenti e decrementi rispetto al controllo, soprattutto nella stazione di Battipaglia, senza però mostrare una chiara relazione con i trattamenti (Fig. VI. 9).

La disponibilità di Cr (Fig. VI. 9) è risultata aumentata rispetto al controllo nei suoli della stazione di Pontecagnano, in particolare nelle parcelle trattate con le più alte dosi di compost. Nella stazione di Battipaglia (Fig. VI. 9) la disponibilità di tale elemento è apparsa diminuire.

Le differenze tra i trattamenti sia a Pontecagnano che a Battipaglia non sono risultate significative né per il contenuto totale né per la frazione disponibile (Tab. VI. 3). Il Cr è risultato correlato positivamente con Cu, Mg, Mn e negativamente con Ni a Pontecagnano (Tab. VI. 4 a), con tutti gli elementi tranne Mn e Zn a Battipaglia (Tab. VI. 4 b).

Per la frazione disponibile sono evidenti correlazioni del Cr con molti degli elementi studiati sia a Pontecagnano che a Battipaglia (Tab. VI. 5 a e b).

VI. 2. 1. 3. Ferro

Le due stazioni sperimentali, prima dei trattamenti, hanno mostrato concentrazioni diverse sia del contenuto totale che della frazione disponibile di Fe (Fig. VI. 6 e VI. 7), con

valori più alti a Battipaglia per quanto riguarda il contenuto totale (44520 µg/g p.s. contro 17605 µg/g p.s.) e più alti a Pontecagnano per la frazione disponibile (31,4 µg/g p.s. contro 19,2 µg/g p.s.).

Nelle tesi trattate con compost a Pontecagnano, sono stati registrati rispetto al controllo incrementi della concentrazione totale (Fig. VI. 10 a). Forte è l'incremento della frazione disponibile (Fig. VI. 10 c), per la quale si è riscontrata anche una chiara coerenza con le dosi di compost, ed una differenza significativa fra trattamenti (Tab. VI. 3).

Nella stazione di Battipaglia non si sono osservati incrementi del contenuto totale di Fe (Fig. VI. 10. b). Incrementi durante tutto il periodo di monitoraggio si sono notati per la frazione disponibile, sebbene non siano coerenti con le dosi di compost. La disponibilità è aumentata anche nelle tesi a fertilizzazione minerale (Fig. VI. 10. d). Le differenze sono risultate significative tra le tesi CNT vs C15 e vs C45 (Tab. VI. 3).

Il contenuto totale di Fe a Pontecagnano è risultato correlato positivamente con Cd, Mg, Ni e Pb, negativamente con Cu (Tab. VI. 4 a), a Battipaglia il Fe è risultato correlato con tutti gli altri elementi eccetto Ni e Zn (Tab. VI. 4 b).

A Pontecagnano si sono osservate correlazioni positive con Cd, Cr, Cu, Mg, Mn e Zn (Tab. VI. 5 a) per la frazione disponibile, mentre a Battipaglia il Fe è risultato correlato positivamente con la maggior parte degli altri elementi con livelli di significatività differenti (Tab. VI. 5 b).

VI. 2. 1. 4. Manganese

Prima dei trattamenti il suolo di Pontecagnano ha mostrato un contenuto totale di Mn più basso (288 µg/g p.s.) rispetto al suolo di Battipaglia (1652 µg/g p.s.), come si nota in Fig. VI. 6. Anche la frazione disponibile (Fig. VI. 7) è risultata maggiore a Battipaglia (30,7 µg/g p.s.) rispetto a Pontecagnano (4,49 µg/g p.s.).

Rispetto al controllo, le tesi con compost hanno presentato a Pontecagnano incrementi di Mn coerenti con le dosi di compost solo per la frazione disponibile (Fig. VI. 11 a e c).

A Battipaglia (Fig. VI. 11 b e d) si è riscontrato un generale decremento della concentrazione totale, anche per la frazione disponibile non sono evidenti incrementi da mettere in relazione ai trattamenti di fertilizzazione.

Le differenze tra i trattamenti sia per il contenuto totale che per la frazione disponibile non sono risultate significative (Tab. VI. 3) a Pontecagnano, mentre sono apparse significative le differenze tra i trattamenti solo per il contenuto totale di Mn a Battipaglia.

Il contenuto totale di Mn è risultato correlato a quello di Cr, K, Mg e Pb a Pontecagnano (Tab. VI. 4a), a quello di Cd, Fe, K, Mg e Pb a Battipaglia (Tab. VI. 4 b).

La frazione disponibile del Mn è risultata correlata con tutti gli altri elementi, fatta eccezione del K, Ni e Pb a Pontecagnano (Tab. VI. 5 a) e del Cu a Battipaglia (Tab. VI.5 b).

VI. 2. 1. 5. Nichel

All'inizio della ricerca si sono registrati valori della frazione disponibile di Ni diversi per i suoli delle due stazioni sperimentali, ovvero 0,2 µg/g p.s. e 0,08 µg/g p.s. rispettivamente a Pontecagnano e Battipaglia, mentre si sono osservati valori confrontabili in entrambe le stazioni per il contenuto totale (Figg. VI. 6 e 7).

Nei terreni della stazione di Pontecagnano e di Battipaglia (Fig. VI. 12 a e b) ammendati col compost è stata registrata una grande variabilità della concentrazione totale e della frazione disponibile di Ni rispetto al controllo. Nella stazione di Battipaglia (Fig. VI. 12 b) solo per il secondo anno appare evidente un cospicuo incremento coerente con le dosi di compost.

In entrambe le stazioni non sono state riscontrate differenze significative tra i trattamenti sia per il contenuto totale che per la frazione disponibile (Tab. VI. 3).

A Pontecagnano il contenuto totale di Ni è risultato correlato negativamente (Tab. VI. 4 a) con Cr e Cu e positivamente con Cd, Fe e Pb, mentre per la frazione disponibile sono state osservate correlazioni positive solo con Cd e Pb (Tab. VI. 5 a)

A Battipaglia sono state riscontrate correlazioni negative tra il contenuto totale del Ni con Cr, Cu, K e Mg, e correlazioni positive con Cd e Pb (Tab. VI. 4 b). Per quanto concerne la frazione disponibile sono state evidenziate correlazioni negative con Cr, Mg e Mn e correlazioni positive con Pb (Tab. VI. 5 b).

VI. 2.1. 6. Piombo

Nel suolo della stazione di Pontecagnano (Fig. VI. 13 a), che ha mostrato valori iniziali del contenuto totale di Pb (Fig. VI. 6) più bassi (12 µg/g p.s.) rispetto a Battipaglia (71 µg/g p.s.), si è osservata una grande variabilità nelle tesi trattate con compost rispetto al controllo, più contenute, invece, le variazioni del contenuto totale osservate a Battipaglia (Fig. VI. 13 b). Entrambe le stazioni presentavano valori confrontabili della frazione disponibile di Pb prima degli ammendamenti (Fig. VI. 7).

Con l'aggiunta di compost nei terreni di Pontecagnano si è riscontrato un aumento della disponibilità di Pb nel tempo. Gli incrementi più importanti e coerenti con le dosi, sono stati trovati dopo il terzo trattamento (Fig. VI. 13 c). Nei terreni della stazione di Battipaglia sono stati osservati, invece, decrementi della frazione disponibile di Pb nelle parcelle ammendate rispetto al controllo durante tutto il periodo di monitoraggio (Fig. VI. 13 d).

Differenze significative tra trattamenti sono state riscontrate in entrambe le stazioni solo per la frazione disponibile (Tab. VI. 3)

Il contenuto totale di Pb è risultato correlato con tutti gli elementi, eccetto con Cr e Zn a Pontecagnano (Tab. VI 4 a) e con K, Mg e Zn a Battipaglia (Tab. VI 4 b).

Per la frazione disponibile sono state riscontrate a Pontecagnano correlazioni positive con Cd, K, Mg e Ni e negative con Cu, (Tab. VI 5 a), a Battipaglia il Pb disponibile è risultato correlato negativamente con Cu e Zn (Tab. VI 5 b)

VI. 2. 1. 7. Rame

Inizialmente le due stazioni hanno mostrato valori confrontabili sia del contenuto totale che della frazione disponibile di Cu (Fig. VI. 6 e VI. 7).

Nei terreni della stazione di Pontecagnano ammendati col compost è stato registrato un incremento della concentrazione totale di Cu rispetto al controllo (Fig. VI. 14 a). Gli incrementi sono risultati più rilevanti dopo la terza applicazione di compost. E' da mettere in evidenza però che l'incremento di Cu ha interessato anche le parcelle trattate con fertilizzazione minerale soprattutto dopo il secondo ed il terzo anno di osservazione.

Nella stazione di Battipaglia (Fig. VI. 14 b) non si è osservato un chiaro incremento del contenuto totale di Cu come a Pontecagnano; è apparsa evidente una certa variabilità intorno ai valori rilevati nelle parcelle controllo.

Il suolo di Pontecagnano ha mostrato incrementi della frazione disponibile rispetto al controllo nelle tesi ammendate (Fig. VI. 14 c). Particolarmente evidente l'incremento nelle parcelle a fertilizzazione minerale. A Battipaglia (Fig. VI. 14 d) tale incremento è meno evidente a causa di una notevole variabilità sia tra prelievi che tra trattamenti e riguarda prevalentemente le parcelle ammendate con la massima dose di compost.

Non si sono notate differenze significative tra i trattamenti sia per il contenuto totale sia per la frazione disponibile del Cu in entrambe le stazioni sperimentali (Tab. VI. 3).

Il contenuto totale di Cu è risultato correlato negativamente a Cd, Fe, Ni e Pb a Pontecagnano, (Tab. VI 4 a) e a Cd, Ni e Pb a Battipaglia (Tab. VI. 4 b).

La frazione disponibile del Cu è risultata correlata con tutti gli elementi, fatta eccezione per K e Ni a Pontecagnano (Tab. VI. 5 a), e per K, Ni, Mn e Pb a Battipaglia (Tab. VI 5 b).

VI. 2. 1. 8. Zinco

Per lo Zn è stata osservata una concentrazione totale iniziale (Fig. VI. 6) maggiore a Battipaglia (105 µg/g p.s.) che a Pontecagnano (66 µg/g p.s.); la frazione disponibile era invece più rilevante a Pontecagnano con valori cinque volte maggiori che a Battipaglia (Fig. VI. 7).

In entrambe le stazioni sono risultati evidenti incrementi del contenuto totale di Zn nelle tesi trattate con compost rispetto al controllo (Fig. VI. 15 a e b) soprattutto dopo il secondo e terzo ammendamento. Per la stazione di Pontecagnano, dove gli incrementi sono stati più rilevanti, le differenze sono risultate significative tra i trattamenti (Tab. VI. 3).

Anche la disponibilità di Zn è aumentata rispetto al controllo, maggiormente dopo la terza applicazione di compost, nei suoli della stazione di Pontecagnano e di Battipaglia (Fig. VI. 15 c e d). L'aumento della disponibilità di Zn è decisamente maggiore a Battipaglia dove è apparso coerente con le dosi di compost aggiunte al terreno e dove la disponibilità di Zn è aumentata anche nelle parcelle con fertilizzazione minerale.

Lo Zn è risultato significativamente correlato solo con Cu per quanto riguarda il contenuto totale (Tab. VI 4 a e b), mentre correlazioni con vari elementi sono state registrate per la frazione disponibile (Tab. VI. 5 a e b).

VI. 3. *Macronutrienti*

VI. 3. 1. Risultati

VI. 3. 1. 1. Magnesio

Per i terreni della stazione di Battipaglia, con un contenuto totale iniziale (Fig. VI. 6 e 7) inferiore alla stazione di Pontecagnano (rispettivamente 9988 e 14776 µg/g p.s.), ma superiore (rispettivamente 156 e 86 µg/g p.s.) per la frazione disponibile, è stato rilevato un sostanziale decremento della concentrazione totale di Mg in tutte le tesi trattate con compost e con concimazione minerale rispetto al controllo (Fig. VI. 16 b). A Pontecagnano (Fig. VI. 16 a) invece il contenuto totale di Mg è aumentato solo dopo la terza applicazione di compost.

Per quanto concerne la frazione disponibile, le tesi trattate con compost a Pontecagnano hanno mostrato un incremento rispetto al controllo alla fine del periodo di ricerca (Fig. VI. 16 c). A Battipaglia, a fronte di un decremento del totale, la frazione disponibile di Mg non ha subito rilevanti modifiche (Fig. VI. 16 d).

Sia per il contenuto totale sia per la frazione disponibile, in entrambe le stazioni non sono risultate significative le differenze tra i vari trattamenti (Tab. VI. 3).

Per il contenuto totale di Mg sono state riscontrate correlazioni positive con Cr, Fe, K, Mn e Pb a Pontecagnano (Tab. VI 4 a), con Cr, Cu, Fe, K, Mn a Battipaglia (Tab. VI. 4 b).

La frazione disponibile del Mg è risultata correlata con tutti gli altri elementi, eccetto K e Ni a Pontecagnano (Tab. VI 5 a) e Cr e Zn a Battipaglia (Tab. VI. 5 b).

VI. 3. 1. 2. Potassio

Inizialmente a Battipaglia si sono osservati valori del contenuto totale di K più alti (36 mg/g p.s.) rispetto a Pontecagnano (12 mg/g p.s.), mentre i valori della frazione disponibile sono risultati confrontabili nelle due stazioni (Fig. VI. 6 e 7).

A Battipaglia non sono evidenti incrementi del contenuto totale di K (Fig. VI. 17 b), a Pontecagnano (Fig. VI. 17 a) gli incrementi riscontrati, di scarso rilievo, non sono risultati in linea con i trattamenti.

Per la frazione disponibile di K nel sito di Battipaglia, appare evidente un incremento, seppur più contenuto rispetto a quello di Pontecagnano (Figg. VI. 17 c e d). In entrambe le stazioni l'incremento è coerente con le dosi di compost.

Differenze significative tra i diversi trattamenti sono state riscontrate solo per la frazione disponibile in entrambe le stazioni sperimentali, come si può evincere dalla Tab. VI. 3.

Il contenuto totale di K è risultato correlato con Mg, Mn e Pb a Pontecagnano (Tab. VI 4 a), e con Mg, Mn e Ni a Battipaglia (tab. VI 4 b). In Tab. VI. 5 a e 5 b sono riportate le correlazione significative della frazione disponibile di K con Cd e Pb a Pontecagnano, e con Cd, Cr, Fe, Mg, Mn, Pb e Zn a Battipaglia.

VI. 4. Discussione

Sebbene il progetto di ricerca prevedesse l'impiego nei campi sperimentali di dosi di compost superiori a quelle indicate (30 t/ha p.s.) nella Delibera del Comitato Ministeriale per i rifiuti del 27/7/1984, solo per alcuni elementi, in particolare a Pontecagnano, sono stati evidenziati incrementi del contenuto totale alla fine del terzo anno (Fig. VI. 18). Variazioni

più rilevanti sono state invece riscontrate per la frazione disponibile di alcuni metalli nei suoli ammendati con compost rispetto al controllo.

Nella stazione di Pontecagnano (Fig. VI. 19 a, b, c) dopo tre anni di trattamento è aumentata la disponibilità di tutti gli elementi studiati, anche se per Cd e Mg l'incremento non appare coerente con le dosi di compost utilizzate. A Battipaglia è aumentata la disponibilità di Fe e coerentemente alle dosi di compost impiegate K e Zn (Fig. VI. 19 d, e, f). Le variazioni del contenuto totale e della frazione disponibile degli elementi rilevate nei suoli fertilizzati, rispetto al controllo alla fine del terzo anno (Fig. VI. 19), non rispecchiano sempre quello che è stato riscontrato alla fine del primo e del secondo anno (Fig. VI. 8 -17).

Contrastanti e non numerosi sono i dati della letteratura relativi agli andamenti delle concentrazioni dei metalli in suoli con diverse caratteristiche in funzione dell'ammendamento con varie tipologie di compost.

Incrementi della concentrazione totale di alcuni metalli come Cd, Cu, Mn, Pb e Zn sono stati evidenziati in suoli sabbiosi-limosi in seguito all'applicazione di compost derivante dal trattamento di rifiuti solidi urbani (Abdel-Sabour e Abo El-Seoud, 1996; Zheljzkov e Warman, 2004).

Anche Breslin (1999), che ha studiato lungo il profilo del suolo le variazioni delle concentrazioni dei metalli dopo applicazione di compost da rifiuti solidi urbani, ha riscontrato un aumento del contenuto totale di Cd, Cu, Pb e Zn proporzionale alla quantità di compost nello strato 0-5 cm del suolo e un decremento del Fe rispetto al controllo. Nello strato 20-25 cm invece, le concentrazioni di Cd, Fe e Zn erano simili al controllo, mentre per Cu e Pb, venivano osservati decrementi. Il notevole decremento di Cd osservato negli strati 0-5 e 5-10 cm è stato attribuito da Breslin (1999) ad un rapido trasporto negli orizzonti più profondi del suolo.

Dopo il trattamento ripetuto per tre anni con tre diverse dosi di compost né il suolo di Pontecagnano né quello di Battipaglia, con diverse caratteristiche chimico-fisiche e biologiche, hanno mostrato un generale incremento del contenuto totale degli elementi studiati, come rilevato da altri autori anche per altri tipi di ammendanti.

Il comportamento dei metalli nel suolo dipende oltre che dalla natura del metallo, anche dalle proprietà chimico-fisiche del suolo e dalla tipologia dell'ammendante. In uno studio condotto per dieci anni da Kidd e collaboratori (2006) su suoli ammendati con fanghi urbani, sono stati osservati incrementi del contenuto totale di Mg e K, oltre ad aumenti sia del contenuto totale che della frazione disponibile di Cu, Mn e Zn.

Sigua e collaboratori (2005), in uno studio durato tre anni su suoli sabbiosi ammendati con biosolidi derivati da liquami e da verde urbano, hanno osservato invece un decremento di K, Mg e Mn oltre ad un lieve incremento di Cu e Zn.

In un altro studio durato dodici anni (Mantovi et al., 2005) su suoli calcarei-argillosi ammendati con fanghi, è stato rilevato un accumulo di Cu e Zn negli orizzonti più superficiali. Sánchez-Monedero et al., (2004) invece non hanno osservato incrementi di Cd, Cr, Ni e Pb, sia per quanto concerne il contenuto totale che la frazione disponibile in suoli calcarei-argillosi ammendati con fanghi uniti a rifiuti organici e verdi e con fanghi e fertilizzanti minerali.

Walter e collaboratori (2006) hanno riscontrato incrementi della disponibilità di Cd, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn in suoli ammendati con compost verde e diversi tipi di fanghi, gli incrementi della disponibilità di tali elementi erano comunque ridotti nel suolo ammendato con compost verde rispetto ai suoli ammendati con i fanghi. Questi autori hanno riportato anche decrementi della frazione disponibile di Cr così come riscontrato da Sánchez-Monedero et al. (2004) in suoli trattati con compost rispetto a suoli non ammendati. Decrementi della frazione disponibile di Cu, Mn, Zn sono stati osservati anche da altri autori in suoli trattati in mesocosmi con compost derivante da rifiuti solidi urbani da raccolta differenziata (Zheljzakov e Warman, 2004). Tale risultato concorda con quanto riportato da Breslin (1999) circa un decremento del 10% della disponibilità di Cu e Pb in suoli ammendati con compost. Breslin (1999) ha osservato anche un incremento della frazione disponibile di Cd e Zn.

I valori della frazione disponibile di Cd nelle stazioni di Battipaglia e di Pontecagnano sono mediamente confrontabili con quelli misurati in suoli agrari sperimentali da Karaca (2004). Incrementi del contenuto totale e della frazione disponibile di diversi metalli in seguito ad ammendamento con fertilizzanti organici, provenienti da rifiuti solidi urbani, sono stati osservati da Pinamonti (1997), Zheljzakov e Warman (2004) e Ozores-Hampton e loro collaboratori (2005), l'incremento della frazione disponibile di Cu è indicativo dell'elevata affinità di tale elemento per la componente organica.

Calace e collaboratori (2006) hanno riportato aumenti, se pur limitati nonostante l'alto contenuto totale di Fe, della disponibilità di Fe in suoli caratterizzati da un elevato pH (7,5-8,59), da un basso contenuto di sostanza organica e fertilizzati con ammendati organici provenienti da rifiuti derivati dall'industria della carta.

Incrementi della frazione disponibile di K e Mg, in suoli ammendati sia con due diversi tipi di compost: agrario (residui di colture e deiezioni animali), verde (potature del verde urbano) che con torba; sono stati osservati da Soumarè et al. (2003).

Nelle parcelle sperimentali delle stazioni di Pontecagnano e Battipaglia è apparso chiaro un diverso effetto dell'ammendamento con compost sia sul contenuto totale degli elementi studiati che sulla loro disponibilità.

A Pontecagnano sono stati più evidenti gli incrementi del contenuto totale, rispetto a Battipaglia, dove verosimilmente il più alto contenuto iniziale rende meno evidenti gli apporti col compost. D'altra parte nel terreno di Battipaglia, più povero di sostanza organica rispetto a Pontecagnano, ma con una maggiore presenza di argilla, che ha un più elevato potere a legare i cationi della sostanza organica, la disponibilità degli elementi non ha subito rilevanti modificazioni rispetto alla situazione iniziale. Nel suolo di Pontecagnano, franco-sabbioso e decisamente più ricco di sostanza organica, la disponibilità aumenta per tutti gli elementi, in maniera particolare per il piombo che dal controllo al trattamento alla massima dose di compost passa da 1,5 a 5,5 $\mu\text{g/g p.s.}$

VI. 5. Contaminanti microbici

VI. 5. 1. Carica Batterica Totale

Il conteggio delle colonie su agar è un parametro che permette di rilevare un gruppo estremamente eterogeneo di microrganismi, aerobi ed anaerobi facoltativi con differenti capacità metaboliche e richieste nutrizionali. Il metodo consente di valutare la concentrazione di tutti i microrganismi che producono colonie alla temperatura di 37° C. Molti di essi possono appartenere alla microflora autoctona della matrice ambientale, presente indipendentemente da qualsiasi contaminazione.

Nella stazione di Pontecagnano (Fig. VI. 20 a) è evidente un maggiore incremento della carica batterica totale fra i trattamenti rispetto alla stazione di Battipaglia (Fig. VI. 20 b) dopo i diversi ammendamenti con il compost. Solo dopo il secondo ammendamento con il compost (marzo 2004) sono evidenti piccole differenze tra le diverse tesi in entrambe le stazioni.

Dopo il terzo ammendamento a Pontecagnano (Fig. VI. 20 a) la carica batterica totale è risultata incrementata coerentemente con le dosi di compost, a Battipaglia (Fig. VI. 20 b) l'incremento è meno rilevante. Questi dati sono in accordo con lo studio di Lee et al. (2004). Gli autori hanno dimostrato che la carica batterica in suoli trattati con compost proveniente

da scarti di cibo era significativamente più alta rispetto alla tesi controllo e alla tesi ammendata con compost commerciale.

La carica batterica totale (Fig. VI. 25) è risultata sempre correlata con la crescita degli altri microrganismi studiati (Tab. VI. 6 a e b), eccetto con i coliformi totali rilevati a Battipaglia. Non sono apparse invece, significative le differenze tra i vari trattamenti in entrambe le stazioni. Gli stessi risultati sono stati riportati da Crecchio* et al. (2004) su suoli ammendati con letame. La non significatività delle differenze tra trattamenti su terreni ammendati con compost, è una probabile conseguenza della grande eterogeneità all'interno dei campioni presi nello stesso sito di campionamento. Ciò può essere dovuto anche ad un irregolare distribuzione della comunità microbica nel suolo.

VI. 5. 2. Coliformi totali e fecali

La Fig. VI. 26 a e b mostra la formazione di gas nelle campanelle dei tubi risultati positivi alla prova presuntiva e alla prova di conferma, nei saggi preparati per la determinazione dei coliformi totali e fecali.

Durante il periodo di monitoraggio sono stati rilevati incrementi dei coliformi totali, in generale coerenti con le dosi di compost, in entrambe le stazioni (Fig. VI. 21 a e b).

Concentrazioni più alte di coliformi totali sono state evidenziate, alla fine del terzo anno di trattamento con il compost, in entrambe le stazioni. Non sono state riscontrate differenze significative tra i trattamenti. Solo per Pontecagnano sono state osservate correlazioni significative con tutti gli altri microrganismi (Tab. VI. 6 a e b).

Per quanto concerne i coliformi fecali, similmente ai coliformi totali, sono stati osservati incrementi nelle tesi ammendate, soprattutto alla fine del terzo anno, sia a Pontecagnano che a Battipaglia. In tali siti gli incrementi sono apparsi coerenti con le dosi di compost (Fig. VI. 22 a e b). Incrementi di coliformi fecali sono stati riscontrati anche da Gessel et al. (2004) in suoli ammendati con letame di maiale.

Anche per i coliformi fecali non sono state osservate differenze significative tra i trattamenti. Correlazioni con la carica batterica totale, i coliformi totali e le *Enterobacteriaceae* sono state osservate a Pontecagnano (Tab. VI. 6 a), mentre a Battipaglia (Tab. VI. 6 b) sono state riscontrate correlazioni con la carica batterica totale, le *Enterobacteriaceae* e gli streptococchi fecali. L'incremento contemporaneo del numero dei coliformi totali e fecali, fa supporre che una quota di questi microrganismi appartiene alla microflora batterica autoctona del suolo. La stessa tesi è sostenuta da Joergensen e collaboratori (1998).

VI. 5. 3. Enterobacteriaceae

Nei suoli ammendati, durante i tre anni di ricerca, sono stati riscontrati incrementi in linea con le dosi di compost. I valori sono risultati superiori a Battipaglia rispetto a Pontecagnano (Fig. VI. 23). Tali incrementi sono ben evidenti subito dopo il terzo ammendamento con il compost. In uno studio condotto da Estrada et al., (2004) è stato monitorato l'effetto dell'applicazione di vari tipi di fanghi sul comportamento delle *Enterobacteriaceae* nel suolo e la loro evoluzione dopo le diverse applicazioni sia in campo che in laboratorio con condizioni controllate di temperatura e umidità. Gli autori hanno riscontrato che la variazione del numero dei microrganismi in pieno campo dipende dalla disponibilità di nutrienti del suolo piuttosto che dalle condizioni climatiche.

In Fig. VI. 27 a e b si possono notare come appaiono le colonie delle *Enterobacteriaceae* (violette con alone porpora) sia nella tesi controllo che in quella C15, è possibile anche notare il numero di colonie maggiore nella tesi ammendata rispetto a quella controllo.

Le *Enterobacteriaceae* sono risultate correlate positivamente con carica batterica totale, coliformi totali e fecali a Pontecagnano, mentre con la carica batterica totale, coliformi totali e streptococchi a Battipaglia. Dal test di significatività Two-way Anova non sono state riscontrate differenze significative tra i trattamenti in entrambe le stazioni.

VI. 5. 4. Salmonelle

Le Salmonelle sono risultate assenti sia nel compost che nei suoli delle parcelle controllo e in quelle ammendate con compost. In Fig. VI. 28 è possibile notare come appaiono le colonie presunte *Salmonella* su terreno differenziale "Hektoen Enteric Agar". In questo terreno le colonie appartenenti al genere *Salmonella* appaiono verdi con o senza precipitato scuro al centro della colonia. In tutti i casi in cui si è rilevata la presenza, in questo terreno, delle suddette colonie, si è proceduto al successivo piastramento su terreno "Kligler Iron Agar". Tale test è sempre risultato negativo.

VI. 5. 5. Streptococchi fecali

Dopo l'ammendamento con il compost nel 2004 (Fig. VI. 24 a e b) nelle parcelle C15 e C30 di entrambe le stazioni è evidente un incremento del numero di streptococchi fecali rispetto al controllo. Nel 2005 sia subito dopo l'ammendamento che alla fine del terzo anno non sono state evidenziate differenze rilevanti tra le parcelle controllo e quelle ammendate

con il compost, sebbene il numero di streptococchi fecali sia aumentato in assoluto rispetto al 2004. Il test di significatività non ha evidenziato differenze significative tra i trattamenti per entrambi gli anni.

Gli streptococchi fecali sono risultati correlati positivamente (Tab. VI. 6 a e b) con la carica batterica totale e i coliformi totali a Pontecagnano, con la carica batterica totale con i coliformi fecali e le *Enterobacteriaceae* a Battipaglia.

Il maggior numero di streptococchi fecali trovati nel suolo rispetto ai coliformi fecali è probabile che sia dovuto alla loro maggiore persistenza nell'ambiente rispetto agli altri batteri fecali, come riportato anche da Cools et al. (2001).

In conclusione i dati mettono in evidenza come la presenza di coliformi totali, coliformi e streptococchi fecali nei suoli ammendati varia nel tempo, verosimilmente in funzione di fattori ambientali come la temperatura, l'umidità e il livello di nutrienti nel suolo come riscontrato anche da Vasseur, et al. (1996). Fino ad oggi sono ancora pochi gli studi sugli eventuali rischi di infezione da organismi patogeni attraverso l'uso del compost nelle attività agricole (Watanabe et al., 2002). Comunque, un processo di compostaggio che preveda una fase di autosterilizzazione, indotta da elevate temperature, può controllare la comunità batterica, in particolare la presenza di Streptococchi fecali, *Echerichia coli*, lieviti e funghi filamentosi. Anche specie patogene Gram-negative possono essere inattivate, mediante sonicazione, come è stato dimostrato sperimentalmente, migliorando così la qualità sanitaria del prodotto finito che può essere più tranquillamente utilizzato in agricoltura (Hassen et al., 2001 e Pourcher et al., 2005).

TABELLE CAP. VI

Idrolasi	P	CNT	MIN	C15	C30	C45
Pontecagnano	<0,0001	a	a	b	b	c
Battipaglia	<0,0001	a	ab	ac	bc	d
Fosfatasi	P	CNT	MIN	C15	C30	C45
Pontecagnano	<0,0001	a	a	b	c	d
Battipaglia	<0,0001	a	b	b	b	c
Solfatasi	P	CNT	MIN	C15	C30	C45
Pontecagnano	<0,0001	a	b	a	c	d
Battipaglia	<0,0001	a	b	b	c	c
β-glucosidasi	P	CNT	MIN	C15	C30	C45
Pontecagnano	<0,001	ab	acd	b	bc	d
Battipaglia	<0,001	a	b	b	b	b

Tab. VI. 1. Significatività delle differenze dell'attività idrolasica, dell'attività fosfatasica, dell'attività solfatasica e dell'attività β-glucosidasica tra i trattamenti (P). Differenze significative (P<0,05) tra i trattamenti sono indicate con lettere diverse.

Pontecagnano	Idrolasi	Fosfatasi	Solfatasi	β-glucosidasi
Idrolasi	1			
Fosfatasi	0,41*	1		
Solfatasi	NS	0,56**	1	
β-glucosidasi	NS	NS	0,69***	1
Battipaglia	Idrolasi	Fosfatasi	Solfatasi	β-glucosidasi
Idrolasi	1			
Fosfatasi	NS	1		
Solfatasi	0,40*	NS	1	
β-glucosidasi	NS	0,42*	NS	1

Tab. VI. 2. Correlazione nel tempo tra le diverse attività enzimatiche studiate nei suoli di Pontecagnano e di Battipaglia. **N.S.= Pearson**, **N.S.=Spearman**. I livelli di significatività sono indicate con l'asterisco: * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001

Pontecagnano	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Ni	Pb	Zn
Concentrazione Totale	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	<0,05
Frazione disponibile	<0,05	NS	NS	<0,001	<0,01	NS	NS	NS	<0,05	NS
CNT	a			a	a				a	
MIN	a			ab	ab				a	
C15	ac			ac	ac				ab	
C30	ac			bc	bc				ac	
C45	bc			d	d				bc	

Battipaglia	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Ni	Pb	Zn
Concentrazione Totale	NS	NS	NS	NS	NS	NS	<0,05	NS	NS	NS
Frazione disponibile	NS	NS	NS	<0,05	<0,01	NS	NS	NS	<0,01	NS
CNT				a	a				a	
MIN				abd	abc				b	
C15				bc	b				ab	
C30				ac	bd				a	
C45				cd	cd				a	

Tab. VI. 3. Significatività delle differenze dei metalli pesanti e dei macronutrienti tra i trattamenti nei suoli di Pontecagnano e Battipaglia. Differenze significative ($P < 0,05$) tra i trattamenti sono indicate con lettere diverse.

Totale a	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Ni	Pb	Zn
Cd	1									
Cr	-0,66***	1								
Cu	-0,63***	0,39**	1							
Fe	0,47***	NS	-0,32*	1						
K	NS	NS	NS	NS	1					
Mg	NS	0,49***	NS	0,35*	0,49***	1				
Mn	NS	0,34*	NS	NS	0,61***	0,60***	1			
Ni	9,03 ^{E-001***}	-0,75***	-0,66***	0,52***	NS	NS	NS	1		
Pb	0,48***	NS	-0,43**	0,36*	0,39**	0,44**	0,50***	0,36*	1	
Zn	NS	NS	0,40*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	1

Totale b	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Ni	Pb	Zn
Cd	1									
Cr	-0,47**	1								
Cu	-0,51***	0,54***	1							
Fe	0,34*	0,32*	0,32*	1						
K	NS	0,68***	0,45**	0,72***	1					
Mg	NS	0,52***	0,59***	8,59 ^{E-001***}	8,71 ^{E-001***}	1				
Mn	0,35*	NS	NS	8,28 ^{E-001***}	0,38**	0,67***	1			
Ni	9,33 ^{E-001***}	-0,63***	-0,71***	NS	-0,48***	-0,38**	NS	1		
Pb	8,66 ^{E-001***}	-0,39**	-0,37*	0,44**	NS	NS	0,37*	8,08 ^{E-001***}	1	
Zn	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	1

Tab. VI. 4. Correlazione secondo Pearson nel tempo del contenuto totale dei metalli pesanti e dei macronutrienti nei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b). I livelli di significatività sono indicati con l'asterisco: * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001

Disponibile a	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Ni	Pb	Zn
Cd	1									
Cr	0,72***	1								
Cu	0,34*	0,76***	1							
Fe	7,96 ^{E-001***}	9,14 ^{E-001***}	0,60***	1						
K	0,30*	NS	NS	NS	1					
Mg	7,99 ^{E-001***}	8,24 ^{E-001***}	0,38*	8,65 ^{E-001***}	NS	1				
Mn	0,74***	8,23 ^{E-001***}	0,51***	8,88 ^{E-001***}	NS	0,76***	1			
Ni	0,33*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	1		
Pb	0,43**	NS	-0,46**	NS	0,57***	0,44**	NS	0,40**	1	
Zn	0,61***	9,26 ^{E-001***}	8,50 ^{E-001***}	8,23 ^{E-001***}	NS	0,68***	0,78***	NS	NS	1

Disponibile b	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Ni	Pb	Zn
Cd	1									
Cr	0,73***	1								
Cu	0,35*	0,78***	1							
Fe	8,19 ^{E-001***}	9,37 ^{E-001***}	0,71***	1						
K	0,75***	0,39**	NS	0,52***	1					
Mg	0,78***	NS	-0,38**	0,30*	0,75***	1				
Mn	0,61***	0,59***	NS	0,70***	0,79***	0,72***	1			
Ni	NS	-0,32*	NS	NS	NS	-0,39**	-0,36*	1		
Pb	0,58***	0,33*	NS	0,32*	0,72***	8,05 ^{E-001***}	0,68***	0,37*	1	
Zn	0,67***	0,58***	0,45**	0,67***	0,64***	NS	0,43**	NS	NS	1

Tab. VI. 5. Correlazione secondo Pearson nel tempo della frazione disponibile dei metalli pesanti e dei macronutrienti nei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b). I livelli di significatività sono indicati con l'asterisco: * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001

Pontecagnano a	Carica Batterica Totale	Coliformi totali	Coliformi fecali	Enterobacteriaceae	Streptococchi fecali
Carica Batterica Totale	1				
Coliformi totali	0,44*	1			
Coliformi fecali	0,51*	0,59**	1		
Enterobacteriaceae	0,40*	0,42*	0,48*	1	
Streptococchi fecali	0,76***	0,46*	NS	NS	1

Battipaglia b	Carica Batterica Totale	Coliformi totali	Coliformi fecali	Enterobacteriaceae	Streptococchi fecali
Carica Batterica Totale	1				
Coliformi totali	NS	1			
Coliformi fecali	0,49*	NS	1		
Enterobacteriaceae	0,58**	NS	0,55*	1	
Streptococchi fecali	0,41*	NS	0,70***	0,53*	1

Tab. VI. 6. Correlazione secondo Pearson nel tempo dei diversi indicatori di contaminazione microbica studiati nei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b). I livelli di significatività sono indicati con l'asterisco: * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001

FIGURE CAP. VI

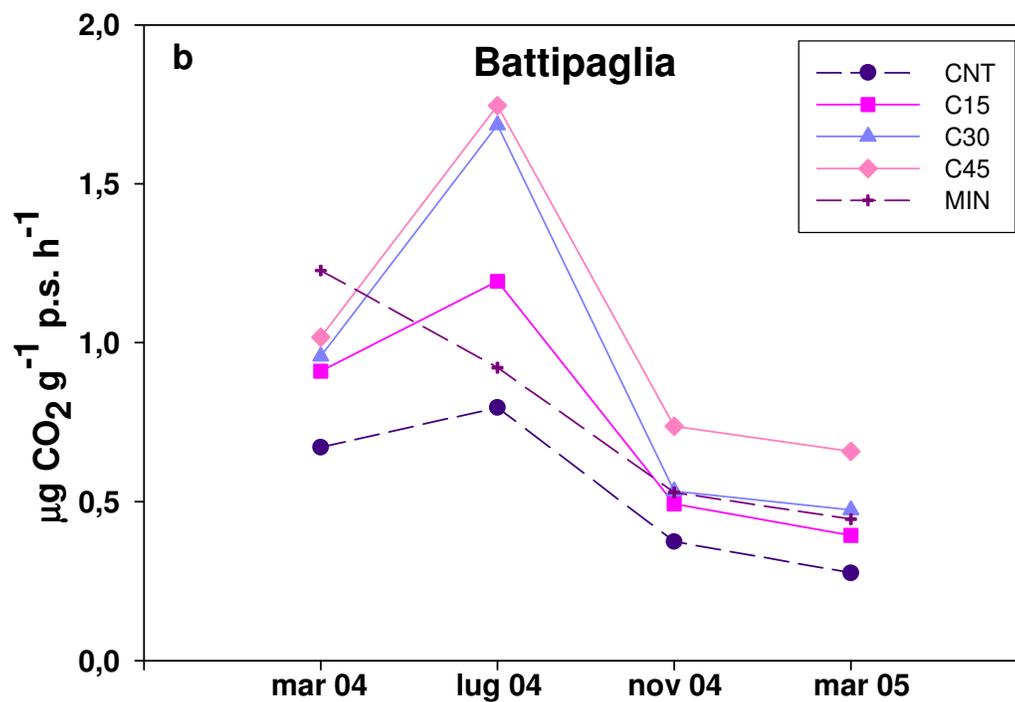
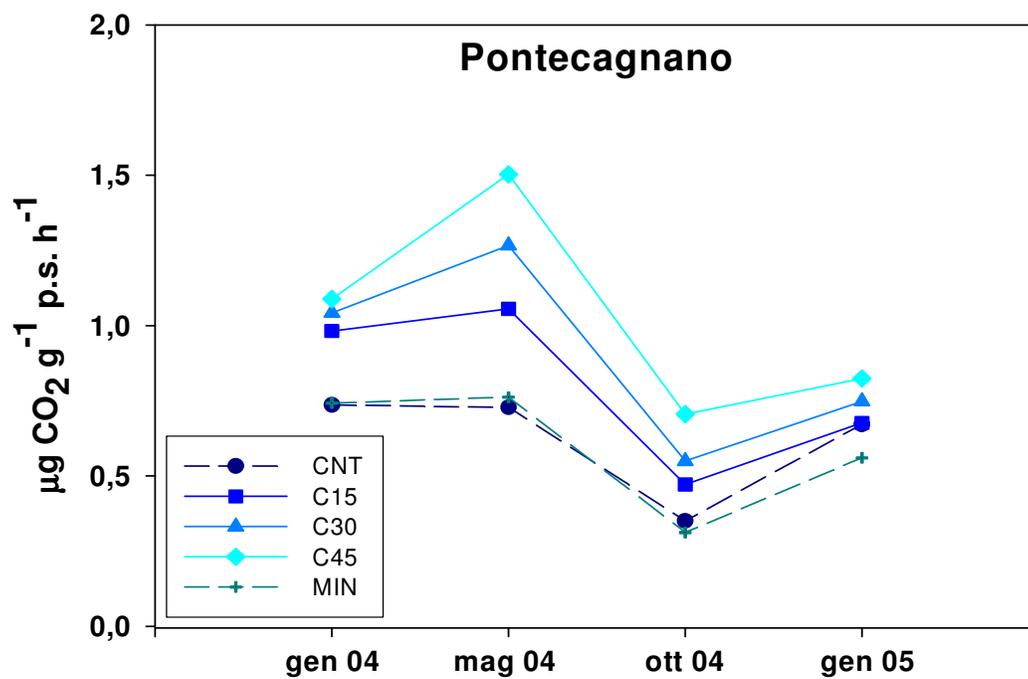


Fig. VI. 1. Dinamica della respirazione dei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b)

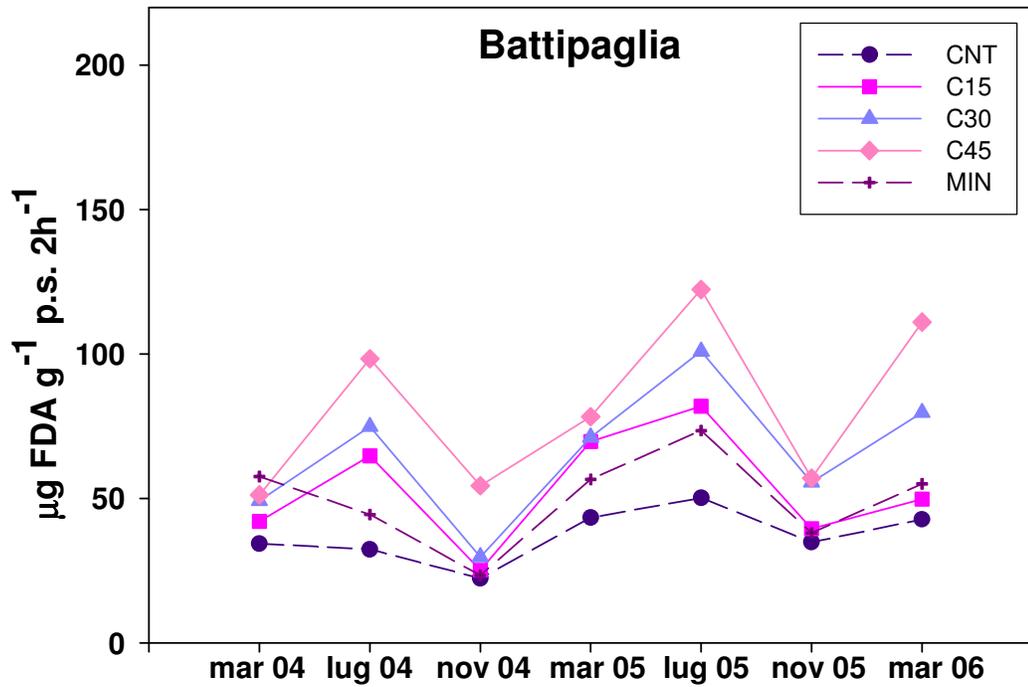
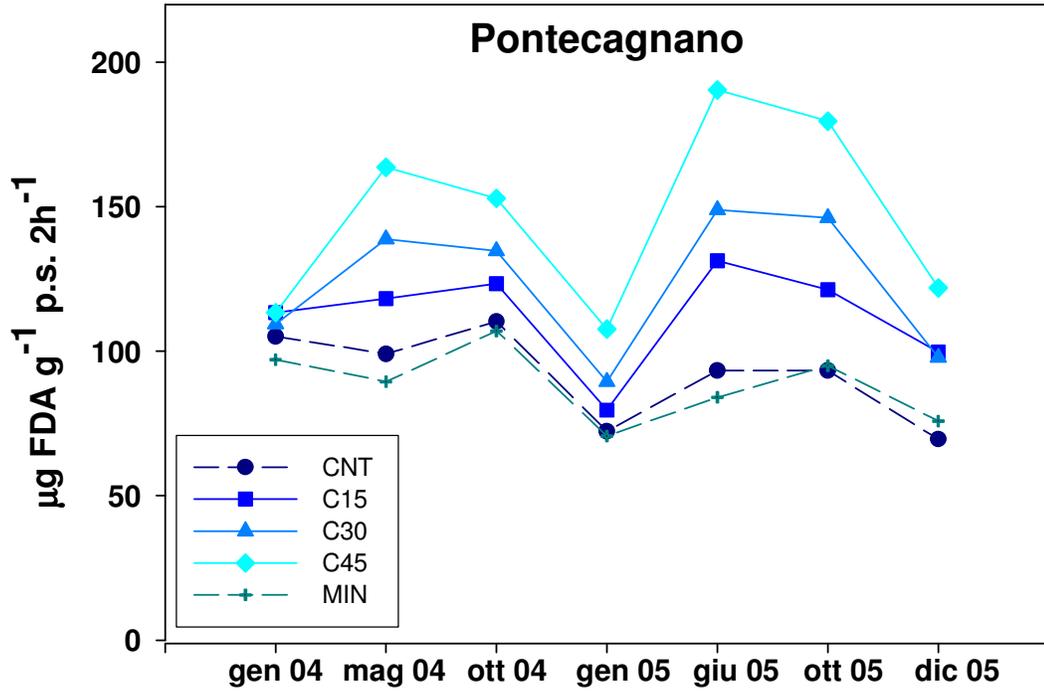


Fig. VI. 2. Dinamica dell'attività idrolasica dei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b)

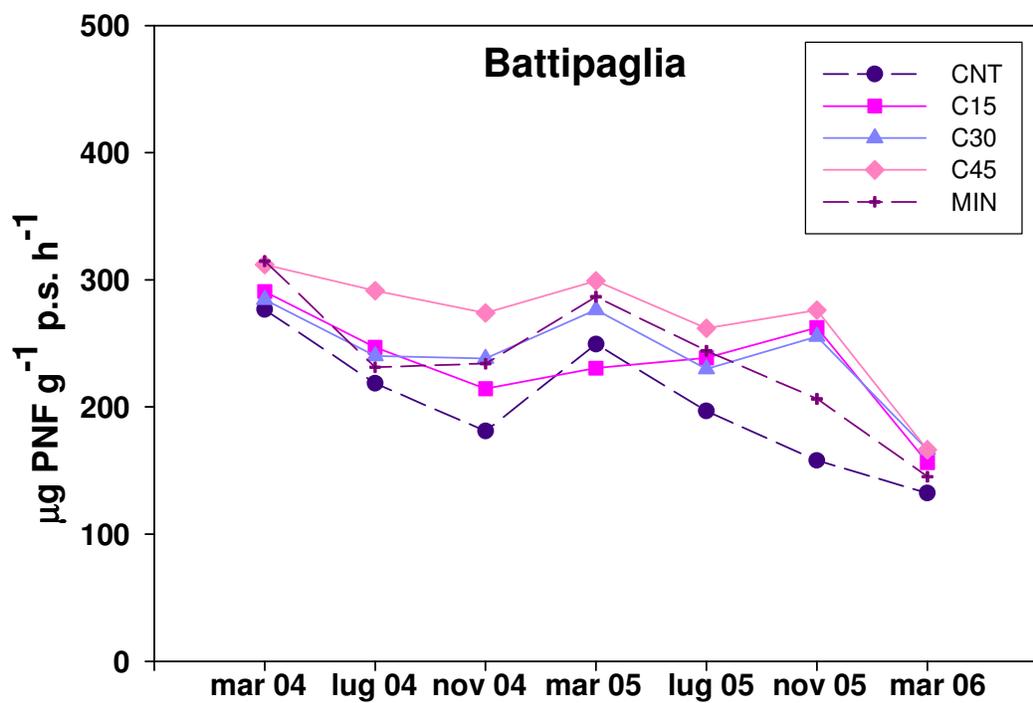
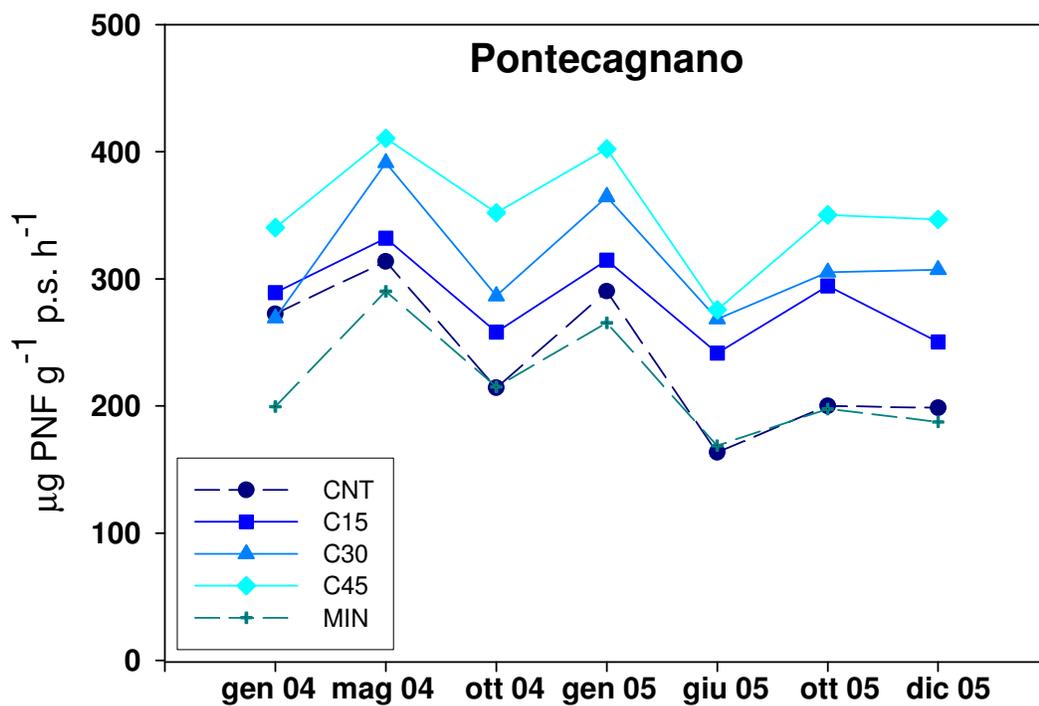


Fig. VI. 3. Dinamica dell'attività fosfatase dei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b)

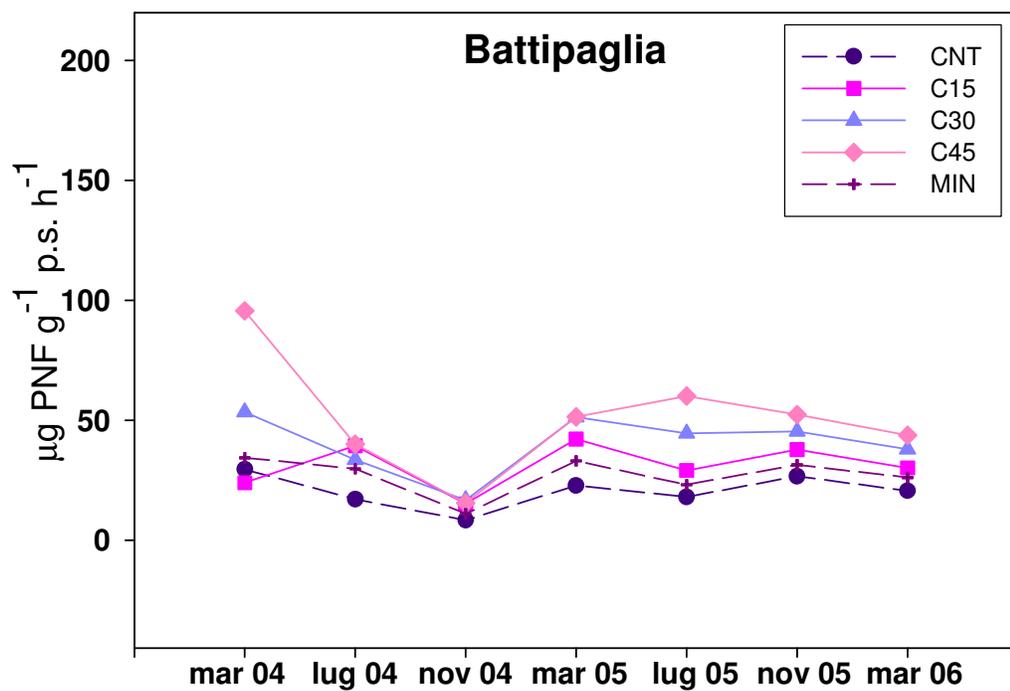
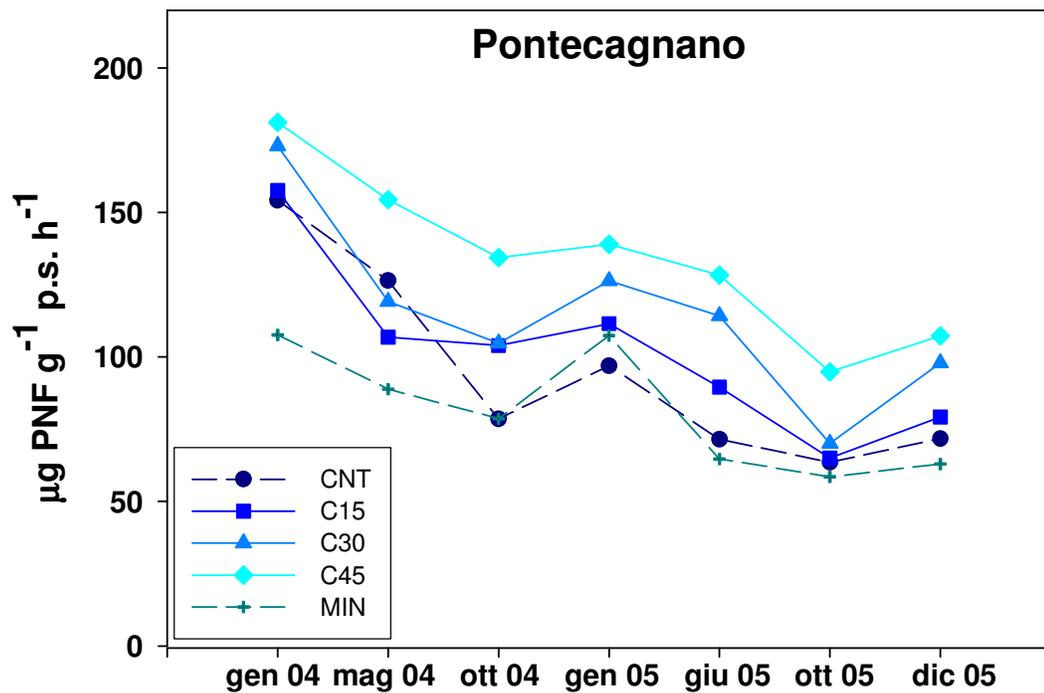


Fig. VI. 4. Dinamica dell'attività solfatase dei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b)

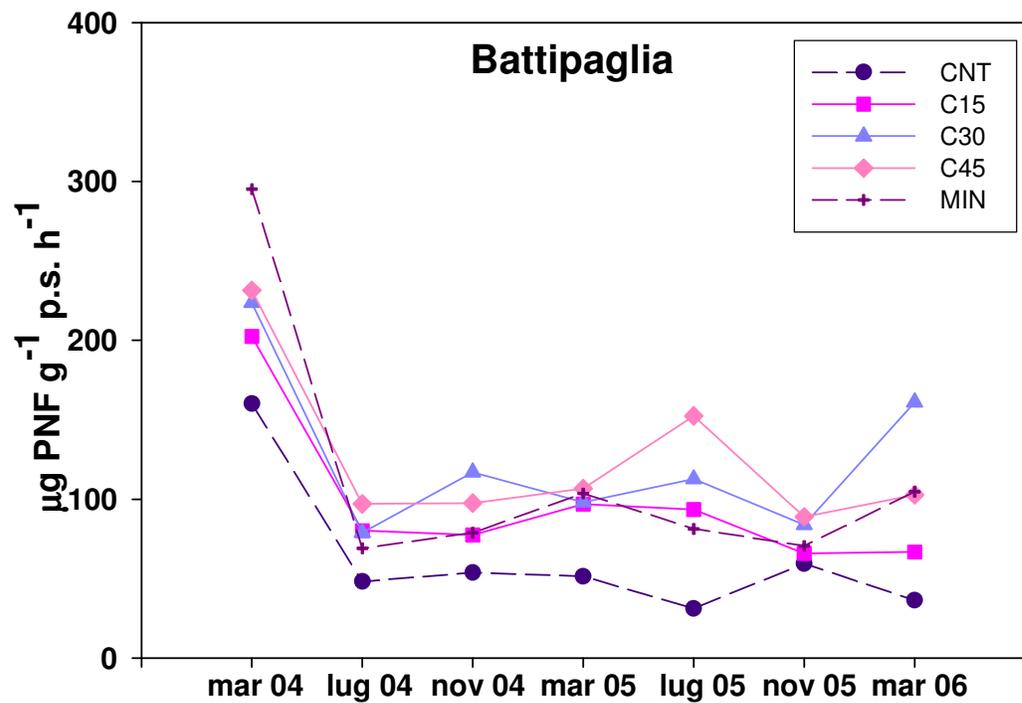
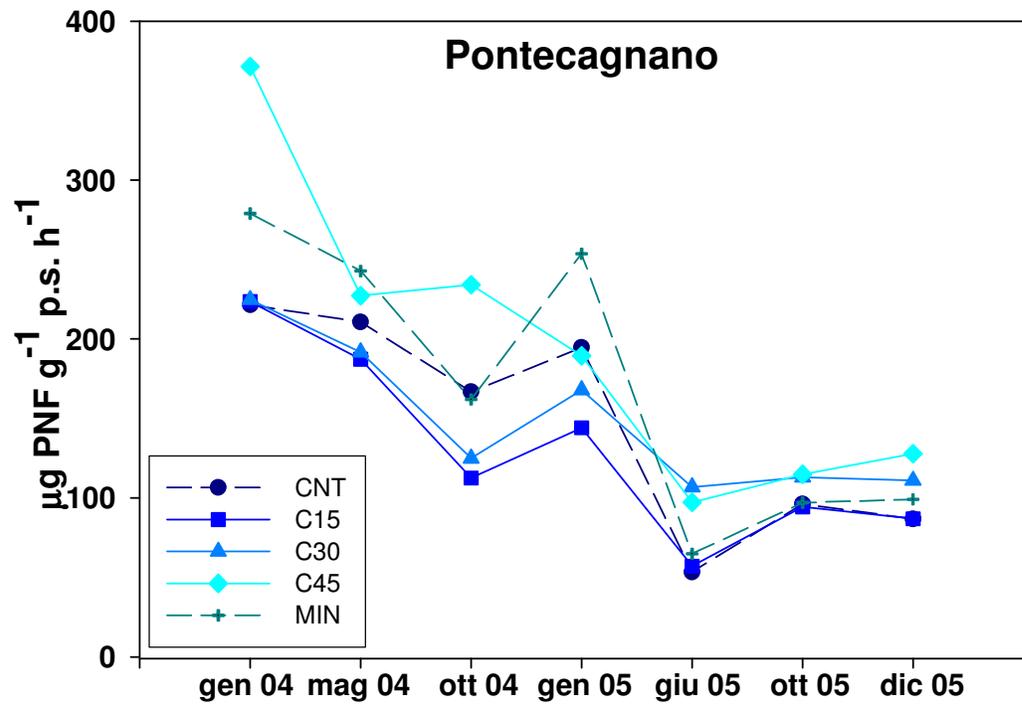


Fig. VI. 5. Dinamica dell'attività β -glucosidasica dei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b)

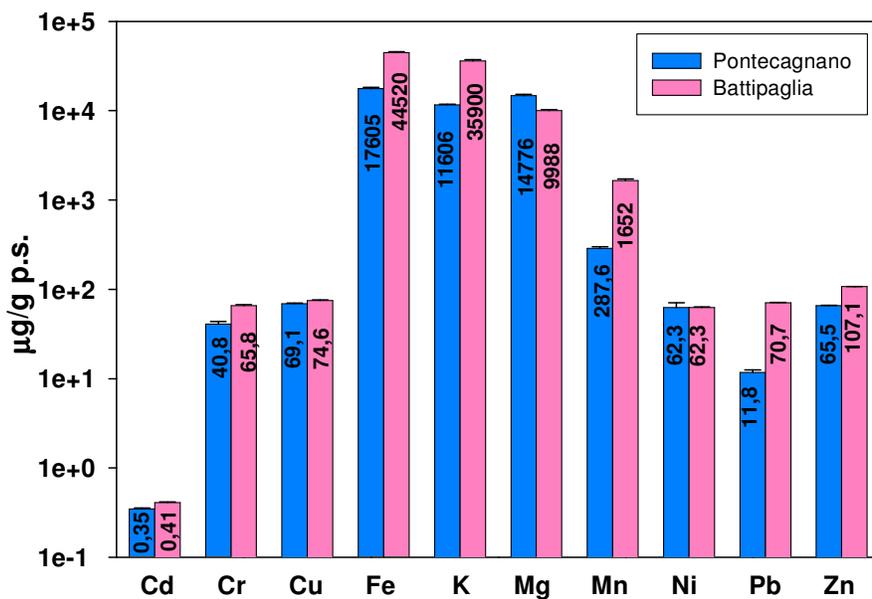


Fig. VI. 6. Contenuto totale degli elementi studiati prima dei trattamenti nei suoli di Pontecagnano e di Battipaglia

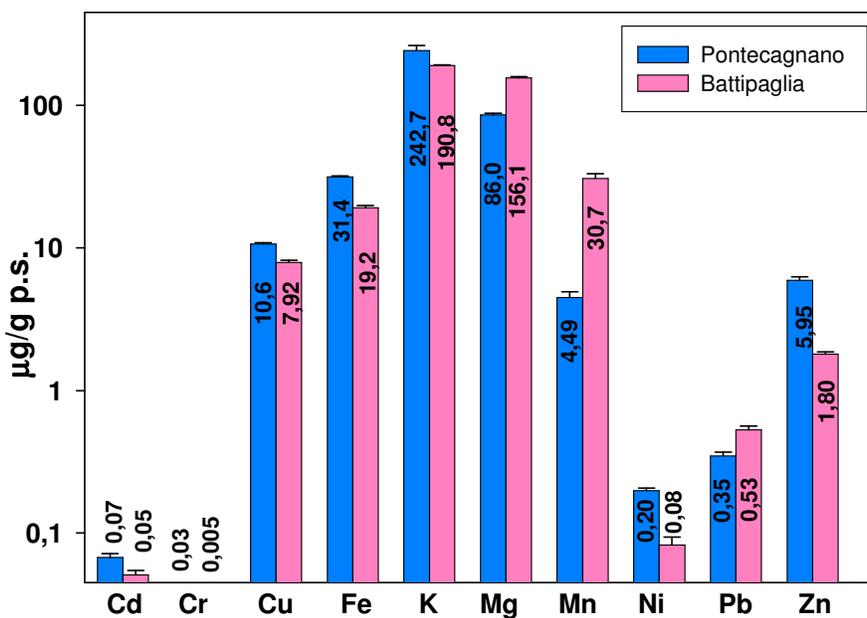


Fig. VI. 7. Frazione disponibile degli elementi studiati prima dei trattamenti nei suoli di Pontecagnano e di Battipaglia

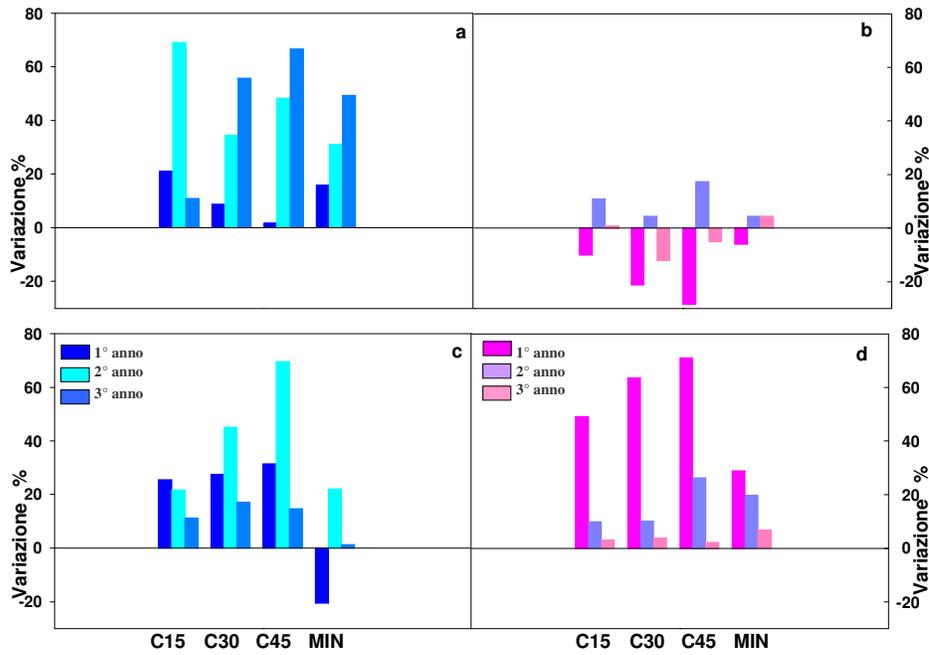


Fig. VI. 8. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di Cd rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

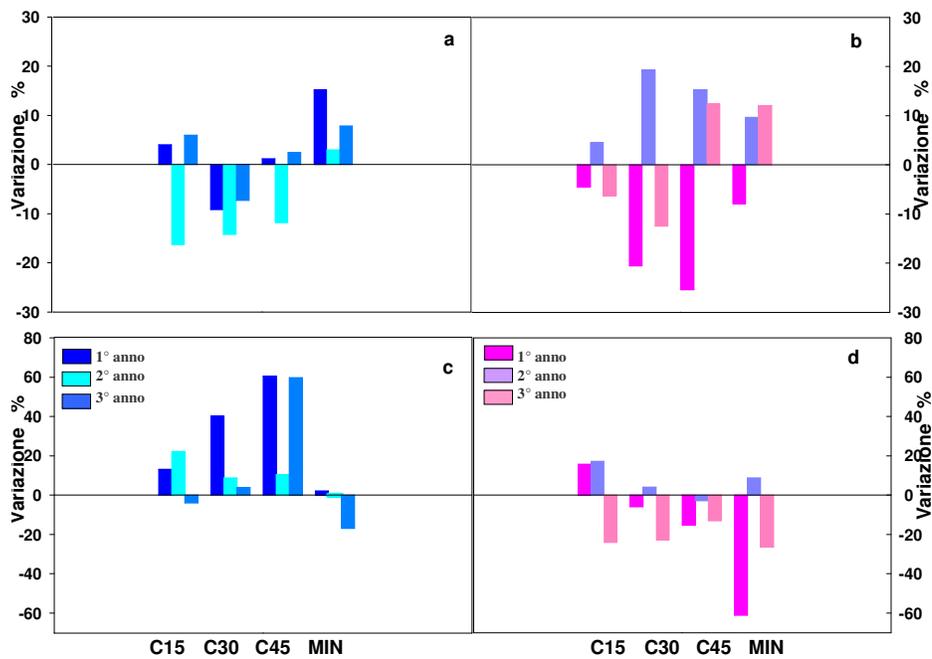


Fig. VI. 9. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di Cr rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

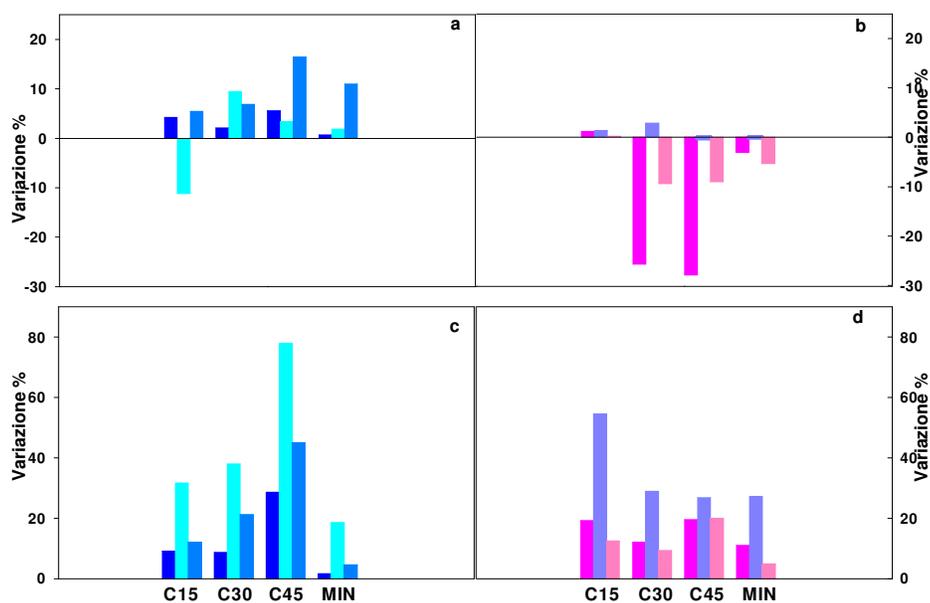


Fig. VI. 10. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di Fe rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

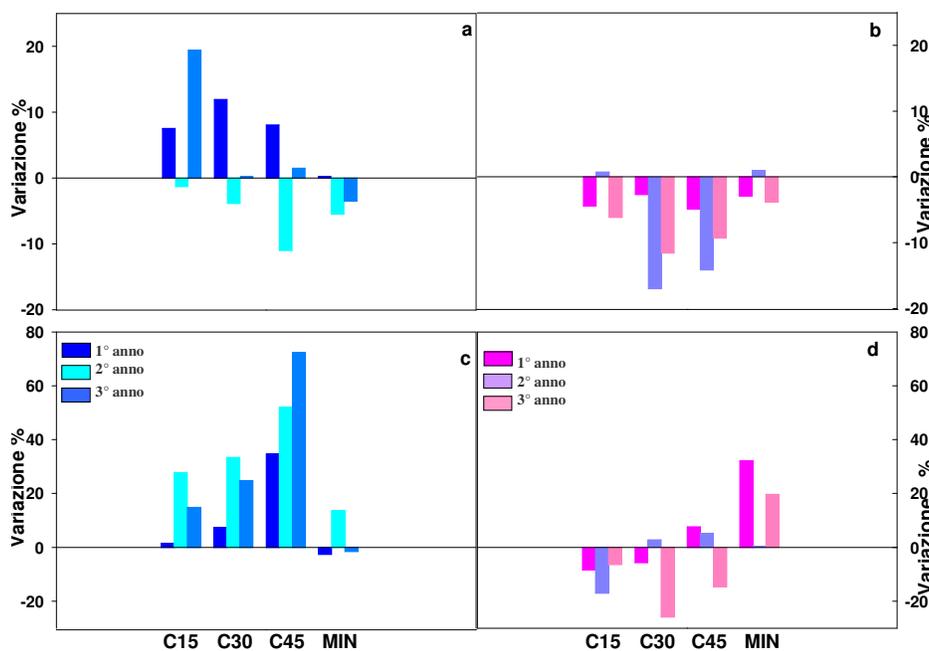


Fig. VI. 11. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di Mn rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

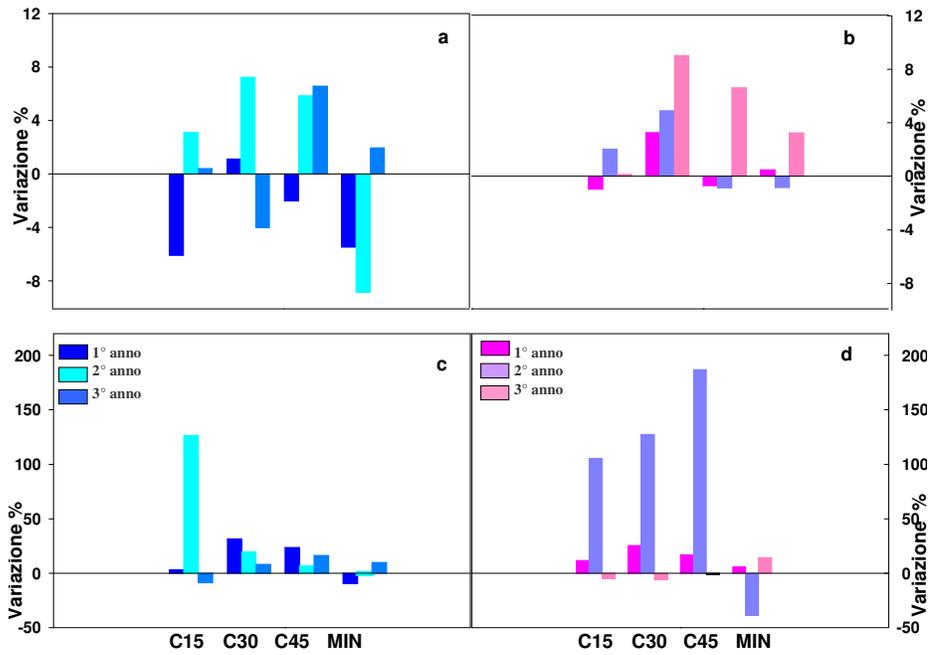


Fig. VI. 12. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di Ni rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

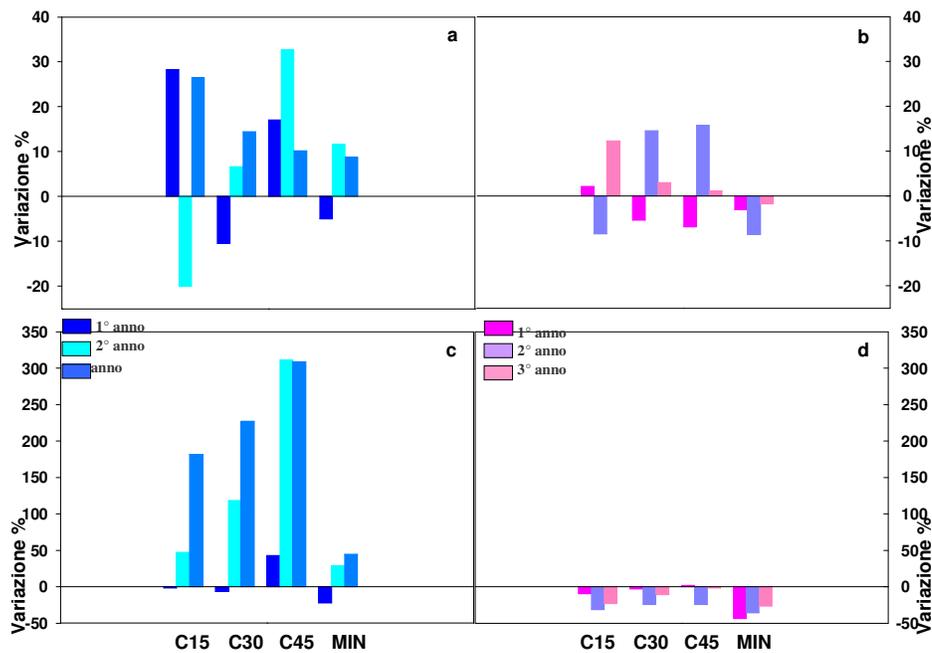


Fig. VI. 13. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di Pb rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

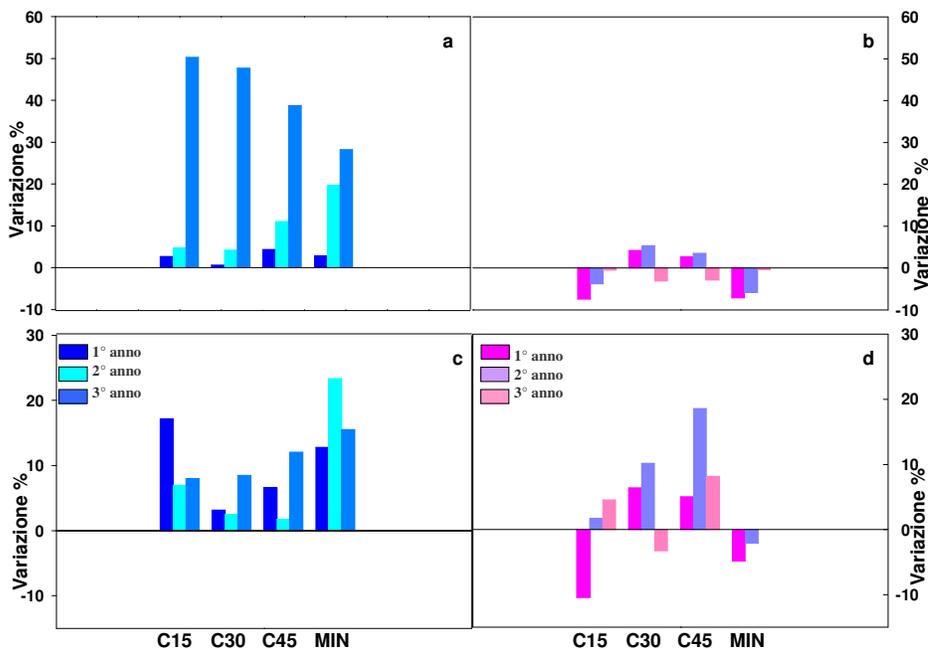


Fig. VI. 14. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di Cu rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

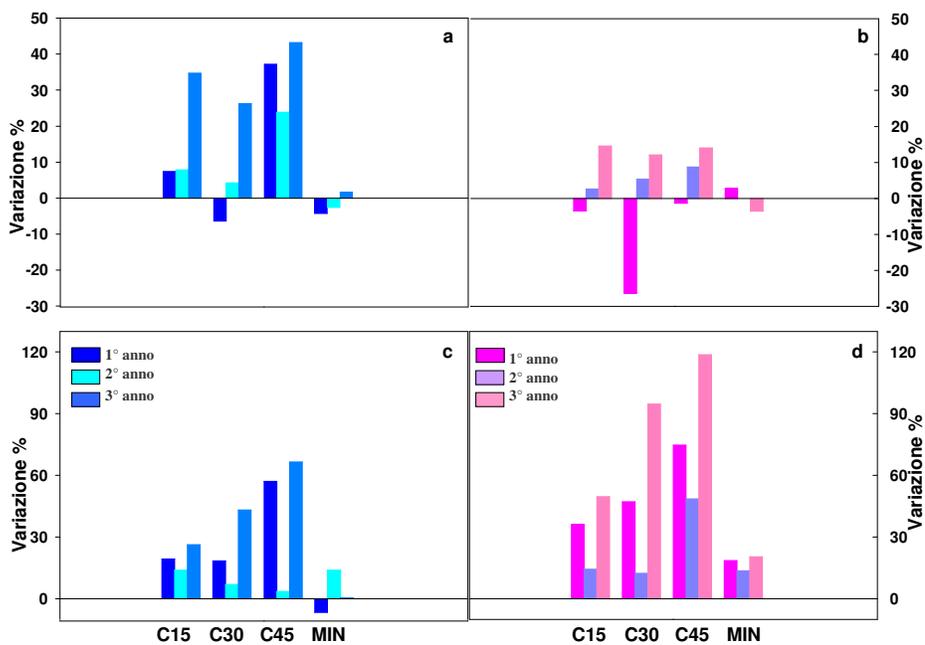


Fig. VI. 15. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di Zn rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

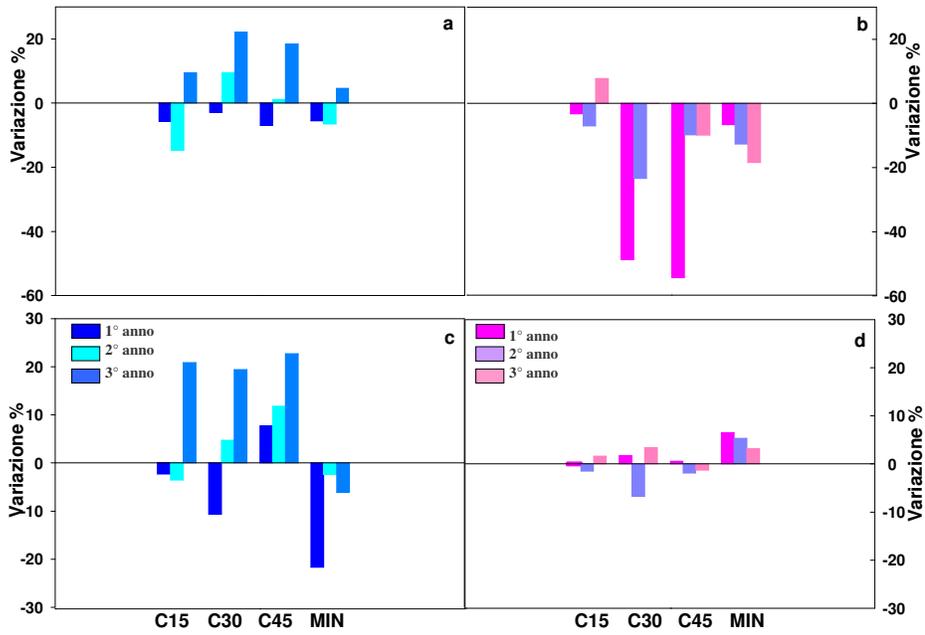


Fig. VI. 16. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di Mg rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

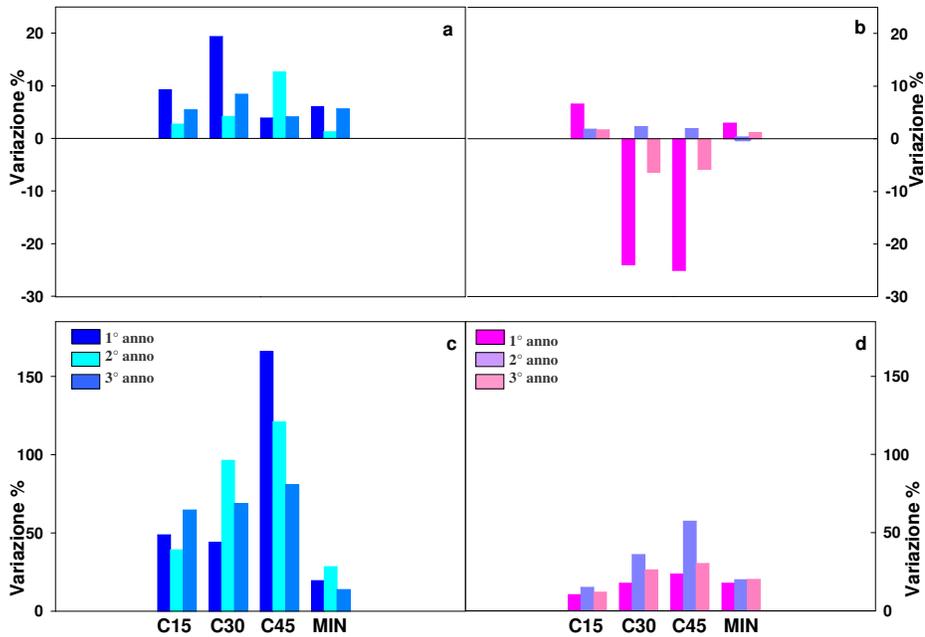


Fig. VI. 17. Variazione percentuale dei vari trattamenti del contenuto totale e della frazione disponibile di K rispetto al controllo nel suolo di Pontecagnano (a, c) e di Battipaglia (b, d).

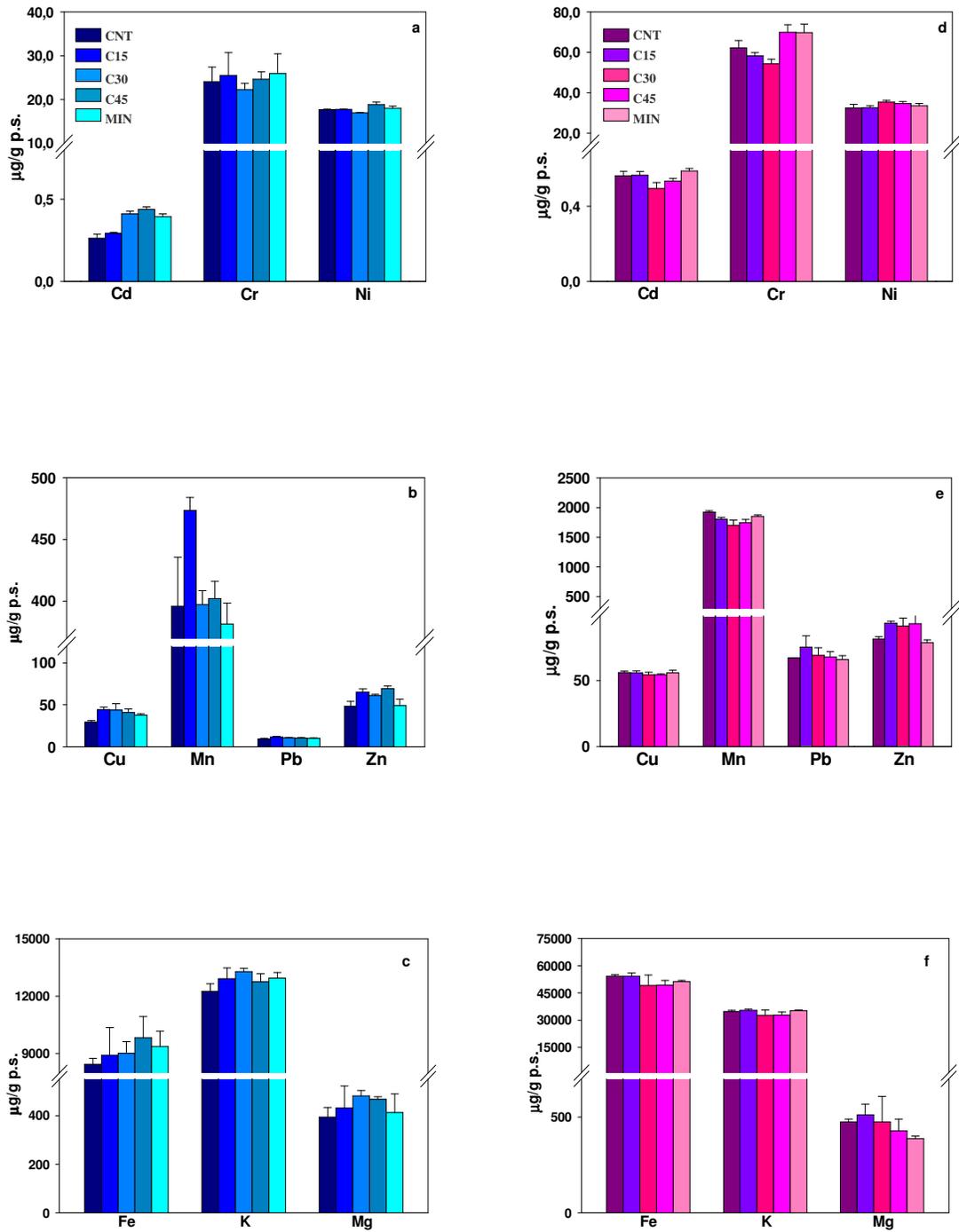


Fig. VI. 18. Contenuto totale degli elementi studiati alla fine del terzo anno di trattamento nel suolo di Pontecagnano (a, b, c) e di Battipaglia (d, e, f)

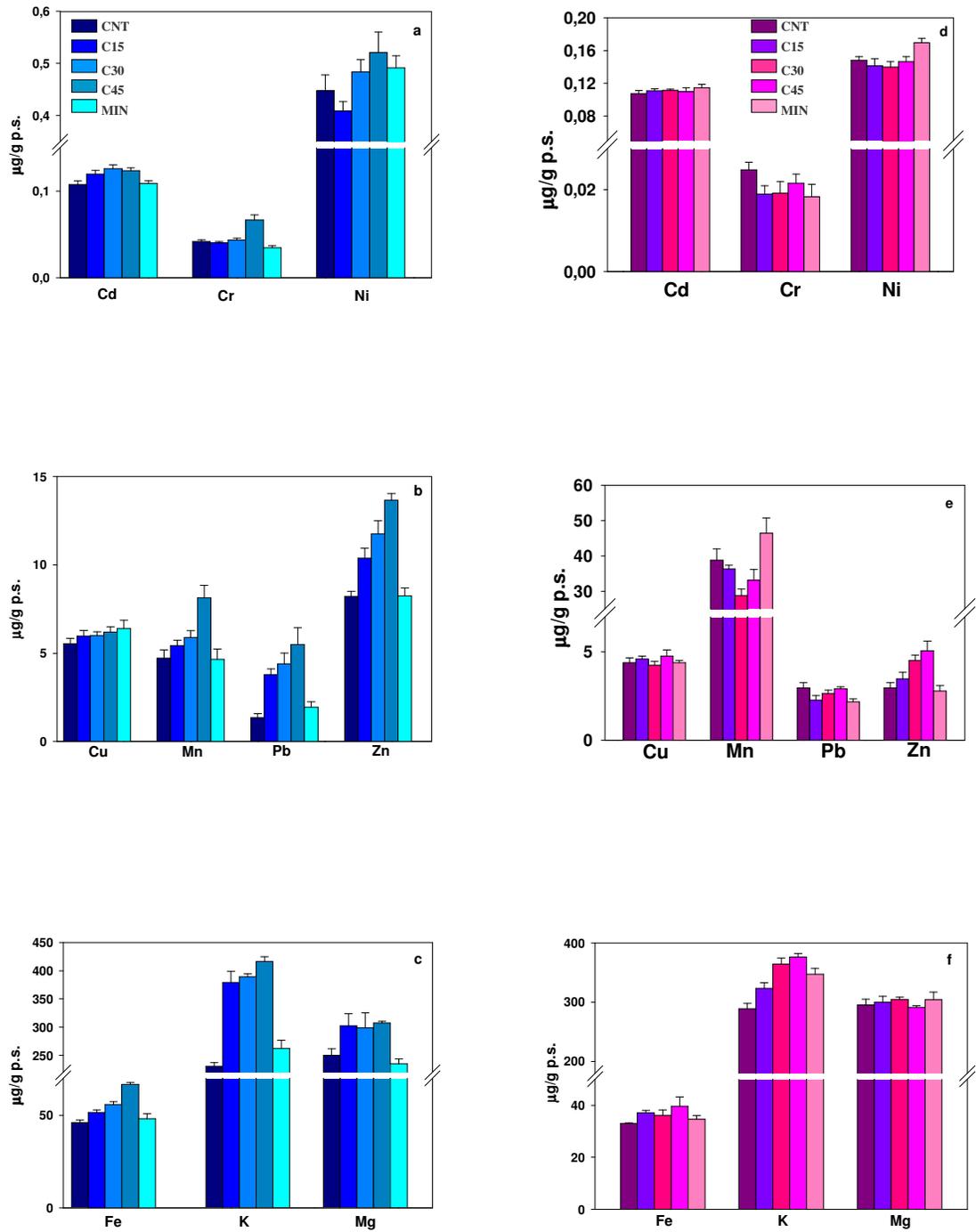


Fig. VI. 19. Frazionedisponibile degli elementi studiati alla fine del terzo anno di trattamento nel suolo di Pontecagnano (a, b, c) e di Battipaglia (d, e, f)

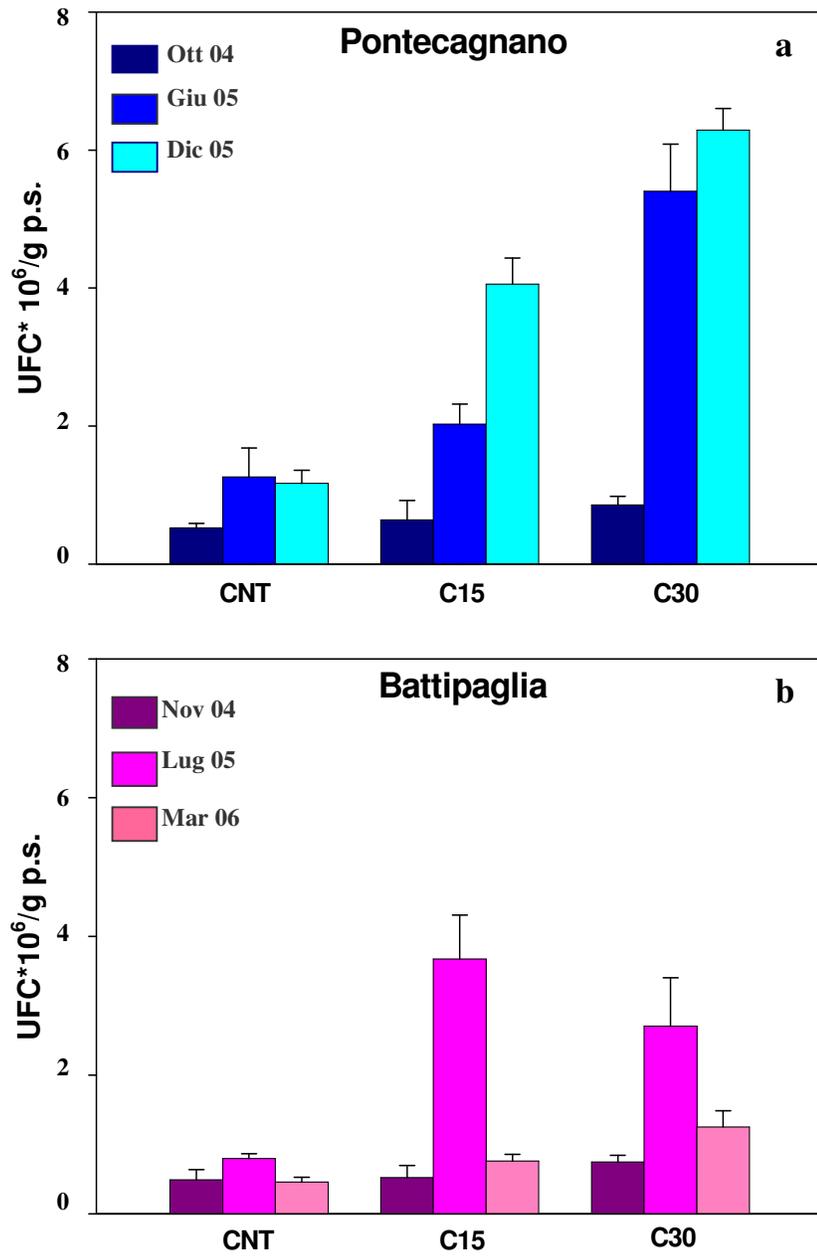


Fig. VI. 20. Concentrazione della Carica Batterica Totale nei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b).

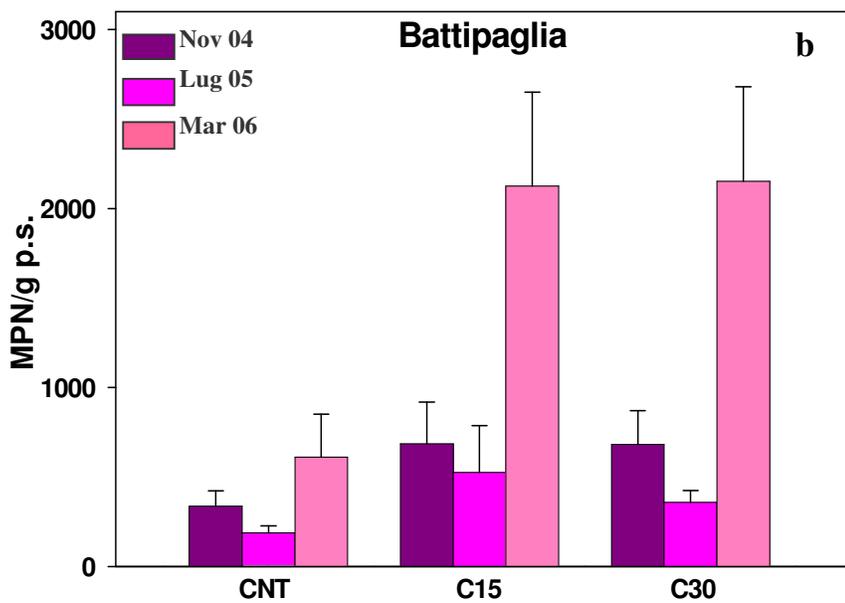
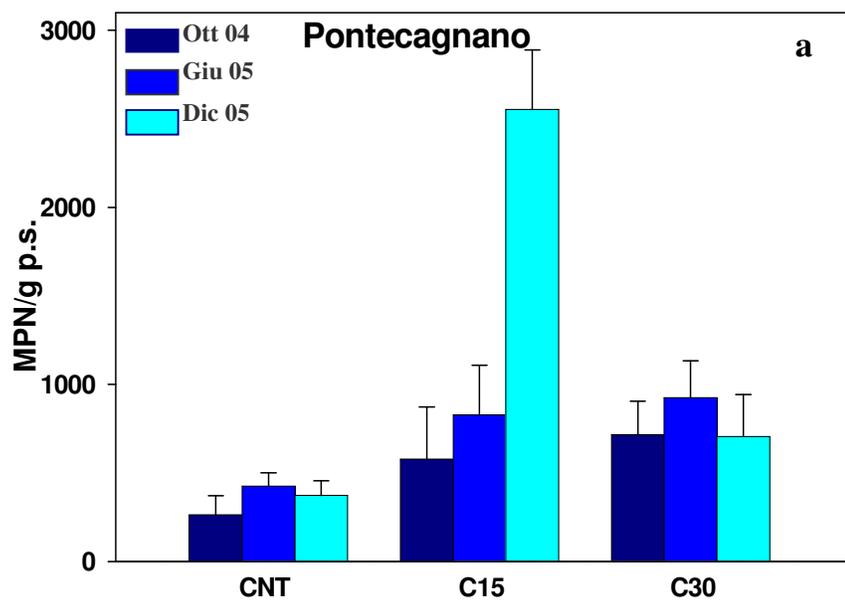


Fig. VI. 21. Concentrazione dei Coliformi totali nei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b).

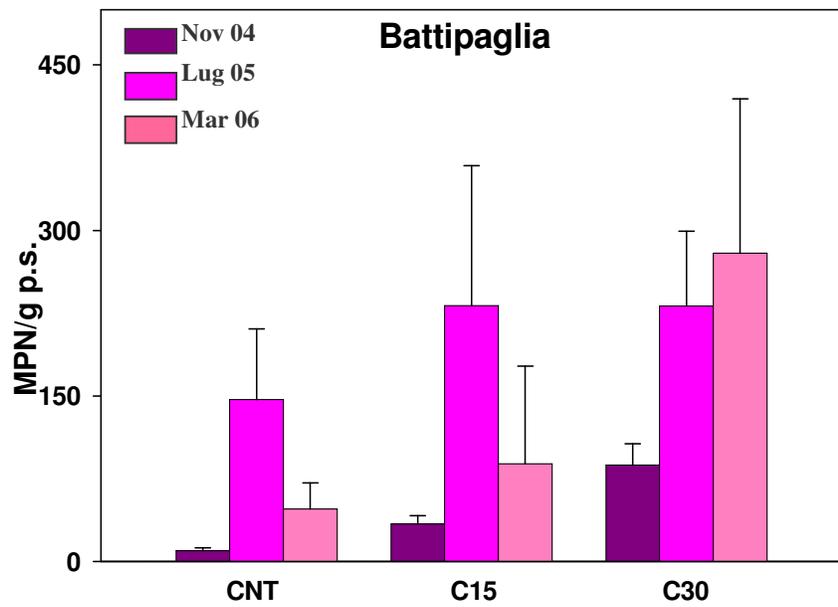
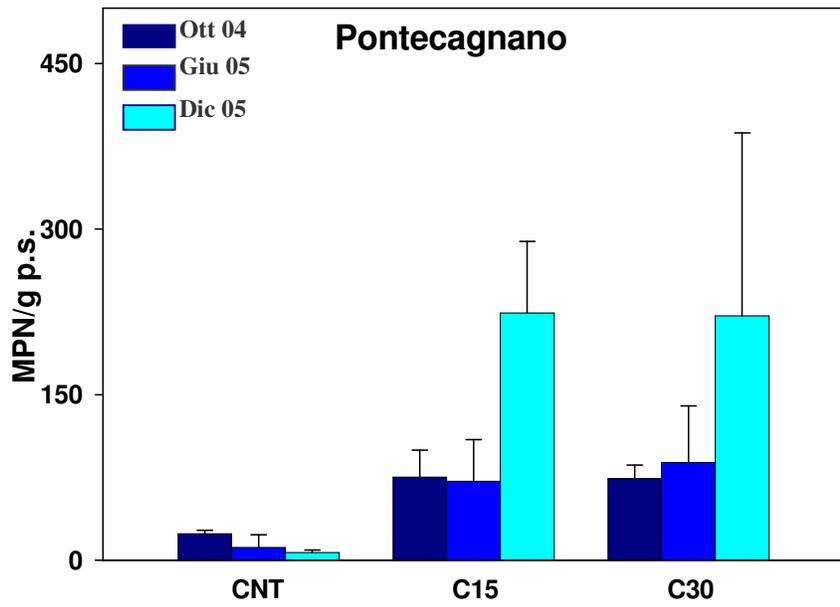


Fig. VI. 22. Concentrazione dei Coliformi fecali nei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b).

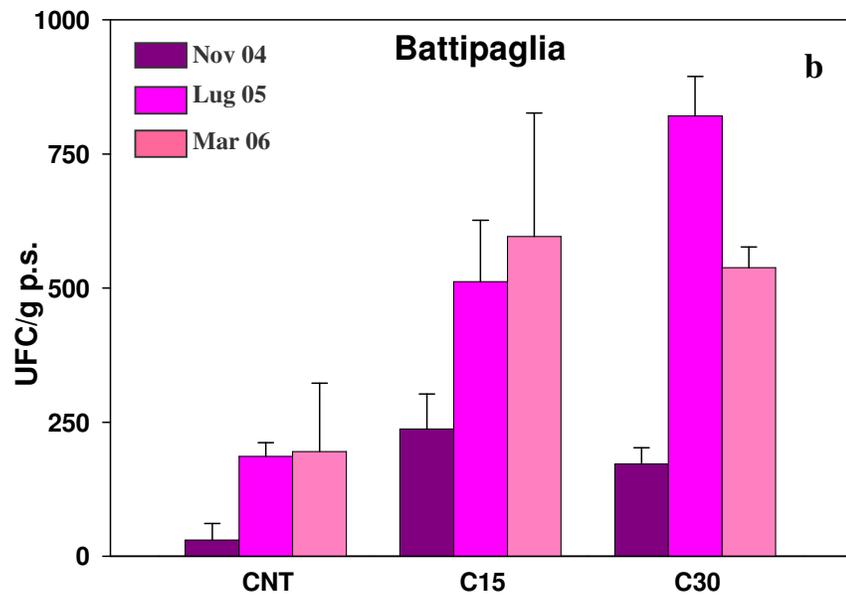
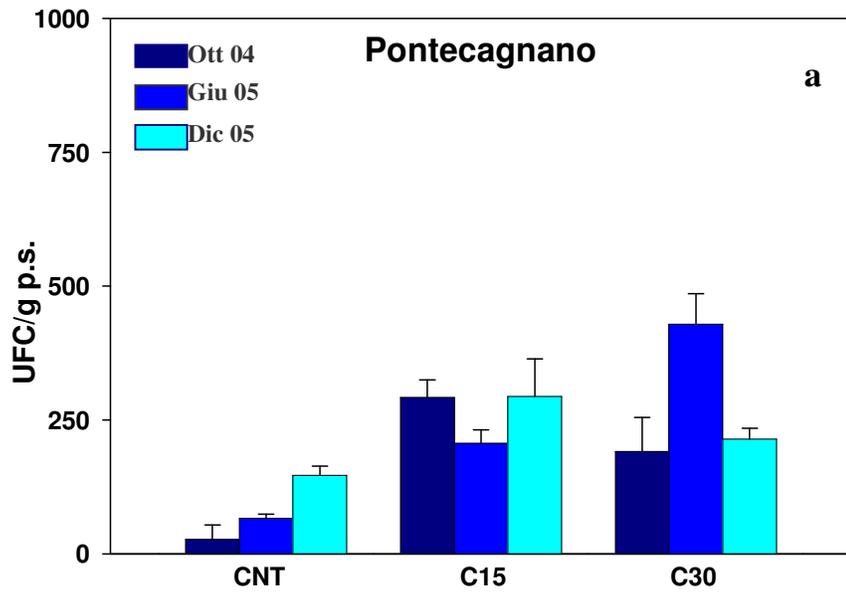


Fig. VI. 23. Concentrazione delle Enterobacteriaceae nei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b).

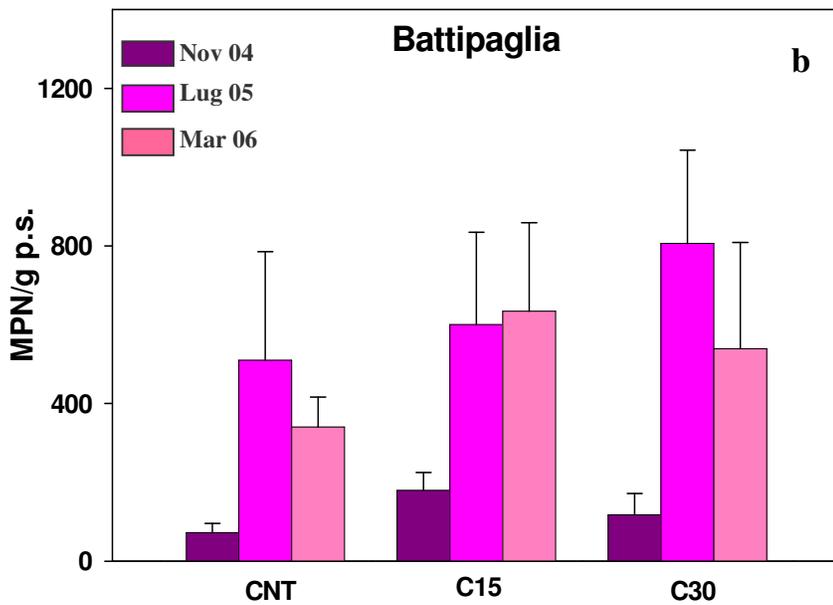
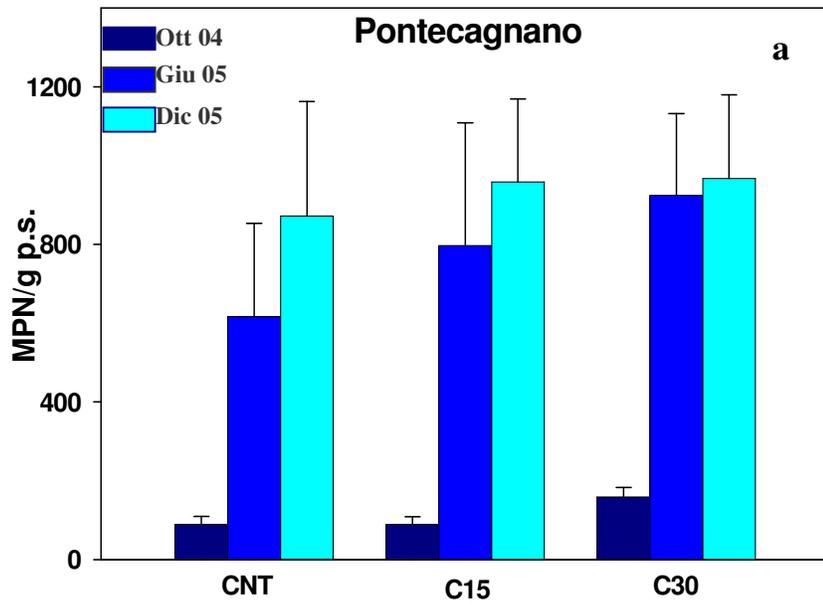


Fig. VI. 24. Concentrazione degli Streptococchi fecali nei suoli di Pontecagnano (a) e di Battipaglia (b).

FOTO CAP. VI

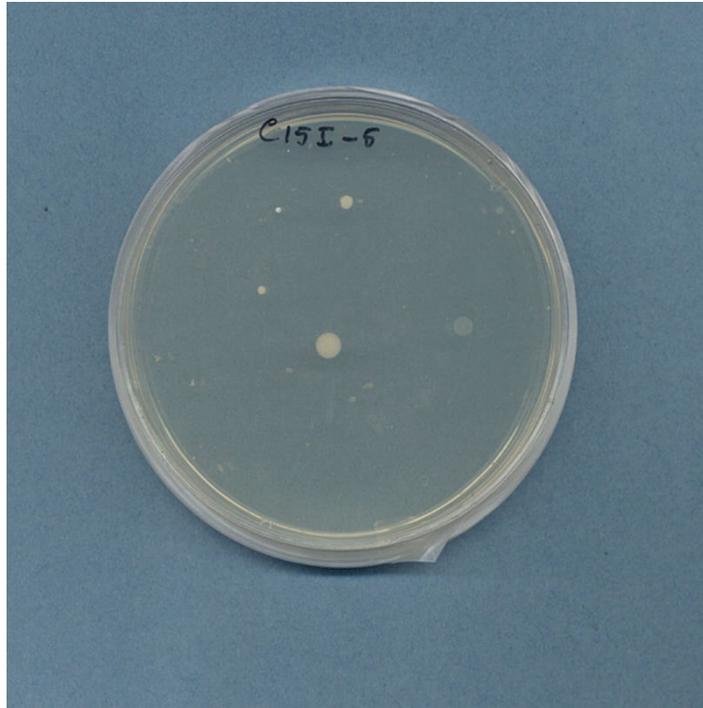


Fig. VI. 25. Conta Batterica Totale

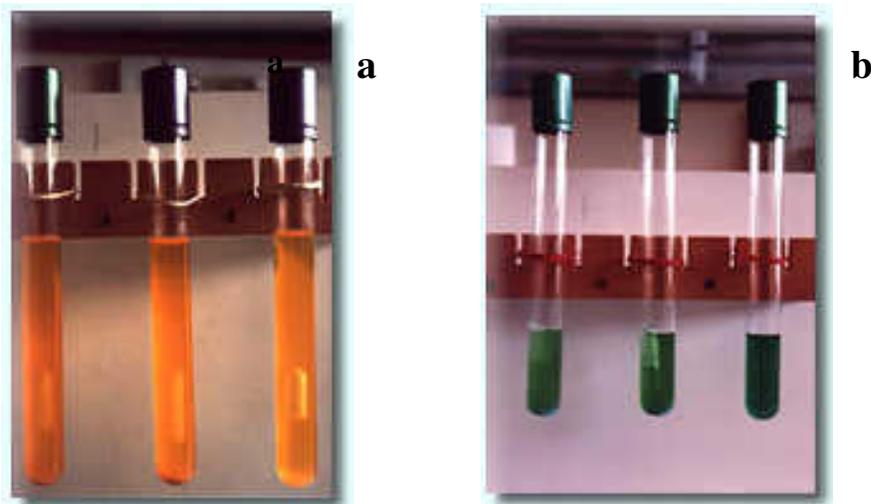


Fig. VI. 26. Coliformi totali: prova presuntiva (a), prova di conferma (b)

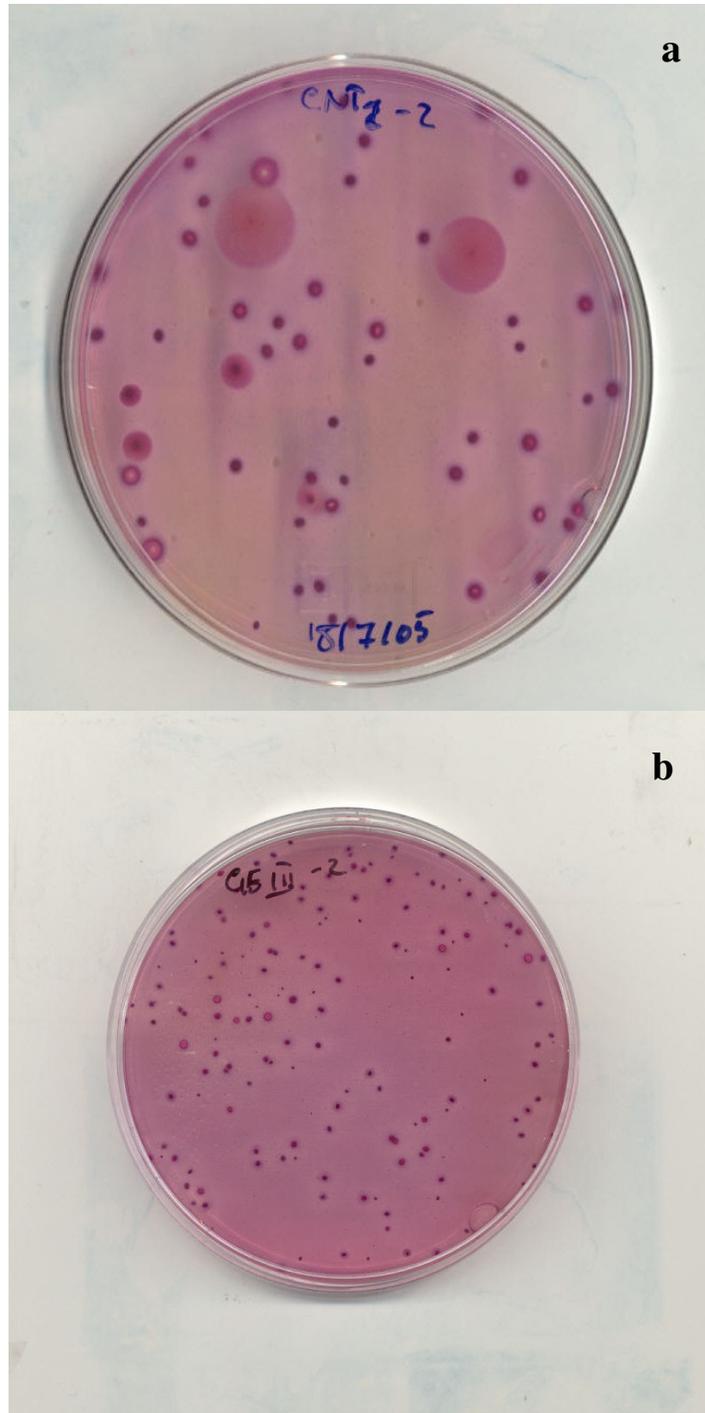


Fig. VI. 27. Enterobacteriaceae nella tesi CNT (a) e nella tesi C15 (b)

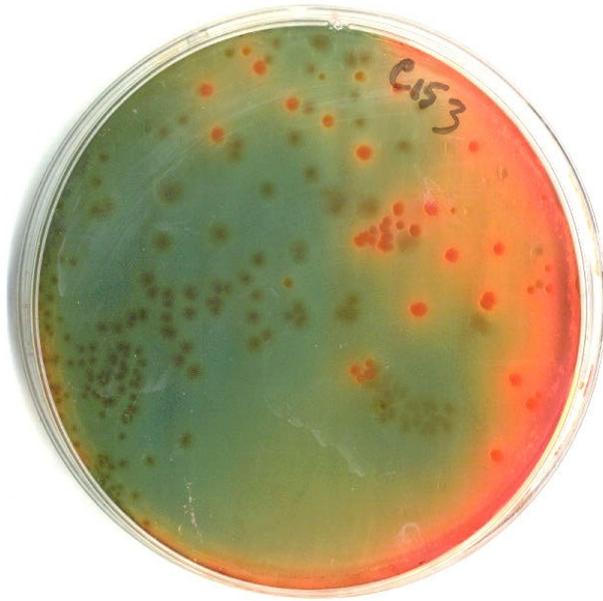


Fig. VI. 28. Assenza di Salmonella

VII

CONCLUSIONI

Le attività biologiche, riconosciute ottimi indicatori della fertilità del terreno e della sua qualità biologica, monitorate nei tre anni di sperimentazione hanno presentato dinamiche diverse. Per le singole attività biologiche sono state riscontrate differenze rilevanti anche tra i suoli delle due stazioni, differenze attribuibili alle diverse caratteristiche chimico-fisiche e biologiche dei suoli.

Tutte le attività enzimatiche sono risultate incrementate dall'apporto di sostanza organica rispetto al controllo, quasi sempre coerentemente alle dosi di compost apportate, unica eccezione la β -glucosidasi che appare inibita nel suolo di Pontecagnano nelle tesi ammendate con compost.

I risultati ottenuti hanno, quindi, evidenziato che il trattamento con il compost esercita un effetto positivo su alcune funzioni biologiche del suolo legate ai processi di decomposizione della sostanza organica. Le risposte sono apparse sensibilmente più accentuate nel terreno di Battipaglia, che risulta più povero di sostanza organica rispetto a quello di Pontecagnano e che presenta livelli di attività biologica di partenza più bassi.

Soltanto in qualche caso la fertilizzazione minerale ha influenzato positivamente le attività biologiche del terreno (attività β -glucosidasica e attività fosfatasica a Battipaglia), determinando risposte più elevate rispetto al controllo e alle tesi ammendate con compost.

La concentrazione totale degli elementi nel suolo e la loro disponibilità, indipendentemente dai trattamenti di fertilizzazione, hanno evidenziato una grande variabilità temporale. L'aggiunta di compost non ha determinato un incremento generalizzato dei metalli pesanti nei suoli studiati alla fine del periodo di monitoraggio.

Per alcuni elementi la frazione disponibile, che può assumere un'importanza rilevante in seguito ad applicazioni di compost ripetute nel tempo, è apparsa comunque influenzata dalle caratteristiche del suolo ammendato, come dimostrano i diversi andamenti nelle due stazioni ed inoltre è aumentata quasi sempre, come appare in particolare per lo Zn in entrambe le stazioni e per il Pb solo a Pontecagnano, coerentemente con le dosi di compost.

L'ammendamento con compost ha determinato in entrambe le stazioni un incremento della carica batterica totale così come dei microrganismi potenzialmente patogeni studiati,

fatta eccezione per gli streptococchi per i quali non sono state rilevate differenze fra le parcelle ammendate e le parcelle controllo.

In conclusione si può affermare che l'ammendamento del terreno con compost di qualità, ottenuto dalla frazione organica dei rifiuti solidi urbani, può rappresentare un strategia promettente per l'incremento dell'attività biologica dei suoli agrari migliorandone la qualità biologica. Inoltre, è importante seguire gli effetti di applicazioni di compost ripetute negli anni e verificare un eventuale trasferimento dei metalli alle colture.

Alla luce di ciò che è stato dimostrato in questi tre anni di ricerca sono fondamentali studi protratti nel tempo per chiarire gli effetti del compost a medio e lungo termine.

Ogni lavoro di tesi per essere completo necessita di ringraziamenti.

Ringrazio la Prof. ssa Anna Alfani per la sua disponibilità e per avermi aiutato nella stesura della mia tesi. Ringrazio le Dott.sse Daniela Baldantoni e Paola Iovieno per l'incoraggiamento e l'aiuto nell'utilizzo di nuove metodiche.

Ringrazio tutto il gruppo di Ecologia per gli anni trascorsi all'Orto Botanico.

Ringrazio, inoltre, la Prof. ssa Maria Antonietta Tufano per avermi dato l'opportunità di svolgere, nei suoi laboratori, le mie ricerche sui microrganismi patogeni.

Ringrazio anche la Prof.ssa Giovanna Donnarumma per avermi aiutato nelle mie ricerche sui microrganismi patogeni e tutto il gruppo della sezione di Microbiologia del Policlinico per il loro affetto d entusiasmo.

Infine, ringrazio i miei genitori che con amore mi hanno sempre sostenuto in questi tre anni.

A.L.

Bibliografia

- Abdel Sabour M.F., Abo El-Seoud M.A., 1996. *Effects of organic-waste compost addition on sesame growth, yield and chemical composition*. Agriculture, Ecosystems and Environment, 60: pp.157-164.
- Adani, F, Genevini, P.L., Gasperi, F., Zorzi, G., 1997. *Organic matter evolution Index (OMEI) as a measure of composting efficiency*. Compost Sci. Util., 5 (2): pp. 53-62.
- Adani, F., Tambone, F., 1998. *Evoluzione della componente organica*. In: Compost e agricoltura, a cura di Genevini, P.L., Fondazione Lombardia per l' Ambiente pp. 75-119.
- Adani, F., D'Imporzano, G., Spagnol, M., Genevini, P.L., 2004. *I trattamenti biologici aerobi per il trattamento dei rifiuti urbani*. In: I processi aerobici per il trattamento dei rifiuti urbani (Adani F. Ed.). I processi aerobici allo stato solido. Quaderni Ingegneria Ambientale, CIPA, Milano, 40: pp.15-25.
- Adani, F., 2006. *L'importanza della stabilità biologica nel controllo di processo e nella qualità dei prodotti*. Giornata di Approfondimento tecnico-Scientifica: I processi biologici per la gestione dei rifiuti urbani, 8 giugno 2006.
- Ajwa, H.A., Dell, C.J., Rice, C.W., 1999. *Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization*. Soil. Biol. Biochem. 31: pp. 769-777
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F., 2000. *Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil*. Bioresource Technology 75: pp. 43-48.
- Allen, Stewart E., 1989. *Chemical Analysis of ecological Materials*. Blackwell Scientific publications.
- Alloway, B.J., 1995. *Cadmium*. In: Heavy metals in soils. B.J. Alloway (Ed). Blackie, pp. 123-151
- Amador, J.A., Glucksman, A.M., Lyons, J.B., Gorres, J.H., 1997. *Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest*. Soil. Sci. 162: pp. 808-825.
- ANPA. 2000. *Sviluppo di indicatori per il suolo e i siti contaminati*. RTI CTN_SSC 1/2000.
- Aon, M.A, Colaneri, A.C., 2001. *II. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil*. Applied Soil Ecology. 18: pp. 255-270.

- Aparecida Pavan Fernandes, S., Bettiol, W., Cerri, C.C., 2005. *Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity*. Applied Soil Ecology. 30: pp. 65-77.
- APAT, 2003. *Metodi Microbiologici di Analisi del Compost*. Manuali e Linee guida 20/2003
- Bandick, A.K., and Dick, R. P., 1999. *Field management effects on soil enzyme activities*. Soil. Biol. Biochem. 31: pp. 1471-1479.
- Barberis, R., Consiglio, M., Nappi, P., 1988. *Criteri per la valutazione della qualità dei compost -Parametri chimici*. Acqua-Aria, 2: pp. 157-164.
- Bastian, R.K., Ryan, J.A., 1986. *Design and management of successful land application system. Utilization, Treatment and Disposal of Waste on Land*. Soil Science Society of America (Ed.), Inc, Madison, WI pp. 217-234.
- Battin, T.J., 1997. Assessment of fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total esterase activity in natural stream sediment biofilm. *The Science of the Total Environment* 198: pp. 51-60.
- Baum, C., Leinwerb, P., Schlichting, A., 2003. *Effects of chemical conditions in rewetted peats temporal variation in microbial biomass and acid phosphatase activity within the growing season*. Applied Soil Ecology 22: pp. 167-174.
- Bernal, M.P., Paredes, C., Sanchez-Monedero, M.A., Cegarra, J., 1998. *Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes*. Bioresource Technol. 63: pp. 91-99.
- Bettiol, W., Camargo, O.A., 2001. *Reciclagem de lodo de esgoto na agricultura*. In: Aparecida Pavan Fernandes, S., Bettiol W., Cerri C.C., 2005 Applied Soil Ecology 30: pp. 65-77
- Bjurman, J., 1993. *Determinatio of microbial activity in moulded wood by the use of fluorescein diacetate*. Material und Organismen 28: pp. 1-16.
- Bonadonna, L, Latini, M., Di Girolamo, I., Ottavini, M., 1994. *Valutazione della contaminazione microbiologica di fanghi di depurazione di reflui civili: problemi legati alle metodologie di analisi*. Roma: Istituto Superiore di Sanità. (Rapporti ISTISAN 94/17).
- Bonadonna, L., 1998. *Salmonella nei fanghi di risulta: aspetti igienico-sanitari e tecnici*. Notiziario dei Metodi Analitici, IRSA-CNR: pp. 18-24.
- Bonadonna, L., Briancesco, R., Chiaretti, G., Coccia, A.M., Della Lebera, S., Marini, R., Semproni, M., 2002. *Valutazione microbiologica di prodotti di compostaggio: aspetti normativi e igienico-sanitari. Procedure operative per lo svolgimento di indagini microbiologiche*. ISSN 1123-3117. Rapporti ISTISAN 02/3.

- Brookes, W., Muhs, A., Beese, F., 2002. *Application of compost in spruce forests: effects on soil respiration and microbial biomass*. Forest Ecology and Management, 159: pp. 49-58
- Bowen., H.J.M., 1979. *Environmental Chemistry of the Elements*. Academic Press, London.
- Breslin, V.T., 1999. *Retention of metals in agricultural soils after amending with MSW and MSW-biosolids compost*. Water, Air and Soil Pollution, 109: pp.163-178.
- Brookes, P.C., 1995. *The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals*. Biol. Fertil. Soils, 19: pp. 269-275.
- Bruins, M.R., Kapil, S., Oehme, F.W., 2000. *Microbial resistance to metals in the environment*. Ecotoxicol. Environ. Saf, 45: pp.198-207.
- Burge, W.D., Colacicco, D., Cramer, W.N., 1981. *Criteria for achieving pathogen destruction during composting*. Journal of Water Pollution Control Federation, 53: pp.1683-90.
- Burge, W.D., Enkiri, N.K., Hussong, D., 1987. *Salmonella regrowth in compost as influenced by substrate*. Microbial Ecology, 14: pp 243-53.
- Burns, R.G., 1978. *Enzyme activity in soil. Some theoretical and practical considerations*. In: Soil Enzymes. Eds R.G. Burns pp.149-196, Academic Press, New York
- Burns, R.G., 1982. *Enzyme activity in soil: location and possible role in microbial ecology*. Soil Biology & Biochemistry, 14: pp. 423-427
- Burns, R.G., Nannipieri, P., Sequi, P., (1993). *Enzymes in soil: origin, location and relationship to microorganisms and matter degradation*. In: Humic substances. Vol. 4 (P. McCarthy, E.S. Gjessing, R.F.C. Mountoara, P. Sequi, Eds). John Wiley and sons, New York, USA.
- Businelli, M., Gigliotti, G., 1994. *Applicazione del compost da residui solidi urbani in agricoltura*. In: Provincia di Cesena - Forlì editor. *Compost: dai rifiuti una risorsa per l'agricoltura*. Cesena Italy: Stampa Lito Tuttastampa, pp. 15-114
- Calace, N., Croce, G., Petronio, B.M., Pietroletti, M., 2006. *The increase of iron phytoavailability in soils amended with paper mill sludge*. Ann. Chim., 96: pp. 137-145.
- Camberdella, C.A., Richard, T. L., Russell, A., 2003, *Compost mineralization in soil as a function of composting process conditions*. In: Soil Biology pp 117-127.
- Caudatelli, M., 1998. *Stato dell'arte e prospettive del compostaggio*. Dipartimento Ambiente. ENEA

- Ceccanti, B., & Garcia, C., 1994. *Coupled chemical and biochemical methodologies to characterize a composting process and the humic substances*. In: *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health*, ed. N. Senesi & T. M. Miano, pp.1279-1285. Elsevier, New York.
- Centemero, M., Favonio, E., 1994. *Corso sul compostaggio dei rifiuti verdi* (materiale documentale). Regione Piemonte Assessorato Ambiente, Istituto per le Piante da Legno e L'Ambiente, Scuola Agraria del Parco di Monza. A cura del gruppo di Studio sul Compostaggio Scuola Agraria del Parco di Monza.
- Centemero, M., Corti, C., 2000. *Caratteristiche tecniche del compost per un'agricoltura sostenibile*. L'Informatore agrario, 6: pp. 23-39
- Centemero M., Caimi V. 2001. "Impieghi del compost: settori di maggior rilevanza, modalità d'uso, scenari attuali di mercato" Atti Corso Compost: produzione ed utilizza, Ed. CIC Rimini – settembre 2001
- Centemero M., Favoino E., Ricci., Tornavacca A., 2004. *Stato e prospettive del compostaggio in Italia: evoluzione delle raccolte differenziate delle frazioni organiche, la loro influenza sulla qualità dei prodotti compostati, il ruolo del compost per la fertilità dei suoli*. Atti del convegno della redazione organica dei rifiuti solidi urbani (FORSU) e fertilizzazione dei terreni.
- Centemero, M., Zanardi, W., 2006. *Il compostaggio nella gestione dei rifiuti urbani biodegradabili*. Giornata di Approfondimento tecnico-Scientifica: I processi biologici per la gestione dei rifiuti urbani, 8 giugno 2006
- Chaoui, H.I., Zibilske, L.M., Ohno, T., 2003. *Effects of earthworm casts and compost on soil microbial activity and plantnutrient availability*. *Soil Biology and Biochemistry*, 35: pp. 295-302.
- Chen, Y., Inbar, Y. 1993. *Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during composting in relation to compost maturity*. In: Hoitink, H.A.J., Keener, H.M. (Eds.), *Science and engineering of composting: design, environmental, microbiological and utilization aspect*. Renaissance Publication, Worthington, OH, pp. 551-60.
- Chen, S.K., Eduards, C.A., Subler, S., 2003. *The influence of two agricultural biostimolants on nitrogen transformations, microbial activity and plant growth in soil microcosmos*. *Soil Biology and Biochemistry*, 35: pp. 9-19.
- Ciccotti, A.M., De Clauser, R., Zorzi, G., Cristoforetti, A., Silvestri, S., Jodice, R., Gasperi, F., Pinamonti, F., 1988. *Trasformazione in compost di residui di natura diversa. Aspetti biochimici e microbiologici nel corso del processo*. Esperienze e ricerche XVIII. Anno 1988: pp. 75-120.

- Clapp, C.E., Stark, S.A., Clay, D.E., Larson, W.E., 1986. *Sewage sludge organic matter and soil properties*. In: Chen, Y., Avnimelech, Y (Eds.). *The role of organic matter in modern agriculture*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, pp. 88-97.
- Cools, D., Merckx, R., Vlassak, K., Verhaegen, J., 2001. *Survival of E. coli and Enterococcus spp. derived from pig slurry in soils of different texture*. *Applied Soil Ecology*, 17: pp. 53-62
- Costantini, E., 1995. *Sostanza organica: conti e bilanci*. *Agricoltura biologica*, suppl. al Notiziario ERSA n. 5, IX-X/95
- Crecchio, C., Curci, M., Mininni, R., Ricciuti, P., Ruggiero, P., 2001. *Short-term effects of municipal solid waste compost amendments on soil carbon and nitrogen content, some enzyme activities and genetic diversity*. *Biol Fertil Soils*, 34: pp. 311-318.
- Crecchio, C., Curci, M., Pizzigallo, M. D.R., Ricciuti, P., Ruggiero, P., 2004. *Effects of municipal soil waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity*. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: pp.1595-1605
- Crecchio*, C., Gelsomino, A., Ambrosoli, R., Minati, J.L., Ruggiero, P., 2004. *Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices*. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: pp.1873-1883
- Davies, B.E., 1995. *Lead*. In: *Heavy metals in soils*. B.J. Alloway (Ed). Blackie, pp. 206-223
- De Medici, D., Fenicia, L., Orefice, L., Stacchini, A., 1996. *Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti*. *Rapporti ISTISAN 96/35*.
- Debosz, K., Petersen, S.O., Kure, L.K., Ambus, P., 2002. *Evaluating effects of sewage sludge and household compost on soil physical, chemical and microbiological properties*. *Applied Soil Ecology*, 19: pp. 237-248
- Deng, S., Tabatabai, M.A., 1995. "Cellulase activity of soils: effects of trace elements", *Soil Biology & Biochemistry*, 27: pp. 977-979
- Di Castri F., 1970. *Les grands problemes qui se posent aux ecologistes pour l'etude des ecosistemas du sol*. *Methods of study in soil ecology*. Proc. of the Paris Symp. UNESCO, pp. 15-31.
- Dick, W.A & Tabatabai, M.A., 1993. *Kinetic parameters of phosphatases in soils and organic waste materials*. *Soil Sci.*, 137: pp. 7-15.
- Doran, J.W., Parkin, T.B., 1994. *Defining and assessing soil quality*. In: *Defining soil quality or a sustainable environment* (Doran J.W., Coleman D.C., Bezdicsek D.F. and Stewart B.A. (eds.), SSSA Inc Madison, USA.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A., 1977. *Posphatases in soil*. *Soil Biol. Biochem*, 9: pp. 167-172.

- Eivazi, F., Tabatabai, M.A., 1988. *Glucosidases and Galactosidases in soils*. Soil Biol. Biochem, 20: pp. 601-606.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A., 1990. *Factors affecting glucosidase and galactosidase activities*. Soil Biol. Biochem., 22: pp. 891-897.
- Elsgaard, L., Petersen, S.O., Debosz, K., 2001. *Effect and risk assessment of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) in agricultural soil. 2. Effects on soil microbiology as influenced by sewage sludge and incubation time*. Environ. Toxicol. Chem., 20: pp.1664-1672
- Esen, A., 1993. *β -glucosidases: Overview*, In: Esen, A., beta glucosidases: biochemistry and molecular biology. American chemical society. Washington DC, pp.1-14
- Estrada, I.B., Aller, A., Aller, F., Gòmez, X., Moràn, A., 2004. *The survival of Escherichia coli, faecal coliforms and enterobacteriaceae in general in soil treated with sludge from wastewater treatment plants*. Bioresource Technology, 93: pp.191-198.
- Evans, F.C., 1956. *The ecosystem as a basic unit in ecology*. Science, 123: pp.1127-1128.
- Fassett, D.W., 1980. *Metals in the Environment*. Ed. Waldron, H.A. Academic Press, London, pp. 61-110.
- Felipò, M.T., 1996. *Compost as source of organic matter in Mediterranean soils*. Pp 402-412. In: de Bertoldi, M; Sequi, P, Lemmes, B; Papi, T (eds.), *The science of composting*. Vol 2. Blackie Academic & Professional, UK.
- Fontvielle, D.A., Outaguerouine, A., Thevenot, D.R., 1992. *Fluorescein diacetate hydrolysis as measure of microbial activity in aquatic systems: application to activated sludges*. Environmental Tecnology, 13: pp. 531-540.
- Freney, J.R., 1961. *Some observation on the nature of organic sulphur compounds in soil*. Australian J. Agr. Res., 12: pp. 229-259, Dekker, New York.
- Freney, J.R., 1967. *Sulfur-containing organies*. Soil Biochemistry (A.D. McLaren and G.H. Peterson, Eds.) pp. 229-259. Dekker, New York.
- Gallardo-Lara, F., Nogales, R., 1987. *Effect of the application of town refuse compost on the soil –plant system: a review*. Biological Weste, 19: pp. 35-62
- Garcia, C., Hernandez, T., Costa, F., 1992. *Composted vs. uncomposted organics*. Biocicle, 33: pp. 70-72
- Garcia, C., Hernandez, T., Costa, C., Ceccanti, B., Masciandaro, G. & Ciardi, C., 1993. *A study of biochemical parameters of composted and fresh municipal wastes*. Bioresource Technology, 43: pp.17-23

- Garcia, C., Hernandez, T., 1996. *Organic matter in bare soils of the Mediterranean Region with a semiarid climatic*. Arid Soil Res. Rehabil, 10: pp. 31-41
- García-Gil, J.C., Plaza, C., Soler-Rovira, P., Polo, A., 2000. *Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass*. Soil Biol. Biochem., 32: pp. 1907-1913.
- García-Gómez, A., Roig, A., Bernal, M.P., 2003. *Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity*. Bioresource Technology, 86: pp. 59-64.
- Gaspar, M.L., Cabello, M.N., Pollero, R., Aon, M.A., 2001. *Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of fungal biomass in soil*. Curr. Microbiol., 42: pp. 339–344.
- Genevini, P., Corti, C., Crippa, L., Centemero, M., 1998. *Compost use in plant nursery: Hydrological and phytochemical characteristics*. Compost Science and Utilisation vol 6 n.1, Winter
- Gessel, P.D., Hansen, N.C., Goyal, S.M., Johnston, L.J., Webb, J., 2004. *Persistence of zoonotic pathogens in surface soil treated with different rates of liquid pig manure*. Applied Soil Ecology, 25: pp. 237-243.
- Gianfreda, L., Bollag, J.M., 1996. *Influence of soil natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil*. In: G. Stotzky e J.M., Bollag (ed.) Soil Biochemistry, Dekker, New York, 9: pp. 123-129.
- Gibbs, R.A., Hu, C.J., Ho, G.E., Unkovich, I., 1997. *Regrowth of faecal coliforms and salmonellae in stored biosolids and soil amended with biosolids*. Wat. Sci. Tech., 35: pp.269-275
- Gigliotti, G., Businelli, D., Giusquiani, P.L., Pagliai, M., 1996. *Porosità e attività enzimatiche in un terreno ripetutamente ammendato con compost da residui solidi urbani*. Atti XIII Convegno Nazionale Della Società Italiana Di Chimica Agraria, pp. 131-137
- Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, M. C., Ciardi, C., & Ceccanti, B., 1992. *Biochemical characterization of biological activity in very young mine soils*. Biol. Fert. Soils, 13: pp. 25-30
- Giusquiani, P.L., Pagliai, M., Gigliotti, G., Businelli, D., Benedetti, A., 1995. *Urban waste compost: effects on physical, chemical and biochemical soil properties*. Journal of Environmental Quality, 24: pp.175-182
- Goldberg, L.F., Farini, A., 1994. *Complesso di scambio*. In: Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo. Ministero delle Risorse Agricole, Alimentari e Forestali; pp. 139-154.
- Goldstein, N., Yanko, W.A., Walker, J.M., Jakubowski, W.. 1988. *Determining pathogen levels in sludge products*. Biocycle, 5: pp.44-7.

- Gomez, A., 1998. *The evaluation of compost quality*. Trends Anal. Chem., 10: pp. 310-314.
- Goyal, S., Mishra, M. M., Dhankar, S. S., Kapoor, K. K., & Batra, R., 1993. *Microbial biomass turnover and enzyme activities following the application of farmyard manure to field soils with and without previous long-term application*. Biol. Fert. Soils., 15: pp. 60-64
- Gumprecht, G., Gerlach, H., Nehr Korn, A., 1995. *Hydrolysis and resazurin reduction as a measure of microbial activity in sediments from the south-east Atlantic*. Helgolander Meeresuntersuchungen, 49: pp. 189-199.
- Halstead, R.L., Mc Kercher, R.B., 1975. *Biochemistry and cycling of phosphorus*. In: Soil Biochemistry (Paul E.A. e McLaren A.D., Eds). Vol. 4: pp. 31-63. Dekker, New York.
- Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M., Boudabous, A., 2001. *Microbial characterization during composting of municipal solid waste*. Bioresour Technol, 80: pp. 217-25.
- Hayano, K., Katami, A., 1977. *Extraction of β -glucosidase activity from pea field soil*. Soil Biol. Biochem., 9: pp. 349-351
- Henry, C.L., Harrison, R.B., 1997. *Fate of trace metals in sewage sludge compost*. In: Biogeochemistry of trace elements, Berkeley, CA, 23-26 June 1997.
- Heppel, L.A., 1971. *The concept of periplasmic enzymes*. In: Structure and function of biological membranes. (Rothfield L.D., Ed), pp.223-247. Academic Press, New York.
- Hollander, V.P., 1971. *Acid Phosphatases*. In: The enzymes. Vol IV (Boyer P.D., Ed), 3rd edn., pp.449-498. Academic Press, New York.
- Hussong, D., Burge, W.D., Enkiri, N.K., 1985. *Occurrence, growth and suppression of Salmonellae in composted sewage sludge*. Applied and Environmental Microbiology; 50: pp.887-93.
- Hutchinson, T.C., 1981. In *Effect of Heavy Metal Pollution on Plants*. Vol.1 ed. N.W. Lepp. Applied Science Publishers, London.
- Ingham, E.R., Klein, D.A., 1984. *Phosphatases activity of *Penicillium citrinum* submerged batch cultures and its relationships to fungal activity*. Plant and Soil, 81: pp.61-68.
- Iovieno, P., Palumbo, A.D., Cerbino, D., 2000. *Variazione dell'attività biologica del terreno in dipendenza della fertilizzazione organica e minerale in una rotazione orticola*. Atti delle "V Giornate Scientifiche della Società Orticola Italiana". - Sirmione, 28-30 marzo 2000, pp. 245-246.

- Iovieno, P., Morra, L., 2000. *Misurazione di alcuni indici di attività biologica in terreni a fertilizzazione organica o minerale sotto serra*. Atti delle “V Giornate Scientifiche della Società Orticola Italiana” - Sirmione, 28-30 marzo 2000, pp. 243-244.
- Iovieno, P., Baldantoni, D., De Nicola, F., Alfani, A., Morra, L., Zaccardelli, M., 2006. *Multidisciplinary approach to validate compost use in vegetable crop systems of Campania Region (Italy): influence of compost rates on soil biological activity and heavy metal content*. Acta Horticulturae 700: pp. 271-274
- Izza, C., Canepa, D., Maggiolo, R., 1994. *Microelementi “assimilabili”*. In: Metodi ufficiali di analisi chimica del suolo. Ministero delle Risorse Agricole, Alimentari e Forestali; pp. 175-183.
- Joergensen, R.G., Küntzel, H., Scheu, S., Seitz, D., 1998. *Movement of faecal indicator organisms in earthworm channel under a loamy arable and grassland soil*. Applied Soil Ecology, 8: pp.1-10
- Kabata-Pendias, A. and Pendias, H., 1992. *Trace Elements in Soils and Plants 2nd edition*. CRC Press, Baton Rouge, Fa.
- Karaca, A., 2004. *Effect of organic wastes on the extractability of cadmium, copper, nickel, and zinc in soil*. Geoderma, 122: pp. 297-303.
- Kidd, P.S., Dominguez-Rodriguez, M.J., Diez, J., Monterroso, C., 2006. *Bioavailability and plant accumulation of heavy metals and phosphorus in agricultural soils amended by long-term application of sewage sludge*. Chemosphere (in stampa)
- Kiekens, L., 1995. *Zinc*. In: Heavy metals in soils. B.J. Alloway (Ed). Blackie, pp. 284-305
- Kiss, S., Dracan-Bularca, M., Radulescu, D., 1975. *Biological significance of enzymes accumulated in soil*. Ad. In Argon. 27: pp. 25-87.
- Knight, T.R., Dick, R.P., 2004. *Differentiating microbial and stabilized β -glucosidase activity relative to soil quality*. Soil Biology & Biochemistry, 36: pp. 2089-2096.
- Kuperman, R. G., and Carreiro, M.M., 1997. *Soil heavy metal concentrations, microbial biomass, and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem*. Soil Biology & Biochemistry, 29: pp. 179-190
- Lee, J.J., Park, R.D., Kim, Y.W., Shim, J.H., Chae, D.H., Rim, Y.S., Sohn, B.K., Kim, T.H., Kim, K.Y., 2004. *Effect of food waste compost on microbial population, soil enzyme activity and lettuce growth*. Bioresource Technology, 93: pp.21-28.
- Leiròs, M.C., Trasar-Cepeda, C., Garcia-Fernandez, F., Gil-Sotres, F., 1999. *Defining the validity of a biochemical index of soil quality*. Biol Fertil Soils 30: pp 140-146.

- Lindsay, W.L., Norvell, W.A., 1978. *Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper*. Soil Sci. Soc. Am. J., 42: pp. 421-428
- Madejòn, E., Burgos, P., Lopez, R., Cabrera, F., 2001. *Soil enzymatic response to addition of heavy metals with organic residues*. Biology and Fertility of Soils, 34: pp. 144-150
- Mantovi P., Baldni G., Toderi G., 2005. *Reuse of liquid, dewatered, and composted sewage sludge on agricultural land: effects of long-term application on soil and crop*. Water Research, 39: pp. 289-296.
- Marchetti, R., 1998. *Ecologia Applicata*. Città Studi Editore.
- Marcote, I., Hernández, T., García, C., Polo, A., 2001. Influence of one or two successive annual applications of organic fertilisers on the enzyme activity of a soil under barley cultivation. *Bioresource Technology*, 79: pp. 147-154.
- Marschner, H., 1986. *Mineral Nutrition in Higher Plants*. Academic Press, London.
- Martin, S.M., Byers, T.J., 1976. Acid hydrolase activity during growth and encystment in *Acanthamoeba castellanii*. *Journal of protozoology*, 23: pp.608-613.
- Masciandaro, G., Ceccanti, B., Ronchi, V. e Bauer, C., 2000. Kinetic parameters of dehydrogenase in the assessment of the response of soil to vermicompost and inorganic fertilisers. *Biology and Fertility of Soils*, 32: pp. 479-483.
- Masciandaro, G., Ceccanti, B., Benedico, S., Lee, H.C., e Cook, H.F., 2004. Enzyme activity and C and N pools in soil following application of mulches. *Canadian Journal of Soil Science*, 84: pp. 19-30.
- Matsuda, J., Hyakumachi, M., Shimizu, M., Himoto, J., 1996. The composting of soil and agricultural wastes and its sterilizing, suppressing and fertilizing effects. *Int. Congress Exhibit.*, 2: pp. 153-154.
- McGrath, S.P., 1995. Chromium and Nickel. In: *Heavy metals in soils*. B.J. Alloway (Ed). Blackie, pp. 152-177.
- McLean, J E., e Bledsoe, B.E., 1992. *Behaviour of Metals in Soils*. EPA/540/S-92/018. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, and Office of Research and Development.
- Mezzanotte, V., 1987. *Usa agricolo dei fanghi urbani digeriti e compostati*. *Rifiuti Solidi*, 1: pp. 46-56.
- Mi.R.A.A.F., 2000. *Metodi di analisi chimica del suolo*, Ministero delle Politiche agricole e forestali. Roma.
- Monokrousos, N., Papatheodorou, E.M., Diamantopoulos, J.D., Stamou, G.P., 2006. *Soil quality variables in organically and conventionally cultivated field sites*. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: pp.1282-1289

- Nannipieri, P., Pudrozzini, F., Arcara, P.G., Piovaneli, C., 1979. *Changes in aminoacides enzyme activities and biomass during soil microbial growth*. Soil Science, 127: pp. 26-34.
- Nannipieri, P., Greco, S & Ceccanti, B., 1990. *Ecological significance of the biological activity in soil*. In: Soil Biochemistry, vol. 6 ed. J.M Bollag & G. Stozky, pp.293-355. Marcel Dekker, New York.
- Nannipieri, P., 1995. *The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution*. In: Pankhurst CE, Double BM, Gupta VVSR, Grace PR (eds) Soil biota. Management in sustainable farming systems, CSIRO, East Melbourne, pp. 238-244.
- Ndiaye, E.L., Sandeno, J.M., McGraph, D., Dick, R.P., 2000. *Integrative biological indicators for detecting change in soil quality*. American Journal of Alternative Agriculture, 15: pp. 26-36.
- Nicolosi, V.M., Nicoletti., G., 2002. Dizionario di batteriologia umana (normale e patologica) IV edizione. Momento medico Ed.
- Nurizzo, C. 1981. *Trasformazione in compost di fanghi di depurazione*. Ingegneria Ambientale, 10: pp. 293-7
- Ottavini, F., 1996. Microbiologia dei prodotti di origine vegetale. Ecologia ed analisi Microbiologica. Chiriotti Editori.
- Ozores-Hampton, M., Obreza, T.A., Hochmuth, G., 1998. *Using composted wastes on Florida vegetable crops*. Hort. Technology, 8 (2): pp. 130-137
- Ozores-Hampton, M., Stansly, P.A., Obreza, T.A., 2005. *Heavy metal accumulation in a sandy soil and pepper fruit following long-term application of organic amendments*. Compost Science & Utilization, 13 (1): pp. 60-64.
- Paris, P., Lucianer, A, 1986. *Tra caratteristiche del suolo e ioni metallici cento equilibri mutevoli*. Genio rurale, 11:8-21. In: Pinamonti, F., Stringari., G, Gasperi, F., Zorzi, G., 1997. The use of compost: its effect on heavy metal levels in soil and plants. Resoures, Conservation and Recycling, 21: pp.129-143.
- Pascual, JA., Hernandez, T., Garcia, C & Ayuso, M., 1998. *Enzymatic activities an arid soil amended with urban organic wastes: laboratory experiment*. Bioresource Technology, 64: pp.131-138.
- Pascual, JA., Moreno, J.L., Hernandez, T., Garcia C., 2002. *Persistence of immobilised and total urease and phosphatase activities in a soil amended with organic wastes*. Bioresource Technology. 82: pp.73-78
- Pankhurtst, Double, Gupta,. Khan S.U., (Eds.). 1997. *Enzymatic activity in a greywooded soil as influenced by cropping system and fertilisers*. Soil Biology & Biochemistry, Vol II, pp. 137-139.

- Pérez-Piqueres, A., Edel-Hermann, V., Alabouvette, C., Steinberg, C., 2006. *Response of soil microbial communities to compost amendments*. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: pp. 460-470
- Perucci, P., Giuschiani, P.L., 1990. *Influence of municipal waste compost addition on chemical properties and soil phosphatase activity*. *Zentralb. Mikrobiol.*, 145: pp. 615-620
- Perucci, P., 1992. *Enzyme activity and microbial biomass in a field soil amended with municipal refuse*. *Biol. Fertil. Soil.* 14: pp.54-60.
- Petersen, J., 2001. *Review of Danish field experiments with sewage sludge and composted household refuse as a fertilizer source*. In: Dhir, R.K., et al. (Eds.), *Recycling and Reuse of Sewage Sludge*. Proceedings of the International Symposium at University of Dundee, Scotland, UK, March 19-20, 2001. Thomas Telford Publishing, pp. 175-189.
- Petruzzelli, G., 1992. *La problematica dei metalli pesanti nel compost*. *Acqua Aria*, 10: pp. 989-994
- Pignatti, S., 1976. *Geobotanica*. In: Cappelletti C., *Trattato di botanica*, Vol II, UTET.
- Pinamonti F., Stringari G., Gasperi F., Zorzi G., 1997. *The use of compost: its effects on heavy metal levels in soil and plants*. *Resources, Conservation and Recycling*, 21: 129-143.
- Pourcher, AM., Morand, P., Picard-Bonnaud, F., Billaudel, S., Monpoeho, S., Federighi, M., Ferre, V., Moguedet, G., 2005. *Decrease of enteric micro-organisms from rural sewage sludge during their composting in straw mixture*. *J Appl Microbiol*, 99: pp. 528-39
- Rao, A.V., & Tarafdar, J.C., 1992. *Seasonal changes in available phosphorus and different enzyme activities in arid soil*. *Ann. Arid Zones*, 31: pp.185-189
- Reddy, G.B., Faza, A., Bennet, Jr. R., 1987. *Activity of enzymes in rhizosphere and nonrhizosphere soils amended with sludge*. *Soil Biology and Biochemistry*, 19: pp. 203-205.
- Riffardi, R. e Levi-Minzi, 1989. *Il controllo degli inquinanti in agricoltura. Gli inquinanti inorganici*. *Chimica del suolo*, Patron Editore.
- Rolle, G., 2001 *Caratteristiche del compost ad uso agricolo e stato della sperimentazione AMIAT-Coldiretti*.
- Ros, M., Hernandez, M.T., García C., 2003. *Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments*. *Soil Biol. & Biochem.*, 35: pp. 463-469

- Sánchez-Monedero, M.A., Mondini, C., de Nobili, M., Leita, L., Roig, A., 2004. *Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter*. Waste Management, 24: pp.325-332
- Satchell, J.E., Martin, K., 1984. *Phosphatase activity in earthworm faeces*. Soil Biol. Biochem., 16: pp.191-194.
- Scagliarini, S., 1999. *Le funzioni del compost nel terreno*. Il Divulgatore Anno XXII. Centro Agricoltura Ambiente.
- Schlegel, A. J., 1992. *Effect of composted manure on soil chemical properties and nitrogen use by grain sorghum*. J. Prod. Agric., 5: pp. 153-1
- Schnurer, J., Rosswal, I T., 1982. *Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbiological activity in soil and litter*. Appl. Environ. Microbiol., 43: pp. 1256-1261.
- Sequi, P., 1993. *Chimica del suolo*. Patron Editore
- Sequi, P., 1996. *The role of composting in suitable agriculture, The science of composting*. Blackie Academic & Professional, Glasgow UK, 1996. Parte I, pp. 23-29
- Shen shan, M., Brooks, P.C., Jenkinson, D.S., 1978. *Soil respiration and the measurement of microbial biomass C by fumigation technique in fresh and air-dried soil*. Soil Biol. Biochem., 19 (2): pp. 153-158.
- Skujins, J., 1976. *Extracellular Enzymes in soil*. Crit. Rev. Microbiol., 4: pp. 383-421
- Sigua, GC., Adjei, MB., Rechcigl, JE., 2005. *Cumulative and residual effects of repeated sewage sludge applications: forage productivity and soil quality implications in South Florida, USA*. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 12: pp. 80-88.
- Sinsabaugh, R.L., 1994. *Enzymatic analysis of microbial pattern and process*. Biology and Fertility of Soils, 17: pp. 69-74.
- Smith, K.A., Paterson, J.E., 1995. *Manganese and cobalt*. In: Heavy metals in soils. B.J. Alloway (Ed). Blackie, pp. 224-244.
- Smith, S.R., Woods, V., Evans, T.D., 1998. *Nitrate dynamics in biosolids-treated soils. I. Influence of biosolids type and soil type*. Bioresource Technol., 66: pp. 139-149
- Soumaré, M. Tack, F.M.G., Verloo, M.G., 2003. *Characterisation of Malian and Belgian solid waste composts with respect to fertility and suitability for land application*. Waste Management, 23: pp. 517-522.
- Speir, T.W., Ross, D.J., 1978. *Soil phosphatases and sulphatases*. In: R.G. Burns (ed.) Soil Enzymes. Academic Press, New York, pp. 197-249.

- Stevenson, F.J., 1982, *Humus Chemistry Genesis, Composition, Reaction*, John Wiley & Sons, New York
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1970. *Arylsulfatase activity in soil*. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 34: pp. 225-229.
- Talafaldar, J.C., Chonkar, P.K., 1978. Thermal sensitivity and Michaelis constants of acid, neutral and alkaline phosphatases in different soils and root exudates. *L'Informatore Agrario*, 16: pp. 69-75.
- Tate, R.L., 1987. *Soil Organic Matter: Biological and Ecological Effects*. Wiley, New York pp.98-99.
- Torriani, A., 1968. *Alcaline phosphatase of Escherichia Coli*. *Methods of enzymology*. 12.
- Trasar-Cepeda, C., Leiros, C., Gil-Sotres, F., Seoane, S., 1998. *Towards a biochemical quality index for soils. An expression relating several biological and biochemical properties*. *Biol Fertil Soils*, 26: pp.100-106
- Trasar Cepeda, C., Leiros, M.C., Garcia Fernandez, F. e Gil Sotres, F., 2003. *Soil biochemical properties as indicators of soil quality*. In: *Preserving soil quality and soil biodiversity* (M.C. Lobo e J.J Ibanez, eds.) IMIA-CSIC, Madrid, pp. 77-82.
- Tywary, B.K., Tiwari, S.C., Misra. 1988. Enzyme activities in soil: effects of leaching, ignition, autoclaving and fumigation. *Soil Biol. Biochem.*, 4: pp. 583-585.
- Vallini, G., Pera, M., Valdrighi, M., 1994. *Biostabilizzazione ossidativa della sostanza organica: ecologia microbica e gestione biotecnologica del processo di compostaggio*. Atti delle giornate europee di studio sull'ambiente: "Ingegneria della trasformazione in compost". Bari, 26-27 ottobre 1994.
- Van Diepeningen, A., de Vos, O.J., Korthals, G.W., 2006. *Effects of organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils*. *Applied Soil Ecology*, 31: pp. 120-135.
- Vasseur, L., Cloutier, C., Labelle, A., Duff, J.N., Beaulieu, C., Anseau, C., 1996. *Responses of indicator bacteria to forest soil amended with municipal sewage sludge from aerated and non-aerated ponds*. *Environ. Pollut.* 92: pp. 67-72
- Vizioli, V., 1997. *La fertilizzazione organica in agricoltura biologica*. *Mediterraneo*, 4: pp. 70-77.
- Walter, I., Martinez, F., Cala, V., 2006. *Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses*. *Environ. Pollut.* 139: pp. 507-514.
- Watanabe, T., Sano, D., Omura, T., 2002. *Risk evaluation for pathogenic bacteria and viruses in sewage sludge compost*. *Water Sci Technol*, 46: pp. 325-30

- Weinberg, R., Orton, W.L., 1963. *Repressible acid phosphoesterase and constitutive pyrophosphatase of Saccaromices mellis*. Journal of Bacteriology, 86: pp.805-813.
- Zablotowicz, R.M., Locke, M. A., Smeda; R.J., 1998. *Degradation of 2,4-D and fluometuron in cover crop residues*. Chemosphere 37: pp 87-101.
- Zheljazkov, V.D., Warman, R., 2004. *Phytoavailability and fractionation of copper, manganese, and zinc in soil following application of two composts to four crops*. Environmental Pollution, 131: pp. 187-195.
- Zorzi, G., 1997. *La legislazione sulla produzione e sull'impiego del compost*. L'Informatore agrario, 44: pp. 7-10

