

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
FEDERICO II**

FACOLTÀ DI AGRARIA

Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e dell'Ambiente

PORTICI

**TESI DI DOTTORATO DI RICERCA IN VALORIZZAZIONE E
GESTIONE DELLE RISORSE AGRO-FORESTALI**

indirizzo Bonifica e Difesa del Suolo

XIX CICLO

**Caratterizzazione di suoli contaminati dopo
riqualificazione mediante utilizzo di tecniche di
fitorimediazione**

Docente guida
Prof.ssa
Paola Adamo

Dottoranda
Dott.ssa Stefania Orlando

Coordinatore
Prof. Antonio Cioffi

ANNI ACCADEMICI 2003 – 2006

*L'umanità è la dote più grande degli uomini
li tiene uniti, li fa progredire*

*ringrazio chi ha perso il suo tempo in futilità
ha dato valore al sorriso e al pianto*

*il mio lavoro non è pesato
perché qualcuno ha
offerto generosamente la sua spalla*

*ed io ho imparato la lezione più importante,
bisogna stare vicini.*

INDICE

1. INTRODUZIONE

- 1.1 **L'inquinamento da metalli pesanti del suolo**
- 1.2 **I metalli pesanti nel suolo**
 - 1.2.1 Origine
 - 1.2.2 Contenuto
 - 1.2.3 Forme
- 1.3 **Monitoraggio dell'inquinamento da metalli pesanti del suolo**
 - 1.3.1 Evoluzione della normativa nazionale in materia di bonifica del suolo
 - 1.3.2 Metodologie di speciazione
 - 1.3.3 Procedure di estrazione chimica sequenziale
 - 1.3.4 Biodisponibilità di HM nel suolo
- 1.4 **La gestione dei siti contaminati da metalli pesanti**
 - 1.4.1 Interventi di riqualificazione
 - 1.4.2 Fitorimediazione: aspetti generali
 - 1.4.3 Tecniche di fitorimediazione

2. SCOPO DEL LAVORO

3. AREA DI STUDIO

- 3.1 **Inquadramento generale**
 - 3.1.1 Posizione geografica e caratteristiche climatiche
 - 3.1.2 Caratteristiche geo-morfologiche e pedologiche
 - 3.1.3 Storia dell'insediamento industriale
 - 3.1.4 Descrizione del ciclo produttivo e dell'organizzazione dell'area produttiva
- 3.2 **La dismissione e riqualificazione del sito industriale**
 - 3.2.1 Smontaggio, Demolizione e Smaltimento
 - 3.2.2 Il Piano di Caratterizzazione
 - 3.2.3 Caratterizzazione dei suoli
 - 3.2.4 Bonifica dei suoli
 - 3.2.5 Ricostruzione pedologica

4. MATERIALI

- 4.1 Esperimento di crescita in vaso**
 - 4.1.1 I substrati impiegati
 - 4.1.2 Le specie vegetali impiegate
- 4.2 Studio dei suoli rivegetati da specie vegetali spontanee**
- 4.3 Caratterizzazione dei prodotti di precipitazione del Fe(II) in presenza di acidi umici**

5. ATTIVITÀ E METODI

- 5.1 Esperimento di crescita in vaso**
 - 5.1.1 Preparazione dei substrati
 - 5.1.2 Semina
 - 5.1.3 Crescita delle piante
 - 5.1.4 Analisi dei suoli e delle piante
- 5.2 Studio dei suoli rivegetati da specie vegetali spontanee**
 - 5.2.1 Raccolta di campioni di suolo e di piante spontanee
 - 5.2.2 Preparazione dei campioni e analisi
- 5.3 Caratterizzazione dei prodotti di precipitazione del Fe(II) in presenza di acidi umici**
 - 5.3.1 Preparazione dei campioni
 - 5.3.2 Analisi
- 5.4 Metodologie analitiche impiegate negli esperimenti di rivegetazione**
 - 5.4.1 Proprietà fisiche e chimiche del suolo
 - 5.4.2 Contenuto totale dei HM di piante e suoli
 - 5.4.3 Contenuto biodisponibile di HM
 - 5.4.4 Forme geochimiche dei HM
 - 5.4.5 Preparazione di sezioni sottili e osservazioni al MO e al SEM/EDS
 - 5.4.6 Preparazione di sezioni ultrasottili e osservazioni al TEM
- 5.5 Metodologie analitiche applicate ai prodotti di precipitazione del Fe(II) in presenza di HA**
 - 5.5.1 Contenuto totale e “attivo” di Fe
 - 5.5.2 Osservazioni al TEM
 - 5.5.3 Preparazione di campioni orientati e analisi diffrattometrica XRD
 - 5.5.4 Analisi spettroscopica FT-IR

6. ESPERIMENTO DI CRESCITA IN VASO: RISULTATI

6.1 Piante

- 6.1.1 Altezza
- 6.1.2 Biomassa
- 6.1.3 Contenuto di macronutrienti dei tessuti vegetali
- 6.1.4 Contenuto di HM dei tessuti vegetali
- 6.1.5 Indici di traslocazione e di bioaccumulo
- 6.1.6 Quantità di HM asportate dal suolo attraverso l'assorbimento vegetale

6.2 Suoli

- 6.2.1 Proprietà fisiche e chimiche
- 6.2.2 Contenuto totale di HM
- 6.2.3 Disponibilità accertata mediante estrazioni in EDTA
- 6.2.4 Disponibilità accertata mediante estrazioni sequenziali

6.3 Discussione dei risultati e considerazioni conclusive

7. RIVEGETAZIONE DA PIANTE SPONTANEE: RISULTATI

7.1 Campionamento di suoli e specie vegetali spontanee condotto nel 2004

- 7.1.1 Contenuto totale di HM dei suoli
- 7.1.2 Le specie vegetali spontanee
- 7.1.3 Contenuto di HM dei tessuti vegetali
- 7.1.4 Indici di bioaccumulo e di traslocazione
- 7.1.5 Proprietà fisiche e chimiche di *bulk e rhizo soil*
- 7.1.6 Disponibilità di HM in bulk e rhizo soil accertata mediante EDTA

7.2 Campionamento di suoli e specie vegetali spontanee condotto nel 2006

- 7.2.1 Le specie vegetali spontanee
- 7.2.2 Proprietà fisiche e chimiche dei suoli

7.3 Discussione dei risultati e considerazioni conclusive

8. CARATTERIZZAZIONE DEI PRODOTTI DI PRECIPITAZIONE DEL Fe(II) IN PRESENZA DI HA: RISULTATI

- 8.1.1 Osservazioni XRD
- 8.1.2 Osservazioni TEM
- 8.1.3 Osservazioni FT-IR
- 8.1.4 Estrazioni chimiche selettive
- 8.1.5 Discussione dei risultati e considerazioni conclusive

9. BIBLIOGRAFIA

1. INTRODUZIONE

1.1 *L'inquinamento del suolo da metalli pesanti*

Il modello di sviluppo della società, che a partire dai primi del XX secolo si è sempre più diffuso a livello mondiale, è caratterizzato da crescente utilizzo ed emissione nell'ambiente di sostanze contaminanti.

Negli ultimi decenni si è diffusa una maggiore coscienza dei rischi ambientali, in particolare delle potenzialmente gravi conseguenze sul suolo e sui sedimenti, connessi a tale modello di sviluppo. Se, infatti, rimosse le fonti di inquinamento, l'atmosfera e le acque si possono decontaminare in tempi relativamente brevi, il suolo ed i sedimenti, pur possedendo meccanismi di autodepurazione, possono restare contaminati per periodi di tempo assai più lunghi.

Tra gli agenti inquinanti, quelli di natura inorganica possono essere i più persistenti. L'amianto ed i prodotti radioattivi presentano caratteristiche peculiari tali da esigere interventi di decontaminazione specifici e specialistici. In assoluto i più diffusi agenti inquinanti di natura inorganica sono i *metalli pesanti*.

Con il termine *metalli pesanti* vengono di norma definiti gli elementi che presentano una densità maggiore di 5 g/cm³. Tale definizione è, tuttavia, utilizzata in senso lato per designare unitamente ai metalli pesanti, altri elementi che metalli non sono, ma che condividono caratteristiche generali di tossicità e di persistenza: Ag, Ar, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Mn, Hg, Mo, Ni, Pb, Cu, Se, Sb, Sn, Tl, Ti, V, Zn. Alcuni *metalli pesanti* (HM) risultano essenziali per molti organismi viventi (ad esempio, Co, Cr(III), Cu, Mo, Mn, Zn). Tutti i HM, essenziali e non, diventano tossici quando le loro concentrazioni superano dei valori soglia, variabili da elemento ad elemento e da organismo ad organismo. I valori ritenuti nocivi possono essere non molto più elevati di quelli ottimali. E' difficile stabilire degli standard di sicurezza, dato che la tossicità di un metallo è fortemente dipendente dalla sua forma chimica. Così, ad esempio il Hg, può presentare in combinazione organica una tossicità superiore alla forma inorganica; il Cr(VI) ed il V(V) risultano molto più tossici delle rispettive forme ridotte Cr(III) e V(IV); l'As(III) è molto più tossico dell'As(V).

I *metalli pesanti* maggiormente responsabili di fenomeni di inquinamento di suolo e sedimenti sono: As, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sn e Zn.

1.2 I metalli pesanti nel suolo

1.2.1 Origine

I metalli pesanti presenti nel suolo hanno origine sia da fonti naturali sia da fonti antropiche.

L'apporto di HM da fonti naturali è riconducibile soprattutto ai processi di alterazione del substrato roccioso (roccia madre) da cui si è formato il suolo.

Gli elementi di origine litogenica derivano direttamente dalla roccia madre (litosfera).

Nella roccia madre i *metalli pesanti* sono presenti nelle strutture cristalline dei minerali primari, in cui sono stati incorporati durante il processo di cristallizzazione, in seguito a sostituzioni isomorfe con altri ioni. Tali sostituzioni possono avvenire quando il metallo e lo ione sostituito presentano una differenza di raggio ionico inferiore al 15% ed una differenza di carica ionica non superiore ad un'unità (Alloway, 1995). Un tipico esempio di tale vicarianza è quello del Ni, che può sostituire il Mg o il Fe nelle olivine e nei pirosseni (Riffaldi e Levi-Minzi, 1989).

Il contenuto di HM rispecchia quello della roccia madre nei suoli dei climi temperati. Tale relazione viene a mancare nei suoli di aree tropicali o in suoli evoluti nei quali la concentrazione e distribuzione dei HM nei diversi orizzonti e tra le diverse particelle del suolo sono il risultato della mobilizzazione nel tempo degli ioni metallici causata dai processi di pedogenesi.

Gli elementi di origine pedogenetica derivano dal substrato pedogenetico.

L'attività pedogenetica determina, dalla disgregazione della roccia madre, la formazione di rocce sedimentarie per litificazione di sedimenti di minerali primari, di minerali secondari, come le argille, e di precipitati chimici, come il CaCO₃.

Il contenuto di HM delle rocce sedimentarie dipende dalla mineralogia e dalle proprietà adsorbenti dei minerali che le costituiscono e, inoltre, dalla concentrazione degli elementi stessi nelle acque in cui i sedimenti sono stati depositati (Alloway, 1995). In genere, le argille presentano un contenuto di HM relativamente alto, a causa della loro elevata capacità di adsorbire ioni metallici, mentre le sabbie sono povere di tali elementi, in quanto costituite prevalentemente da cristalli di quarzo, che non hanno HM e presentano una scarsa capacità di adsorbimento degli ioni metallici (Alloway, 1995).

Il contenuto di HM di origine naturale dei suoli dipende, in definitiva, dal tipo di roccia madre, dall'intensità della pedogenesi e dalle condizioni ambientali in cui la pedogenesi ha avuto luogo.

I fenomeni di contaminazione causati da HM di origine litogena, in grado di produrre danni biologici, sono in genere limitati ad aree ristrette. In tali aree, essi sono definiti “inquinanti geochimici” (Riffaldi e Levi-Minzi, 1989). Solitamente la contaminazione del suolo da HM è conseguenza dell’apporto di metalli di origine antropica. Questi ultimi arrivano al suolo, sia direttamente (fumi, acque di scarico, fanghi, concimi) o indirettamente (produzione o uso di sostanze ricche di HM quali, vernici, pneumatici, combustibili), in seguito ad attività umane. Le principali attività inquinanti sono (Alloway, 1995):

- attività di estrazione dei metalli
- attività agricole
- attività civili (trasporto, riscaldamento, ecc.)
- attività di industrie metallurgiche e siderurgiche
- attività di industrie chimiche, di centrali elettriche
- smaltimento dei rifiuti
- accumulo di residui di esercitazioni militari e guerre.

L’inquinamento da HM derivanti da attività estrattive di metalli riguarda soprattutto le aree dove tali attività erano praticate nei secoli scorsi, quando le tecniche di estrazione erano poco efficienti: i residui contenevano quantità relativamente alte di contaminanti e nessun provvedimento era preso per evitare il trasporto dei materiali di risulta, operato dal vento e dall’acqua, e la contaminazione dei suoli delle aree limitrofe.

Le pratiche agricole costituiscono una fonte rilevante di contaminazione diffusa da HM dei suoli, soprattutto nelle regioni ad agricoltura intensiva. L’inquinamento di origine agricola deriva prevalentemente dall’uso di (MAFF, 1986):

- fertilizzanti (Cd, Cr, Mo, Pb, U, V, Zn)
- fanghi di depurazione (Cr, Ni, Cu, Pb, Zn...)
- compost (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn)
- fitofarmaci
- letame proveniente da allevamenti zootecnici intensivi (Cu, As, Zn)
- pesticidi (Cu, As, Hg, Pb, Mn, Zn)
- disseccanti (As)

- agenti protettivi del legno (As, Cu, Cr)
- acque irrigue contaminate

L'uso di combustibili fossili (trasporto su gomma, riscaldamento, ecc.) è causa di dispersione di HM, quali Pb, Cd, Cr, Zn, As, Sb, Se, Cu, Mn, U e V in aree molto vaste. Durante la combustione, i metalli accumulati in carbone e petrolio vengono emessi con gli aerosol e i fumi, o accumulati nelle ceneri, contribuendo alla contaminazione di suoli, sedimenti ed acque.

Le industrie metallurgiche e siderurgiche possono contribuire all'inquinamento del suolo mediante: i) emissione di aerosol e fumi che, trasportati dai venti, possono depositarsi sul suolo o sulla vegetazione, anche a grandi distanze dalla fonte di emissione; ii) produzione di acque di scarico contaminate o di fanghi di depurazione delle acque reflue; iii) creazione di aree di deposito dei rifiuti, dove i metalli, in seguito a processi di corrosione e lisciviazione, possono trasferirsi negli orizzonti profondi dei suoli.

Un gran numero di HM è utilizzato per la fabbricazione di semiconduttori, cavi ed altre componenti dei sistemi elettrici: Cu, Zn, Au, Ag, Pb, Sn, Cr, Se, Co, Mo, Hg, As (MAFF, 1986). Essi possono causare inquinamento quando vengono in contatto con il suolo.

Altre importanti fonti di inquinamento del suolo da HM derivano dalla produzione e dallo smaltimento dei seguenti prodotti industriali (MAFF, 1986):

- pile: Pb, Sb, Zn, Cd, Ni, Hg
- pitture e vernici: Pb, Cr, As, Sb, Se, Mo, Cd, Ba, Zn, Co
- catalizzatori: Pt, Sb, Ru, Ni, Mo
- stabilizzatori di polimeri sintetici: Cd, Zn, Sn, Pb
- materiali impiegati nei processi di stampa e grafica: Pb, Se, Cd, Zn, Cr, Ba
- additivi di combustibili e lubrificanti: Pb, Mo.

Lo smaltimento di rifiuti urbani può contribuire in diversi modi all'inquinamento da HM. I rifiuti solidi urbani, se non vengono gestiti in maniera appropriata, possono contribuire all'inquinamento del suolo, delle acque di falda e di quelle di superficie con svariati elementi, tra cui Cd, Cu, Pb, Sn e Zn (Alloway, 1995). Nelle discariche, di solito, sono presenti elevate concentrazioni di Cl⁻, per cui molti metalli possono trovarsi sotto forma di complessi clorurati, che vengono adsorbiti meno facilmente di altre forme e sono più mobili. L'uso di inceneritori, privi di sistemi di controllo e di sicurezza appropriati, può comportare l'emissione di HM nell'atmosfera sotto forma di aerosol.

Anche l'uso di armi è fonte di contaminazione del suolo, basti pensare al Pb e ad altri elementi contenuti nelle pallottole, al Cu ed allo Zn presenti nelle cartucce, all'U impoverito usato nelle mine anticarro.

1.2.2 Contenuto

Quando si conosce la natura della roccia madre, si può ricavare, con una certa approssimazione, il contenuto naturale di HM presenti in un suolo (tabella 1.2.2a). Tuttavia, ciò risulta più difficile nel caso di suoli molto evoluti. Infatti, come già si è detto, la composizione in HM nei suoli, all'origine simile a quella della roccia madre, con il tempo tende progressivamente a differenziarsi con incremento o decremento della concentrazione di ciascun elemento sotto l'influenza della vegetazione, della topografia e, soprattutto, del clima.

I processi di alterazione chimica dei minerali presenti nel substrato, attraverso reazioni di idrolisi, idratazione, dissoluzione, ossidazione e riduzione, scambio ionico, carbonatazione, ne modificano l'associazione ionica. I processi pedogenetici, di lisciviazione, eluviazione, salinizzazione, calcificazione, podzolizzazione, ferrallitizzazione, gleizzazione, accumulo di sostanza organica, modificano la distribuzione e la concentrazione dei HM nel suolo, per effetto di due eventi principali: i) il rilascio di HM dal substrato pedogenetico, durante i processi di alterazione della roccia madre; ii) la traslocazione e l'accumulo dei costituenti del suolo che presentano un'elevata capacità di adsorbire i metalli, cioè minerali argillosi, ossidi, idrossidi e sostanza organica.

Uno degli effetti più evidenti della pedogenesi è la diversa distribuzione dei HM lungo il profilo. Gli elementi che entrano nei cicli che coinvolgono la vegetazione e che vengono preferenzialmente adsorbiti dalla sostanza organica (come Ag, As, Cd, Cu, Hg, Pb e Zn), sono generalmente concentrati negli orizzonti di superficie. Gli elementi associati preferenzialmente ai minerali argillosi e agli idrossidi, sono più facilmente traslocati lungo il profilo e tendono ad accumularsi in profondità (come Al, Fe, Mg, Ni), raggiungendo concentrazioni elevate anche negli orizzonti più profondi (Alloway, 1995).

In tabella 1.2.2b sono riportati i contenuti totali, ritenuti "naturali", di alcuni elementi, in suoli diversi (Kabata-Pendias, 2001). Tali valori consentono di avere un'idea approssimata delle possibili concentrazioni di *background* dei HM nella pedosfera. Ciò è estremamente importante, in quanto, solo attraverso il confronto con i valori di *background*, diversi nei vari tipi di suolo, è possibile effettuare una valutazione del grado di contaminazione antropica della pedosfera.

Tabella 1.2.2a Contenuto totale medio (mg kg^{-1}) di HM in rocce e suolo (modificata da Violante, 2002)

elemento	rocce ignee basiche	rocce ignee acide	rocce sedimentarie	suolo
As	1.5	1.5	7.7	6
Bi	0.031	0.065	0.4	0.2
Cd	0.13	0.09	0.17	0.35
Cr	185	15	63	54
Hg	0.012	0.08	0.19	0.06
In	0.058	0.04	0.044	0.2
Ni	140	10	48	40
Pb	3	24	19	19
Sb	0.2	0.2	1.2	1
Se	0.05	0.05	0.42	0.4
Sn	1.25	18	5	3
Te	-	-	<0.1	-
Tl	0.08	1.1	0.95	0.2

Tabella 1.2.2b Contenuto totale medio (mg kg^{-1}) di HM in orizzonti di superficie di suoli diversi (modificata da Kabata-Pendias, 2001)

	Spodosuoli	Inceptisuoli	Mollisuoli su calcare	Mollisuoli di steppa	Istosuoli
Mn	270	525	445	480	465
Cu	13	23	23	24	16
Co	5.5	10	12	7.5	4.5
Cr	47	51	83	77	12
Pb	22	28	26	23	44
Zn	45	60	100	65	50
Ni	13	26	34	25	12

Tabella 1.2.2c *Contenuto totale medio (mg kg⁻¹) di HM in suoli di stati dell'Europa occidentale, degli Stati Uniti e del Canada (modificata da Angelone e Bini, 1992)*

Stato	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
Austria	0.2	20	17	310	20	150	65
Belgio	0.33	90	17	335	33	38	57
Danimarca	0.24	21	11	315	7	16	7
Francia	0.74	29	13	538	35	30	16
Germania	0.52	55	22	806	15	56	83
Italia	0.53	100	51	900	46	21	89
Olanda	1.76	25	19	-	15.6	60	73
Norvegia	0.95	110	19	-	61	61	60
Portogallo	-	-	25	328	-	-	59
Spagna	1.7	38	14	-	28	35	59
Svizzera	1.2	2.3	8.5	770	4.4	69	182
Inghilterra e Galles	0.7	44	15.6	-	22	49	79
Scozia	0.47	150	23	830	38	19	58
<i>Media Europa occid.</i>	<i>0.79</i>	<i>53</i>	<i>19.5</i>	<i>570</i>	<i>27</i>	<i>39</i>	<i>68</i>
USA	0.5	53	25	560	20	20	54
Canada	0.3	43	22	520	20	20	74
<i>Media generale</i>	<i>0.3</i>	<i>200</i>	<i>20</i>	<i>850</i>	<i>40</i>	<i>10</i>	<i>50</i>

Un'approfondita recensione dei dati esistenti in letteratura, relativi ai contenuti totali di HM in suoli di stati dell'Europa occidentale, degli U.S.A. e del Canada, è stata realizzata da Angelone e Bini (1992) (tabella 1.2.2c). Si può osservare che, a causa della contaminazione da HM, soprattutto di origine antropica, il contenuto totale di HM risulta, con variazioni da zona a zona, più o meno elevato.

La contaminazione da HM attraverso il trasporto aereo è all'origine di un fenomeno globale: il progressivo aumento del contenuto di HM dei suoli, che ne rende sempre più difficile una stima dei livelli di *background* (Bowen, 1979). E' stato stimato che dalla fine del XIX secolo ad oggi, le concentrazioni di Pb, Zn, Cu e Cd sono aumentate fino al 10 % negli orizzonti di superficie.

Il trasporto di HM attraverso l'atmosfera può comportare la contaminazione di suoli lontani centinaia di km dai luoghi di emissione. Gli elementi si trovano nell'aria sotto forma di aerosol, con dimensioni comprese tra 20 μm e 5 nm e restano sospesi nell'aria per un periodo di tempo che va, in media, dai 10 ai 30 giorni (Bowen, 1979). Sebbene un'elevata quantità di HM depositati sul suolo dall'atmosfera sia di origine antropica, consistente è anche il trasporto dei prodotti di origine vulcanica.

1.2.3 Forme

I metalli pesanti sono presenti nel suolo in soluzione acquosa, sull'interfaccia solido-liquido ad allo stato solido (figura 1.2.3).

Nella fase liquida del suolo i HM possono essere presenti come ioni semplici, o complessi e chelati solubili. Nella formazione di complessi si verifica principalmente il coinvolgimento di specie inorganiche, quali NH_3 , OH^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , e di gruppi carbossilici, fenolici, amminici di strutture organiche ad alto e basso peso molecolare.

Nell'interfaccia solido-liquido i metalli possono essere presenti adsorbiti in modo aspecifico, specifico o sotto forma di precipitati sulle superfici colloidali.

Nella fase solida del suolo i HM possono essere presenti come: a) precipitati, quali ossidi, idrossidi, carbonati, fosfati e, in ambiente riducente, solfuri; b) costituenti le strutture cristalline dei minerali; c) precipitati biologici, facenti parte del citoplasma di radici, microrganismi ed animali in genere.

La distribuzione dei HM nelle diverse fasi e forme è regolata da una serie complessa di equilibri. Le principali proprietà fisiche e chimiche di un metallo costituiscono una valida indicazione sul suo più probabile comportamento nel suolo.

FORME DEI METALLI PESANTI NEL SUOLO

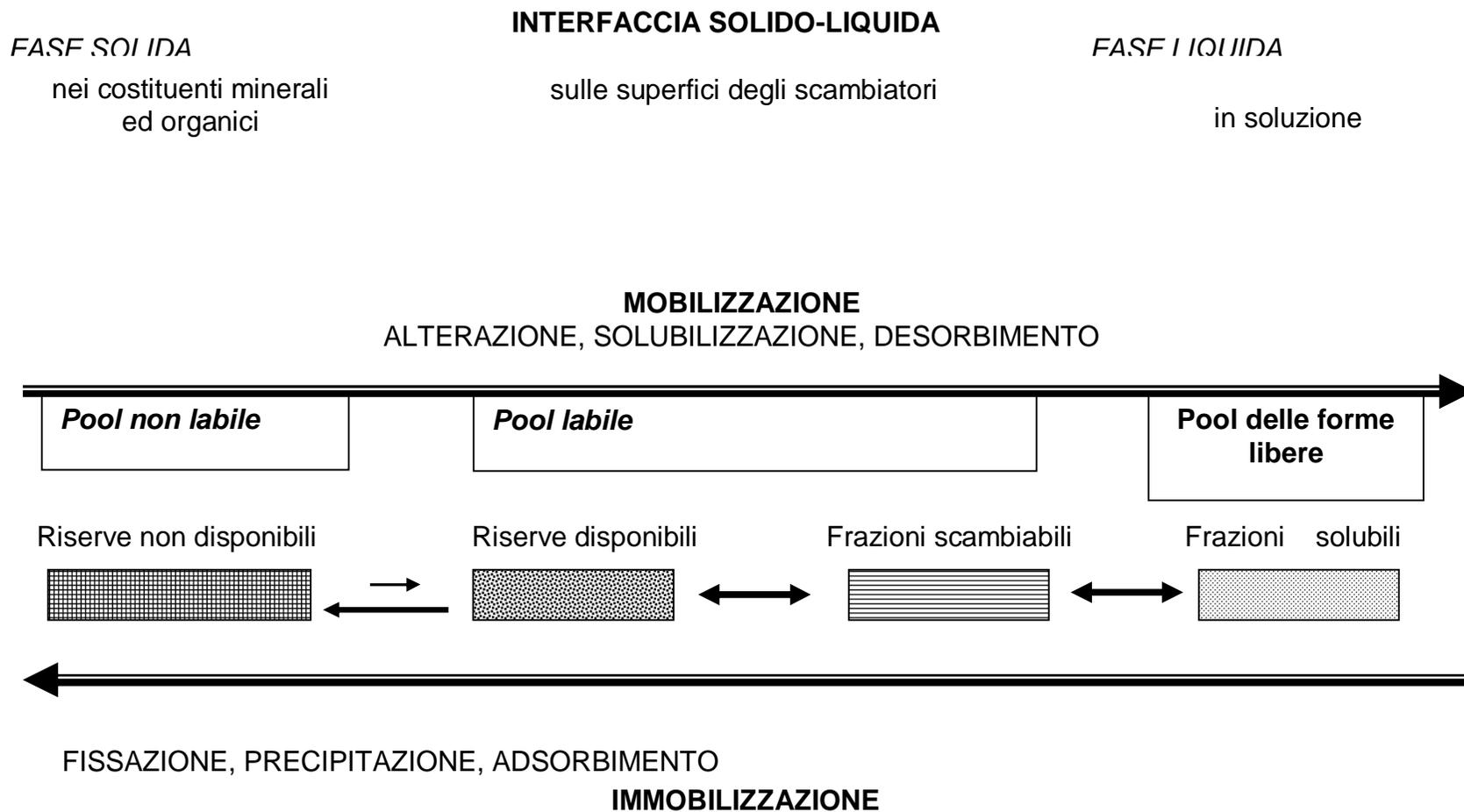


Figura 1.2.3 Forme dei metalli pesanti nel suolo e rispettive mobilità e disponibilità biologica (modificata da Violante, 2002).

- a. il raggio ionico e la valenza indicano la capacità di un elemento di sostituirsi ad altri elementi nelle diverse strutture cristalline e sulle superfici di adsorbimento;
- b. il potenziale ionico (carica/raggio), che è misura della densità di carica, prevede l'affinità dello ione metallico per le superfici cariche, affinità che, a sua volta, dà indicazione sulla forza con cui il metallo è trattenuto dalle superfici colloidali e sul suo potere flocculante;
- c. l'elettronegatività offre indicazioni sull'affinità del HM per gruppi amminici, imminici e solfidrilici della sostanza organica del suolo e sulla tendenza del metallo a formare derivati con radicali alchilici elettropositivi;
- d. il numero di coordinazione dello ione indica l'affinità per le strutture ottaedrica dei minerali ($n < 6$) o per la sostanza organica ($n > 6$);
- e. la tendenza a formare idrati, fosfati, carbonati e solfati e la stabilità di tali composti, a diversi pH e potenziali redox, forniscono utili dati sulla disponibilità del HM per le piante;
- f. la stabilità dei chelati del metallo è un ottimo indice della sua capacità di attraversare le membrane biologiche e del grado di tossicità dell'elemento.

La conoscenza delle proprietà fisiche e chimiche di un metallo e dei suoi composti non sono sempre sufficienti a spiegare il suo comportamento nel suolo, poiché questi è strettamente legato alle caratteristiche della pedosfera, sistema complesso, estremamente variabile nel tempo e nello spazio. La distribuzione dei HM nelle diverse fasi e forme dipende, in particolare, dal contenuto e dal tipo di costituenti di natura organica (sostanze umiche, essudati radicali ad alto e basso peso molecolare) ed inorganica (minerali argillosi, ossidi e idrossidi di Fe, Al e Mn, ioni fosfato e carbonato) presenti nel suolo, ed è regolata da diversi fattori, quali il pH, il potenziale di ossido-riduzione, il contenuto idrico, la temperatura, l'attività biologica delle piante e dei microrganismi, ecc.

- i. I componenti di natura organica presentano un'elevata affinità nei confronti degli ioni metallici, perché possiedono molti siti di scambio cationico e, soprattutto, perché presentano gruppi funzionali con cui i metalli formano complessi e chelati. Maggiore è il contenuto di sostanza organica di un suolo, minore è, generalmente, la mobilità dei HM. La stabilità di tali complessi e chelati, in genere, aumenta al crescere del pH, che favorisce la ionizzazione dei gruppi funzionali.
- ii. Le superfici cariche dei minerali argillosi presentano un'elevata capacità di adsorbimento degli ioni metallici. Le cariche negative delle superfici argillose

- possono essere di due tipi: 1) permanenti, dovute a sostituzioni isomorfe eterovalenti, e, quindi, indipendenti dal pH; 2) variabili e pH-dipendenti, presenti ai margini (bordi o spigoli) della struttura dei minerali argillosi. Nelle argille espandibili, i HM possono anche diffondere negli spazi interstrato, tra i foglietti di minerali quali illiti e smectiti, risultando, come tali, più difficilmente disponibili.
- iii. Ossidi e idrossidi di Fe, Mn e Al sono in grado sia di formare co-precipitati, sia di adsorbire cationi (tra cui Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni e Zn) ed anioni (tra cui As, V, Se, Cr, Mo) metallici. La carica di superficie di ossidi e idrossidi è di tipo variabile, o pH-dipendente. Essa varia in relazione al punto di carica zero (Pcz), valore di pH a cui la carica netta è pari a zero; a valori di pH maggiori del Pcz le superfici risultano cariche negativamente, mentre a valori di pH inferiori al Pcz esse sono cariche positivamente. Nel caso degli ossidi idrati, quanto maggiore è l'effetto polarizzante dello ione metallico sul legame covalente O-H, tanto più basso è il punto di carica zero delle superfici (Violante, 2002).
 - iv. Al diminuire del pH, la mobilità dei HM aumenta, sia a causa della diminuzione dei siti disponibili per l'adsorbimento (che vengono occupati dagli ioni H_3O^+), sia per effetto della protonazione degli anioni deboli, con conseguente spostamento dei cationi metallici nella fase liquida. Tale comportamento non è riferibile agli elementi, come il Cr (VI) ed il Mo (VI), che si trovano in fase liquida sotto forma di anioni complessi (CrO_4^{2-} e MoO_4^{2-}) che, al contrario, risultano meno solubili a valori di pH più bassi. All'aumentare del pH, in generale, la solubilità dei metalli pesanti diminuisce gradualmente, in seguito alla loro precipitazione come idrossidi, carbonati e fosfati e all'aumento della stabilità dei complessi formati con la sostanza organica. Poiché in forma di cationi idratati i HM sono facilmente assimilati dai sistemi biologici, un aumento di pH riduce drasticamente mobilità, assimilabilità e fitotossicità degli elementi.
 - v. Il potenziale di ossido-riduzione influenza la solubilità di ioni che hanno più stati di ossidazione, come, ad esempio, Cr e Cu. Condizioni riducenti nel suolo si hanno in ambiente anaerobico, in suoli soggetti a ristagni idrici, e sono favorite anche dal consumo di ossigeno da parte di microrganismi, mesofauna e radici di piante.
 - vi. L'attività biologica delle piante può modificare alcune proprietà, ad esempio il pH e il potenziale redox, della porzione di suolo in stretto contatto con l'apparato radicale (rizosfera). Ad esempio, la pianta può indurre, attraverso il rilascio di H^+ ed essudati radicali, un abbassamento del pH della rizosfera, quindi un incremento

della biodisponibilità dei HM (Romheld e Marschner, 1986). Gli essudati possono interagire direttamente con i HM, formando complessi o chelati, al fine sia di ridurle sia di aumentarne l'assimilabilità (Crowley et al., 1991)

- vii. La crescita radicale stimola la crescita microbica (Anderson, 1997). La microflora agisce nei riguardi dei HM sia indirettamente, attraverso la liberazione di sostanze organiche solubili che legano il metallo rendendolo biodisponibile (Salt et al., 1995), sia direttamente, mediante processi metabolici che ne modificano la forma chimica. Tali trasformazioni non sempre hanno effetti detossificanti, come nella riduzione delle forme pericolose Cr^{6+} , Pb^{2+} e Cd^{2+} (Park et al., 1999). Ad esempio, il Hg, in condizioni di anaerobiosi e a pH 7, viene metabolizzato da organismi specifici a mono e dimetilmercurio ed a fenilmercuriali, forme volatili e pertanto effimere, ma assai più tossiche della forma inorganica.

1.3 Monitoraggio dell'inquinamento da metalli pesanti del suolo

Fino agli inizi degli anni '90, la maggior parte degli studi effettuati su suoli inquinati da HM si è basata sulla determinazione del contenuto totale e sull'analisi della distribuzione spaziale dei metalli pesanti nel suolo. La determinazione del contenuto totale dei HM del suolo (alla luce dei valori di background), costituisce un valido criterio di accertamento della contaminazione ambientale, e unicamente di essa tiene conto la legislazione italiana attualmente vigente, nel porre dei valori limite per la concentrazione dei metalli pesanti nei suoli e nei sedimenti (paragrafo 1.3.1).

La determinazione del contenuto totale di HM del suolo, tuttavia, non fornisce informazioni sufficienti per la valutazione del reale impatto ambientale degli inquinanti e dei loro effetti potenziali sull'ecosistema. Infatti, il comportamento dei metalli pesanti nel suolo non è determinato dal loro contenuto totale, ma, piuttosto, è la forma sotto la quale essi sono presenti, che ne influenza la disponibilità biologica, la tossicità potenziale e la mobilità lungo il profilo (Brummer *et al.*, 1986; Broekaert *et al.*, 1990). Pertanto, per una più rigorosa definizione dell'inquinamento da HM, è indispensabile identificare e quantificare le forme in cui essi sono presenti nella pedosfera, mediante metodi specifici (paragrafi 1.3.2 e 1.3.3). In particolare, per comprendere i rischi della contaminazione da HM sugli organismi viventi, è necessario stimarne la biodisponibilità, cioè la frazione che interagisce effettivamente con i sistemi biologici (paragrafo 1.3.4)

1.3.1 Evoluzione della normativa nazionale in materia di bonifica del suolo

La legislazione nazionale italiana per la salvaguardia dei suoli dall'inquinamento è in buona parte risultato dell'adeguamento alla legislazione europea e ai parametri in essa fissati. L'Unione Europea, mediante l'emanazione di apposite "Direttive comunitarie", è intervenuta più volte su tale argomento, che rientra nelle materie fissate nel Trattato CEE istitutivo e nelle successive modificazioni.

L'Italia opera mediante una "legge comunitaria", che annualmente recepisce un certo numero di Direttive, delegando al Governo la disciplina specifica e particolareggiata, attraverso l'emanazione di appositi "Decreti legislativi". Essa, comunque, è sempre stata abbastanza lenta nel recepimento delle Direttive comunitarie che, hanno riguardato i campi d'intervento più vari quali, ad esempio, l'utilizzazione dei fanghi di depurazione in agricoltura, la gestione dei rifiuti, la messa in sicurezza, bonifica e ripristino ambientale dei siti inquinati.

Le prime disposizioni a livello nazionale in materia di bonifica di siti inquinati sono riconducibili a norme in tema di gestione dei rifiuti (DPR 915/82 e L. 441/87), di protezione delle acque dall'inquinamento (L. 132/92 e L. 133/92) e di lotta alle discariche abusive (L.549/95).

In particolare, riguardo all'inquinamento da HM, va ricordato il *D.Leg. 99/1992* sull'utilizzo dei fanghi di depurazione in agricoltura.

Il *D.Leg 99/1992* fissa: i) i valori limite per la concentrazione di HM nel suolo, in seguito all'utilizzazione di fanghi; ii) i valori limite di concentrazione di HM e di altri parametri dei fanghi, al momento del loro impiego in agricoltura; iii) le dosi massime di fanghi applicabili sul e/o nel suolo, in relazione a determinate sue caratteristiche, espresse in tonnellate di sostanza secca ad ettaro per triennio; iv) gli schemi di analisi di suolo e fanghi e le norme tecniche relative a raccolta, trasporto, stoccaggio, condizionamento e applicazione dei fanghi sul suolo.

Un importante sviluppo è rappresentato dal *Decreto Legislativo 5 febbraio 1997, n. 22* (Decreto Ronchi) "*Attuazione delle Direttive 91/156/CEE sui rifiuti, 91/689/CEE sui rifiuti pericolosi e 94/62/CE sugli imballaggi e sui rifiuti di imballaggio*", e successive modifiche e integrazioni (*D.L. 389/1997, e L. 426/1998*).

Tale legislazione, sebbene abbia costituito una svolta nel panorama legislativo italiano, affrontando per la prima volta in maniera organica il problema della gestione e bonifica dei siti inquinati, dando definizioni chiare e introducendo principi innovativi riguardo le responsabilità e gli obblighi dei vari soggetti, tuttavia colloca tale problema nell'ambito delle norme sulla gestione dei rifiuti e non, come avviene nella maggior parte delle normative europee, in quello della tutela del suolo.

All'articolo n.6, il Decreto Ronchi distingue tra interventi di *messa in sicurezza* e *bonifica*, intendendo, con il primo termine gli interventi di isolamento e contenimento della fonte inquinante rispetto alle matrici circostanti, e per *bonifica* gli interventi di rimozione della fonte inquinante e di quanto dalla stessa inquinato, fino al raggiungimento dei valori limite conformi all'utilizzo previsto per l'area, limiti che sono definiti tramite apposito decreto ministeriale.

All'articolo 17, il Decreto Ronchi esprime il rivoluzionario principio secondo il quale "*chiunque cagiona, anche in maniera accidentale, il superamento dei limiti ovvero determina un pericolo concreto ed attuale di superamento dei limiti medesimi, è tenuto a procedere a proprie spese agli interventi di messa in sicurezza, di bonifica e di ripristino*

ambientale delle aree inquinate e degli stessi impianti dai quali deriva il pericolo di inquinamento”.

Esso, inoltre, individua le procedure amministrative e gestionali da seguire negli interventi di messa in sicurezza e bonifica di nuovi e pregressi siti contaminati.

Nel classificare i rifiuti, secondo l’origine, come urbani e speciali e, secondo le caratteristiche di rischio, in pericolosi e no, include i HM ed i loro composti tra i rifiuti pericolosi. e come tali, da trattare.

Segue il *Decreto Ministeriale 25 ottobre 1999, n.471 “Regolamento recante criteri, procedure e modalità per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati, emanato in attuazione e ai sensi dell’articolo 17 del D.Lgs. 5 febbraio 1997, n.22 e successive modificazioni ed integrazioni”* .

Il Regolamento indica i limiti di accettabilità della contaminazione di suolo e sottosuolo, delle acque superficiali e delle acque sotterranee, in relazione alla specifica destinazione d’uso dei siti (uso residenziale, ricreativo o verde pubblico, oppure industriale e commerciale). Non sono stabiliti limiti tabellari per i suoli ad uso agricolo.

I valori di concentrazione delle sostanze inquinanti, da raggiungere con gli interventi di bonifica e di ripristino ambientale, devono essere uguali o inferiori ai valori di concentrazione limite ritenuti accettabili. Le concentrazioni da raggiungere, tuttavia, vengono riferite ai valori del fondo naturale nei casi in cui sia dimostrato che, nell’intorno non influenzato dalla contaminazione del sito, i valori di *background* risultano superiori a quelli indicati nel Regolamento. Nel caso di siti classificati come aree sensibili, invece, i valori di concentrazione da raggiungere possono essere più restrittivi di quelli fissati per legge.

Qualora i valori di concentrazione limite accettabili non possano essere raggiunti, nonostante l’applicazione, secondo i principi della normativa comunitaria, delle migliori tecnologie disponibili, a costi sopportabili, sono previste misure di sicurezza che, fissando limitazioni (temporanee o permanenti), o particolari modalità di utilizzo dell’area, garantiscano, comunque, la tutela ambientale e sanitaria.

Nell’allegato 3 del *D.M. 471/99* si invita a *“privilegiare le tecniche di bonifica tendenti a trattare e riutilizzare il suolo nel sito, trattamento in-situ ed on-site del suolo contaminato, con conseguente riduzione dei rischi derivanti dal trasporto e messa in discarica del terreno inquinato”*.

Il *D.M 471/99* rende attuativo l’obbligo di bonifica introdotto dall’ art. 17 del decreto Ronchi, dà le procedure di riferimento per il prelievo e l’analisi dei campioni, interventi di

bonifica e ripristino ambientale ed introduce i criteri per il censimento dei siti potenzialmente inquinati e dei siti da bonificare, e fissa l'ordine di priorità degli interventi, secondo i criteri di valutazione comparata del rischio, definiti dall'ANPA.

1.3.2 Metodologie di speciazione

L'accertamento della distribuzione quali-quantitativa dei HM tra fasi e forme diverse del suolo prevede l'impiego di metodi analitici di speciazione diretti e indiretti.

Le estrazioni chimiche sequenziali rappresentano il metodo analitico indiretto più comunemente impiegato nelle indagini finalizzate a definire la speciazione dei HM nel suolo. Esse si basano sull'impiego in successione di reagenti diversi, ciascuno dei quali, a contatto con il campione di suolo, porta in soluzione una frazione dei HM, ed è poi allontanato per essere sostituito dall'estraente successivo, più drastico nell'azione chimica o ad azione chimica differente.

Numerosi sono gli schemi di estrazioni chimiche sequenziali proposti ed utilizzati negli ultimi 25 anni (Tessier et al., 1979; Chao, 1983; Förstner, 1985; Clevenger, 1990; Ure et al., 1993.a). In particolare, lo schema proposto da Tessier et al. (1979) ha costituito la base di molte metodologie successive. I vari schemi estrattivi si differenziano sulla base del tipo e della concentrazione dei reattivi utilizzati, dei parametri operativi scelti (rapporto suolo/reattivo, pH, tipo, intensità e durata dell'agitazione, temperatura, ecc.), nonché per l'ordine secondo il quale gli estraenti vengono utilizzati. Sostanzialmente, i diversi schemi estrattivi proposti simulano, in maniera quanto più possibile vicina alle situazioni reali, le principali condizioni ambientali (pH, potenziale di ossidoriduzione) che influenzano i processi di solubilizzazione dei HM nel suolo. In tutti gli schemi di estrazione proposti, la mobilità dei metalli tende a diminuire con il procedere delle estrazioni, mentre aumenta la capacità estraente dei reagenti.

I metodi di estrazione chimica sequenziale non risultano sufficientemente selettivi. Le diverse forme di metalli pesanti estratte risultano, spesso, molto meno specifiche rispetto a quelle previste e, piuttosto, costituite da un insieme di forme differenti, alcune delle quali, in particolare nei suoli fortemente contaminati, del tutto inattese. Le frazioni dei HM separate sono *operationally defined fractions*, a sottolineare che esse sono strettamente dipendenti dal protocollo di estrazioni chimiche sequenziali utilizzato per la loro determinazione. E' possibile, inoltre, che, durante e dopo ciascuna estrazione, si verifichino processi di dissoluzione parziale, riadsorbimento e/o redistribuzione dei metalli

e, in genere, la riproducibilità dei risultati ottenuti in laboratori diversi, che utilizzano lo stesso protocollo di estrazioni chimiche sequenziali, risulta scarsa (Chloplecka, 1996).

Un altro problema fondamentale, legato all'elevato numero di procedure di estrazioni sequenziali esistenti, riguarda la difficoltà di effettuare confronti tra risultati ottenuti mediante l'uso di schemi estrattivi diversi tra loro. Per tale motivo, il BCR (*Community Bureau of Reference*, proposto dallo *Standard, Measurement and Testing Programme dell'European Commission*) ha definito una procedura di estrazioni sequenziali a tre *step* per lo studio della distribuzione dei HM in suoli e sedimenti (HOAc 0.11 M, NH₂OH-HCl 0.1 M, H₂O₂/ NH₄OAc 1 M). Tale procedura è stata attentamente studiata e protocollata (Ure et al., 1993.b) ed è attualmente l'unica procedura standardizzata, per la quale esiste un materiale di riferimento certificato (CRM 601), che consente di convalidare le prestazioni analitiche.

La procedura di estrazioni sequenziali della BCR è stata applicata con successo a diverse matrici, nonché a diverse tipologie di suolo e sedimenti (Ure e Davidson, 2002). Come altre estrazioni chimiche sequenziali, anche questa risente di un certo grado di non specificità e non è esente da processi di dissoluzione parziale, riadsorbimento e/o redistribuzione degli elementi durante l'estrazione. La scarsa riproducibilità dei risultati ottenuti nel secondo *step* è risultata uno dei principali fattori di variabilità dei risultati ottenuti (Davidson et al., 1999). Per ovviare a tale inconveniente, recentemente è stata apportata una modifica alla procedura iniziale, aumentando la concentrazione di idrossilamina cloridrato da 0.1 a 0.5 M ed è stato preparato un nuovo materiale di riferimento certificato (CRM 701) per la validazione dei risultati ottenuti col protocollo modificato (Puejo et al., 2001).

Nonostante i problemi elencati, le estrazioni chimiche sequenziali sono ampiamente utilizzate nello studio di suoli e sedimenti contaminati e costituiscono un utile approccio analitico per l'accertamento della disponibilità biologica dei metalli.

I metodi diretti di speciazione sono più difficoltosi da realizzare in quanto la definizione precisa delle forme presenti richiede l'impiego di metodologie analitiche e strumentali di elevata selettività e sensibilità. Con riferimento alle indagini finalizzate a definire la speciazione di HM nel suolo, la diffrattometria a raggi-X (XRD), la microscopia elettronica a scansione accoppiata all'uso della microsonda (SEM/EDS/WDS) e la spettroscopia FT-IR sono i metodi analitici diretti più comunemente impiegati. Essi forniscono informazioni estremamente precise, ma spesso solo qualitative, circa le forme

di HM presenti in quantità apprezzabili (Mattigod et al., 1986; Essington e Mattigod, 1991).

L'impiego combinato delle metodologie indirette e dirette di speciazione è condizione indispensabile per una più completa caratterizzazione dello stato dei metalli nel sistema suolo.

1.3.3 Procedure di estrazione chimica sequenziale

Uno schema di estrazione chimica sequenziale prevede, in genere, la separazione delle seguenti *operationally defined fractions*:

- frazione solubile e scambiabile
- frazione legata ai carbonati
- frazione legata agli ossidi di Mn
- frazione legata alla sostanza organica
- frazione legata agli ossidi di Al e Fe
- frazione residua

- La frazione solubile e scambiabile, come già detto (paragrafo 1.2.4) include gli elementi immediatamente disponibili, rappresentati dai HM presenti nella fase liquida del suolo (ioni semplici, o complessi e chelati solubili) e quelli disponibili in tempi brevi, rappresentati dai HM presenti sull'interfaccia solido-liquido, adsorbiti sulle superfici cariche degli scambiatori e facilmente accessibili. Come reattivi sono utilizzati le combinazioni di quasi tutti i cationi con Cl^- , NO_3^- o CH_3COO^- , a concentrazioni 0.05- 1 mol/l ed a pH neutro.

I rapporti reattivo/soilo variano da 4:1 a 100:1; i tempi di estrazione da 30' a 24 h. La capacità complessante i HM degli anioni aumenta nell'ordine: $\text{NO}_3^- < \text{Cl}^- < \text{CH}_3\text{COO}^-$, ma la loro selettività nei confronti delle forme solubili e scambiabili dei metalli diminuisce nello stesso ordine.

L'affinità dei cationi per la fase solida del suolo, quindi la capacità dei cationi di sostituire i metalli adsorbiti sulle superfici, aumenta con la valenza e al diminuire del raggio del catione idratato, nell'ordine: $\text{Li} < \text{Na} < \text{K} < \text{Mg} < \text{Ca} < \text{Ba}$. Calcio e Bario sono non solo i cationi più efficienti, ma anche i più selettivi nei confronti della frazione solubile e scambiabile dei metalli. Di contro essi risultano poco volatili e creano seri problemi di

interferenza durante la lettura allo spettrofotometro delle concentrazioni di Pb e altri elementi, richiedendo diluizioni non sempre compatibili con i limiti di risoluzione. Per tale ragione all'uso dei sali di Ca o Ba a basse concentrazioni (i.e. CaCl_2 o BaCl_2 , 0.1 mol/l), si affianca quello di sali più volatili a più alte concentrazioni (i.e. MgNO_3 o NH_4NO_3 , 1 mol/l).

In alcuni metodi di estrazioni chimiche sequenziali, i metalli solubili ed adsorbiti in modo aspecifico alle superfici sono distinti dai metalli adsorbiti in modo specifico, mediante l'uso, in successione, ad esempio, di NH_4Ac 1 mol/l (frazione solubile e adsorbita in modo aspecifico) e NH_4NO_3 1 mol/l (frazione adsorbita in modo specifico).

- La frazione dei HM legata ai carbonati è estratta mediante dissoluzione dei carbonati con acidi (i.e. HCl e HAc, a pH 3–3.5), soluzioni tampone (i.e. HAc/NaAc, a pH 5), o agenti complessanti a pH tamponato (i.e. Na_2EDTA , a pH 4.6).

- I HM associati agli ossidi di Mn sono sensibili ai cambiamenti di pH e di potenziale elettrico che possono verificarsi per effetto di variazioni del tutto comuni delle condizioni ambientali (i.e. inondazione o essiccamento). La frazione dei HM legata agli ossidi di Mn ha, quindi, un rilevante significato ecologico, poiché rappresenta una frazione “potenzialmente mobile” dei metalli. Essa deve essere separata (estratta prima) dalla frazione dei metalli associati agli ossidi di Al e Fe, molto meno reattiva. Gli estraenti utilizzati sono agenti riducenti. Il metodo proposto da Chao (1983) è ampiamente utilizzato poiché mostra elevata selettività per i HM associati agli ossidi di Mn e intacca poco quelli associati agli ossidi di Fe ed Al. Tale metodo prevede l'uso di 0.1 mol/l $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (modificata a 0.5 mol/l) in 0.01 mol/l HNO_3 .

- Per portare in soluzione gli HM associati alla sostanza organica sono possibili diversi approcci: (i) rilascio per ossidazione della sostanza organica (NaOCl , H_2O_2 , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{HNO}_3$, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NH}_4\text{Ac}$); (ii) rilascio per dissoluzione della sostanza organica (NaOH , NaOH/EDTA , $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$); (iii) rilascio per aggiunta di sostanze leganti i metalli (complessanti o chelanti) competitive con la sostanza organica, (EDTA , NH_4/EDTA , DTPA). Se i reattivi utilizzati agiscono a pH alcalini (i.e. NaOCl , $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, NaOH) i metalli rilasciati tendono a precipitare o ad essere riadsorbiti sulle superfici solide. Se distruggono la sostanza organica e le associazioni organo-minerali, creano nuove superfici che possono causare riadsorbimento dei metalli durante le estrazioni successive. Tutti i reattivi, comunque, risultano poco selettivi poiché dissolvono anche parte dei HM associati a ossidi di Mn (che devono, perciò, essere allontanati prima), e/o ossidi amorfi di Fe, e/o associazioni organo-minerali. Alcuni metodi di speciazione prevedono la suddivisione

della frazione dei metalli associata alla sostanza organica in sottofrazioni, a seconda del tipo di costituenti organici coinvolti.

- I HM legati agli ossidi di Al e di Fe possono essere distinti in metalli legati agli ossidi di Al e di Fe amorfi e in metalli legati agli ossidi di Al e di Fe cristallini. I primi sono generalmente rimossi mediante l'impiego, al buio, di soluzioni di $(\text{NH}_4)_2\text{C}_4\text{O}_4$ / $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, a concentrazioni variabili rispettivamente tra 0.113–0.2 mol/l e 0.087-0.2 mol/l, temperatura ambiente, pH acido (3-3.5) e soluzione/suolo (v/v) da 5:1 a 100:1. I tempi di contatto sono lunghi (3-48 h).

I metalli associati agli ossidi di Al e di Fe, tutti o, previo allontanamento della frazione legata agli ossidi amorfi, i metalli associati agli ossidi di Al e di Fe cristallini, sono rimossi mediante l'uso alla luce (VIS o UV) di soluzioni di $(\text{NH}_4)_2\text{C}_4\text{O}_4$ / $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, in alcuni casi disciolte in acido ascorbico 0.1 mol/l. Sono usate soluzioni a concentrazione 0.175/0.1 o 0.2/0.2 mol/l; temperature medio - alte (20-100°C), pH acido (3-3.5) e rapporto soluzione/suolo variabile da 10:1 a 50:1. I tempi di contatto sono tra 0.5 e 3 h.

Alcuni metodi propongono, in alternativa, di estrarre i metalli legati agli ossidi amorfi di Al e di Fe con il ditionito-citrato-bicarbonato (DCB), secondo il metodo di Mehra et al.(1960). Tuttavia, se il DCB è usato con successo come reattivo singolo per la separazione dei *free iron oxides*, il suo impiego in estrazioni sequenziali per la speciazione dei HM è fortemente limitato, innanzitutto perché il DCB non è reperibile come reattivo puro per l'analisi di HM; in secondo luogo perché, dovrebbe essere usato a pH acidi, condizione che determinerebbe la precipitazione dei composti dello zolfo con il Fe e con gli altri metalli.

- Un strumento per il controllo della qualità dei risultati delle analisi chimiche sequenziali si ottiene facendo seguire alle estrazioni, la digestione del materiale residuo mediante aggiunta di miscele di acidi concentrati, alta temperatura e pressione. Per ogni elemento, la somma delle frazioni dei metalli estratte in sequenza, inclusa la frazione residua, deve essere confrontabile (max +/-20%) con il contenuto di HM ottenuto mediante diretta mineralizzazione del campione di suolo.

Le fasi che precedono le analisi chimiche sequenziali, campionamento, preparazione e conservazione dei campioni di suolo, richiedono alcune osservazioni.

Riguardo la rappresentatività del materiale campionato, bisogna tener conto che nei suoli naturali la distribuzione dei metalli tra le diverse frazioni si può considerare più omogenea rispetto a quella dei suoli contaminati, in particolar modo industriali, dove la *speciazione*

differisce considerevolmente, nello spazio, al forte variare dei contenuti totali dei metalli e/o delle proprietà del suolo (pH, contenuto di sostanza organica, CEC, tessitura, composizione mineralogica, ecc), e nel tempo, per effetto oltre al mutare delle condizioni meteo, del diverso uso del suolo. Per i suoli contaminati è, quindi necessario un campionamento più dettagliato, in più punti e in più momenti.

I materiali campionati sono, generalmente, essiccati all'aria, mescolati, setacciati prima delle estrazioni chimiche.

I cambiamenti indotti sulla *speciazione* dei metalli dall'essiccamento del suolo (indispensabile per una facile manipolazione dei campioni) sono tuttora poco chiari perché dipendono da numerosi fattori, quali l'elemento, le proprietà del suolo e l'umidità iniziale del campione. In generale sembra che l'essiccamento provochi una sovrastima della *mobilità* di Fe, Mn, Cu e Zn ed una sottostima della *mobilità* di Ca, Mg e K, e probabilmente, di Co, Ni e V.

Il mescolamento ed il setacciamento (finalizzati ad ottenere campioni omogenei e a migliorare la ripetibilità delle misure) alterano la struttura del suolo creando, ad esempio, nuove superfici di contatto tra le fasi solida e liquida, che accelerano le reazioni di adsorbimento e/o desorbimento dei metalli durante l'estrazione.

Durante la conservazione dei campioni, il potenziale redox del suolo può cambiare a seguito di incremento della superficie della sostanza organica, con effetti sulla speciazione di alcuni metalli, quali il Mn, i cui ossidi tendono a ridursi.

In alcuni casi, i suoli sono polverizzati prima delle estrazioni chimiche. Questa procedura causa la rottura fisica dei microaggregati, l'esposizione di nuove superfici all'azione degli estraenti, e potenzia a seconda dei casi il rilascio in soluzione dei metalli o il readsorbimento degli stessi durante le estrazioni.

1.3.4 Biodisponibilità di HM nel suolo

La pericolosità potenziale per gli organismi viventi che scaturisce dall'accumulo di metalli pesanti nel suolo dipende dalla loro capacità di muoversi e di interagire con la biosfera, ovvero dalla loro "biodisponibilità". La determinazione della "biodisponibilità" non è semplice. Occorre prima di tutto definire l'organismo "bersaglio". Esso può essere rappresentato dalla pianta, dai microrganismi del suolo, dagli animali, dall'uomo.

Le piante acquisiscono i HM attraverso le radici o – assai meno facilmente – per assorbimento fogliare. Dal suolo, le piante e i microrganismi, assorbono i HM presenti nella fase liquida.

Le diverse forme in cui i HM sono presenti nel suolo risultano, più o meno solubili e, quindi, più o meno disponibili per piante e microrganismi del suolo. In base alla loro solubilità/disponibilità, esse possono essere raggruppate nelle seguenti frazioni (figura 1.2.3) (Violante, 2002):

- frazione solubile: elementi immediatamente disponibili rappresentati dai HM presenti nella fase liquida del suolo (ioni semplici o complessi e chelati solubili);
- frazione scambiabile: elementi facilmente disponibili in tempi brevi, rappresentati dai HM presenti sull'interfaccia solido-liquido, adsorbiti sulle superfici cariche degli scambiatori e facilmente accessibili;
- riserve disponibili: elementi moderatamente disponibili in tempi medi, rappresentati dai HM combinati in forme minerali ed organiche poco complesse, o adsorbiti in posizioni difficilmente accessibili;
- riserve non disponibili: elementi molto lentamente disponibili in tempi lunghi, rappresentati dai HM coinvolti nell'organizzazione strutturale di composti solidi inorganici ed organici notevolmente resistenti all'alterazione ed alla mineralizzazione

La frazione solubile coincide con il *pool delle forme libere*, la frazione scambiabile e le riserve disponibili definiscono il *pool labile*, le riserve non disponibili costituiscono il *pool non labile*. Mobilità e biodisponibilità aumentano passando dal pool delle forme libere al pool labile (figura 1.2.3).

A mano a mano che un elemento viene prelevato dalle piante e dai microrganismi e allontanato dalla fase liquida, esso viene reintegrato in conseguenza dell'equilibrio che si stabilisce tra i diversi *pool*, caratterizzati da diverso grado di disponibilità.

Le reazioni di solubilizzazione, desorbimento e mineralizzazione portano alla mobilitazione degli elementi in traccia, con conseguente aumento del *pool* delle forme libere. Al contrario, le reazioni di precipitazione, adsorbimento, organizzazione ed umificazione provocano un'immobilizzazione più o meno temporanea degli elementi nel *pool labile* e nel *pool non labile*.

Tra le diverse frazioni esiste, quindi, un equilibrio dinamico, che regola la tendenza e la velocità del suolo a reintegrare nella fase liquida gli elementi asportati o persi.

La disponibilità dei HM può essere valutata dall'analisi dei seguenti parametri (Violante, 2002):

- *intensità*: è espressione della mobilità degli elementi nel suolo e risulta definita, in prima approssimazione, dalla concentrazione nella fase liquida delle specie chimiche immediatamente disponibili per la pianta (*pool* delle forme libere);
- *quantità*: è la frazione di elementi associati ai costituenti del suolo in forme potenzialmente disponibili (*pool* labile);
- *capacità*: è la tendenza del suolo a reintegrare nella fase liquida gli elementi asportati dagli organismi ed è caratterizzata dalla dinamica degli equilibri tra *pool* delle forme libere e *pool* labile.

Una misura della biodisponibilità dei HM per le piante ed i microrganismi è basata sulla misurazione della concentrazione ionica della soluzione del suolo (FIAM – *Free Ion Concentration Model*). La soluzione del suolo si può ottenere in diversi modi: per spostamento dell'acqua con solventi organici, per centrifugazione ad alta velocità e per suzione (Knight et al., 1998).

Molto diffuso è, inoltre, l'uso di estrazioni chimiche selettive. Soluzioni diluite (10^{-2} - 10^{-1} M) di elettroliti neutri, acidi minerali ed organici sono impiegate al fine di riprodurre l'ambiente chimico della rizosfera prodotto dalla crescita della pianta, tenuto conto che i sali neutri esistono nella soluzione circolante del suolo e le radici rilasciano sostanze chelanti quali acidi bi e tricarbossilici (Romheld and Marschner, 1986). Una recente comparazione dei reagenti per la determinazione della frazione del Cd biodisponibile è stata fatta da Krishnamurti et al. (2000).

Il BCR ha recentemente definito due procedure standardizzate di estrazione chimica per lo studio della biodisponibilità dei metalli pesanti in suoli e sedimenti, oggi applicate a diverse matrici per valutarne l'efficacia. Esse prevedono l'utilizzo rispettivamente di EDTA (0,05 M a pH 7.00 ± 0.05), e HOAc (0.43 M) (Report EUR 19774 EN). E' stato anche preparato un materiale di riferimento certificato (BCR No 700), che consente di convalidare le prestazioni analitiche.

In tutti gli schemi di estrazione chimica sequenziale, la mobilità, e quindi anche la biodisponibilità, dei metalli tende a diminuire con il procedere delle estrazioni, mentre aumenta la capacità estraente dei reagenti. I metalli associati alle frazioni solubile, scambiabile, ai carbonati, agli ossidi di Mn ed alla sostanza organica sono a maggiore mobilità e più biodisponibili, mentre le forme legate agli ossidi di Fe e Al e al residuo sono più stabili e si mobilizzano solo in seguito ad eventi infausti come, ad esempio, forte

acidificazione o sommersione del suolo. Nel suolo, anche queste forme poco mobili possono migrare verso gli strati profondi del profilo in associazione con le particelle più fini in sospensione.

Diversi studi hanno, tuttavia, dimostrato l'incongruenza della frazione biodisponibile stimata mediante le estrazioni chimiche sequenziali e non con i dati ottenuti dallo studio delle comunità vegetali presenti sui siti contaminati, relativi alla concentrazione dei metalli nei tessuti vegetali (Welch, 1995; Dudka et al., 1995, 1996; Ernst, 1996; Cobb et al., 2000; Gimmler et al., 2002; Stoltz and Greger, 2002).

La biodisponibilità dei HM nel suolo può, infine, essere stimata anche mediante l'uso di biosensori, ovvero di microrganismi naturalmente luminescenti (Paton et al., 1995) o microrganismi geneticamente modificati per emettere luce in presenza di metalli pesanti biodisponibili (Paton et al., 1997; Corbisier et al., 1999) oppure di enzimi selettivamente inibiti dai metalli pesanti (Bitton et al., 1994).

Grandi sforzi si stanno compiendo per tentare di avere misure della biodisponibilità dei HM per piante e microrganismi del suolo, di tipo "dinamico", per avere, cioè, informazioni significative sulla velocità di reintegrazione delle diverse specie ioniche e sul valore del rapporto dei parametri intensità/quantità.

1.4 La gestione dei siti contaminati da metalli pesanti

1.4.1 Interventi di riqualificazione

L'inquinamento del suolo dovuto all'accumulo di metalli pesanti sta progressivamente aumentando (EPA, 2000).

Per lungo tempo si è ritenuto che il suolo avesse la capacità di trattenere le sostanze inquinanti, tamponandone e impedendone gli effetti negativi. Purtroppo, nel tempo si sta manifestando, con il crescente accumulo di metalli pesanti, un deterioramento chimico e biologico progressivo e difficilmente reversibile del suolo. La diminuzione della fertilità, della biomassa microbica e della diversità biologica della microflora, dell'attività enzimatica, della fissazione dell'azoto, della capacità del suolo di mineralizzare molecole organiche complesse e fitofarmaci rappresentano alcune delle più importanti problematiche ambientali attuali. La necessità di pianificare interventi rapidi di recupero di suoli contaminati è anche in relazione al fatto che i metalli di recente deposizione si trovano in genere in *pool* chimici labili, che sono allo stesso tempo quelli più mobili e più pericolosi per l'ambiente e quelli più facilmente asportabili con interventi di bonifica.

L'urgente necessità di decontaminare vaste porzioni di territorio è però rallentata e contrastata dal costo elevatissimo delle tecniche attualmente disponibili, normalmente di tipo chimico-ingegneristico, che risultano essere anche invasive e fonte di profonde alterazioni chimiche, fisiche e biologiche per i substrati oggetto di bonifica e, quindi, in forte contrasto con le indicazioni date dalla normativa nazionale vigente.

Per ovviare a questi problemi, la ricerca si è indirizzata verso lo sviluppo di alternative più economiche e rispettose dell'ambiente; un esempio è dato dalla biorimediazione microbica, la quale pur vantando alcuni successi nella degradazione di contaminanti organici non fornisce alcuna soluzione per la decontaminazione da metalli pesanti. Viceversa una tecnologia innovativa, affidabile, ecosostenibile ed applicabile su larga scala è rappresentata dalla fitorimediazione.

Il termine di fitorimediazione è relativamente nuovo: coniato nel 1991, raggruppa al suo interno una serie di tecniche che utilizzano la capacità di cui sono dotate alcune piante, di assorbire, rimuovere, degradare o rendere innocui metalli pesanti e/o inquinanti organici (Cunningham e Berti, 1993; EPA, 2000). Spesso la fitorimediazione è il risultato dell'azione simultanea dell'apparato radicale e dei microrganismi del suolo che si trovano a suo stretto contatto e che possono ottimizzare l'interazione della radice con i contaminanti e aumentare quindi, la capacità d'azione della pianta stessa.

La fitorimediazione è una tecnica di riqualificazione eseguita *in situ* senza bisogno di rimuovere e trasportare porzioni di suolo; inoltre, la presenza sul posto di specie vegetali accresce e migliora le caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche del suolo con vantaggi sia di tipo ecologico che economici.

1.4.2 Fitorimediazione: aspetti generali

Non tutte le piante sono in grado di vivere su suoli contaminati da HM. In natura esistono sia piante sensibili, assenti su substrati contaminati, sia piante, tra cui molte specie endemiche di aree minerarie, che vivono quasi esclusivamente in suoli ricchi di metalli pesanti, sia piante meno vincolate al contenuto di HM del suolo.

Su suoli ricchi di HM le piante possono “tenere all’esterno” il contaminante, quindi non assorbirlo, espellerlo, o accumularlo nella radice senza traslocarlo nella parte epigea. Tali piante sono caratterizzate da concentrazioni di HM nei germogli molto più basse di quelle presenti nel suolo. Per tale motivo esse sono definite *excluders* o non accumulatrici. Una misura della capacità di accumulo, è rappresentata dal fattore di bioconcentrazione o bioaccumulo (*BF*), cioè il rapporto fra la concentrazione dei HM nei tessuti vegetali e nel suolo sottostante (Kovalevsky, 1969). Per gli *excluders* il fattore di bioconcentrazione è necessariamente minore di 1, e risulta spesso molto più basso dell’unità. In base alla classificazione di Perelman (1966) si può distinguere l’assorbimento delle non accumulatrici in: molto debole ($0.001 < BF < 0.01$), debole ($0.01 < BF < 0.1$) o intermedio ($0.1 < BF < 1$). Altra caratteristica delle non accumulatrici è un rapporto delle concentrazioni del metallo nella parte epigea e nella radice (fattore di traslocazione *TF*), di inferiore ad 1.

Meccanismi di esclusione sono frequenti per elementi quali il Pb, il Cr, il Cu, spesso confinati dalle piante nelle radici (Blaylock and Huang, 1999).

Altre piante possono “tollerare” i contaminanti attraverso un’azione di prevenzione (detossificazione, precipitazione, compartimentalizzazione, sviluppo di enzimi resistenti all’azione nociva, ecc.) dell’effetto nocivo o di riparazione del danno (Lasat, 2002).

Alcune di queste piante “tolleranti” mostrano scarso controllo dell’assorbimento dei HM e sono caratterizzate da concentrazioni dei metalli nei tessuti vegetali che riflettono quelle del suolo. Sono dette “*indicatrici*”, perchè con la loro presenza o con determinati cambiamenti morfofisiologici, dipendenti dall’abbondanza di uno o più elementi, forniscono informazioni sull’ambiente in cui vivono (Raskin et al., 1994).

Altre piante “tolleranti”, invece, hanno processi di assorbimento dei HM molto efficienti ed accumulano nei tessuti vegetali epigei una quantità di HM superiore ai contenuti medi di HM della vegetazione circostante e del suolo su cui crescono. Esse sono definite “*accumulatrici*”. Particolarmente interessanti sono poi le specie dette “*iperaccumulatrici*”, che mostrano una ancora maggiore efficienza dei processi di assimilazione e di detossificazione dei HM (Lasat 2002; Salt et al., 1999), ed una conseguente straordinaria capacità di accumulo di HM nei germogli. Sono stati stabiliti valori di soglia delle concentrazioni (mg/kg sostanza secca) dei metalli nei tessuti vegetali per definire una pianta “iperaccumulatrice”: Zn e Mn: 10000; Co, Cu, Ni, As: 1000; Cd: 100. Queste concentrazioni sono maggiori di 2 o 3 ordini di grandezza delle concentrazioni che si trovano in piante che crescono su suoli non contaminati.

Per gli iperaccumulatori il fattore di bioaccumulo è necessariamente più elevato di 1, e raggiunge in alcuni casi valori di 50-100. Secondo la classificazione di Perelman (1966) tali valori corrispondono ad assorbimenti intermedi ($1 < BF < 10$) e intensivi ($10 < BF < 100$). Altra caratteristica degli iperaccumulatori è un rapporto delle concentrazioni del metallo nella parte epigea e nella radice (*TF*), maggiore di 1.

Accumulo e iperaccumulo sono fenomeni più di frequente osservati per lo Zn, il Cd ed il Ni.

1.4.3 Tecniche di fitorimediazione

La fitorimediazione è un insieme di tecniche specifiche che si differenziano tra loro in funzione della matrice ambientale interessata (suoli, sedimenti, fanghi, acque), del tipo di inquinante bersaglio (metalli pesanti e/o sostanze organiche), dell'azione decontaminante svolta (estrazione, degradazione, contenimento).

Le tecniche di fitorimediazione più importanti nel trattamento di suoli contaminati da HM sono la fitoestrazione (estrazione) e la fitostabilizzazione (contenimento).

Fitoestrazione – Utilizza specie vegetali efficienti nell'assorbire gli inquinanti dal suolo per concentrarli nella parte epigea della pianta (specie accumulatrici, e soprattutto, iperaccumulatrici).

Il concetto di impiegare specie vegetali per depurare l'ambiente non è di nuova introduzione. Circa 300 anni fa, infatti, fu proposto di utilizzare le piante per il trattamento di acque contaminate (Hartman, 1975), mentre all'inizio del XIX secolo iniziarono i primi studi sull'accumulo di metalli pesanti nelle foglie di *Thlaspi caerulescens L.* e *Viola*

calaminaria (DC.) Lej (Baumann, 1885). Studi analoghi negli anni successivi hanno portato all'identificazione di altre specie iperaccumulatrici, di Ni, Zn e Cd.

L'idea di utilizzare le piante in tecniche di bonifica e decontaminazione ambientale è stata ripresa da Brummer (1986), il primo esperimento di fitoestrazione è stato condotto nel 1991 (Baker et al.).

Fino ad oggi sono stati individuati circa 400 *taxa* vegetali in grado di crescere ed accumulare diversi generi di inquinanti (Baker et al., 2000), la maggior parte di questi sono di tipo erbaceo e provengono da zone caratterizzate da climi tropicali e subtropicali, essendo così limitante nella diffusione degli areali con climi diversi da quelli di origine.

La rimozione del contaminante dall'ambiente avviene asportando la parte epigea della pianta. Si riduce così la quantità di biomassa da trattare con una concentrazione del metallo molto più elevata rispetto a quella del suolo.

Alcune ricerche hanno evidenziato come la biomassa ottenuta possa diventare una risorsa: piante con elevata concentrazione di Se, elemento essenziale nella nutrizione, possono essere trasportate in aree dove questo elemento è deficitario e utilizzate per il foraggiamento degli animali (Bañuelos et al., 1997).

I principali svantaggi della fitoestrazione sono:

- Non sono state individuate specie iperaccumulatrici per tutti i HM (ad esempio, nessuna per il Pb) e, comunque, le iperaccumulatrici individuate sono generalmente piante di piccole dimensioni, a lenta crescita e con apparato radicale superficiale. L'utilizzo, per ovviare a questi problemi, di piante non accumulatrici caratterizzate da produzione di elevate biomasse (Ebbs et al., 1997), non è considerato da tutti una soluzione praticabile (Chaney et al., 1999).
- la biomassa delle piante asportata, è spesso stoccata come rifiuto speciale e non trattata per il recupero del metallo; il problema quindi viene trasferito e non risolto (anche se le ceneri ottenute dal materiale vegetale contaminato possiedono un volume di stoccaggio contenuto);
- la frazione biodisponibile dei HM può essere troppo bassa e può essere ulteriormente ridotta dai fertilizzanti e dagli ammendanti aggiunti al suolo per favorire la crescita vegetale (Chaney et al., 2000). L'uso di chelanti (EDTA, HEDTA) o l'acidificazione del suolo per aumentarla, possono causare effetti fitotossici o lisciviazione dei HM.
- i metalli possono avere effetti fitotossici (Nanda Kumar et al., 1995);

- i coefficienti di fitoestrazione ottenuti in laboratorio sono spesso superiori a quelli ottenuti in prove di pieno campo (Nanda Kumar et al., 1995).

Fitostabilizzazione – Quando i livelli di contaminazione da HM del suolo risultano essere non elevati, ovvero i metalli sono presenti in forme non biodisponibili o poco mobili è possibile la messa in sicurezza dei siti contaminati mediante la tecnica di fitorimediazione nota come “fitostabilizzazione” o “rivegetazione” (Smith e Bradshaw, 1979).

Tale tecnica di fitorimediazione consiste nell’insediamento di un ecosistema provvisto di copertura vegetale permanente che può promuovere l’immobilizzazione dei contaminanti presenti nel suolo attraverso:

- l’assorbimento e l’accumulo nelle radici;
- l’adsorbimento sulle radici;
- la precipitazione nella rizosfera.

La mobilità e biodisponibilità dei HM risultano essere ridotte per effetto di un minore trasferimento dei contaminanti per erosione, lisciviazione, ecc. (Vangronsveld et al., 1995; Wong, 2003; Ernst, 2005).

Nel lungo periodo la rivegetazione può, anche, migliorare le caratteristiche chimiche, fisiche e biologiche di suoli fortemente degradati dall’attività antropica, incrementandone il contenuto di sostanza organica, il livello di nutrienti, la capacità di scambio cationico, l’attività biologica e la disponibilità idrica. Questi miglioramenti fisici, chimici e biologici possono favorire nel tempo lo stabilirsi di un ciclo dei nutrienti e di un ecosistema in grado di autosostenersi, e reintegrare l’area interessata ad uno stato stabile accettabile tale da consentire, eventualmente, un uso produttivo del suolo (Norland e Veith, 1995).

La fitostabilizzazione utilizza necessariamente piante “non accumulatrici”, caratterizzate da crescita rapida dell’apparato radicale sia in senso verticale che longitudinale in modo da assicurare un’ampia esplorazione del suolo.

Varie piante erbacee perenni sono in via di sperimentazione per la fitostabilizzazione di suoli contaminati da Pb, Cd, Zn, As, Cu, Cr, Se e U (EPA, 2000). Alcuni alberi, ad esempio i pioppi, si sono rivelati capaci di immobilizzare l’As bloccandolo nel suolo senza traslocarlo nelle foglie (Pierzynsky et al., 1994). Grande interesse suscita l’uso delle piante che crescono spontaneamente sui siti contaminati.

Altre tecniche - Nella rizofiltrazione le radici della pianta assorbono e/o adsorbono inquinanti, principalmente metalli, da acque inquinate e fanghi; possono o meno traslocarli, in ogni caso li sequestrano dall'ambiente.

Le altre tecniche di fitorimediazione sono utilizzate nel trattamento di suoli, sedimenti, fanghi e acque contaminati da sostanze organiche.

Fitodegradazione, fitovolatilizzazione e rizodegradazione comportano la degradazione di contaminanti organici in sottoprodotti non pericolosi, ad opera di processi metabolici della pianta stessa (fitodegradazione e fitovolatilizzazione), e all'esterno della pianta ad opera di essudati radicali e prodotti del metabolismo microbicoi (rizodegradazione). Nella fitovolatilizzazione il contaminante organico è degradato in uno o più metaboliti volatili, che rilasciati nell'atmosfera, esposti agli agenti meteorici, sono totalmente degradati.

Nella fitodegradazione i contaminanti organici devono essere molto solubili, come ad esempio l'atrazina (Burken e Schnoor 1997) ed il DDT (Komossa et al., 1995). Un'esempio di fitovolatilizzazione consiste nell'utilizzo degli ibridi di pioppo per la decontaminazione da TCE (Newman et al., l.c.). La rizodegradazione ha dato ottimi risultati con idrocarburi (TPH), policiclici aromatici (PAHs), benzene, ecc (Schwab, 1998; Ferro et al., 1994; Jordahl et al., 1997; Anderson et al., 1994).

2. SCOPO DEL LAVORO

Il lavoro di tesi svolto è sostanzialmente finalizzato alla valutazione della possibilità che suoli fortemente contaminati da metalli pesanti, ma in cui tali inquinanti sono caratterizzati da una scarsa mobilità, possano essere riqualificati mediante rivegetazione spontanea o orientata, cioè attraverso l'insediamento di un ecosistema capace di autosostenersi e provvisto di copertura vegetale permanente.

Particolare attenzione è stata rivolta all'accertamento dell'influenza della crescita vegetale sulla speciazione, biodisponibilità e mobilità dei contaminanti nonché sulle proprietà del suolo che maggiormente ne condizionano il destino, mediante l'impiego di un approccio metodologico basato su procedure di estrazione chimica selettiva ed analisi di tessuti vegetali.

Per il raggiungimento di tali obiettivi, le indagini hanno avuto come oggetto i suoli contaminati da metalli pesanti dell'area destinata al deposito di minerali ferrosi e altre materie prime utilizzate per la produzione di acciaio, del sito industriale dismesso ILVA di Bagnoli (Napoli, Italia).

Aspetti particolari del lavoro risultano: (i) la valutazione della possibilità di uso di specie vegetali spontanee per rivegetare il suolo in pre e post bonifica *in situ*; (ii) l'individuazione di differenti modalità di ridistribuzione geochimica dei contaminanti in presenza ed in assenza di una copertura vegetale; (iii) l'impiego complementare di metodologie chimiche e strumentali di definizione dei costituenti minerali ed organici del suolo.

Tenuto conto del ruolo, inoltre, che le sostanze umiche ed i minerali di ferro svolgono nel condizionare la capacità di ritenzione di HM da parte del suolo (Krishnamurti & Huang, 1991), e alla luce delle elevate quantità di minerali del ferro presenti nei suoli studiati e dell'incremento di sostanza organica indotto dalla crescita vegetale, la sperimentazione ha anche riguardato lo studio a diversi valori di pH dell'influenza di acidi umici (HA), sulla formazione di ossidi/idrossidi di Fe. Le analisi sono state condotte su precipitati del ferro ottenuti da miscele acquose di acidi umici [HA] e ferro ferroso [Fe(II)] preparate nell'ambito di una sperimentazione svolta nel 1996 (Adamo et al., 1998).

3. AREA DI STUDIO

3.1 *Inquadramento generale*

3.1.1 *Posizione geografica e caratteristiche climatiche*

I suoli oggetto delle indagini condotte sono quelli del sito industriale dismesso ILVA di Bagnoli.

Il sito è localizzato a circa 10 km a W-NW della città di Napoli (Campania, Italia), nella piana di Bagnoli – Fuorigrotta.

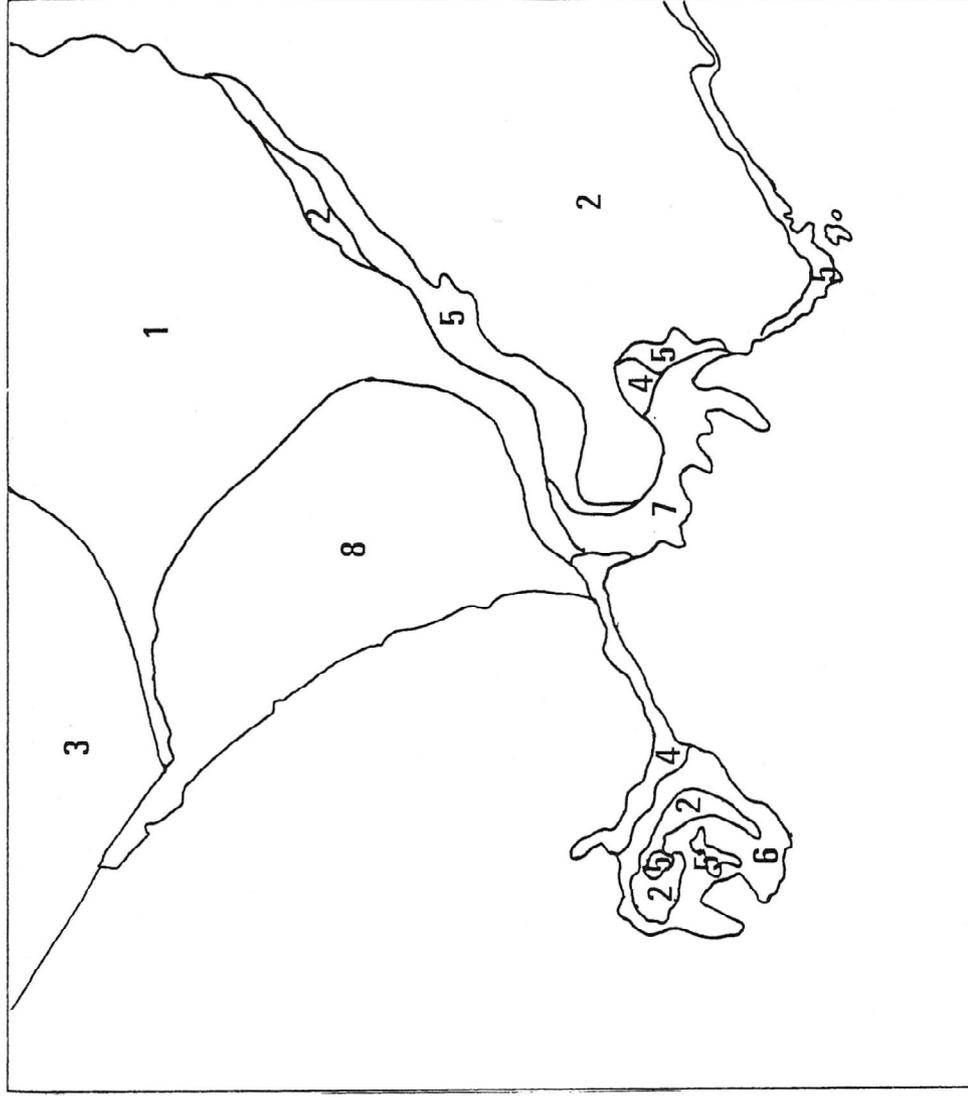
La pianura si estende da nord-est a sud-ovest tra i monti Ruspino, Spina, S. Angelo, il colle S. Domenico e l'altura della Canzanella, a N-NO, la collina di Posillipo a S-SE, lo scoglio del Lazzaretto e l'isola di Nisida a SO, ed il mare ad O.

L'andamento climatico è quello tipico mediterraneo. Esso è caratterizzato da inverni con temperature miti, raramente sotto i 3-4 °C, e precipitazioni abbondanti. Il mese invernale più freddo è gennaio; quello più piovoso è il mese di novembre. Le estati sono calde e asciutte. Il mese estivo più caldo è agosto, mentre luglio è il meno piovoso.

3.1.2 *Caratteristiche geo-morfologiche e pedologiche*

La pianura di Fuorigrotta - Bagnoli ha avuto origine e si è modellata sotto l'effetto dell'attività vulcano-tettonica del sistema vulcanico dei Campi Flegrei, di cui è parte integrante.

L'attività eruttiva dei Campi Flegrei ha avuto inizio circa 33.000 anni fa con la formazione di uno strato-vulcano (detto "archiflegreo"), cui si devono i cosiddetti "tufi grigi" della Campania. Si ritiene (Russo et al, 1998) che la piana di Bagnoli-Fuorigrotta si sia formata insieme a diversi edifici (Miliscola, Soccavo, Capo Miseno, Bacoli, Gerolomini, Chiaia), circa 12.000 anni fa, in seguito a collasso dell'archiflegreo che ha generato una caldera di circa 14 km di diametro e all'emissione di prodotti piroclastici noti come "piperno", "breccia museo" e "tufi gialli napoletani". La piana avrebbe gradualmente assunto la fisionomia attuale sotto la spinta della successiva attività vulcano-tettonica, ad esempio, legata alla formazione dei crateri di Baia, Solfatara, Averno, Astroni (2000 a.C.), Agnano, Cigliano (1500 a.C) e del Monte Nuovo (1538). Da circa 2000 anni la piana è interessata solo da fenomeni bradisismici, di lento sprofondamento o innalzamento della crosta terrestre.



- 1 Depositi fluviali, colluviali e torrentizi, detriti di versante e cumuli di frana, caratterizzati da notevole rimaneggiamento.
- 2 Paleosuoli intercalati a stratificazioni di ceneri e pomici di origine piroclastica.
- 3 Stratificazioni di ceneri e cineriti, su pomici e lapilli accrezionati.
- 4 Materiale di riporto di origine antropica, scavato di cava.
- 5 Tufo giallo napoletano, con pomici e frammenti litici distribuiti caoticamente nella matrice cineritica, in facies litoide di colore giallastro, localmente fratturato.
- 6 Tufi gialli stratificati, contenenti pomici e scorie, con locali facies semilitoidi.
- 7 Tufi antichi costituiti da intercalazione di tufi litoidei e semilitoidi stratificati e massivi.
- 8 Sabbie e limi di ambiente litorale, sepolti da depositi più recenti.

Figura 3.1.2 Caratteristiche geo-morfologiche e pedologiche dell'area di studio

La litologia dell'area di Fuorigrotta e Bagnoli è caratterizzata dalla presenza di vulcaniti plioceniche e pleistoceniche (tufi grigi, tufi gialli napoletani, piperno, breccia museo, pomici, ceneri e lapilli stratificati e non) prodotte dalle eruzioni dei Campi Flegrei, e in parte, del Somma-Vesuvio. Lungo i rilievi che la delimitano tali materiali affiorano. Nella zona di pianura i prodotti piroclastici si approfondiscono e in superficie o in prossimità delle pendici collinari e nelle aree interessate dall'opera di bonifica a colmata realizzata dai Borboni intorno al 1800, si rinvengono depositi fluviali, colluviali e torrentizi, detriti di versante e cumuli di frana fortemente rimaneggiati. Lungo il litorale si concentrano sabbie e limi (figura 3.1.2).

I suoli del sito siderurgico dismesso ILVA di Bagnoli a causa dell'intenso disturbo antropico presentano caratteristiche morfologiche particolari (paragrafo 3.2.3), diverse rispetto a quelle dei suoli naturali circostanti, e riscontrabili, in misura più o meno accentuata, in tutti i suoli di siti industriali. Le stratificazioni di materie prime e di scorie dell'attività siderurgica, la natura particolare dei materiali di origine industriale e le conseguenti proprietà e caratteristiche dei profili, scarsamente differenziati pedologicamente, ha suggerito per la classificazione di tali suoli, la creazione nell'ordine degli Entisuoli (secondo la classificazione della Soil Taxonomy) di un sottogruppo ad hoc, il "foundric xeronthents" (Buondonno et al. 1998).

3.1.3 Storia dell'insediamento industriale

La pianura di Bagnoli, prima di essere trasformata in area industriale, era occupata da seminativi nudi ed arborati e da viti maritate a pioppo. Lungo la spiaggia, inoltre, erano presenti dei bagni termali.

Il suo destino industriale si delinea nella metà dell'ottocento, quando il golfo di Napoli, da Pozzuoli a Castellammare viene scelto, ad opera soprattutto di stranieri, come luogo privilegiato per l'insediamento di manufatti industriali. In ritardo rispetto al resto dell'Europa, ma certamente in anticipo sulle altre regioni italiane, Napoli ha visto nascere ad est ed ad ovest zone industriali urbane già durante il regno dei Borboni, tra il 1830 ed il 1859.

Si riportano, di seguito, le tappe fondamentali dell'evoluzione dell'insediamento e dell'attività industriale nell'area (Bagnolifutura, 2006).

1853: sulla spiaggia di Bagnoli si insedia l'industria di Ernesto Lefèvre conte di Balzorano, più a nord sempre sulla spiaggia, sorge la vetreria Melchiorre Bournique.

1901: viene istituita una commissione per individuare le misure più opportune per favorire la crescita nella città di Napoli di un tessuto industriale moderno. Tra i più impegnati sostenitori della grande industria, Francesco Saverio Nitti vince la sua battaglia nel 1904 quando viene approvata la legge speciale per Napoli: Legge Granturco.

1905: (01 febbraio) viene fondata a Genova, la società ILVA per la costruzione dello stabilimento di Bagnoli, sfruttando le opportunità derivanti dalla legge per la rinascita della città di Napoli (ILVA deriva dall'antica denominazione che i liguri attribuirono all'isola d'Elba). In essa confluirono: Società Siderurgica di Savona, Società Ligure Metallurgica, Società degli Altiforni, Fonderie ed Acciaierie di Terni. Nello stesso anno inizia la costruzione dell'impianto siderurgico su una superficie di 120 ha.

1908: l'industria chimica Lefèvre già rilevata alla fine dell'ottocento dalla società Colla e Concimi, passa alla Montecatini che installa una linea di produzione di solfato di rame, acido solforico e fertilizzanti fosfatici.

1910: (19 giugno) si inaugura lo stabilimento ILVA di Bagnoli dotato di due batterie di forni a coke, tre altiforni da 250 ton/giorno, cinque forni Martin-Siemens da 50 ton., un reparto di laminazione composto da un *blooming* e due laminatoi per billette e profilati grossi e medi.

1917-1919: gli eventi bellici incrementano fortemente la produzione di acciaio degli stabilimenti napoletani: ILVA, Pattison, Bacini e Scali; lo stabilimento ILVA, ampliato e migliorato nel 1918 occupa circa 4.000 operai.

1920: la crisi postbellica determina prima la diminuzione della produzione, poi vengono fermati gli impianti; l' ILVA resta ferma fino al 1924.

1925: riprendono le assunzioni del personale ed iniziano i lavori per rimettere in attività gli impianti. La produzione però è effettuata in modo quasi artigianale e con gli impianti originari fino alle soglie degli anni '30.

1927: nei confini ILVA sorge la prima fabbrica italiana di cementi per l'utilizzo delle loppe d'altoforno (Società Cementiere Litoranee). Si amplia lo stabilimento di prodotti chimici della "Soc. Marchigiana Prodotti Chimici" (ex Lefevre, in seguito Montecatini e poi Montedison).

1933: anno di costituzione della I.R.I. Vengono ricostruiti i forni a coke e gli altiforni ed iniziano i lavori di ampliamento dello stabilimento per aumentarne la produzione.

1936: Bagnoli si arricchisce di una nuova industria, iniziano i lavori per la costruzione dello stabilimento Eternit, per la produzione di manufatti in cemento amianto. I lavori termineranno due anni dopo.

1937: viene fondata a Roma nell'ambito I.R.I. la Soc. finanziaria siderurgica Finsider con l'obiettivo di salvare le industrie del settore sull'orlo del fallimento dopo la crisi del 1929 e di favorire la crescita dei due grandi centri siderurgici a ciclo integrale (Bagnoli e Piombino).

1939: si attua una completa trasformazione e completamento dello stabilimento ILVA Bagnoli. La trasformazione più importante dal punto di vista tecnologico e produttivo, è la costruzione di un'acciaieria Thomas, che inizia a funzionare nel 1941.

1943: le truppe tedesche in ritirata distruggono ciò che era sopravvissuto ai bombardamenti anglo-americani apportando danni pari ad un quarto del valore totale degli impianti, causando pertanto la fermata della produzione. Stessa sorte tocca agli stabilimenti: Eternit, alla Cementeria e al porto di Napoli

1946: riprende, anche se in scala ridotta, il ciclo completo delle attività, ma solo nel 1951, con il rientro in esercizio dell'acciaieria Thomas, si raggiunge la capacità produttiva d'anteguerra.

1952: entrano in esercizio due nuovi impianti di laminazione uno per billette ed un altro per tondo e vergella (Morgan).

1954: a sud dello stabilimenti ILVA, nasce la Cementir, una nuova cementeria autonoma che sostituisce quella degli anni '30.

1961: la Soc. ILVA si fonde con la Soc. Cornigliano e nasce (23.06.61) la società Italsider Altiforni ed Acciaierie Riunite ILVA e Cornigliano che produce a Bagnoli 860.000 ton. di ghisa e 820.000 ton. di acciaio all'anno.

1962: un piano quadriennale di investimenti della Finsider prevede la costruzione di un grande centro siderurgico dell'Italsider a Taranto e l'ampliamento dello stabilimento di Bagnoli per aumentare la capacità produttiva di circa 1.000.000 di ton. annue. Per l'installazione di nuovi impianti e l'ampliamento di quelli esistenti occorre acquisire nuovi spazi mediante un riempimento a mare (colmata). I lavori comportano 70 miliardi di investimento ed 800 posti di lavoro in aggiunta ai 4.600 esistenti.

1964. cambia la denominazione in Italsider S.p.A. (27.03.64), entra in funzione l'acciaieria Linz-Donsvitz (L.D)., la prima costruita in Italia, in sostituzione dei convertitori Thomas e dei forni Martin - Siemens. Diminuiscono gli spazi che facevano da filtro tra la fabbrica e la città (orti dopolavoro). Un nuovo impianto di agglomerazione, rumoroso, contribuisce all'emissioni di polveri, già legata alla cokeria ed ai depositi, e crea inquinamento acustico. La Montecatini viene assorbita dalla Montedison.

1965: si completa la costruzione di due nuovi altiforni realizzati con le più moderne tecnologie dell'epoca.

1966: il marcato processo di deindustrializzazione costringe l'Italsider a ridimensionare la produzione.

1970: il Consiglio comunale adotta il nuovo piano regolatore generale P.R.G. che verrà approvato nel 1972 con modifiche che riguardano tra l'altro anche l'insediamento dell'Italsider per il quale viene stabilito che il 30% della superficie occupata lungo la fascia costiera venga destinato a verde attrezzato con impianti turistici ed il restante 70% ad attività industriali di tipo manifatturiero con l'esclusione di industrie nocive ed inquinanti. Sono ammesse industrie ad alto contenuto tecnologico nonché impianti ed attrezzature per la ricerca applicata all'industria.

1973: allo scopo di ridurre le notevoli perdite cominciate nel 1969, l'Italsider propone la costruzione di un nuovo impianto di colata continua e di un nuovo treno di laminazione e chiede una variante al piano regolatore appena approvato. Il Consiglio comunale nella seduta del 21.04.75 adotta la variante limitatamente alle aree di proprietà Italsider che viene approvata l'anno successivo dalla regione per consentire l'ampliamento e l'ammodernamento dello stabilimento eliminando le prescrizioni vigenti, fino all'approvazione dei programmi e delle disposizioni relativi al trasferimento dell'acciaieria e, comunque, non oltre dieci anni dalla loro entrata in vigore.

1975: alla Montedison subentra la Federconsorzi che chiude la linea di produzione del solfato di rame.

1978: nel rapporto conclusivo, del 27.10.1976, del Comitato Tecnico Consultivo istituito con il compito di analizzare le aree di perdita esistenti all'interno del gruppo I.R.I., per quanto riguarda Bagnoli si afferma che i risultati negativi registrati a partire dal 1969 sono imputabili a deficienze impiantistiche e produttive non eliminabili per mancanza di spazio, giungendo alla conclusione che l'attuale localizzazione è inadatta all'esercizio di un impianto siderurgico moderno. Successivamente viene reso noto il rapporto del Comitato per la siderurgia presieduto da Pietro Armani che, per Bagnoli, prevede "la progressiva chiusura del Centro" in quanto le "razionalizzazioni e ristrutturazioni che si impongono" non possono essere realizzate con la normativa urbanistica vigente, anche dopo le modifiche introdotte dalla variante del 1976. Per consentire la realizzazione del Piano Siderurgico Nazionale che per Bagnoli prevede un investimento di circa 1.000 miliardi, il Consiglio comunale con delibera n. 2 del 6/12/1978 adotta una nuova variante che elimina le prescrizioni sull'intera area industriale occidentale riservandola alle attività industriali

esistenti ed a quelle complementari e connesse. Nello stesso anno si realizza la costruzione di un primo impianto di colata continua ed una serie di notevoli interventi nel settore ecologico.

1979: viene avviato un piano di ristrutturazione impiantistico consistente nella sostituzione degli impianti tradizionale con altri due di colata continua, nella fermata dei treni di laminazione non più validi economicamente e nella costruzione di un treno di laminazione per *coils*. Parallelamente si provvede al potenziamento dei servizi, all'installazione di nuove apparecchiature ecologiche e ad un più razionale assetto del territorio interno con la destinazione di ampie aree a verde.

1981: cambia ancora denominazione in: Nuova Italsider S.p.A. (19.09.81)

1985: chiude lo stabilimento Eternit, impossibilitato a mantenere in vita lavorazioni altamente nocive. Sgombrata dagli impianti, viene acquistata dalla Mededil S.p.A. (l'area nel 1989 è sottoposta ad una prima bonifica ambientale).

1989: la denominazione Italsider cambia ancora in: ILVA S.p.A. Gruppo IRI (01.01.89).

1990: (20 ottobre) a seguito del ridimensionamento dell'apparato produttivo napoletano l'ILVA (già Italsider) chiude l'area a caldo: altoforno e acciaieria. La Cementir venendo meno la fornitura della loppa d'altoforno, converte gli impianti per renderli idonei all'utilizzo della pozzolana.

1991: con la fermata del treno di laminazione per *coils*, terminano definitivamente tutte le attività produttive dell'ILVA Bagnoli. La Federconsorzi (già Montecatini/Montedison) cessa ogni forma di attività industriale e viene messa in liquidazione

1993: la Federconsorzi viene rilevata dalla Fondazione I.D.I.S.- città della Scienza. Lo stabilimento Cementir sospende ogni attività produttiva, considerandosi temporaneamente inattiva per ragioni di mercato. La caduta complessiva di posti di lavoro nell'area è particolarmente forte; basti ricordare che nel 1973 l'Italsider occupava 7.698 unità, la Cementir 327, l'Eternit 604, la Federconsorzi 165, per un totale di 8794 dipendenti, senza contare gli occupati dell'indotto.

1994: presso il Ministero del Lavoro viene sottoscritto con le organizzazioni sindacali un protocollo di intesa che associa agli interventi di risanamento ambientale e bonifica del suolo, il personale delle società siderurgiche poste in liquidazione. Il CIPE (aprile 94) individua nell'ILVA il soggetto responsabile delle operazioni di bonifica dei siti industriali dismessi nella zona di Bagnoli. L'ILVA predispone il "Piano di recupero ambientale dell'area di Bagnoli" (ILVA, Eternit), relativo al progetto delle operazioni tecniche di

bonifica dei siti industriali dismessi che viene approvato con delibera CIPE del 20 dicembre 1994.

1996: viene firmato il protocollo d'intesa per la bonifica delle aree tra i Ministri del Bilancio, del Tesoro e dell'Ambiente, la regione Campania, la provincia ed il comune di Napoli (30/03/96). Il decreto Legislativo del 20 settembre 1996 n.486, concernente la disposizioni urgenti per il risanamento dei siti industriali delle aree di Bagnoli e di Sesto san Giovanni, incarica l'IRI di provvedere al "Piano di recupero ambientale dell'area di Bagnoli". Il consiglio comunale approva la variante al P.R.G., che disciplina per l'intera zona occidentale un progetto di riqualificazione urbana. Il 1 aprile 1996 viene costituita la Società Bagnoli S.p.A. quale strumento dell'IRI per l'attuazione del "Piano di recupero ambientale dell'area di Bagnoli". I costi previsti dal piano CIPE sono 343 miliardi di lire di cui 261 coperti da un contributo pubblico, 82 miliardi da proventi realizzati da vendita di impianti, attrezzature e rottami. La delibera CIPE del 20 dicembre 1994 viene recepita in Legge n. 582 del 18 novembre 1996.

1998: la giunta regionale della Campania approva la variante al P.R.G. con decreto n. 4741 del 15.04.1998 (Variante Occidentale).

2000: la giunta comunale di Napoli, ai sensi della variante di cui sopra, presenta al consiglio comunale la proposta di Piano Urbanistico Esecutivo (PUE).

2001: il comune di Napoli acquisisce la proprietà delle aree ex ILVA ed Eternit rispettivamente da Cimi-Montubi S.p.A e dalla Mededil-Società Edilizia Mediterranea S.p.A.

2002: si costituisce la società per azioni di trasformazione urbana (STU) "Bagnolifutura S.p.A" (24/04/02). Le attuali partecipazioni sono rispettivamente: Comune di Napoli 90%, Regione Campania 7.5% e Provincia di Napoli 2.5%.

2003: il PUE è approvato (06/11/03). Il PUE conferma l'obiettivo di riconversione dell'ex sito industriale di Bagnoli in un insediamento a bassa intensità abitativa con un'alta qualità ambientale, nel quale trovino posto funzioni altamente rappresentative per il rinnovamento di Napoli e sia, però, conservata la memoria del recente passato produttivo, per il significato che esso ha avuto nella formazione di una cultura del lavoro per tutta la città di Napoli.

Il PUE prevede: a) un grande parco (circa 120 ha) caratterizzato da una combinazione di natura e storia con la conservazione e, in parte, il riutilizzo, di 16 fra più significanti edifici e/o macchine dell'impianto siderurgico; b) un'area di circa 70 ha ai margini del parco, destinata ad attività turistico ricettive congressuali, impianti sportivi e di svago, attività

produttive, strutture per la ricerca e residenze; c) un “Parco dello Sport” su una superficie di circa 42 ha, con attività sportive all’aperto e un campeggio; d) una spiaggia per balneazione (33 ettari); e) una passeggiata lungo la costa che include il pontile nord ed il collegamento fra Nisida e la terraferma, opportunamente restaurati; f) il porto-canale a ridosso del pontile Nord come approdo turistico per circa 700 posti barca; d) il miglioramento dei collegamenti su ferro esistenti, la costruzione di un nuovo tratto della Cumana al servizio del parco e della spiaggia, nonché due nuove funicolari fra Bagnoli - Fuorigrotta e Bagnoli - Posillipo.

2005: il Consiglio Comunale ha definitivamente approvato il Piano Urbanistico Attuativo relativo all'ambito di Coroglio – Bagnoli (16/05/05).

3.1.4 Descrizione del ciclo produttivo e dell’organizzazione dell’area produttiva

Lo stabilimento era strutturato con la logica del ciclo integrale (figura 3.1.4).

Il ciclo iniziava al Pontile Nord, con l’arrivo delle materie prime: carbon fossile, dagli U.S.A., e minerali ferrosi, da Africa, Canada, India e U.R.S.S., da lì inviate al parco fossili e al parco minerali (foto 1;5).

Nell’Area Coke (foto 2;4), il carbon fossile veniva trasformato in carbon *coke* ed inviato alla torre di spegnimento (foto 3) per essere raffreddato, mentre i gas derivati da tale processo erano utilizzati nella centrale termica (foto 11) per produrre vapore ed energia elettrica.

I minerali ferrosi, quali ematite Fe_2O_3 e magnetite Fe_3O_4 , erano sottoposti a frantumazione. Per vagliatura si separavano le frazioni di diverso diametro; quelle troppo minute erano aggregate in agglomerati sferici di 5-10 mm di diametro, detti *pellets* (processo di pelletizzazione).

Il *coke*, miscelato nell’Area di Agglomerazione (foto 6) con minerali ferrosi fini e con il fondente (generalmente calcare), originava “l’agglomerato” che era caricato dall’alto nell’altoforno, insieme a piccole quantità di minerale ferroso frantumato, di fondente e di carbon *coke* (foto 7; 9). Dal basso, invece, l’altoforno era alimentato da aria riscaldata a 1200°C , immessa alla velocità di circa 200 m s^{-1} e alla pressione di circa 100 kPa (foto 8).

I prodotti dell’altoforno erano: 1) le ghise grezze, leghe del carbonio e del ferro ottenute dai minerali ferrosi, contenenti anche tracce di Mn, Si, Cr, Cu, Ni, ecc.; 2) la loppa d’altoforno, (circa 500 kg/tonn. di ghise prodotte), ottenuta dalla combinazione del fondente con le ceneri del carbon *coke* e le ganghe silico-alluminose, che rimangono dopo la separazione del Fe dai minerali; 3) i gas (5-6 m^3/kg di carbon *coke*): N_2 (56,7%), CO

(24%), CO₂ (12%), H₂O (5%), H₂ (2%) e CH₄ (0.3%). La ghisa e la loppa erano separate in virtù del loro peso specifico nettamente diverso, spillandole da fori dell'altoforno posti a diverso livello (più in basso quello della ghisa, più pesante, più in alto quello delle scorie).

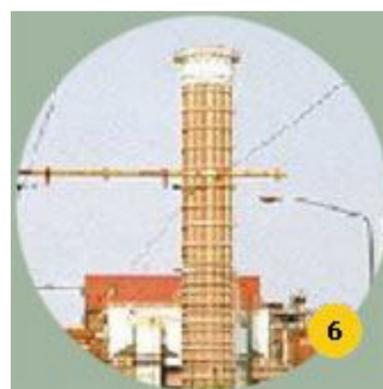
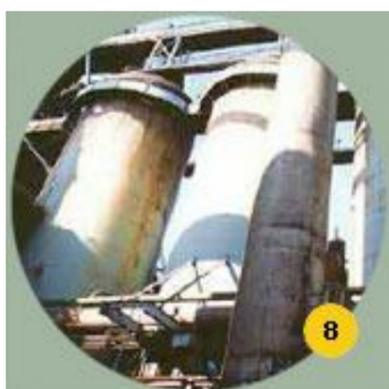
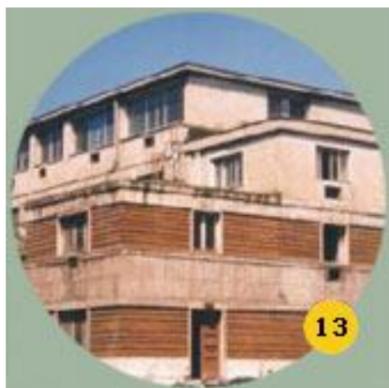
Le loppe d'altoforno erano utilizzate per la produzione del cemento (Cementir).

La ghisa grezza liquida, trasportata con carri siluro in acciaieria (foto 14), veniva trasformata in acciaio per "affinazione", riducendo cioè le quantità di Si (desilicizzazione), C (decarburazione), P (defosforazione), S (desolforazione), O (disossidazione) e di altri elementi metallici e non metallici (scarificazione) presenti in essa e provenienti da impurità dei minerali ferrosi, del carbon coke, del fondente, ecc.

L'acciaio solidificava in bramme (lastre). Queste, una volta ripulite grazie alla gabbia discagliatrice (foto 15) e raffreddate dall'impianto di trattamento acque TNA (foto 16), attraverso il treno di laminazione TNA diventavano *coils* (rotoli).

Il ciclo si chiudeva al Pontile Sud, da dove salpavano le navi cariche del prodotto finito.

1. APPLELAVAGE
2. CANDELA COKE
3. TORRE DI SPEGNIMENTO
4. TERZA BATTERIA FORNI A COKE
5. CARROPONTE MOXEY
6. CIMINIERA AGGLOMERATO
7. ALTOFORNO N.5
8. COWPERS
9. CANDELA ALTOFORNO
10. OFFICINA MECCANICA
11. CENTRALE TERMOELETTRI CA
12. CENTRALINA TELEX
13. EX DIREZIONE
14. ACCIAIERIA L.D
15. GABBIA DISCAGLIATRICE
16. IMPIANTO TRATTAMENTO ACQUE TRENO NASTRI



3.2 *La dismissione e riqualificazione del sito industriale*

I lavori di riqualificazione previsti dal “Piano di recupero ambientale dell’area di Bagnoli”, approvato dal CIPE nel 1994, riguardanti l’area ILVA e Eternit, sono iniziati ufficialmente il 1 ottobre 1996 e sono tuttora in corso.

Allo stato attuale, sono state completate le operazioni di smantellamento e di rimozione (paragrafo 3.2.1) degli impianti e degli edifici industriali dell’ex stabilimento siderurgico, salvo “l’archeologia industriale” (figura 3.1.4, foto da 1 a 16), e le indagini di caratterizzazione del sito, per quantificare il livello di contaminazione di suoli ed acque (paragrafo 3.2.2). Sono in corso d’opera gli interventi di bonifica delle matrici contaminate (3.2.3). In alcune zone è in fase d’avvio la ricostruzione del profilo pedologico (paragrafo 3.2.4). L’intera area è, quindi, soggetta a continui cambiamenti dovuti all’avanzamento dei lavori.

3.2.1 Smontaggio, Demolizione e Smaltimento

Gli impianti e le macchine che per le loro caratteristiche tecnologiche e stato di conservazione hanno trovato collocazione sul mercato, sono stati smontati e rivenduti: treno Nastri per la produzione di *coils*; impianti di Colate Continue e Ladle Fornace dell’Acciaieria per la produzione di semilavorati di acciaio (bramme), ecc. (104.000 t).

I manufatti industriali che per la loro natura, vetustà ed obsolescenza non erano commercializzabili, sono stati demoliti ed i rottami ferrosi ed elettrici derivati, decontaminati da eventuali inquinanti (oli, grassi, etc), sono stati commercializzati presso fonderie e stabilimenti siderurgici (163.277 t). La demolizione ha interessato anche strutture in cemento armato e muratura costituenti gli impianti ed edifici ad essi a servizio, che sono stati sottoposti a frantumazione e riutilizzati come materia prima secondaria (551.383 m³).

Considerevoli quantitativi di materiali, che potevano costituire possibili fonti d’inquinamento per l’ambiente, sono stati inviati a riutilizzo industriale se recuperabili (minerali e carbon fossile), loppa d’altoforno e scorie d’acciaieria, 561.768 t), oppure a smaltimento presso centri autorizzati (oli e grassi 816 t, amianto 8.937 t, rifiuti vari 21.421 t).

3.2.2 Il Piano di Caratterizzazione

I siti industriali ILVA ed Eternit sono stati sottoposti ad un piano di caratterizzazione. Con esso, mediante la descrizione dettagliata dei luoghi e delle attività che vi si sono svolte (storia) e l'individuazione delle correlazioni tra le attività svolte e la possibile contaminazione (per esempio: Cokeria = catrame, Eternit = amianto, ecc.), è stato possibile precisare e realizzare le indagini (analisi chimiche e fisiche) per definire il tipo, il grado e l'estensione dell'inquinamento.

La caratterizzazione ha permesso, tra l'altro, di individuare come fonte potenzialmente inquinante (As, Mn, Fe, idrocarburi totali e IPA, nitrati), l'area di colmata, e come possibile mezzo di propagazione da essa dell'inquinamento, la falda sotterranea. Si è, quindi, intervenuti con misure di "messa in sicurezza d'emergenza". L'area di colmata è stata impermeabilizzata ed è stata realizzata una barriera idraulica (29 pozzi di emungimento) per contenere la diffusione degli inquinanti verso il mare. L'acqua prelevata è trattata quindi reintrodotta in falda per impedire la formazione del cuneo marino.

Per la realizzazione del piano di caratterizzazione è stata eseguita una prima campagna di sondaggi, distribuiti su una maglia di campionamento 100 x 100 m. In particolare, al fine di pervenire alla caratterizzazione litostratigrafica, geomeccanica e chimico-ambientale dei suoli, nonché alla ricostruzione dell'andamento della superficie piezometrica ed alla caratterizzazione chimico-ambientale delle acque di falda, sono stati realizzati: 207 carotaggi superficiali (circa 5 m) e 8 carotaggi profondi (circa 50 m); il prelievo e l'analisi di 905 campioni di suolo rimaneggiato e di 28 campioni di suolo indisturbato; il campionamento e l'analisi delle acque di falda.

Alla luce dei risultati analitici ottenuti nella prima fase è stata realizzata una seconda campagna di sondaggi (1999) consistente in ulteriori 2089 carotaggi superficiali e nell'analisi complessiva di 5.976 campioni di suolo e 221 campioni di acque di falda. Una maglia di campionamento 50 x 50 m è stata utilizzata su quelle aree che nella prima fase si erano rivelate non inquinate, una maglia 25 x 25 m è stata, invece, utilizzata nelle aree risultate inquinate.

3.2.3 Caratterizzazione dei suoli

Si è evidenziato che il sito è interessato da due tipologie fondamentali di litotipi: i materiali di riporto ed i suoli originari.

I materiali di riporto (o "riporti") si presentano come una miscela eterogenea, composta da sottoprodotti del ciclo siderurgico e materiali da costruzione e demolizione, frammisti a terreni originari o provenienti da scavi in aree esterne al sito. Tali materiali hanno

granulometria profondamente diversificata ed interessano uno spessore variabile ponendosi comunque, generalmente, al di sopra del livello di falda.

I riporti devono la loro presenza alle profonde modifiche che 100 anni di attività siderurgica hanno indotto nell'area in esame. Durante gli anni di funzionamento l'insediamento siderurgico ha vissuto un processo dinamico di continua trasformazione, in cui le successive variazioni dell'assetto impiantistico e logistico, determinavano di pari passo massicci spostamenti di materiali e variazioni della morfologia stessa dell'area: il susseguirsi di costruzioni e demolizioni di edifici e sottoservizi, realizzazione e dismissione di impianti, stoccaggi di materie prime e di sottoprodotti, scavi e riempimenti, ha fatto sì che al giorno d'oggi la linea del suolo originario si trovi sottoposta, a volte anche di parecchi metri, rispetto al piano di campagna.

Tra i materiali che costituiscono il riporto vale la pena soffermarsi sui sottoprodotti di produzione di ghisa ed acciaio, perché essi sono presenti sul sito in elevata quantità. La maggior parte di tali residui è rappresentata dalle loppe d'altoforno e dalle scorie di acciaieria. La loppa d'altoforno è ottenuta come sottoprodotto della fabbricazione della ghisa e si forma per reazione del fondente con la ganga del minerale e con le ceneri del coke. La composizione chimica delle loppe varia in funzione della composizione del minerale, del fondente, delle ceneri del coke, della quantità consumata di questo ultimo e del tipo di ghisa prodotto. Le scorie di acciaieria venivano invece ottenute come sottoprodotto della produzione dell'acciaio come risultato della ossidazione delle impurità e dei composti generati dagli additivi inseriti nella carica dei forni. La composizione delle scorie è comunque funzione del tipo di processo di affinazione in cui le scorie venivano recuperate. La scoria presente all'interno dell'ex sito ILVA di Bagnoli ha trovato in passato largo impiego nei settori della produzione di conglomerati bituminosi e per la formazione di sottofondi stradali, considerate le elevate caratteristiche meccaniche ad essa associate. Loppe e scorie, oltre ad avere i loro naturali canali di ricircolo industriale, erano utilizzate all'interno del sito per operazioni di riempimento o formazione di rilevati insieme ad altri materiali inerti quali refrattari provenienti da demolizione dei forni ed inerti in calcestruzzo provenienti da demolizione di strutture e parti di impianti.

Nelle aree dello stabilimento, dove in fase di caratterizzazione le singole tipologie di materiali sono state rinvenute in maniera omogenea ed essenzialmente in rilevato, le stesse sono state rimosse in maniera differenziata ed avviate ai canali di ricircolo industriale.

Nelle restanti aree la loppa, le scorie e gli inerti si rinvencono in forma di miscela, frammisti ai suoli originari e ad altri materiali di origine antropica o esterna e costituiscono

quello che nel corso della caratterizzazione del sito è stato appunto definito riporto industriale.

Al di sotto della coltre di riporti è presente uno spessore, generalmente variabile da 4 a 10 m, costituito essenzialmente da suolo e da “piroclastiti cineritiche grossolane”. Tale materiale è generalmente di colore grigio o grigio-verdognolo e sotto il profilo granulometrico è equivalente ad una sabbia da media a finissima (0.25-0.063 mm). In tale matrice sono di frequente inglobati piccoli lapilli e pomici.

Oltre alle informazioni di tipo litostratigrafico, attraverso l’analisi di circa 7000 campioni ottenuti dai carotaggi è stato ottenuto un quadro dettagliato delle caratteristiche chimico-fisiche di suoli e riporti. Sono state effettuate varie prove e determinazioni analitiche sia sui materiali presi così com’erano, sia sugli eluati.

Per eluato si intende una soluzione, acquosa o di altro opportuno solvente, lasciata a contatto col materiale da indagare per un certo intervallo di tempo, per accertare l’eventuale rilascio di contaminanti. L’analisi degli eluati è finalizzata a verificare che il materiale in oggetto a contatto con le acque di falda o con le acque di pioggia che si infiltrano nel suolo, non rilasci sostanze inquinanti.

Nella prima fase di caratterizzazione le analisi chimiche hanno riguardato la determinazione di un numero molto vasto di parametri, sia inorganici sia organici. Nella seconda fase, in conformità a quanto previsto dal *D.M. 471/99*, si è ridotta la lista dei parametri di indagine, trascurando quelli non riscontrati nella prima fase.

Le analisi dei dati relativi ai parametri inorganici hanno evidenziato l’assenza di specifici elementi/composti particolarmente pericolosi quali, cianuri, fluoruri, solfati, cromo-VI, antimonio, torio ed uranio. Tali analisi altresì hanno messo in evidenza che la presenza di alcuni metalli (As, Be, Cd, Cu, Hg, Pb, Mn, Sn), accertati in concentrazione superiore ai limiti legislativi, è da ricondurre sia alla presenza dei riporti sia ad attività geotermica e risalite termali lungo le fratture o faglie (De Vivo et al., 2000), come anche osservato nello specchio d’acqua antistante l’area di Bagnoli (Damiani et al., 1987; Sharp e Nardi, 1987), nei Campi Flegrei e nelle vicine isole Pontine (Belkin et al., 1996) e nell’isola d’Ischia (Lima et al., 2003). Per i suoli e per le acque sotterranee, sono stati, pertanto, definiti specifici valori di *background* dei metalli da adottare per la bonifica del sito di Bagnoli. Qualsiasi sforzo per portare le concentrazioni dei HM al di sotto di tali valori di *background* sarebbe vanificato da un continuo apporto “naturale” di tali elementi.

I test di cessione con relative analisi degli eluati (NEN 7343 – *Column Test*; NEN 7349 – *Serial batch test*; All.3 D.M. 05/02/98), ed altre indagini analitiche (estrazioni chimiche

sequenziali) e strumentali (OM; SEM-WDS; XRD;) hanno evidenziato l'elevata stabilità geochemica dei HM, la cui mobilizzazione dai riporti è da considerarsi quanto mai improbabile (Adamo et al, 2002)

L'analisi dei dati relativi ai composti organici ha messo in evidenza che i suoli ed i riporti non risultavano contaminati da inquinanti organici quali: Diossine, Furani, BTEX, Organo-Alogenati, Fenoli, oltre che da alcuni specifici IPA. I riscontri analitici hanno inoltre evidenziato che la presenza di PCB è circoscritta esclusivamente alle aree interessate in passato dalla presenza di cabine di trasformazione elettrica. I risultati ottenuti dalla indagine di *Soil Gas Survey* hanno confermato che non esistono contaminazioni da composti organici volatili (VOC) in concentrazioni tali da richiedere estensioni di indagini ed eventuali bonifiche per tali inquinanti. La così detta *short-list* da adottare per la bonifica da composti organici del sito ex ILVA, ossia la lista di parametri rappresentativi dell'inquinamento di origine industriale dell'area, include esclusivamente gli idrocarburi totali ed un set di 10 idrocarburi policiclici aromatici o IPA.

3.2.4 Bonifica dei suoli

Attraverso una ulteriore fase di caratterizzazione di dettaglio, condotta secondo maglie di campionamento 8x8 e 16x16m, in riferimento all'allegato 1 del *D.M. 471/99* (figura 3.2.3a), si classificano suoli e riporti secondo i seguenti livelli di contaminazione:

1. livello A: materiali risultati non inquinati, con valori di contaminazione inferiori a quelli riportati in colonna A
2. livello B: materiali con grado di contaminazione compreso tra i valori in colonna A e in colonna B
3. livello C: materiali con grado di contaminazione superiore ai valori in colonna B e classificabili come materiali non pericolosi (Direttiva 2000/532CE) (*Hot-spot* metalli).

Relativamente ai contaminanti inorganici, i materiali di livello C sono inviati a smaltimento in discariche non pericolosi. Nessun intervento è previsto sui materiali di livello B ed A, riutilizzati in sito).

Relativamente ai contaminati organici, i suoli e riporti di livello C sono inviati a discarica per non pericolosi, quelli di livello B sono oggetto di interventi tesi ad abbatterne la contaminazione. Suoli e riporti di livello A sono riutilizzabili tal quali in sito.

Per il trattamento dei suoli e riporti con contaminazione organica di livello B sono state prese in considerazione diverse tecnologie. Gli studi eseguiti hanno portato ad escludere

l'utilizzo di trattamenti biologici e termici di desorbimento, a vantaggio dell'utilizzo di trattamenti chimico-fisici di lavaggio (tabella 3.2.3b).

A tale scopo è prevista una preliminare vagliatura dei materiali, per la separazione di quattro frazioni granulometriche con diametro equivalente delle particelle: <10, 10-50, 50-150 e >150 mm.

La frazione <10 mm risulta costituita fondamentalmente da residui siderurgici, loppe, scorie, minerali ed è altamente contaminata. Essa è sottoposta a lavaggio ed ulteriormente separa in tre frazioni granulometriche: <0.075, 0.075-2 e 2-10 mm. Quella <0.075 mm, generalmente più inquinata, è sempre conferita in discarica. Le frazioni 0.075-2 e 2-10 mm, dopo verifica della concentrazione residua dei contaminanti organici (*D.M. 471/99*, limiti per i suoli, integrati dai valori di *background*), sono riutilizzate in sito per la ricostruzione pedologica.

Le frazioni 10-50, 50-150 e >150 mm sono riutilizzate per la ricostruzione pedologica, direttamente dopo vaglio o, se risultate contaminate da organici (*D.M. 471/99*: test di cessione e analisi dell'eluato; confronto con i limiti di IPA e Idrocarburi per le acque sotterranee), previo lavaggio del materiale fine responsabile della loro non idoneità, in uscita dalla vagliatura, al recupero in sito.

Il lavaggio consiste nel miscelare intensamente con acqua il suolo vagliato al fine di estrarne i contaminanti organici; il suolo e l'acqua di lavaggio ricca di composti organici idrosolubili, vengono poi separati mediante l'utilizzo di idrocycloni, flottatori, vagli vibranti, ecc. L'acqua di lavaggio, in cui sono sospesi materiali estremamente fini, viene convogliata ad un impianto di trattamento di tipo chimico-fisico, con l'obiettivo di separare il materiale solido (fango), e ottenere acque idonee per poter circolare di nuovo nell'impianto.

Tabella 3.2.3a Valori limite (mg kg^{-1}) riportati nel DM 471/99 per i siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale (colonna A) e per i siti ad uso commerciale ed industriale (colonna B)

	Colonna A	Colonna B
Antimonio	10	30
Arsenico	20	50
Berillio	2	10
Cadmio	2	15
Cobalto	20	250
Cromo tot	150	800
Mercurio	1	5
Nichel	120	500
Piombo	100	1000
Rame	120	600
Selenio	3	15
Stagno	1	350
Tallio	1	10
Vanadio	90	250
Zinco	150	1500

Tabella 3.2.3b BATNEEC* per la bonifica di suoli e sedimenti del sito dismesso ILVA di Bagnoli, contaminati da organici

PROCESSI ON SITE		TEST**	GIUDIZIO DI APPLICABILITA'
BIOLOGICI	bioventilazione bioinsufflazione+ bioventilazione	F	non applicabile
TERMICI		-	-
CHIMICO-FISICI		-	-
PROCESSI OFF SITE		TEST	GIUDIZIO DI APPLICABILITA'
BIOLOGICI	Compostaggio in biopila	L	Applicabile con riserva
TERMICI	Desorbimento termico	L, P	Pienamente applicabile
CHIMICO-FISICI	Lavaggio	F	Pienamente applicabile
RIUTILIZZO	Riutilizzo in: cementificio, discarica, casse di colmata e piattaforme esterne	S	Pienamente applicabile

(*) *Best Available Technology Not Entailing Excessive Costs* (migliori tecnologie disponibili a costi sostenibili);

(**) L = *laboratory test*, P = *pilot test*, F = *field test*, S = studio di fattibilità tecnica

I suoli vagliati e/o lavati, risultati puliti, aventi pezzatura maggiore di 50 mm sono sottoposti a frantumazione e selezione, mediante appositi impianti costituiti da frantoi a ganasce con sistemi di vagliatura, per l'ottenimento di materiali con granulometrie idonee alla fase di ricostruzione pedologica delle aree, ovvero con dimensione delle particelle di 0-10 e 10-50 mm.

3.2.5 Ricostruzione pedologica

Nel sito, a seguito dell'asportazione di suoli e riporti, si sta verificando una condizione topografica con dislivelli accentuati e presenza di scavi a profondità variabile. E' quindi necessario un intervento finalizzato a realizzare un piano campagna il più possibile livellato e ricreare e favorire, laddove ciò sia previsto, la crescita e lo sviluppo della vegetazione.

La sistemazione non prevede il ripristino delle quote topografiche originali, preesistenti all'insediamento delle attività produttive (in generale la quota finale del piano campagna risulterà di alcune decine di centimetri più bassa).

Per il riempimento ed il livellamento si stanno impiegando i materiali ottenuti dalle demolizioni, frantumati ad idonea pezzatura, e soprattutto i suoli e riporti di livello A e B, resi idonei dai trattamenti di bonifica.

La ricostruzione dei profili superficiali di suolo tiene conto della diversa destinazione d'uso delle aree, secondo le indicazioni date dal Piano Urbanistico Attuativo (P.U.A.). Quest'ultimo, prevede la realizzazione, all'interno del sito, di due macro aree: quella del Parco e quella degli Insediamenti integrati e, sul versante a ridosso della collina di Posillipo, della cosiddetta "Cerniera Verde". Nelle aree destinate ad accogliere il Parco Urbano e nelle aree a ridosso della collina di Posillipo, sarà effettuata una ricostruzione pedologica mirata, utilizzando materiale recuperato in sito e *compost* vegetale di alta qualità, in modo da consentire la formazione di un'idonea copertura vegetale. La rivegetazione avverrà mediante la scelta di specie vegetali idonee alla ricostituzione di biotopi, scomparsi o potenziali, all'aumento della biodiversità, nella dispersione dei semi e nella conseguente colonizzazione degli ambiti limitrofi a quelli di intervento.

Nell'area degli Insediamenti integrati, invece, l'intervento di ricostruzione si limiterà ad un livellamento delle superfici.

I lavori di bonifica dei suoli hanno avuto inizio nel gennaio 2005. Al 31/12/2005 su suoli e riporti risultavano scavati e movimentati ~30.000 mc, vagliati ~25.000 mc, lavati ~22.000 mc e frantumati ~25.000 t di materiali.

4. MATERIALI

4.1 *Esperimento di crescita in vaso*

4.1.1 *I substrati impiegati*

Nel sito industriale ILVA di Bagnoli, durante il funzionamento dell'impianto siderurgico, l'area denominata "Parco Minerali" (PM) era destinata allo stoccaggio dei minerali del ferro e dei pellets (paragrafo 3.1.4).

I suoli dell'area PM erano caratterizzati in tempi successivi alla dismissione dell'impianto (Adamo et al., 2002). Essi presentavano una morfologia molto complessa, conseguente al notevole impatto sul suolo delle attività antropiche. Fino alla profondità di ~70 cm, i profili aperti nell'area PM, risultavano caratterizzati dalla stratificazione di materiali utilizzati e/o derivati dal ciclo produttivo (minerali del ferro, carbonati, intermedi di lavorazione, scorie), mescolati con quantità variabili di materiali terrosi. Segni evidenti di pedogenesi erano chiaramente visibili solo dopo i primi 40 cm di profondità. Gli orizzonti profondi (> 70 cm) erano formati da materiale di natura piroclastica, tipico delle aree vulcaniche dei Campi Flegrei.

Campioni di suolo di superficie (0-40 cm), di due profili aperti nell'area PM, denominati PM1 e PM2, sono stati utilizzati come substrati in un esperimento di crescita in vaso di specie vegetali. Le piante sono state allevate, oltre che sui suoli PM1 e PM2, anche su un suolo campionato all'esterno del sito ILVA, in un'area non contaminata, denominato S, caratterizzato da proprietà chimico-fisiche tipiche dei suoli della piana dei Campi Flegrei.

Le principali caratteristiche chimico-fisiche dei materiali PM impiegati sono riportate nella tabella 4.1.1a, in Adamo et al., 2002 e in Arienzo et al., 2004. I suoli risultano sabbiosi, con una frazione argillo-limosa pari a ~13%. Il pH (in H₂O) ha valori moderatamente elevati, subalcalini (8.0 ± 0.3) per PM1 e alcalini (8.4 ± 0.02) per PM2 (IUSS). La conducibilità, 1.2 ± 0.03 (PM1) e 0.8 ± 0.06 dS m⁻¹ (PM2), è nel campo dei valori (0.2-2.0 dS m⁻¹) generalmente riscontrabile in suoli non salini. Essa indica una concentrazione totale di sali disciolti apparentemente non sfavorevole all'uso dei suoli in esperimenti di crescita vegetale. Il contenuto dei carbonati totali indica che sia PM1 (CaCO₃, 52 ± 1 g kg⁻¹) sia PM2 (57 ± 5 g kg⁻¹) possono essere considerati suoli calcarei (CaCO₃ > 50 g kg⁻¹).

Tabella 4.1.1a Proprietà fisiche e chimiche dei suoli PM1, PM2 e S, utilizzati come substrati nell'esperimento di crescita in vaso (media \pm deviazione standard, n=3) (in corsivo valori da Adamo et al., 2002 e Arienzo et al., 2004)

suolo	Frazioni granulometriche				pH	CE	CaCO ₃	CO	N tot	CSC	Mg	K	Na	P ass.
	>2 mm	2-0.02 mm	0.02-0.002 mm	<2 μ m										
	%	g kg ⁻¹			H ₂ O	dS m ⁻¹	g kg ⁻¹			cmol ₍₊₎ kg ⁻¹		mg kg ⁻¹		
PM1	33	880	99	20	8.0 \pm 0.3	1.2 \pm 0.03	52 \pm 1	17 \pm 2	0.21	9.8	1.2	2.4	3.0	4.1
PM2	37	846	140	14	8.4 \pm 0.1	0.8 \pm 0.06	57 \pm 5	28 \pm 18	0.1	9.8	1.2	3	3.8	4.5
S	16	772	161	68	8.2	-	45	23	0.25	21	1.6	12.9	8.8	94

Tabella 4.1.1b Contenuto totale (mg kg^{-1}) di HM dei suoli PM1 e PM2

	PM1	PM2	A*	B**
Antimonio	0.5 ±0.1	0.35 ±0.1	10	30
Arsenico	63 ±1	16 ±3	20	50
Berillio	2.3 ±0.2	0.75 ±0.1	2	10
Cadmio	3.2 ±2	1.4 ±0.2	2	15
Cobalto	19 ±0.1	9.9 ±0.9	20	250
Cromo tot	19 ±2	43 ±0.2	150	800
Mercurio	0.32 ±0.0	0.82 ±0.2	1	5
Nichel	20 ±1	37 ±3	120	500
Piombo	249 ±66	283 ±62	100	1000
Rame	349 ±163	92 ±9	120	600
Selenio	0.55 ±0.1	1.3 ±0.2	3	15
Stagno	18 ±12	8.5 ±0.7	1	350
Tallio	2.1 ±0.5	0.45 ±0.0	1	10
Vanadio	27 ±0.0	23 ±1	90	250
Zinco	717 ±95	653 ±109	150	1500

*valori limite (mg kg^{-1}) riportati nel DM 471/99 per i siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale; **per i siti ad uso commerciale ed industriale

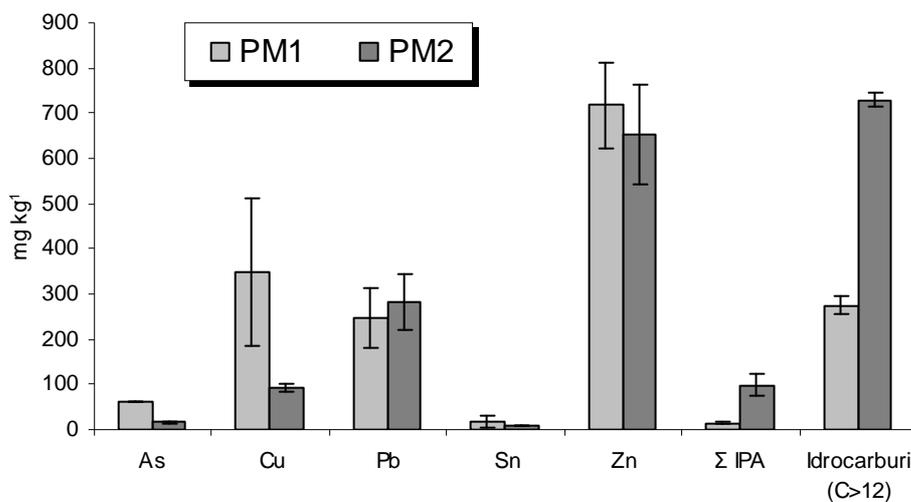


Figura 4.1.1 Contenuto totale di contaminanti inorganici e organici dei suoli PM1 e PM2

Tabella 4.1.1c Contenuto totale (mg kg^{-1}) di contaminanti organici dei suoli PM1 e PM2

	PM1	PM2	A*	B**
Benzo(a)antracene	1.8 ±0.1	12 ±4	0.5	10
Benzo(a)pirene	0.52 ±0.1	2.6 ±0.9	0.1	10
Benzo(b)fluorantene	1.5 ±0.1	9.0 ±1	0.5	10
Benzo(k)fluorantene	1.1 ±0.1	6.9 ±2	0.5	10
Benzo(g,h i)perilene	1.0 ±0.0	6.6 ±2	0.1	10
Crisene	3.3 ±0.2	22 ±4	5	50
Dibenzo(a)pireni	1.1 ±0.1	5.1 ±1	0.1	10
Dibenzo(a,h)antracene	0.22 ±0.1	1.3 ±0.1	0.1	10
Indenopirene	0.92 ±0.0	5.1 ±2	0.1	5
Pirene	2.8 ±0.3	22 ±7	5	50
Sommatoria policiclici aromatici	15 ±1	99 ±25	10	100
Idrocarburi leggeri (C<12)	1 ±0.0	5 ±0.0	10	250
Idrocarburi pesanti (C>12)	275 ±21	730 ±14	50	750

*valori limite (mg kg^{-1}) riportati nel DM 471/99 per i siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale; **per i siti ad uso commerciale ed industriale

Tabella 4.1.1d Risultati del test TCLP[§] sui suoli PM1 e PM2 (Arienzo et al., 2004)

	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
	----- mg kg^{-1} -----				
PM1	2.1 ±0.35	9.9 ±1.1	3.9 ±1.0	6.8 ±1.0	71 ±10
PM2	4.3 ±1.25	74 ±13	6.8 ±2.0	11 ±2.1	70 ±13

§TCLP=Toxicity Characteristic Leaching Procedure (Federal Register, 1990)

Tenuto conto del basso contenuto di argilla ($< 20 \text{ g kg}^{-1}$), i suoli presentano una buona dotazione in carbonio organico ($17 \pm 2 \text{ g kg}^{-1}$ in PM1 e $28 \pm 18 \text{ g kg}^{-1}$ in PM2). L'azoto totale, invece, è presente sempre in quantità molto basse (0.2 e 0.1 g kg^{-1}) rispetto a quelle normalmente riscontrate nei suoli agrari ($0.8- 2 \text{ g kg}^{-1}$), a prato permanente ($3.5-5 \text{ g kg}^{-1}$) e forestali di latifoglie ($3-12 \text{ g kg}^{-1}$).

Il rapporto CO/N, e quindi in maggior misura quello C totale/N, risulta fortemente sbilanciato nei confronti del carbonio, in particolare in PM2 (CO/N, 81 in PM1 e 280 in PM2). Ciò è un indice di scarsa qualità della componente organica dei suoli, che può avere diversi effetti, quali una ridotta attività microbica.

La capacità di scambio cationico, piuttosto bassa ($9.8 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$ in PM1 e PM2), rispecchia il limitato contenuto di argilla e la presenza nei suoli di peculiari costituenti organici. Con tali valori di CSC è ipotizzabile un pericolo di perdite di elementi nutritivi per lisciviazione. I valori di magnesio scambiabile rappresentano il 12% della CSC sia in PM1 sia in PM2. Particolarmente elevate le percentuali di potassio (24 e 31 %, PM1 e PM2) e Na scambiabile (31 e 39 %, PM1 e PM2). Il Ca, stimato per differenza, risulta più elevato in PM1 rispetto a PM2 (3.2 e $1.8 \text{ cmol}_{(+)} \text{ kg}^{-1}$, pari a 33 e 18 % della CSC).

La quantità di fosforo assimilabile è sempre molto bassa (<10), in relazione all'elevato pH e contenuto di Ca dei suoli.

In sintesi, i suoli non hanno proprietà fisiche e chimiche molto differenti. Entrambi sono poco "fertili" tenuto conto dei bassi contenuti di argilla e fosforo assimilabile, dell'elevato rapporto C/N, dell'estremamente basso rapporto Mg/K e dell'elevata percentuale di sodio di scambio ($>31\%$).

I suoli sono risultati caratterizzati da quantità di HM (PM1: As, Be, Cd, Pb, Cu, Sn, Ta e Zn. PM2: Pb, Sn e Zn) e di contaminanti organici (IPA e idrocarburi pesanti) più elevate rispetto ai valori limite indicati nella colonna B del DL 471/99 (tabelle 4.1.1b e 4.1.1c). I suoli si differenziano per più elevati contenuti di As e Cu in PM1, di IPA e idrocarburi pesanti in PM2 (figura 4.1.1).

I risultati del test di lisciviazione, condotto con l'impiego di una soluzione di acido acetico 0.1 M tamponata a pH 5.0, e delle estrazioni chimiche sequenziali, condotte secondo lo schema proposto dal Bureau of Reference della EU, evidenziano che nei substrati oggetto di studio i HM sono presenti in forme geochimiche poco labili e di difficile mobilizzazione (tabella 4.1.1d) (Adamo et al., 2002; Arienzo et al., 2004).

In particolare la speciazione di Cu, Cr, Pb, Zn e Ni ha messo in evidenza che gli elementi occlusi in ossidi di manganese o di ferro facilmente riducibili, associati alla sostanza

organica e inseriti nella struttura mineralogica di ossidi e silicati, sono presenti in percentuali molto elevate nei diversi orizzonti dei profili presi in esame (Adamo et al., 2002; Arienzo et al., 2004).

4.1.2 Le specie vegetali impiegate

Per gli esperimenti di crescita in vaso sono state impiegate le specie vegetali *Lolium perenne*, *Helianthus annuus* e *Thlaspi caerulescens*. Le loro principali caratteristiche sono descritte in seguito.

- *Lolium perenne*, anche detta loglio inglese. E' una graminacea erbacea, nativa dell'Europa, dell'Asia temperata e del nord Africa, e diffusa in tutto il mondo incluso nord e sud America, Europa, Nuova Zelanda e Australia, nelle regioni fresche e temperate.

Si comporta come pianta perenne, annuale, o perenne a breve vita, in dipendenza delle condizioni ambientali. Le sue caratteristiche principali sono: alta potenzialità di produzione di biomassa; rapida stabilizzazione.

Cresce soprattutto su suoli ben irrigati, con drenaggio normale, ma si adatta comunque a vari tipi di suolo, con scarsa o eccessiva presenza di acqua, e anche poveri e degradati. Si adatta inoltre a lunghi periodi di inondazione, se le temperature si mantengono al di sotto dei 27°C.

La tessitura del suolo le risulta indifferente; sono consigliabili i suoli limosi o argillosi, mentre la sabbia può essere adatta alla sua crescita, se l'aggiunta di acqua e la disponibilità dei nutrienti è sufficiente.

Tollera sia suoli acidi che alcalini, in un intervallo di pH da 5.1 a 8.4. La migliore crescita si osserva però quando il pH si mantiene tra 5.5 e 7.5.

L'intervallo di temperatura più indicato va dai 20 ai 25°C. La primavera e l'autunno sono le stagioni in cui *L. perenne* cresce meglio;. Può essere considerata una pianta perenne a vita breve, in quanto, si adatta all'ombra nelle zone calde di regioni con clima fresco e umido, ma anche quando la disponibilità di acqua è ottimale, risente di temperature troppo alte (superiori ai 31°C diurni e 25°C notturni) e, durante i caldi mesi estivi, tale specie diventa dormiente. Inoltre, pur tollerando temperature molto basse e crescendo addirittura su coltri nevose, non riesce a sopravvivere ad inverni troppo rigidi.

Di solito viene seminata in primavera, o in tarda estate, oppure in autunno nel caso di zone a clima mite. I semi vengono posti ad una profondità di 0.6-1.25 cm.

E' impiegata per il foraggio del bestiame soprattutto negli Stati Uniti, sulle coste nord-orientali e nelle valli irrigate dell'ovest e del nordest.

Lolium perenne è una specie tollerante utilizzata nelle opere di ripristino ambientale (Madejón et al., 2003; Lin et al., 2003; Arienzo et al., 2004) e anche per ridurre l'erosione del suolo grazie al suo sistema radicale, costituito da radici fibrose che si estendono in superficie. Può inoltre essere impiegata in colture miste perché permette la crescita e la stabilizzazione di specie a vita lunga e più adattabili all'inverno.

- *Helianthus annuus*, o girasole. Dicotiledone appartenente alla famiglia delle Asteraceae, originaria dell'America meridionale e importata in Europa verso la metà del '500.

È una specie annuale; caratterizzata da una rapida crescita ed un'elevata produzione di biomassa. Ha foglie alterne od opposte, picciolate, trinervie e seghettate. Le infiorescenze sono capolini grandissimi, di 10 cm o più di diametro, portati da grossi peduncoli e con un involucri costituito da brattee fogliacee. I fiori ligulati dorsoventrali (fiori del raggio) sono sterili, con ligule giallo-dorate. I fiori tubulosi radiali (fiori del disco), sono fertili, bisessuali, di colore bruno-rossastro. Il frutto è un achenio scuro che si sviluppa dall'unico ovulo; l'embrione è ricco di oli e proteine.

Tale specie è coltivata per la produzione di olio. In Italia si trova soprattutto nelle regioni Toscana, Umbria, Marche, Puglia, Molise e Lazio.

H. annuus è tollerante ai HM e presenta un'elevata capacità di assorbimento dei metalli a livello radicale, ma una bassa efficienza di traslocazione di questi dalle radici alle parti aeree (Saxena et al., 1999; Kamnev & Van der Lelie, 2000; Van der Lelie et al., 2001). È, perciò, considerata una pianta utile per la fitostabilizzazione e rizofiltrazione, processi che prevedono l'utilizzo delle radici delle piante come sito di accumulo dei metalli pesanti (Dushenkov et al., 1995; Shnoor et al., 1995; Brooks e Robinson, 1998; Mc Grath, 1998).

Tenuto conto delle sue caratteristiche, *Helianthus* è stata anche proposta per risanare suoli contaminati da radionuclidi (Cooney, 1996; Gallego et al., 1996; Dushenkov et al., 1997; Gouthu et al., 1997; Sun e Shi, 1998; Chen, 2000; Zavoda et al., 2001).

Ulteriori vantaggi ad utilizzare *Helianthus annuus* in interventi di fitostabilizzazione o rizofiltrazione, sono la scarsa appetibilità delle sue foglie che non vengono, perciò, mangiate dagli animali e il basso accumulo di sostanze potenzialmente tossiche nei suoi semi (attivamente mangiati dagli uccelli). In tal modo, il rischio di un eventuale ingresso di sostanze nocive nella catena alimentare risulta notevolmente ridotto. Alcune ricerche hanno inoltre dimostrato che il girasole, cresciuto in suoli contaminati da metalli pesanti,

può aumentare la resa % in olio (ovviamente utilizzabile solo per fini industriali) in maniera significativa rispetto al controllo (Madejon et al., 2003).

In definitiva, pur non essendo una pianta iperaccumulatrice di HM, il girasole è comunque adatto ad esperimenti di fitorimedazione, per la rapidità di crescita, l'elevata biomassa prodotta, l'ampio apparato radicale e la tolleranza ai HM (Ruso et al., 2001).

- *Thlaspi caerulescens*, specie molto studiata perché capace di estrarre dal suolo e di accumulare nei tessuti epigei elevate concentrazioni di HM (Cd e Zn iperaccumulatrice) (Reeves e Brooks, 1983). Baker et al. (1994) riporta di una popolazione naturale di *T. caerulescens* nel Regno Unito che conteneva fino a 21000 mg kg⁻¹ di Zn e 160 mg kg⁻¹ (DM) di Cd nei tessuti epigei. Molti dei lavori riguardanti *Thlaspi caerulescens* consistono nella raccolta di campioni di piante e nella misura delle concentrazioni di HM dei tessuti vegetali (Brown et al., 1994, 1995).

4.2 Studio di suoli rivegetati da specie vegetali spontanee

Nel novembre 2004, i suoli di superficie dell'area "Parco Minerali", PM1 e PM2, che mostravano una ben sviluppata copertura vegetale di piante erbacee ed arbustive, sono stati campionati (PM1-R e PM2-R), insieme alle specie vegetali spontanee su di essi presenti.

Per confronto, il campionamento di suolo e piante è stato anche condotto all'esterno dell'area PM, in corrispondenza del sito LAM, dove era collocato il "Laminatoio".

Nel 2006, l'attività di bonifica dei suoli, determinava per vagliatura, lavaggio e frammentazione, la separazione di materiali grossolani puliti da materiali estremamente fini (diametro delle particelle <0.075 mm) ad elevato contenuto di contaminanti organici e HM, denominati fanghi (paragrafo 3.2.3). I materiali grossolani (PM-BG) ed i fanghi contaminati (PM-BF) erano stoccati nel sito ILVA in trincee sotto forma di cumuli.

Mentre i fanghi erano conferiti in discarica, i materiali grossolani, frammisti a materiali di altra provenienza, erano riutilizzati *in situ*, per la ricostruzione dei profili pedologici (PM-BR) (paragrafo 3.2.4).

Nel giugno 2006, i materiali PM-BF, PM-BG e PM-BR, interamente coperti da vegetazione erbacea spontanea, erano campionati insieme alle specie vegetali su di essi presenti.

4.3 *Caratterizzazione dei prodotti di precipitazione del Fe(II) in presenza di acidi umici*

Le analisi sono state condotte su precipitati del ferro ottenuti da miscele acquose di acidi umici [HA] e ferro ferroso [Fe(II)] preparate nell'ambito di una sperimentazione svolta nel 1996 (Adamo et al., 1998).

Le miscele acquose di HA/Fe(II) erano state preparate mediante: (i) estrazione* degli acidi umici dall'orizzonte Ap di un suolo vulcanico con copertura boschiva di querce (*Quercus Ilex*), localizzato nel Parco Gussone della Reggia di Portici; (ii) purificazione degli acidi umici estratti; (iii) preparazione** dei prodotti di precipitazione del ferro a partire da perclorato ferroso ($\text{Fe}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$); (iv) dosaggio delle quantità di HA e perclorato ferroso in acqua distillata e decarbonicata al fine di ottenere i rapporti (R) in termini di acidità carbossilica e carica ionica del Fe ($\text{HACOOH mol}_c / \text{Fe(II) mol}_c$) di 0, 0.0001, 0.001, 0.01 and 0.1; (v) titolazione a pH 5 e pH 8 delle miscele HA/Fe(II) con soluzione di NaOH 0.25 M alla velocità di 1 ml min⁻¹; (vi) riscaldamento a 70°C delle miscele HA/Fe(II) per 1 settimana (T1), 1 mese (campioni T3); (vii) invecchiamento delle miscele HA/Fe(II) per 8 anni (campioni T4).

* Gli acidi umici erano estratti con 0.1 M NaOH e purificati seguendo le procedure standard (IHSS, 1985). Dettagli sulle caratteristiche dei HA estratti sono riportate in Amalfitano et al., 1995.**Ulteriori dettagli sulla preparazione delle soluzioni HA/Fe(II) sono riportate in Adamo et al., 1998.

5. ATTIVITÀ E METODI

5.1 *Esperimento di crescita in vaso*

L' esperimento di crescita in vaso sui suoli PM1 e PM2 è stato avviato durante il periodo primaverile dell'anno 2005.

La crescita delle piante *Lolium perenne* (L.), *Helianthus annuus* e *Thlaspi caerulescens* è stata condotta in serra non climatizzata, illuminata da luce naturale. *Helianthus* e *Lolium* sono stati allevati oltre che sui suoli PM1 e PM2, anche sul suolo S campionato all'esterno del sito ILVA, in un'area non contaminata, caratterizzato da proprietà chimico-fisiche tipiche dei suoli della piana dei Campi Flegrei (tabella 4.1.1a).

Per ogni substrato e per ogni specie vegetale la crescita è stata realizzata in triplicato, ed è stato realizzato un suolo controllo, rappresentato da suolo in vaso, ma non coltivato.

5.1.1 *Preparazione dei substrati*

I suoli PM1, PM2 ed S sono stati setacciati a 2 mm, idratati fino alla capacità di campo con acqua deionizzata, e fertilizzati mediante aggiunta di 400 ml della soluzione nutritiva costituita da (tabella 5.1.1):

Tabella 5.1.1 soluzione nutritiva

Sali	g l ⁻¹
NH ₄ NO ₃	5.0
MgSO ₄ *7H ₂ O	5.1
K ₂ SO ₄	2.5
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ *H ₂ O	2.7

I suoli sono stati fatti equilibrare, lasciandoli a temperatura ambiente per 2 settimane. Dopo accurato rimescolamento, sono stati ripartiti in vasi di diametro pari a 100 mm, altezza pari a 80 mm e volume pari a 0.4 l. Il peso del suolo in ciascun vaso è risultato pari a circa 400 g. (s.s. 105°C).

5.1.2 *Semina*

Al fine di definire il numero di semi da piantare in ciascun vaso, su *Lolium perenne* ed *Helianthus annuus*, è stato eseguito un test di germinabilità.

Nessun test è stato effettuato per *Thlaspi caerulescens* dei cui semi, forniti dal Prof. Alan Baker (Università di Melbourne, Australia) era già nota la percentuale di germinazione (50%).

I semi sono stati posti in condizione di semioscurità a temperatura ambiente, in piastre petri contenenti carta da filtro inumidita e coperte da parafilm forato.

La germinazione è stata veloce e vigorosa per i semi di girasole (percentuale di germinazione del 91%). Essa è risultata lenta e non sincronizzata per i semi del loglio (percentuale di germinazione del 39%).

Tenuto conto delle percentuali di germinazione e delle dimensioni dei vasi, in ognuno di essi i semi sono stati posizionati ad una profondità pari circa alla loro lunghezza: 0.3 g di semi di *Lolium* (circa 140 semi), 2 semi di *Helianthus* e 0.03 g di semi di *Thlaspi* (circa 60 semi).

I substrati di crescita sono stati bagnati ripetutamente con acqua deionizzata fino alla germinazione dei semi.

Essa è avvenuta senza particolari problemi per *Lolium* e *Helianthus*. I semi di *Thlaspi* sono germinati solo su compost e sono stati successivamente trapiantati in vaso, germinelli di 4 cm di altezza.

5.1.3 Crescita delle piante

La crescita di *Lolium perenne* e *Helianthus annuus* su ciascun substrato è stata ripetuta tre volte, nei periodi: marzo-maggio (Prima rivegetazione o Riv I), giugno-agosto (Seconda rivegetazione o Riv II) e settembre-novembre (Terza rivegetazione o Riv III) 2005 (complessivamente essa si è protratta per 9 mesi) (figura 5.1.3).

La *Thlaspi* è cresciuta senza soluzione di continuità da giugno a novembre 2005 (per 6 mesi).

Durante il periodo di crescita, l'acqua è stata somministrata per capillarità 2 volte al giorno in dosi da 50 ml (primavera-estate) e da 10 ml (autunno). Inoltre, la soluzione nutritiva utilizzata sui suoli prima della crescita, è stata somministrata durante la crescita altre 4 volte.

Il conseguente apporto totale di nutrienti al suolo è risultato (g/kg suolo secco a 105°C): 0.286 per N, 0.082 per Mg, 0.184 per S, 0.184 per K, 0.070 per Ca e 0.109 per P.

Durante la crescita è stata monitorata l'altezza delle piante, alla fine di ogni ciclo di crescita è stata raccolta la porzione epigea, mediante taglio all'altezza del colletto, e sono state separate le radici dal substrato di crescita. I tessuti vegetali epigei e ipogei sono stati

lavati prima con acqua corrente, poi con acqua deionizzata e pesati dopo essiccamento a 70°C.

Al termine della sperimentazione, i suoli sono stati essiccati all'aria e setacciati a 2 mm. Le analisi sono state condotte su subcampioni rappresentativi ottenuti con la tecnica del *cone and quarter*.

5.1.4 Analisi dei suoli e delle piante

I substrati PM1 e PM2 sono stati caratterizzati solo prima e dopo l'ultima crescita in vaso. Le analisi condotte sui suoli sono state finalizzate a determinarne: le proprietà fisiche e chimiche (paragrafo 5.4.1); il contenuto totale (paragrafo 5.4.2), la biodisponibilità (paragrafo 5.4.3) e la distribuzione tra forme geochimiche (paragrafo 5.4.4) dei HM. E' stata anche accertata la capacità delle piante di crescere sui substrati contaminati, mediante misura dei seguenti parametri: lunghezza dei germogli, produzione di biomassa epigea e radicale, accumulo di HM nei tessuti epigei e radicali (paragrafo 5.4.2).



Figura 5.1.3 Crescita in serra delle piante di *Lolium perenne*, *Helianthus annuus* e *Thlaspi caerulescens* e preparazione dei campioni di suolo e vegetali alle analisi

5.2 Studio di suoli rivegetati da specie vegetali spontanee

5.2.1 Raccolta di campioni di suolo e di piante spontanee

Nell'autunno del 2004, in corrispondenza dei siti S1, S2 e LAM, è stata effettuata un'analisi della vegetazione spontanea e sono state prelevate piante spontanee intere (parte epigea + radici) e relativo pane di terra.

5.2.2 Preparazione dei campioni e analisi

Le piante sono state identificate mediante “*Med Check-List*” e quelle appartenenti alla stessa specie hanno costituito un campione composito.

Da ciascuno campione composito si è proceduto alla separazione delle parti epigee dalle radici ed all'allontanamento del suolo, distinto in *bulk soil*, suolo non in immediato contatto con le radici separato per scuotimento dell'apparato radicale, e *rhizo soil*, suolo aderente alle radici e separato manualmente.

I tessuti vegetali sono stati lavati con acqua corrente poi con acqua deionizzata e pesati dopo essiccamento a 70°C.

Gli effetti indotti sul suolo dalla crescita vegetale sono stati evidenziati attraverso la caratterizzazione chimica di *rhizo e bulk soil* (paragrafo 5.4.1). Sono stati determinati, anche, la biodisponibilità di HM (paragrafo 5.4.3) di *rhizo e bulk soil* e i contenuti totali di HM delle parti epigee ed ipogee delle piante spontanee (paragrafo 5.4.2). I dati relativi alle quantità biodisponibili di HM nel suolo e all'accumulo di HM nelle piante, sono stati incrociati al fine di valutare la biodisponibilità effettiva di HM nel suolo.

5.3 Caratterizzazione dei prodotti di precipitazione del Fe(II) in presenza di acidi umici

5.3.1 Preparazione dei campioni

Sono stati misurati i pH delle miscele di HA/Fe(II) lasciate a riposo per 8 anni (dal 1996 al 2004) (tabella 5.3.1).

Tabella 5.3.1 pH delle miscele di HA/Fe(II) lasciate a riposo per 8 anni

R = HA/Fe(II)	pH 5.0	pH 8.0
0	5.40	7.66
0.0001	4.94	7.71
0.001	2.81	7.85
0.01	3.66	7.88

Le sospensioni a pH molto basso (in tabella 5.3.1, valori in grassetto) sono state titolate fino al raggiungimento del pH 5.0 con una soluzione decarbonatata di NaOH 0.1 M, utilizzando un titolatore automatico nella modalità *end point* ed una velocità di aggiunta del titolante pari a 0.1 ml min⁻¹.

Il pH 5.0 è stato mantenuto per 30 min. Successivamente, le sospensioni sono state poste in stufa a 70°C per una settimana ed i pH misurati ed aggiustati una volta al giorno.

I volume delle sospensioni HA/Fe(II) sono stati ridotti mediante ultrafiltrazione attraverso membrane Amicon con pori di diametro pari a 0.01µm (*0.01 mm Spectrum Molecular/Pr type C membranes*). Le sospensioni sono state, quindi, sottoposte a dialisi ed i prodotti di precipitazione dell'ossidazione del Fe si sono ottenuti per liofilizzazione.

5.3.2 Analisi

I prodotti di precipitazione del Fe sono stati caratterizzati con estrazioni chimiche selettive ed analisi strumentali, mediante: misura dei contenuti di Fe totale e di Fe "attivo" (paragrafo 5.5.1), estrazione in ammonio ossalato acido, osservazioni al TEM (paragrafo 5.5.2), analisi diffrattometrica a raggi X (paragrafo 5.5.3), analisi spettroscopica FT-IR (paragrafo 5.5.4).

5.4 Metodologie analitiche impiegate negli esperimenti di rivegetazione

5.4.1 Proprietà fisiche e chimiche del suolo

I campioni di suolo sono stati sottoposti alle seguenti determinazioni analitiche (Violante, 2000): pH-H₂O (rapporto suolo:acqua 1:2.5); conduttività elettrica (rapporto suolo:acqua 1:5); capacità di scambio cationico (CSC) e basi di scambio (Ca, Mg, K, Na) (BaCl₂ a pH 8.2); contenuto totale di carbonati, per calcimetria volumetrica, con calcimetro di Dietrich-Fruehling; contenuto di carbonio organico (metodo Walkley and Black); contenuto di carbonio ed azoto totale mediante analizzatore elementare Fisons NA 1500 CNS.

5.4.2 Contenuto totale di HM di piante e suoli

Il contenuto totale di HM è stato determinato su 500 mg di campione vegetale e 250 mg di suolo (polverizzati con mulino a sfere *Retsch PM200*), mediante mineralizzazione in forno a microonde MILESTONE 900 con miscela (2:6:0.2) di H₂O₂/HNO₃/HF ad una potenza massima di 600 Watt e per una durata di 24 minuti per i materiali vegetali, e con una miscela (10:3:6) di HNO₃/HF/HCl ad una potenza massima di 650 Watt e per una durata di 30 minuti per i suoli. L'estratto è stato filtrato su filtri *Whatman 42 ashless* e portato a volume con H₂O deionizzata.

Il contenuto degli elementi nella soluzione estraente è stato determinato per spettrofotometria in assorbimento atomico con l'impiego di apparecchiatura PERKIN ELMER AAnalyst 700.

Le analisi dei campioni sono state condotte insieme a campioni di "bianco" e di *Standard Reference Material* (rispettivamente CTA-OTL-1, *Oriental Tobacco Leaves*, per i campioni vegetali e BCR No. 141R, *Calcareous Loam Soil*, per i campioni di suolo). Tutte le determinazioni sono state effettuate in triplicato.

5.4.3 Contenuto biodisponibile di HM

La biodisponibilità dei HM è stata misurata utilizzando come estraenti, acido etilendiamminotetracetico (EDTA) 0,05 mol/l a pH 7.00 ± 0.05, secondo le procedure standardizzate dalla *European Commission* (Report EUR 19774 EN).

Il contenuto degli elementi nella soluzione estraente è stato determinato per spettrofotometria in assorbimento atomico con l'impiego di apparecchiatura PERKIN ELMER AAnalyst 700.

La qualità dei dati è stata controllata conducendo la stessa determinazione su campioni di *Standard Reference Material* BCR No. 700, *Organic-rich Soil*, inseriti in ciascun set di analisi. Tutte le estrazioni sono state condotte in triplicato.

5.4.4 *Forme geochimiche dei HM*

L'identificazione e quantificazione delle forme geochimiche di Cu, Pb e Zn è stata effettuata su 1000 mg di campione, secondo la procedura di estrazioni chimiche sequenziali in sei *steps* riportata in Tabella 5.4.4 (modificata da Gummuluru et al., 2002).

L'estrazione è stata completata, sul residuo, mediante digestione acida in miscela (10:3:6) di HNO₃/HF/HCl ad una potenza massima di 650 Watt e per una durata di 30 minuti.

Le analisi dei campioni sono state condotte insieme a campioni di "bianco" e di *Standard Reference Material* BCR No 701, *Lake sediment*. Le determinazioni sono state effettuate in triplicato.

Tabella 5.4.4 Schema di estrazione sequenziale (modificata da Gummuluru et al., 2002).

Step	Frazione geochimica	Reagente	Tempo di contatto e temperatura
1	Scambiabile	10 ml di 1 mol l ⁻¹ NH ₄ NO ₃ (pH 7)	4 h at 25 °C
2	Legata ai carbonati	25 ml di 1 mol l ⁻¹ CH ₃ CO ₂ Na (pH 5)	6 h at 25 °C
3	Facilmente riducibile	20 ml di 0.1 mol l ⁻¹ NH ₂ OH.HCl in 0.01 mol l ⁻¹ HNO ₃	30 min at 25 °C
4	Legata alla sostanza organica	5 ml of 30% H ₂ O ₂ (pH 2); 3 ml di 0.02 mol l ⁻¹ HNO ₃ ; 3 ml of 30% H ₂ O ₂ (pH 2); 10 ml of 2 mol l ⁻¹ NH ₄ NO ₃ in 20 % HNO ₃	2 h at 85 °C 2 h at 85 °C 30 min at 25 °C
5	Legata ai minerali amorfi	10 ml of 0.2 mol l ⁻¹ (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ (pH 3)	4 h at 25 °C (al buio)
6	Legata agli ossidi di Fe cristallini	25 ml of 0.2 mol l ⁻¹ (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ (pH 3) in 0.1 mol l ⁻¹ acido ascorbico	30 min at 95 °C
7	Residuo (minerali di Si)	Digestione con miscela di HCl-HF-HNO ₃	30 min

* 1 g di campione di suolo (<2 mm)

5.5 *Metodologie analitiche applicate per la caratterizzazione dei prodotti di precipitazione del Fe(II) in presenza di HA*

5.5.1 *Contenuto totale e “attivo” di Fe*

5 mg di prodotti di precipitazione del Fe liofilizzati, sono stati disciolti in 1 ml di HCl concentrato, agitando di tanto in tanto durante un intervallo di tempo di 24 ore. 10 mg dello stesso materiale, dopo aggiunta di 10 ml di una soluzione di ammonio ossalato a pH 3, sono stati agitati per 4 ore al buio.

Dopo centrifugazione a 6000 giri per 15 min., è stato prelevato il surnatante.

I contenuti di Fe totale e di Fe “attivo” (associato ad alluminosilicati a scarso ordine cristallino e ad ossidi di Al, Fe, Mn e Si a scarso ordine cristallino) sono stati determinati nelle soluzioni estraenti, dopo opportune diluizioni, per spettrofotometria in assorbimento atomico con l'impiego di apparecchiatura PERKIN ELMER AAnalyst 700 (Buondonno e Coppola, 2000).

5.5.2 *Osservazioni al TEM*

Le osservazioni sono state condotte utilizzando il microscopio elettronico a trasmissione *Philips CM12* a 100 kV. Ciascun campione è stato preparato per l'osservazione al TEM mediante deposizione di una goccia di sospensione HA/Fe(II) fortemente diluita su supporto reticolato di Cu con rivestimento in Formvar, ricoperto, dopo evaporazione, da un sottile strato di carbone (*carbon-coated Formvar film Cu grid*).

5.5.3 *Preparazione dei campioni orientati e analisi diffrattometrica XRD*

Sono stati preparati vetrini di materiale orientato per osservazioni ai raggi X con diffrattometro *Rigaku Geigerflex D/Max IIC* e radiazione Co-K α Fe-filtered a 40 kV e 30 mA. A tal fine, 25 mg di prodotti di precipitazione del Fe, ottenuti precedentemente per liofilizzazione, sono stati macinati in mortaio di agata, sospesi in 1 ml di acqua distillata e trattati agli ultrasuoni.

5.5.4 Analisi spettroscopica FT-IR

I prodotti di precipitazione del Fe sono stati anche esaminati mediante spettroscopia *FT-IR*. La metodica utilizzata ha comportato l'utilizzo di pasticche così preparate: (i) 1 mg di campione e 200 mg di KBr sono stati finemente mescolati; (ii) la miscela campione-KBr è stata posta per 12 ore in essiccatore contenente P₂O₅, in condizioni di vuoto create da una pompa ad acqua; (iii) la miscela campione-KBr disidratata è stata sottoposta ad una pressione di 10 tonnellate per la confezione della pasticca.

Ogni spettro FT-IR è stato ottenuto eseguendo 12 scansioni a bassa velocità con una risoluzione di 2 cm⁻¹.

L'interpretazione degli spettri è stata condotta con l'ausilio dei testi guida all'analisi IR: M. J. Wilson (1987) e V. C. Farmer (1974). Gli spettri IR ottenuti dai campioni invecchiati 8 anni (campioni T4), sono stati comparati con quelli relativi ai campioni invecchiati un mese (campioni T3).

6. ESPERIMENTO DI CRESCITA IN VASO: RISULTATI

6.1 Piante

6.1.1 Altezza

L'altezza delle piante di *Lolium perenne* e di *Helianthus annuus* è stata monitorata, durante la prima (riv I), la seconda (riv II) e la terza rivegetazione (riv III), ad intervalli di ~15 giorni. Durante la prima rivegetazione, avvenuta nel periodo primaverile-estivo, e l'ultima rivegetazione, autunnale-vernina, *Lolium* e *Helianthus* sono state allevate, e monitorate, oltre che sui suoli PM1 e PM2 anche sul suolo S.

Le piante di *Lolium* allevate su S nel periodo primaverile-estivo (riv I) presentano uno sviluppo molto più accentuato delle piante allevate nel periodo autunnale-vernino (riv III), raggiungendo a fine crescita un'altezza rispettivamente di 50 ± 1.3 e 23 ± 0.4 cm. Risulta, pertanto, evidente che la crescita di *Lolium* è stata meno favorita dalle condizioni climatiche del periodo autunnale-vernino (figura 6.1.1a).

L'altezza delle piante di *Lolium* allevate sui substrati contaminati risulta sempre significativamente più elevata durante la prima rivegetazione rispetto alle successive. Per le quali fino al 55-62esimo giorno dalla semina le altezze risultano simili, per poi differenziarsi per uno sviluppo più marcato delle piante in riv III. A 90 giorni dalla semina, l'altezza raggiunta da *Lolium perenne* sui substrati contaminati è in media di 34 ± 1.2 , 19 ± 0.6 e 24 ± 1.3 cm su PM1 e di 36 ± 3.2 , 17 ± 1.2 e 23 ± 1.6 cm su PM2, rispettivamente in riv I, II e III, senza differenze significative tra i due suoli (figure 6.1.1a).

Riassumendo, durante la prima rivegetazione si osserva il migliore sviluppo dei germogli di *Lolium* sia sui substrati contaminati sia sul suolo S. Nelle successive rivegetazioni la crescita si riduce sia per effetto del substrato contaminato sia per le più avverse condizioni ambientali (climatiche, microclimatiche, attacchi parassitari) In tutti i casi entrambi tali fattori non incidono mai così negativamente da indurre la comparsa di danni macroscopici, quali necrosi e clorosi delle foglie, o determinare la morte della pianta.

Anche la crescita di *Helianthus annuus* risulta favorita dalle condizioni primaverili-estive, con piante che raggiungono in tale periodo un'altezza di 86 ± 2.3 cm su S, di 54 ± 2.0 (riv I) e 69 ± 7.1 cm (riv II) su PM1, e di 56 ± 2.1 (riv I) e 74 ± 0.9 cm (riv II) su PM2. Durante la terza rivegetazione, autunnale-vernina, lo sviluppo delle piante di *Helianthus* è più ridotto su tutti i substrati, e decresce passando da S (49 ± 14 cm), a PM1 (44 ± 5.0 cm) e PM2 (38 ± 2.8

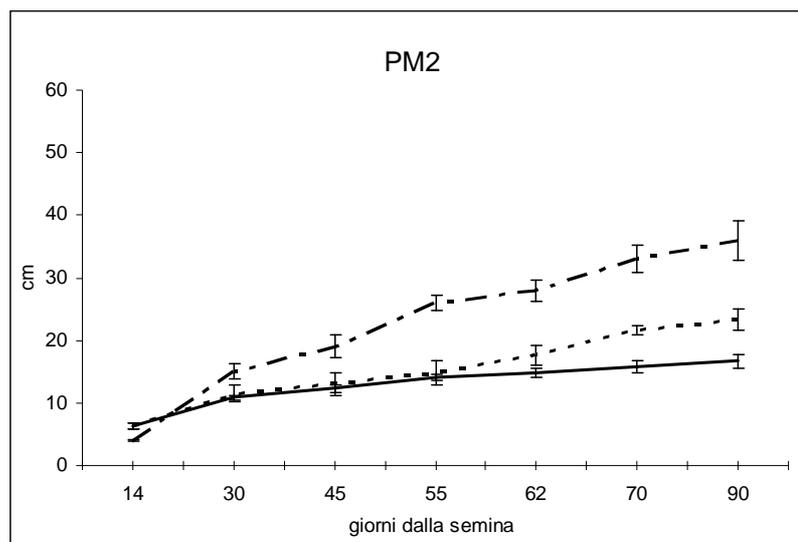
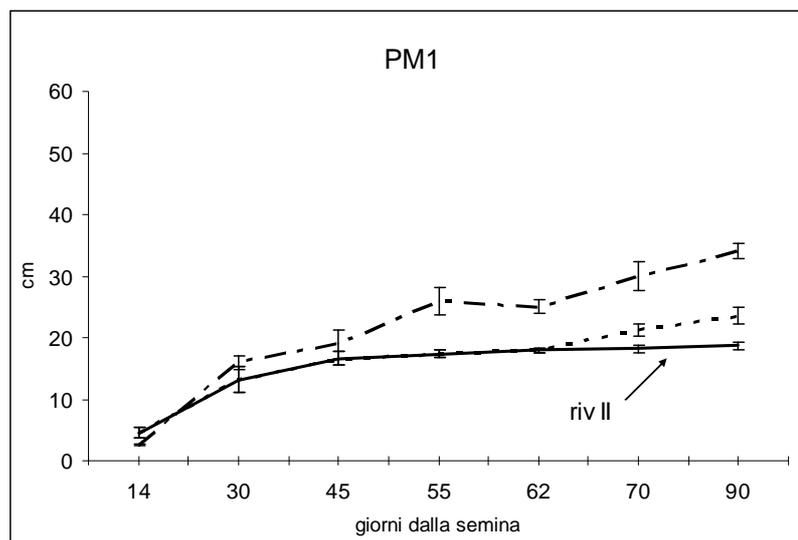
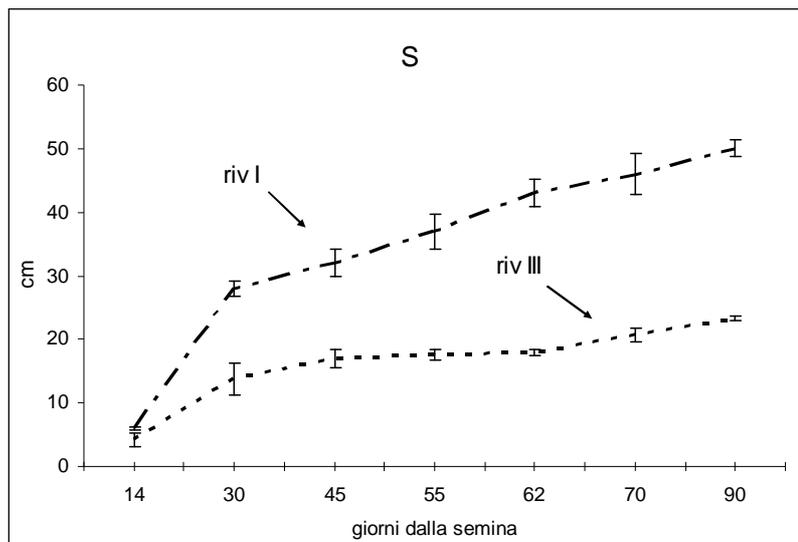


Figura 6.1.1a Altezza delle piante di *Lolium perenne* sui suoli S, PM1 e PM2

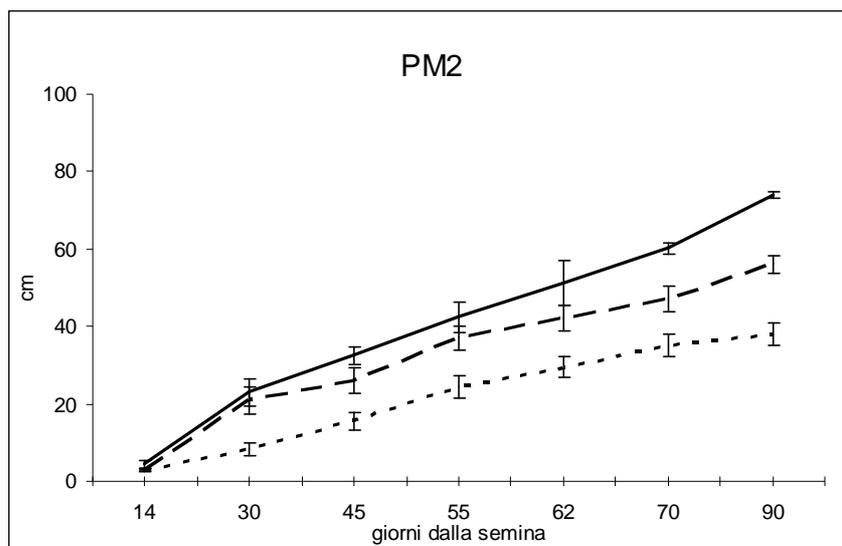
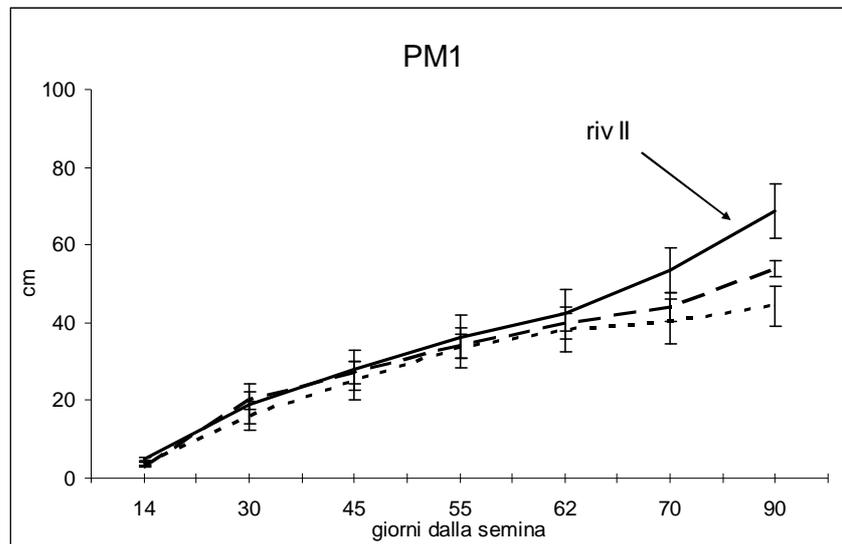
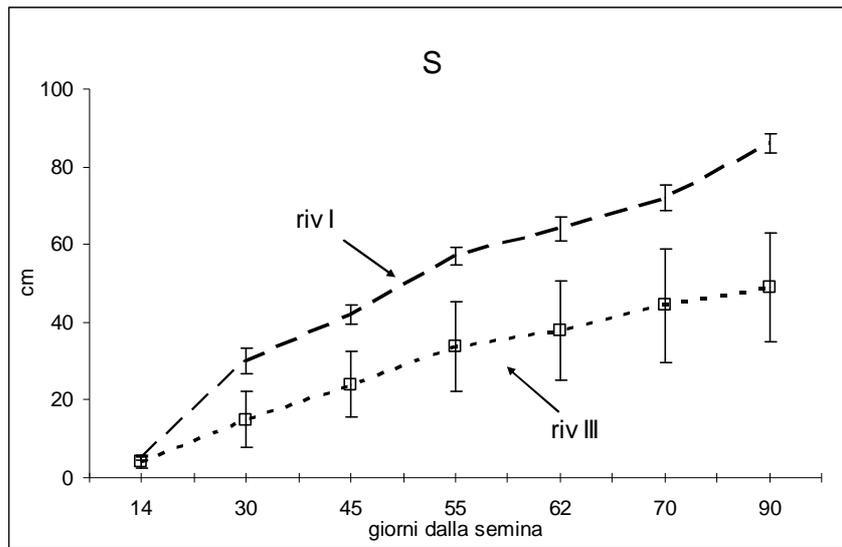


Figura 6.1.1b Altezza delle piante di *Helianthus annuus* sui suoli S, PM1 e PM2

cm). Le differenze tra le piante allevate su PM1 e PM2 sono significative solo in corrispondenza della terza rivegetazione, come conseguenza di una più ridotta crescita su PM2 (figura 6.1.1b).

Come per *Lolium*, oltre al tipo di substrato, altri fattori di tipo climatico, microclimatico o parassitario, concorrono nel determinare la crescita delle piante. Anche nel caso di *Helianthus* non sono stati accertati danni macroscopici, quali necrosi e clorosi delle foglie, e le piante hanno sempre completato il loro ciclo biologico fino a fioritura e produzione di semi.

6.1.2 Biomassa

I valori di biomassa sono stati espressi in grammi di sostanza secca a 70° C mediamente prodotta come foglie + fusto + fiori (biomassa epigea) e come radice (biomassa ipogea), da una singola pianta (*Helianthus annuus*, *Thlaspi caerulescens*) o dalle piante allevate su un kg di suolo (*Lolium perenne*).

Su ogni substrato, la biomassa epigea prodotta da *Lolium perenne* risulta sempre significativamente più elevata durante il periodo primaverile-estivo (riv I e II), rispetto al periodo autunnale-vernino (riv III). La biomassa epigea prodotta sui substrati contaminati è confrontabile con quella prodotta su S solo nella riv I (24 ± 4.3 g kg⁻¹ su S; 20 ± 1.5 e 18 ± 1.9 g kg⁻¹ su PM1 e PM2). Essa diminuisce al procedere delle rivegetazioni con un drastico calo al cambio di stagione (10 ± 0.2 e 11 ± 0.6 g kg⁻¹ in riv II, 4 ± 0.1 e 4 ± 0.3 g kg⁻¹ in riv III, rispettivamente su PM1 e PM2). In ogni rivegetazione non risultano significative le differenze tra biomassa epigea prodotta su PM1 e PM2 (figura 6.1.2a).

I tessuti vegetali epigei senescenti sono stati valutati pari al 30% della biomassa epigea nel periodo primaverile-estivo e al 10% della biomassa epigea in quello autunnale-vernino.

Sia in riv I sia in riv II, la biomassa ipogea prodotta da *Lolium* sui substrati contaminati (9 ± 1.2 e 10 ± 0.9 g kg⁻¹ su PM1; 9 ± 0.4 e 12 ± 3.7 g kg⁻¹ su PM2) è confrontabile con quella prodotta su S (9 ± 0.5 g kg⁻¹). Nella riv III essa si riduce a 2 ± 0.7 g kg⁻¹ su PM1 e 3 ± 0.6 g kg⁻¹ su PM2 (S, 14 ± 1.2 g kg⁻¹). In ogni rivegetazione non risultano significative le differenze tra biomassa ipogea prodotta su PM1 e PM2 (figura 6.1.2a).

La biomassa totale prodotta da *Lolium* è data, in riv I, in misura maggiore dalla biomassa epigea (70%), in riv II e III da pari contributo delle biomasse epigea e ipogea.

La biomassa totale prodotta da *Lolium* su S (33 ± 2.4 e 30 ± 0.3 g kg⁻¹ in riv I e III) risulta significativamente più elevata di quella prodotta sui substrati contaminati, che diminuisce

significativamente al procedere delle rivegetazioni (29 ± 1.3 , 21 ± 1.0 , 6 ± 0.6 g kg⁻¹ su PM1 e 28 ± 1.1 , 24 ± 3.3 , 7 ± 0.7 g kg⁻¹ su PM2, rispettivamente in riv I, II e III) (figura 6.1.2a).

Quindi, la biomassa totale di *Lolium* risulta essere influenzata dal substrato di crescita, poiché è sempre inferiore sui suoli contaminati rispetto al suolo S, anche se non si registrano differenze significative tra PM1 e PM2. La riduzione della biomassa totale è drastica nell'ultima rivegetazione, per effetto della azione sinergica di più fattori contrastanti la crescita.

Anche la biomassa epigea prodotta da *Helianthus annuus* risulta sempre significativamente più elevata durante il periodo primaverile-estivo (riv I e II), rispetto al periodo autunnale-vernino (riv III). In riv I e II, si misurano differenze significative tra le piante allevate su S (11 ± 1.2 g/pianta), più produttive, e su PM1 e PM2, meno produttive e con valori di biomassa epigea più elevati su PM2 (6 ± 1.0 e 5 ± 1.0 g/pianta), rispetto al PM1 (3 ± 0.3 e 4 ± 0.5 g/pianta). In riv III, su tutti i substrati la biomassa epigea si riduce drasticamente (2 ± 0.3 , 0.8 ± 0.3 e 0.7 ± 0.2 g/pianta su S, PM1 e PM2) e le differenze tra PM1 e PM2 non sono più evidenziabili (figura 6.1.2b).

Capolini, fusti e foglie contribuiscono rispettivamente al 31%, 44% e 25% della biomassa epigea nel periodo primaverile-estivo, e al 7%, 52% e 37% della biomassa epigea nel periodo autunnale-vernino.

La biomassa ipogea prodotta da *Helianthus* su S e PM2 è sempre significativamente più elevata durante il periodo primaverile-estivo (2.0 ± 0.3 g/pianta su S in riv I e 0.9 ± 0.2 e 1.5 ± 1.0 g/pianta su PM2, in riv I e II), rispetto al periodo autunnale-vernino (0.6 ± 0.2 e 0.2 ± 0.01 g/pianta su S e PM2 in riv III). Ciò è vero su PM1 solo per riv II e III, mentre la biomassa ipogea prodotta dopo riv I è simile a quella dopo riv III (0.3 ± 0.1 , 1.0 ± 0.2 e 0.3 ± 0.1 g/pianta in riv I, II e III).

In primavera-estate esistono differenze (non sempre significative) tra piante allevate su S, PM1 e PM2 ed i valori di biomassa ipogea sono più elevati su PM2 rispetto al PM1. In autunno-inverno le differenze tra PM1 e PM2 non sono più evidenti (figura 6.1.2b).

Alla biomassa totale prodotta dalle piante di *Helianthus* contribuisce sempre in misura maggiore la biomassa epigea (>75%), rispetto alla ipogea. Per tale ragione l'andamento della biomassa totale è del tutto sovrapponibile a quello, già descritto, della biomassa epigea.

Anche la biomassa totale risulta sempre significativamente più elevata durante il periodo primaverile-estivo (riv I e II), rispetto al periodo autunnale-vernino (riv III). In riv I e II, si misurano differenze significative tra le piante allevate su S (13 ± 0.7 g/pianta), PM1 e PM2,

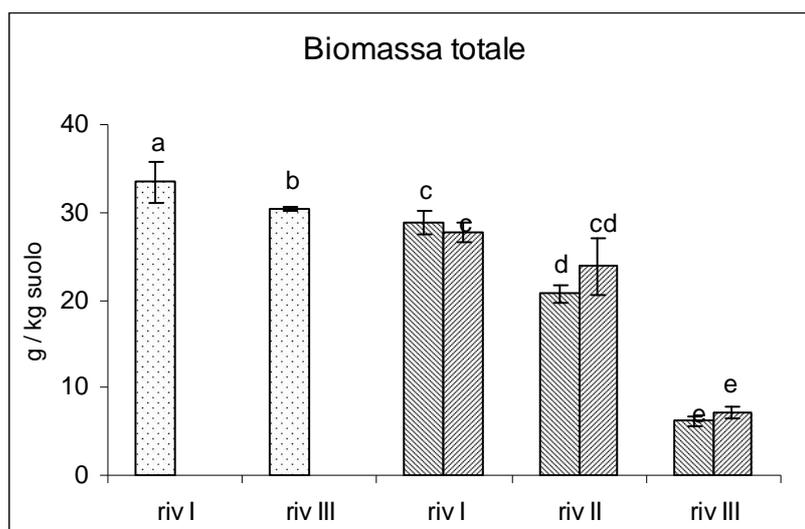
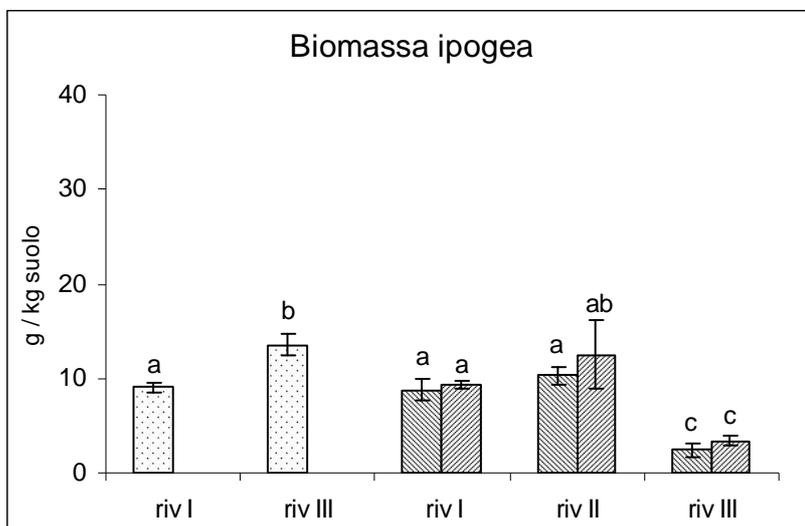
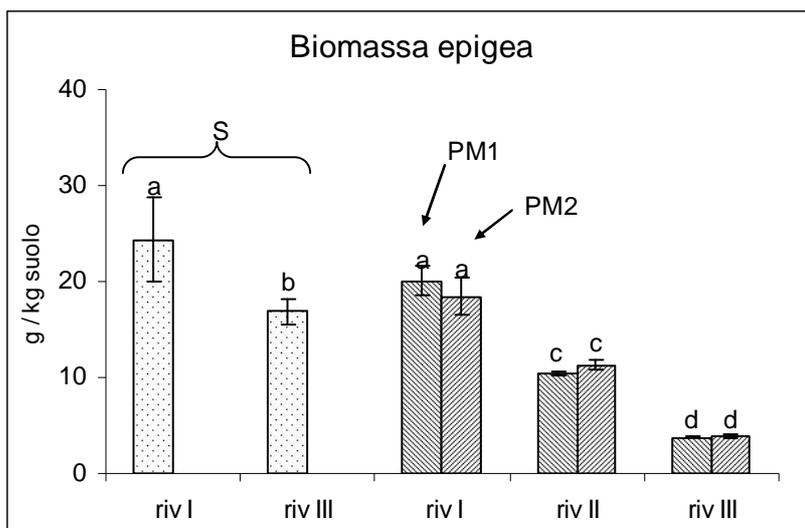


Figura 6.1.2a Biomassa (g s.s / kg suolo s.s.) prodotta da *Lolium perenne* sui suoli S, PM1 e PM2

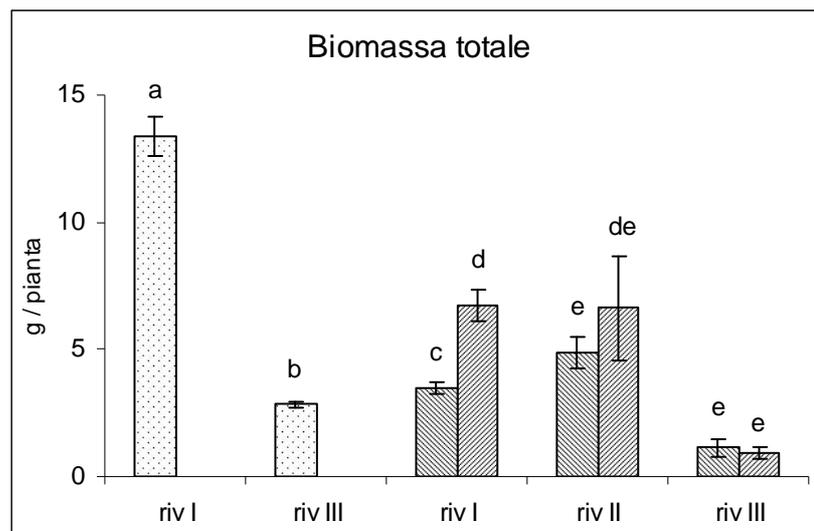
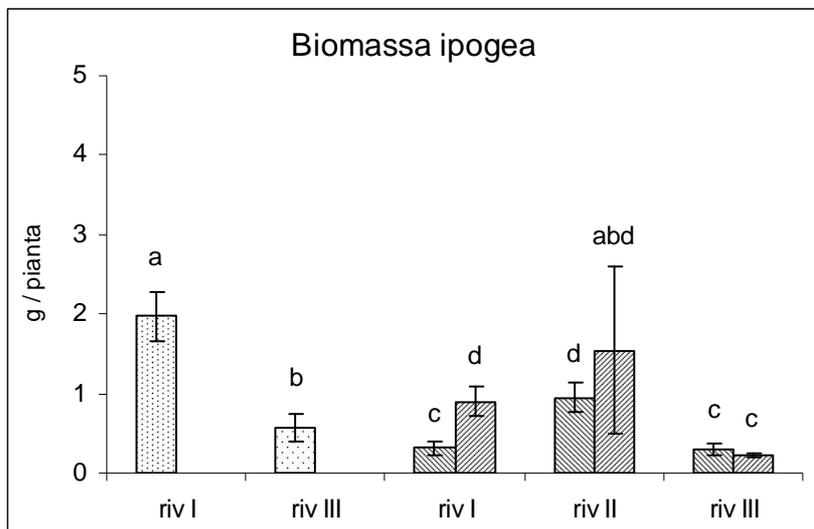
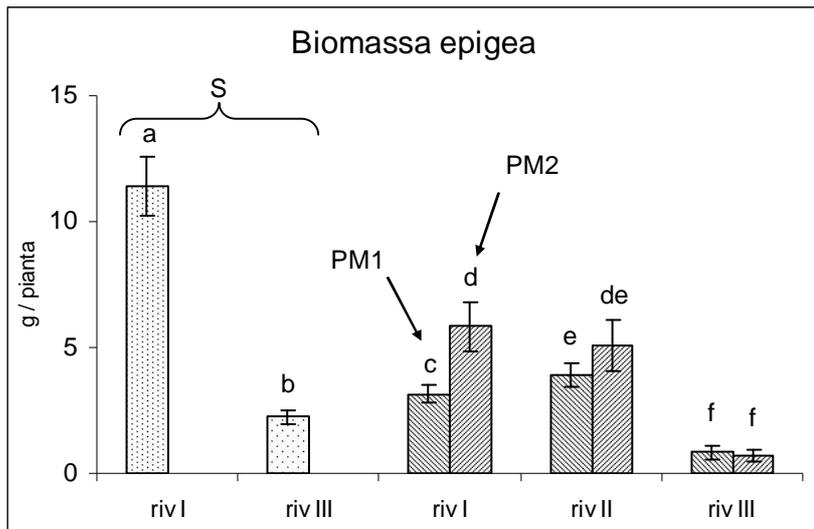


Figura 6.1.2b Biomassa (g s.s./ pianta) prodotta da *Helianthus annuus* sui suoli S, PM1 e PM2

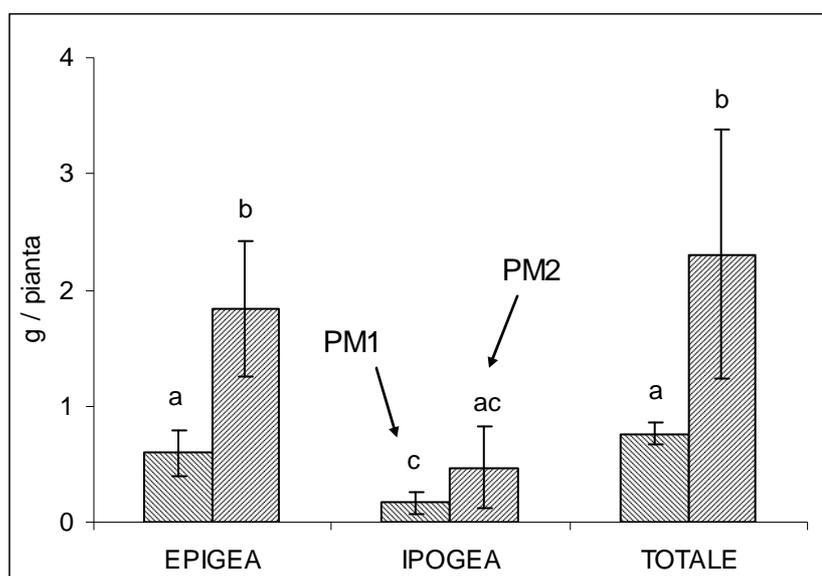


Figura 6.1.2c *Biomassa (g s.s / pianta) prodotta da Thlaspi caerulescens sui suoli PM1 e PM2*

con valori di biomassa epigea più elevati su PM2 (7 ± 0.6 e 7 ± 2.0 g/pianta), rispetto al PM1 (3 ± 0.2 e 5 ± 0.6 g/pianta). In riv III, su tutti i substrati la biomassa totale si riduce drasticamente (3 ± 0.1 , 1 ± 0.3 e 1 ± 0.2 g/pianta su S, PM1 e PM2) e le differenze tra PM1 e PM2 non sono più evidenziabili (figura 6.1.2b).

Dopo ~6 mesi, *Thlaspi* produce in media su PM1 e PM2 rispettivamente 0.6 ± 0.2 e 1.8 ± 0.6 g/pianta di biomassa epigea, e 0.2 ± 0.09 e 0.5 ± 0.3 g/pianta di biomassa ipogea. La biomassa totale, alla quale contribuisce in maggior misura la parte epigea (>78%), su PM1 è pari a 0.8 ± 0.1 g/pianta e su PM2 a 2.3 ± 1.0 g/pianta (figura 6.1.2c).

La biomassa epigea, ipogea e totale prodotta da *Thlaspi caerulescens* è più elevata su PM2 rispetto a PM1 con differenze significative per la biomassa epigea e totale. Ciò sembra indicare una migliore crescita di *Thlaspi caerulescens* su PM2 piuttosto che su PM1. In ogni caso, *Thlaspi* non manifesta danni macroscopici, quali necrosi e clorosi delle foglie, e completa sempre il ciclo biologico fino a fioritura e produzione di semi.

6.1.3 Contenuto di macronutrienti dei tessuti vegetali

Il contenuto totale (g kg^{-1}) di Ca, Na, K, P, Mg e S dei tessuti epigei e ipogei delle piante di *Lolium perenne* e *Helianthus annuus*, dopo la seconda (II) e terza (III) rivegetazione, e di *Thlaspi caerulescens*, allevate su PM1 e PM2 sono riportati nelle figure 6.1.3a, 6.1.3b.

I valori sono quelli comunemente riscontrati nelle piante superiori (tabella 6.1.3). Essi risultano per tutti gli elementi poco costanti: variano al variare del substrato, della specie vegetale, del tessuto analizzato e del periodo di crescita. Le differenze più evidenti sono osservate tra i contenuti di K, P e S dei tessuti epigei (più elevati) e ipogei (meno elevati); il più alto contenuto di Ca in *Helianthus* e *Thlaspi*, rispetto a *Lolium*; e, in generale, di macronutrienti in riv III rispetto a riv II, sia in *Lolium* sia in *Helianthus*.

L'elevato assorbimento di Ca è conseguenza della elevata disponibilità dell'elemento nella fase liquida di substrati ricchi di carbonati. Il contenuto di K delle radici risente della scarsa disponibilità dell'elemento nei substrati di crescita. Il contenuto di P, è basso e prossimo ai valori ritenuti limitanti per la crescita vegetale (1 g kg^{-1}) dopo riv II. I valori del Mg rientrano nell'intervallo di concentrazioni indicato in tabella 6.1.3. Il contenuto di S è sempre superiore o uguale ai valori accertati nelle piante (0.1-0.2 %).

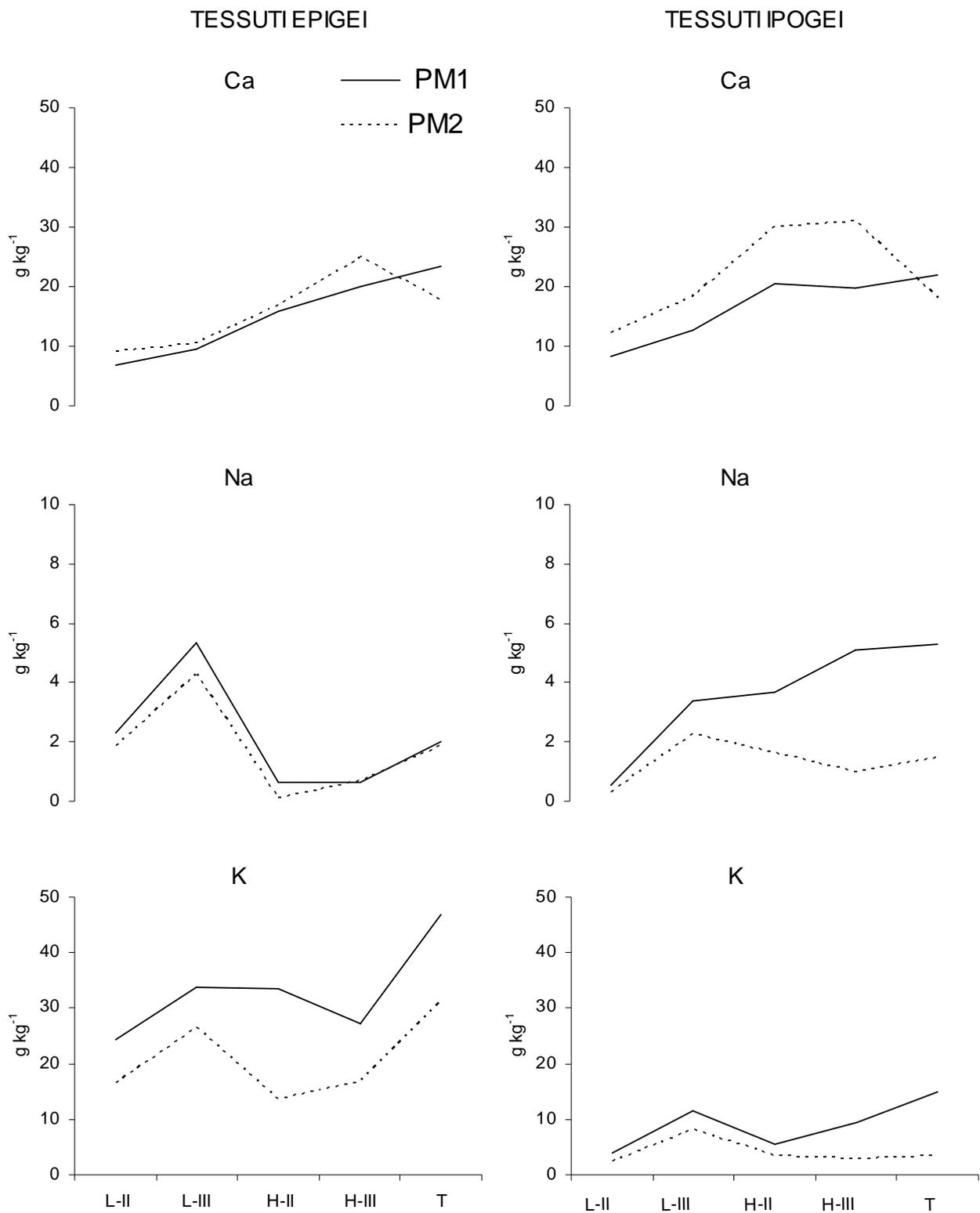


Figura 6.1.3a Contenuto totale di Ca, Na e K (g kg^{-1}) dei tessuti epigei e ipogei delle piante di *Lolium perenne* (L), *Helianthus annuus* (H) e *Thlaspi caerulescens* (T) allevate sui suoli PM1 e PM2

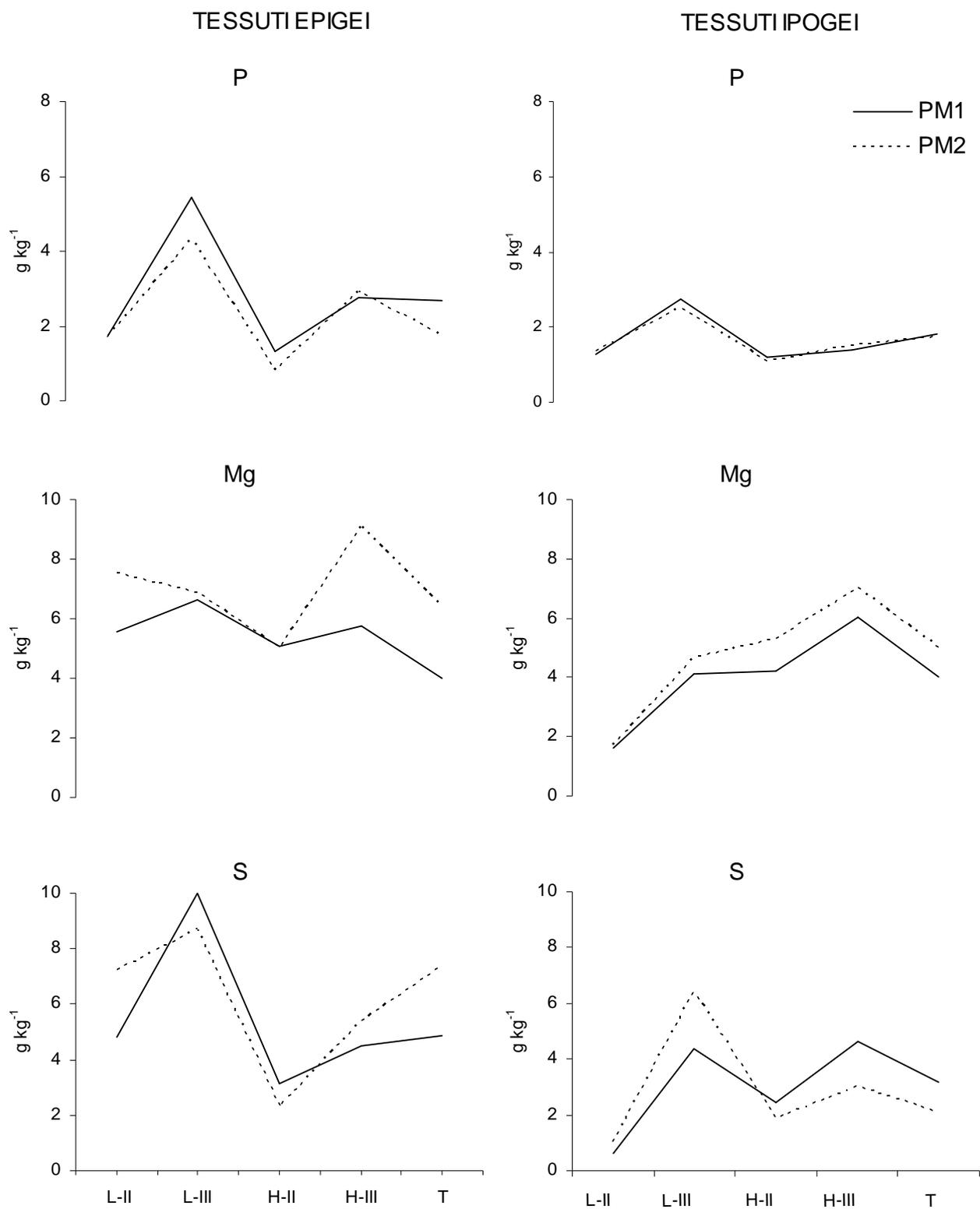


Figura 6.1.3b Contenuto totale di P, Mg e S (g kg^{-1}) dei tessuti epigei e ipogeï delle piante di *Lolium perenne* (L), *Helianthus annuus* (H) e *Thlaspi caerulescens* (T) allevate sui suoli PM1 e PM2

Tabella 6.1.3 Contenuto medio (g kg^{-1}) di elementi minerali nelle piante (¹Kalle, 1968; ²Raven et al., 1994; ³Violante, 2002)

Elemento	Piante coltivate da...a (media) ¹	Piante da...a ²	Colture in pieno campo, medie ³
Ca	3 - 50 (10)	2 - 35	5.0
K	3 - 50 (10)	5 - 60	9.8
P	0.5 - 8 (2)	1 - 8	1.9
Mg	0.5 - 10 (2)	1 - 8	1.9
S	0.5 - 8 (1)	0.5 - 10	1.0

Tabella 6.1.4a Risultati analitici (n=3) per CTA-OTL-1 (Oriental Tobacco Leaves) Standard Reference Material. Le concentrazioni medie sono in mg kg^{-1}

Elemento	CTA-OTL-1				
	Valore certificato		Valore misurato		diff. ¹
	media	S.D.	media	S.D.	
Cu	14.1	0.5	14.1	2.0	-0.3
Pb	4.91	0.8	4.79	0.9	-2
Zn	49.9	2.4	50.9	4.5	+2

¹ $100 * (\text{valore misurato} - \text{certificato}) / \text{valore certificato}$

Tabella 6.1.4b Contenuto medio (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn nelle piante (¹Kabata-Pendias, 2001 ; ²Sequi; ³Raven et al., 1994; ⁴Violante, 2002)*

Elemento	Foglie mature sufficienza normalità ¹	Piante min-max ²	Piante da...a ³	Colture in pieno campo, medie ⁴	Foglie mature limiti di tossicità ¹
Cu	5-30	5-15	5-30	6	20
Pb	5-10	0.1-10			30
Zn	27-150	8-100	15-100	20	100

*Non sono considerate le piante particolarmente sensibili o tolleranti

6.1.4 Contenuto di HM dei tessuti vegetali

L'accuratezza del metodo analitico impiegato è stata testata comparando i valori certificati e i valori misurati dello *Standard Reference Material* CTA-OTL-1 (*Oriental Tobacco Leaves*) ed esprimendo le differenze come percentuale del valore certificato. La precisione del metodo analitico è espressa dalla deviazione standard della media. I risultati sono riportati in tabella 6.1.4a. I valori misurati cadono nell'intervallo $-2/+2$ % dei valori certificati. Elevate (2.0, 4.5) SD si registrano per Cu e Zn. Tuttavia, considerando i risultati ottenuti, l'accuratezza e precisione del metodo possono essere considerate accettabili per tutti gli elementi.

Il contenuto totale (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigei e ipogei delle piante di *Lolium perenne*, *Helianthus annuus* e *Thlaspi caerulescens* allevate sui suoli S, PM1 e PM2 è riportato nelle figure 6.1.4a, 6.1.4b.

1) *Lolium* e *Helianthus*

Sul suolo S, i contenuti totali di Cu, Pb e Zn delle piante di *Lolium* e *Helianthus* possono essere considerati valori di *background* per tali specie. Nei tessuti epigei, tali valori risultano pari, rispettivamente, a 10 ± 0.4 , 0.5 ± 0.03 e 79 ± 0.9 mg kg^{-1} per *Lolium* e 5.4 ± 0.5 , 0.5 ± 0.03 e 24 ± 3.9 mg kg^{-1} per *Helianthus*. I valori sono compresi negli intervalli di concentrazione di Cu, Pb e Zn osservati nelle piante (tabella 6.1.4b). Nei tessuti ipogei, sono presenti quantità di Cu, Pb e Zn rispettivamente pari a 150 ± 40 , 25 ± 12 e 267 ± 34 mg kg^{-1} per *Lolium* e 140 ± 28 , 42 ± 6.4 e 293 ± 5.2 mg kg^{-1} per *Helianthus*. *Lolium* sembra accumulare nelle parti epigee quantità di Cu e Zn più elevate di *Heliantus*. In entrambe le specie, i contenuti, sempre molto elevati nei tessuti ipogei, confermano il ruolo di intercettazione ed immobilizzazione della radice nei confronti dei metalli pesanti.

Sui suoli contaminati, PM1 e PM2, i contenuti totali (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigei delle piante di *Lolium* e *Helianthus* risultano in riv I, II e III rispettivamente pari a: PM1, Cu: 19, 15, 23 (L) e 10, 16, 16 (H). Pb: 1.0, 1.4, 1.9 (L) e 2.0, 0.8, 1.1 (H). Zn: 99, 98, 106 (L) e 44, 48, 68 (H). PM2, Cu: 13, 11, 15 (L) e 5.0, 5.8, 15 (H). Pb: 0.7, 1.2, 1.6 (L) e 1.2, 0.6, 1.2 (H). Zn: 88, 90, 93 (L) e 30, 39, 87 (H).

Nei tessuti ipogei essi risultano pari a: PM1, Cu: 375, 163, 250 (L) e 245, 426, 368 (H). Pb: 58, 94, 104 (L) e 121, 175, 196 (H). Zn: 392, 314, 512 (L) e 320, 538, 606 (H). PM2, Cu: 174, 95, 116 (L) e 268, 137, 335 (H). Pb: 38, 117, 125 (L) e 100, 157, 218 (H). Zn: 295, 428, 490 (L) e 493, 480, 595 (H). Le deviazioni standard ($n = 3$) per tutte le misure risultano sempre molto piccole.

Così come osservato sul suolo S, *Lolium* tende ad avere contenuti di metalli più elevati nei tessuti epigei ed *Helianthus* nei tessuti ipogeï, ed entrambe le specie hanno un contenuto di Cu, Pb e Zn più elevato nelle radici rispetto alle parti apicali. I contenuti totali di HM nei tessuti vegetali epigeï, che oscillano per il Cu tra 5 e 23 mg kg⁻¹, per il Pb tra 0.6 e 2 mg kg⁻¹ e per lo Zn tra 30 e 106 mg kg⁻¹, rimangono negli intervalli di “normalità” (tabella 6.1.4b).

- *Relazione tra contenuto di metalli dei tessuti vegetali e dei substrati di crescita.* Il contenuto di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigeï e ipogeï sia di *Lolium* sia di *Helianthus* allevati sui suoli contaminati è sempre significativamente più elevato di quello misurato su S (figure 6.1.4a e 6.1.4b).

Il contenuto di Cu delle piante di *Lolium* e di *Helianthus* allevate su PM1 (Cu totale: 349 ±63 mg kg⁻¹) è superiore a quello delle piante allevate su PM2 (Cu totale: 92±9.0 mg kg⁻¹). I contenuti di Pb e Zn delle piante allevate su PM1 e su PM2 non risultano significativamente diversi, così come i contenuti totali di tali elementi nei substrati (PM1, Pb e Zn: 249±66 e 717±95 mg kg⁻¹; PM2, Pb e Zn: 283±62 e 653±109 mg kg⁻¹).

- *Effetto rivegetazione.* Con il procedere delle rivegetazioni, il contenuto di Cu, Pb e Zn dei tessuti vegetali sia di *Lolium*, sia di *Helianthus* tende ad aumentare. Nel caso del Cu, i valori misurati nella riv I o II, talvolta superiori a quelli misurati in riv III, rendono meno evidente tale andamento.

L'aumento del contenuto totale di Cu, Pb e Zn con le rivegetazioni è molto limitato nei tessuti epigeï di *Lolium* (su PM1 e PM2 da-a (mg kg⁻¹), Cu: 15-23 e 11-15; Pb: 1.0-1.9 e 0.7-1.6; Zn: 98-106 e 88-93) e di *Helianthus* (Cu: 10-16 e 5.1-15; Pb: 0.8-2.0 e 0.6-1.2; Zn: 44-68 e 30-87). Viceversa incrementi consistenti della concentrazione di Cu, Pb e Zn si osservano nei tessuti ipogeï sia di *Lolium* (su PM1 e PM2 da-a (mg kg⁻¹), Cu: 163-375 e 95-174; Pb: 58-104 e 38-125; Zn: 314-512 e 295-490) sia di *Helianthus* (Cu: 245-426 e 137-335; Pb: 121-196 e 100-218; Zn: 320-606 e 480-595).

2) *Thlaspi*

Il contenuto totale di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigeï di *Thlaspi caerulescens* risulta rispettivamente pari a 41±1.7, 1.2±0.2 e 385±40 mg kg⁻¹ su PM1 e 7.5±1.6, 0.9±0.2, 243±3.6 mg kg⁻¹ su PM2. Il contenuto totale di Cu, Pb e Zn dei tessuti ipogeï è rispettivamente 375±13, 157±4.0 e 547±15 mg kg⁻¹ sul PM1 e 163±25, 136±12 e 410±32 mg kg⁻¹ su PM2

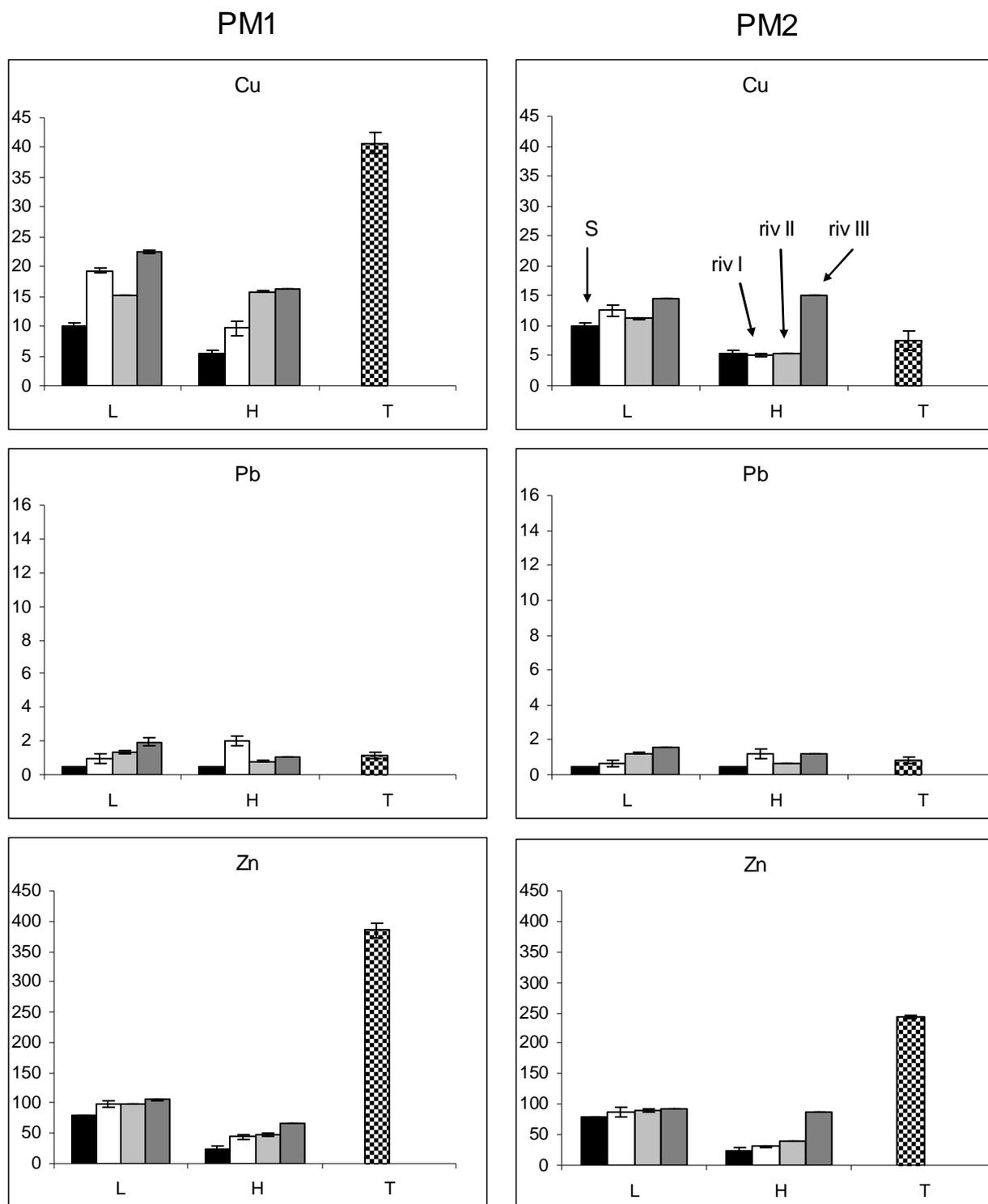


Figura 6.1.4a Contenuto totale (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigei delle piante di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T) allevate sui suoli S (L e H), PM1 e PM2

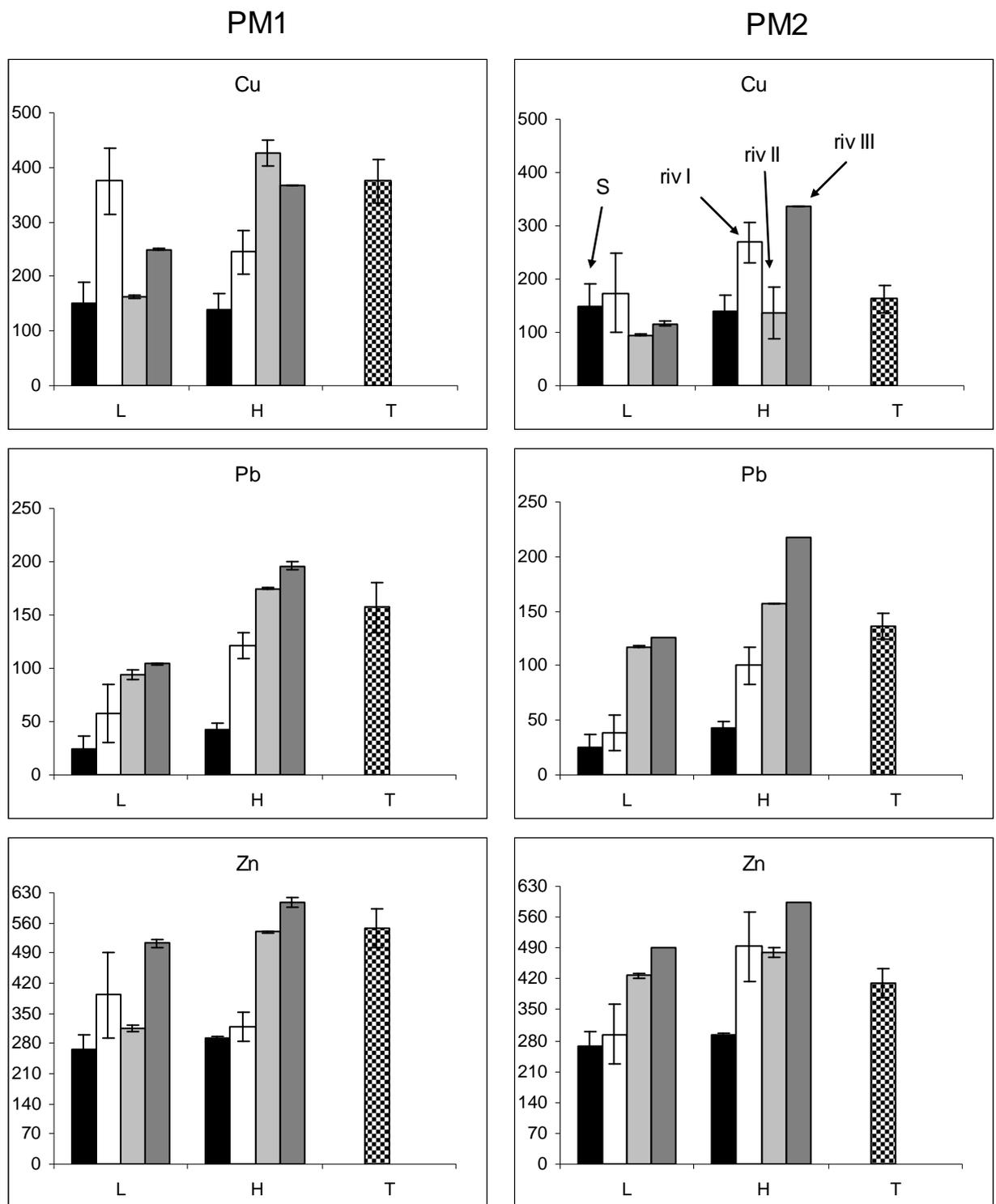


Figura 6.1.4b Contenuto totale (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn dei tessuti ipogei delle piante di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T) allevate sui suoli S (L e H), PM1 e PM2

(figure 6.1.4a, 6.1.4b). Valori più elevati si accertano nei tessuti ipogei e nelle piante cresciute su PM1, nonostante le difficoltà incontrate da *Thlaspi* nell'adattarsi a tale substrato. In particolare, il contenuto di Cu e Zn dei tessuti delle piante allevate su PM1 (Cu e Zn totale: 349 ± 63 e 717 ± 95 mg kg⁻¹) è significativamente più elevato di quello delle piante allevate su PM2 (Cu e Zn totale: 92 ± 9.0 e 653 ± 109 mg kg⁻¹), mentre il contenuto di Pb delle piante, così come il contenuto totale di tale elemento nei suoli (Pb totale di PM1: 249 ± 66 mg kg⁻¹ e di PM2: 283 ± 62 mg kg⁻¹), non risulta significativamente diverso tra PM1 e PM2.

Nei tessuti epigei di *Thlaspi*, il contenuto di Cu su PM1 ed il contenuto di Zn su PM1 e PM2, risultano più elevati (x 2 il Cu; x 4-6 lo Zn) rispetto a quello dei tessuti epigei di *Lolium* ed *Helianthus* allevate sui substrati contaminati, che erano nella norma (tabella 6.1.4b). Quindi, *Thlaspi* conferma la sua ben nota capacità di accumulare lo Zn e manifesta anche un buon *uptake* di Cu su PM1, nonostante la sua sensibilità nei confronti dell'elemento. Nei tessuti ipogei di *Thlaspi* le concentrazioni di Cu, Pb e Zn risultano non significativamente diverse rispetto a quelle dei tessuti ipogei delle piante di *Lolium* ed *Helianthus*.

6.1.5 Indici di bioaccumulo e di traslocazione

La concentrazione di HM dei tessuti epigei di *Lolium perenne*, *Helianthus annuus* e *Thlaspi caerulescens* è stata confrontata con la concentrazione di HM dei substrati di crescita e dei rispettivi tessuti ipogei, mediante il calcolo del rapporto "concentrazione dell'elemento nel tessuto epigeo / concentrazione totale dell'elemento nel suolo" (*bioconcentration factor* o *BF*) (Baker et al., 1994a) e del rapporto "concentrazione dell'elemento nel tessuto epigeo / concentrazione dell'elemento nel tessuto ipogeo" (*translocation factor* o *TF*).

Utilizzando questi indici è possibile anche confrontare il contenuto di Cu, Pb e Zn dei tessuti ipogei con il contenuto totale di HM del suolo, tenendo conto che il rapporto "concentrazione dell'elemento nel tessuto ipogeo / concentrazione totale dell'elemento nel suolo" è pari al rapporto BF/TF.

Tutti i suddetti indici sono riportati nelle figure 6.1.5a, 6.1.5b, 6.1.5c.

1) *Lolium* e *Helianthus*

Sul suolo S, *Lolium perenne* e *Helianthus annuus* presentano un contenuto di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigei più basso rispetto al contenuto totale del suolo e dei tessuti ipogei (BF e TF <<1), sebbene in *Lolium* rispetto ad *Helianthus* si accertano valori di BF e TF

leggermente più elevati (Cu, Pb e Zn, rispettivamente, BF : 0.14, 0.005, 0.5 (L) e 0.08, 0.005, 0.16 (H); TF : 0.07, 0.02, 0.3 (L) e 0.04, 0.01, 0.08 (H)). Il rapporto BF/TF , pari per *Lolium* e *Helianthus* rispettivamente a 2.0 e 2.1 per il Cu, 0.2 e 0.4 per il Pb, 1.7 e 1.9 per lo Zn, evidenzia un bioaccumulo di Cu e Zn a livello delle radici di entrambe le specie vegetali (figure 6.1.5a, 6.1.5b, 6.1.5c).

Riassumendo, sul suolo S non contaminato, si osserva una scarsa traslocazione e un altrettanto scarso bioaccumulo di HM nei tessuti epigei, il bioaccumulo di Cu e Zn nelle radici, l'esclusione di Pb sia dai tessuti epigei sia da quelli ipogei.

Sui suoli contaminati PM1 e PM2, il bioaccumulo (i.e. il fattore BF) di Cu e Zn in *Lolium* e *Helianthus* risulta generalmente ridursi con l'aumento della quantità totale di metallo nel suolo. Infatti, gli indici di bioaccumulo del Cu delle piante allevate su PM1 (Cu totale: 349 ± 163 mg kg⁻¹), compresi negli intervalli 0.04-0.06 (L) e 0.03-0.05 (H), sono più bassi di quelli delle piante allevate su PM2 (Cu totale: 92 ± 9.0 mg kg⁻¹), tra 0.12-0.16 (L) e 0.06-0.16, che, a loro volta, risultano confrontabili con quelli delle piante allevate su S (Cu totale: 70 mg kg⁻¹). Gli indici di bioaccumulo dello Zn delle piante allevate su PM1 e PM2 (Zn totale: 717 ± 95 e 653 ± 109 mg kg⁻¹), rispettivamente tra 0.14-0.15 e 0.13-0.14 (L), 0.06-0.09 e 0.05-0.13 (H), sono più bassi rispetto a quelli delle piante allevate sul suolo S (Zn totale: 157 mg kg⁻¹) (figure 6.1.5a, 6.1.5b, 6.1.5c).

Con il procedere delle rivegetazioni, i fattori BF variano in modo non costante. Solo gli indici di bioaccumulo del Pb, in *Lolium* tendono sempre ad aumentare.

Come osservato su S, anche su PM1 e PM2 le piante di *Lolium* traslocano e accumulano più Cu, Pb e Zn nei tessuti epigei rispetto alle piante di *Helianthus* (TF su PM1 e PM2 rispettivamente da-a, Cu: 0.05-0.09 e 0.07-0.13 (L); 0.04-0.04 e 0.02-0.05 (H); Pb: 0.01-0.02 e 0.01-0.02 (L), 0.005-0.02 e 0.004-0.01 (H); Zn: 0.2-0.3 e 0.2-0.3 (L), 0.09-0.1 e 0.06-0.1 (H)). Sui suoli contaminati, i TF rispetto ad S rimangono sostanzialmente immutati. Fa eccezione il TF del Cu in *Lolium* che, sebbene sia sempre $\ll 1$, tende a crescere al procedere delle rivegetazioni e risulta più elevato su PM2 rispetto a PM1.

Rispetto ad S, il rapporto BF/TF in *Lolium* e *Helianthus*, risulta inferiore per Cu e Zn, e più elevato per Pb. Esso è pari, in media, per Cu, Pb e Zn rispettivamente a, 0.8, 0.3 e 0.6 (L) e 1.0, 0.7 e 0.7 (H) sul suolo PM1; ed a 1.4, 0.3 e 0.6 (L) e 2.7, 0.6 e 0.8 (H) sul suolo PM2. E' più elevato in *Helianthus* rispetto a *Lolium* ed evidenzia a livello delle radici di entrambe le specie valori di bioaccumulo di Cu interessanti su PM2.

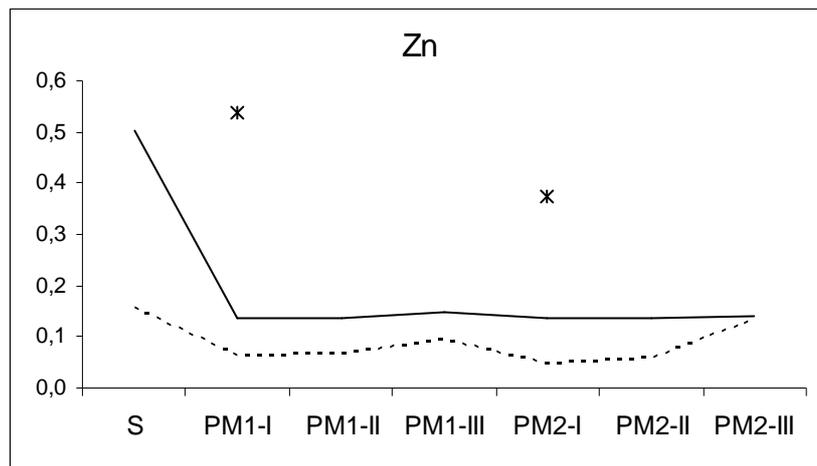
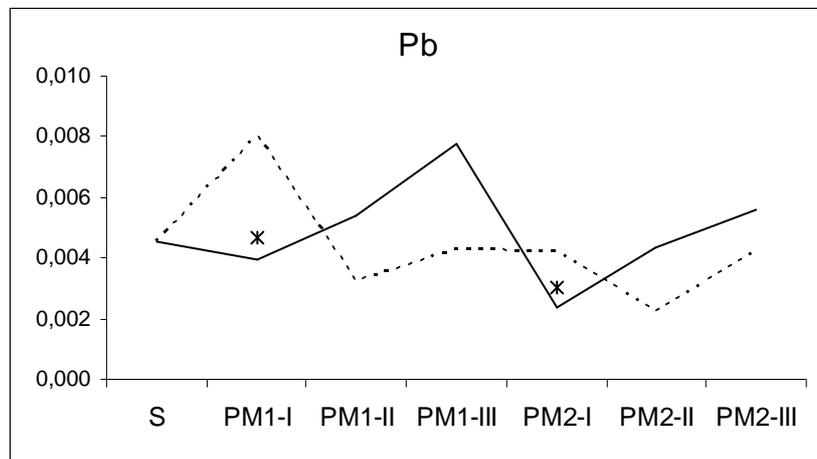
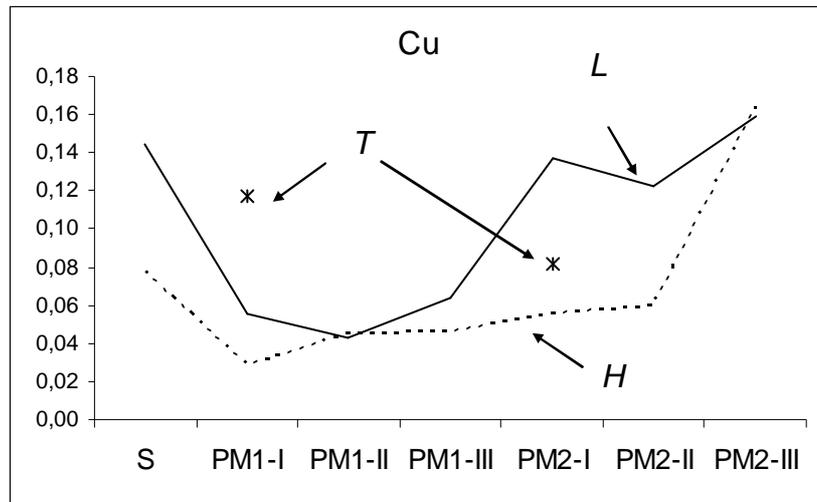


Figura 6.1.5a Indici di bioaccumulo (BF) relativi alle piante di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T) allevate sui suoli S, PM1 e PM2

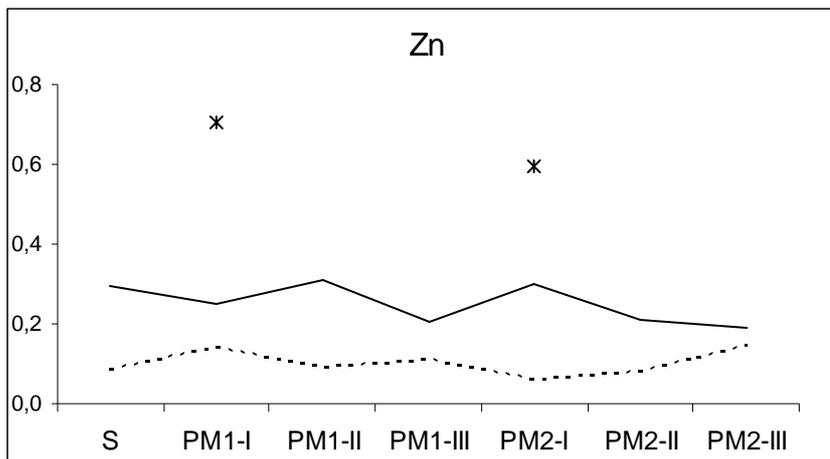
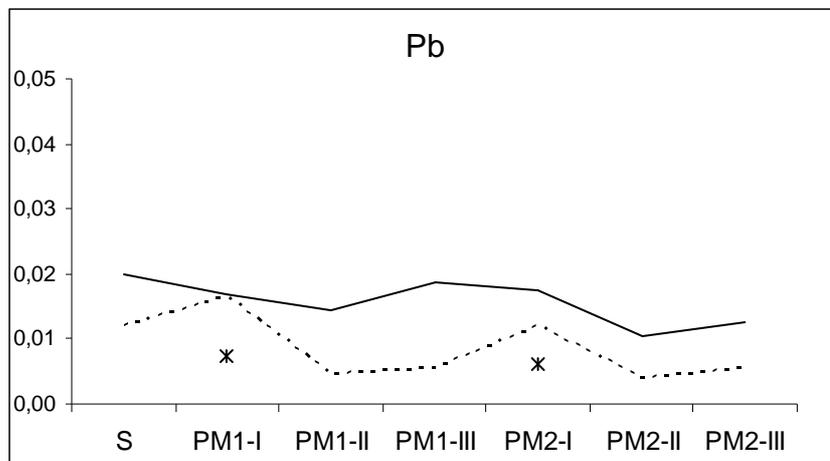
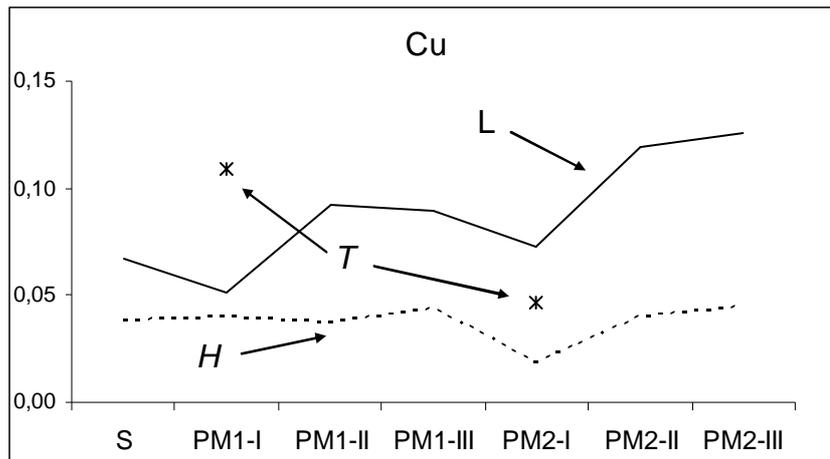


Figura 6.1.5b Indici di traslocazione (TF) relativi alle piante di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T) allevate sui suoli S, PM1 e PM2

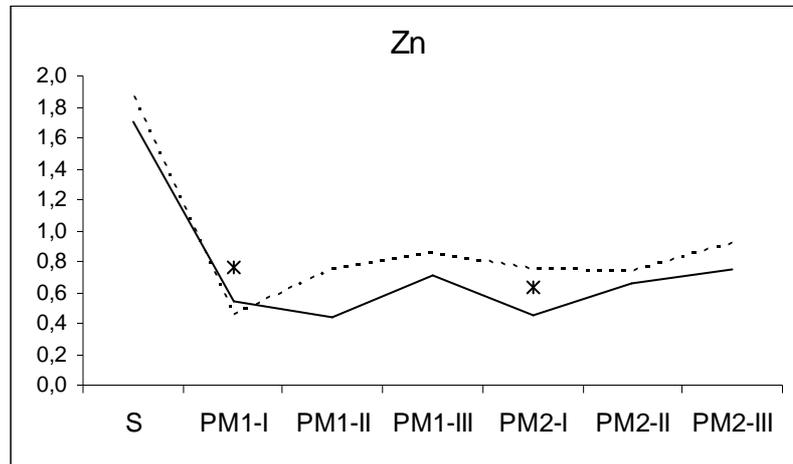
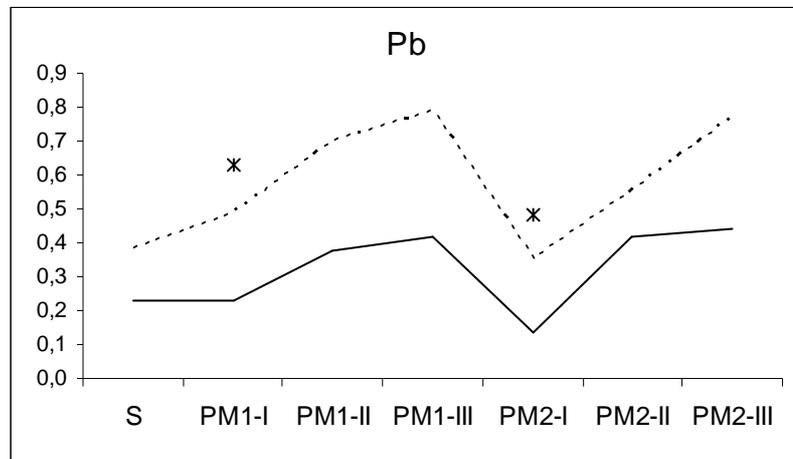
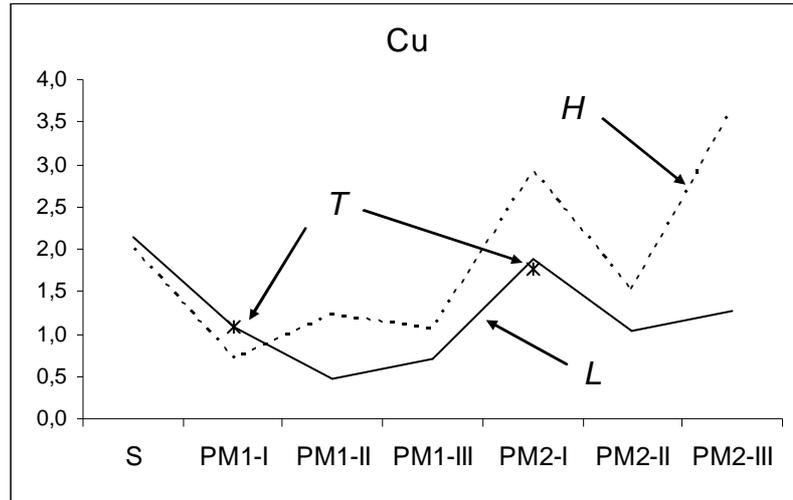


Figura 6.1.5c Rapporti BF/TF relativi alle piante di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T) allevate sui suoli S, PM1 e PM2

Riassumendo, all'aumento del contenuto totale di Cu e di Zn nei substrati contaminati rispetto al suolo S non corrisponde un pari incremento della concentrazione dei metalli né nei tessuti epigei né nei tessuti ipogei delle piante di *Lolium* e *Helianthus* (i *BF* e *BF/TF* diminuiscono). Nonostante ciò su PM2 il Cu è ancora bioaccumulato dalle radici, in particolare da *Helianthus*. La traslocazione dei HM rimane sostanzialmente invariata.

2) *Thlaspi*

Le piante di *Thlaspi caerulescens* presentano un contenuto di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigei più basso rispetto al contenuto totale del suolo e dei tessuti ipogei (*BF* e *TF* <<1), sebbene rispetto a *Lolium* e *Helianthus* si accertano valori di *BF* e *TF* per Cu (0.12 e 0.11) su PM1 e per Zn, sia su PM1 (0.54 e 0.70) sia su PM2 (0.37 e 0.59) più elevati (figure 6.1.5a, 6.1.5b). Il rapporto *BF/TF*, pari su PM1 e PM2 rispettivamente a 1.1 e 1.8 per il Cu, 0.6 e 0.5 per il Pb, 0.8 e 0.6 per lo Zn, risultano simili a quelli osservati per le piante di *Lolium* e *Helianthus* allevate sui substrati contaminati, ed evidenziano, anche in *Thlaspi* un bioaccumulo di Cu a livello delle radici. Pur essendo ben nota la capacità della pianta di iperaccumulare a livello dei tessuti epigei lo Zn, sulla base dei valori di *TF* e *BF* osservati, essa non si comporta da accumulatrice sui substrati PM1 e PM2, ma piuttosto come *escluder*.

6.1.6 *Quantità di HM asportate dal suolo attraverso l'assorbimento vegetale*

Le quantità totali (*TM*) di Cu, Pb e Zn allontanate dal suolo e immobilizzate nelle piante *Lolium perenne*, *Helianthus annuus* e *Thlaspi caerulescens*, sono state calcolate tenendo conto del contenuto di HM dei tessuti vegetali [*HM*] e della biomassa epigea ed ipogea prodotta dalle piante per kg di suolo, secondo l'equazione:

$$TM = [HM]_{epigea} \times biomassa_{epigea} + [HM]_{ipogea} \times biomassa_{ipogea}$$

Per *Lolium* ed *Helianthus*, le quantità totali di Cu, Pb e Zn presenti nelle piante dopo ogni rivegetazione, sono state sommate per calcolare i *TM* complessivi.

Tutti i valori relativi ai *TM* sono riportati nelle figure 6.1.6a-d.

1) *Lolium e Helianthus*

Sul suolo S, *Lolium perenne* ed *Helianthus annuus* hanno asportato complessivamente (germogli + radici) 1.6, 0.2, 4.3 e 4.1, 1.1, 10 mg di Cu, Pb e Zn, pari a 2.3, 0.2, 2.8 (L) e 5.9, 1.0, 6.6 % (H) delle quantità totali di HM presenti nel suolo. In *Helianthus* rispetto a *Lolium* le *TM* risultano sempre più elevate. Una più elevata quantità di metalli asportata si trova nei tessuti ipogei (Cu, Pb, Zn: 1.4, 0.19, 2.4 mg in *Lolium*, 3.3, 1.0, 6.7 mg in *Helianthus*) rispetto ai tessuti epigei (Cu, Pb, Zn: 0.2, 0.01, 1.9 mg in *Lolium*; 0.8, 0.1, 3.4 mg in *Helianthus*), soprattutto per Cu e Pb (figure 6.1.6a, 6.1.6b).

Pertanto, tenuto conto della molto limitata quantità di HM asportata e dell'accumulo preferenziale di questa a livello dei tessuti ipogei, è possibile asserire che né la crescita di *Lolium* né quella di *Helianthus* possono modificare significativamente la dotazione di metalli del suolo S (Cu Pb e Zn totali: 70, 110 e 157 mg/kg).

Sui suoli PM1 e PM2, entrambe le specie in ogni rivegetazione hanno asportato piccole quantità di HM, che, solo in *Lolium* in riv I e II, risultano pari o superiori a quelle asportate su S. Tenuto conto delle più elevate concentrazioni di HM delle piante allevate sui substrati contaminati rispetto a quelle delle piante allevate su S, i bassi valori di *TM* sono da ricondurre alle minori biomasse prodotte da *Lolium* e *Helianthus* su PM1 e PM2. Non si osservano differenze significative tra i due substrati contaminati. Nelle diverse rivegetazioni, le piante asportano quantità crescenti di Cu, Pb e Zn nell'ordine riv II > riv I > riv III. I tessuti ipogei contengono più HM rispetto ai tessuti epigei, soprattutto per Cu e Pb (figure 6.1.6a, 6.1.6b).

Sommando le detrazioni di HM di ogni rivegetazione, le quantità di Cu, Pb e Zn complessivamente asportate da PM1 risultano di 6.2, 1.8, 11 mg per *Lolium* e di 2.8, 1.1, 4.8 mg per *Helianthus*; da PM2, di 3.6, 2.3, 13 mg per *Lolium* e di 2.7, 1.7, 8.0 mg per *Helianthus* (figura 6.1.6d). Contrariamente a quanto osservato su S, *Lolium* asporta quantità di HM più elevate rispetto ad *Helianthus*. Differenze tra PM1 e PM2 sono riscontrate nelle quantità di Cu asportate da *Lolium* (> su PM1) e di Pb e Zn asportate da *Lolium* e *Helianthus* (> su PM2). Le quantità di HM asportate si concentrano più nei tessuti ipogei (Cu, Pb, Zn, PM1: 5.6, 1.7, 7.9 mg in *Lolium* e 2.4, 1.0, 3.2 mg in *Helianthus*. PM2: 3.2, 2.2, 9.7 mg in *Lolium* e 2.4, 1.6, 6.0 mg in *Helianthus*) rispetto ai tessuti epigei (Cu, Pb, Zn, PM1: 0.6, 0.1, 3.1 mg in *Lolium* e 0.4, 0.1, 1.6 mg in *Helianthus*. PM2: 0.4, 0.1, 3.3 in *Lolium* e 0.3, 0.1, 2.0 mg in *Helianthus*), con differenze più marcate per Cu e Pb (figura 6.1.6d). Le quantità *TM* complessivamente asportate, espresse come percentuale del contenuto totale di Cu, Pb e Zn del suolo, risultano pari a:

PM1, 1.8, 0.7, 1.6 % (L) e 0.8, 0.4, 0.7 % (H) e PM2, 3.9, 0.8, 1.9 % (L) e 2.9, 0.6, 1.2 % (H). Una più elevata percentuale di HM, in particolare di Cu, è asportata da *Lolium* e *Helianthus* su PM2 rispetto a PM1.

2) *Thlaspi*

Le piante (germogli + radici) di *Thlaspi caerulescens* asportano 0.5, 0.1, 1.7 mg di Cu, Pb e Zn dal suolo PM1 e 0.3, 0.2, 2.0 mg di Cu, Pb e Zn dal suolo PM2. Le piante asportano più Cu dal suolo PM1 e più Zn dal suolo PM2. Nei tessuti vegetali, la quantità di Cu, Pb, Zn risulta su PM1, pari a: 0.15, 0.01, 1.2 mg (tessuti epigei) e 0.35, 0.09, 0.5 mg (tessuti ipogei); su PM2, pari a: 0.05, 0.02, 1.5 mg (tessuti epigei) e 0.25, 0.18, 0.5 mg (tessuti ipogei). Una più elevata quantità di Zn è asportata dai tessuti epigei, di Cu e Pb dai tessuti ipogei (figura 6.1.6c).

Le quantità di HM asportate da *Thlaspi* dopo ~ 6 mesi di crescita sono inferiori a quelle asportate da *Lolium* e *Helianthus* dopo ~ 9 mesi di crescita (riv I+II+III) (figura 6.1.6d). Esse rappresentano solo lo 0.1, 0.06, 0.2 % e lo 0.3, 0.06, 0.3 % delle quantità totali di Cu, Pb e Zn presenti nei suoli PM1 e PM2.

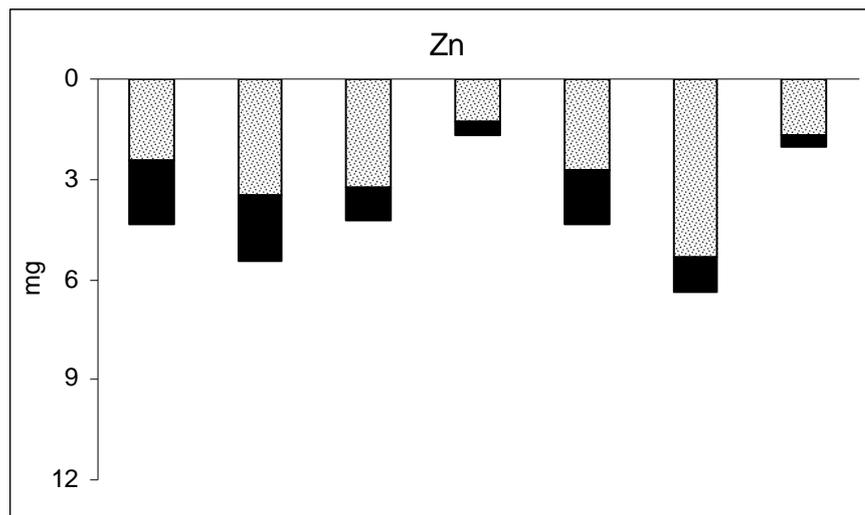
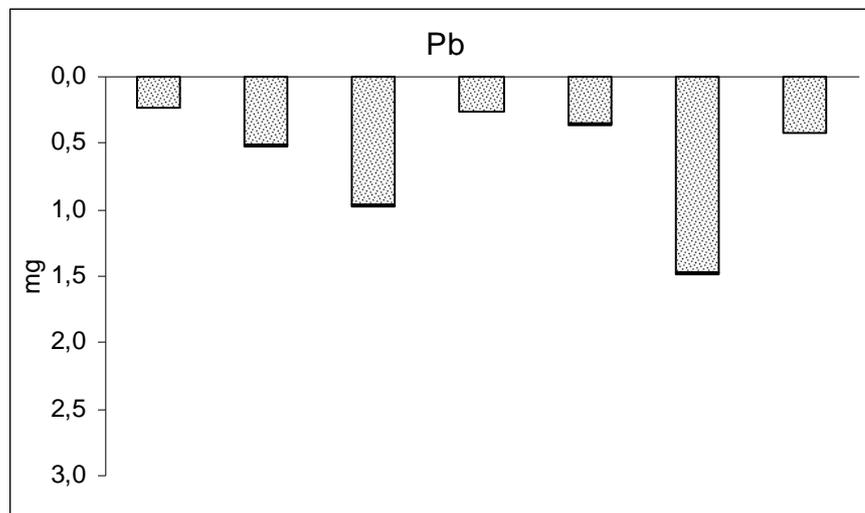
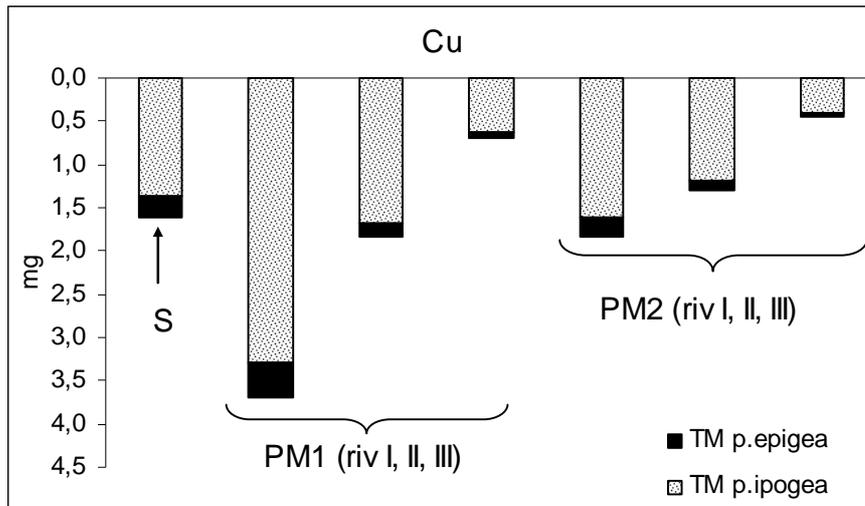


Figura 6.1.6a Quantità totali (TM) di HM asportate dopo ogni ciclo di crescita (riv I, II, III) dalle piante di *Lolium perenne* allevate sui suoli S, PM1 e PM2,

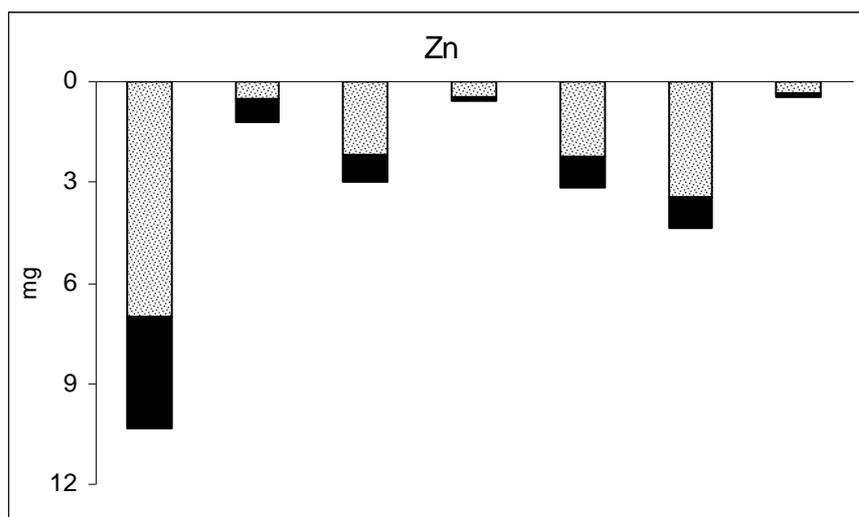
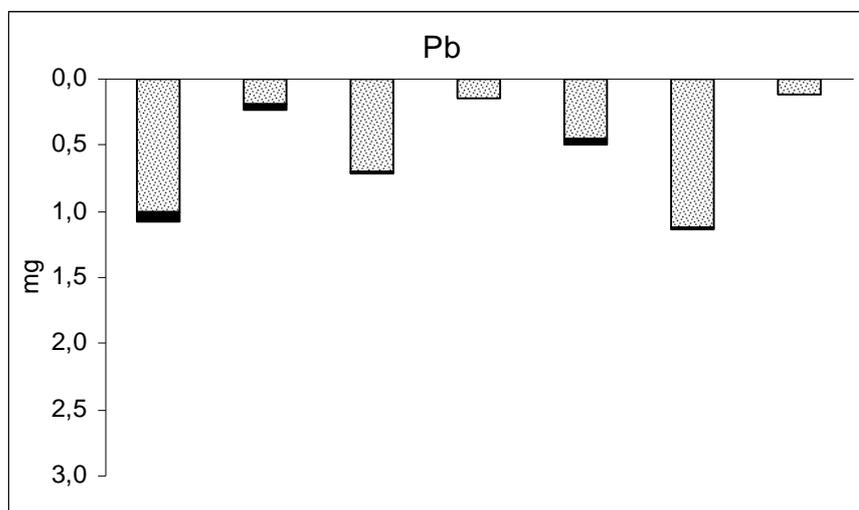
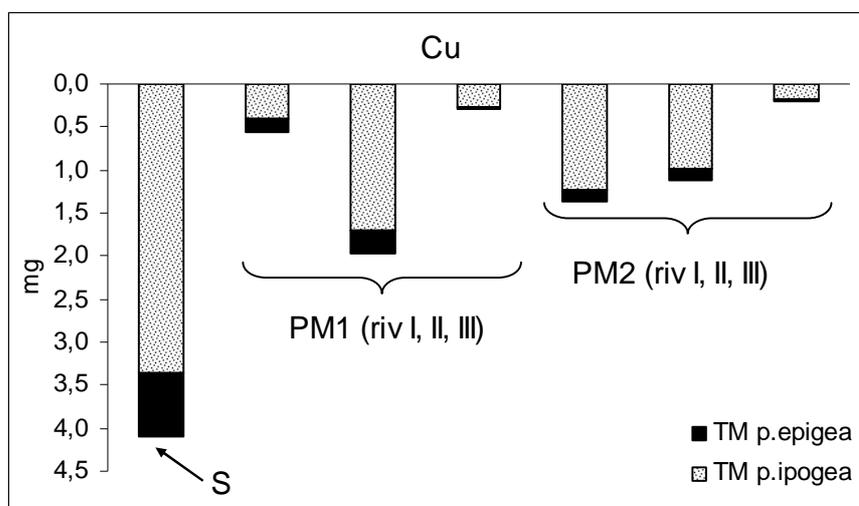


Figura 6.1.6b Quantità totali (TM) di HM asportate opo ogni ciclo di crescita (riv I, II, III) dalle piante di *Helianthus annuus* allevate sui suoli S, PM1 e PM2

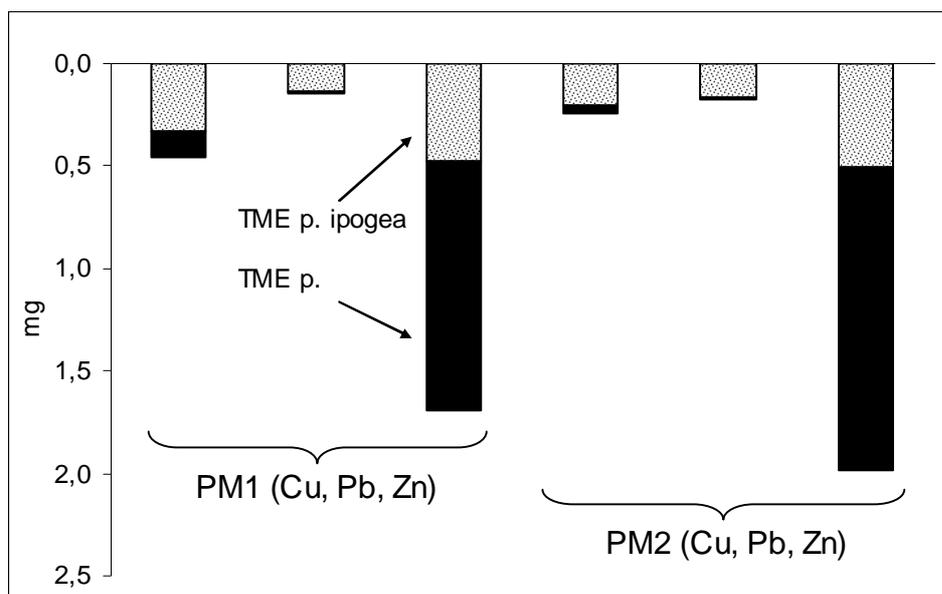


Figura 6.1.6c Quantità totali (TM) di HM asportate dalle piante di *Thlaspi caerulescens* allevate sui suoli PM1 e PM2

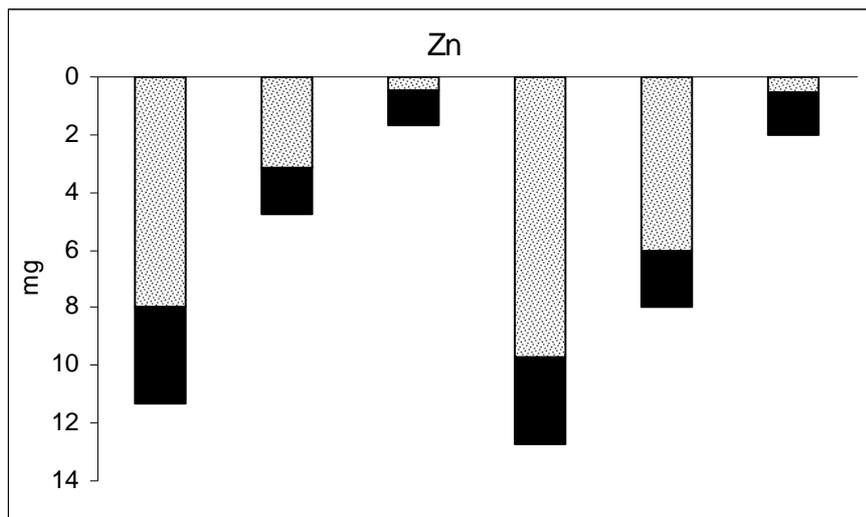
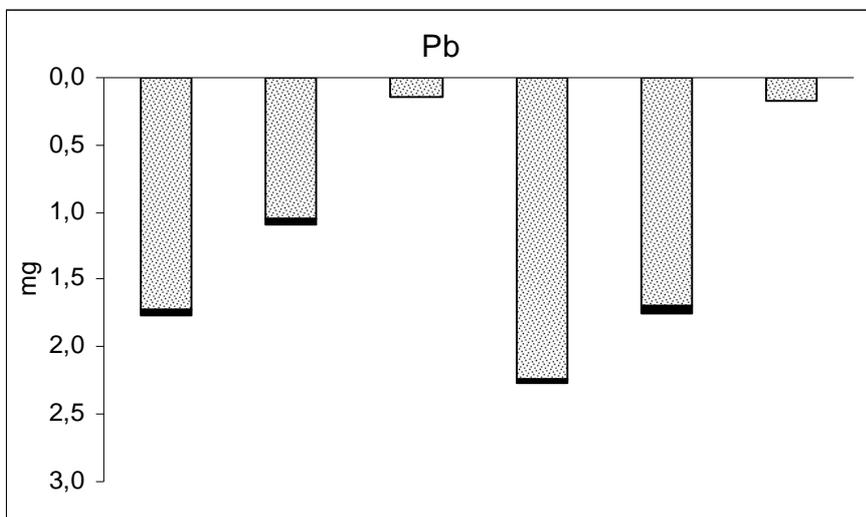
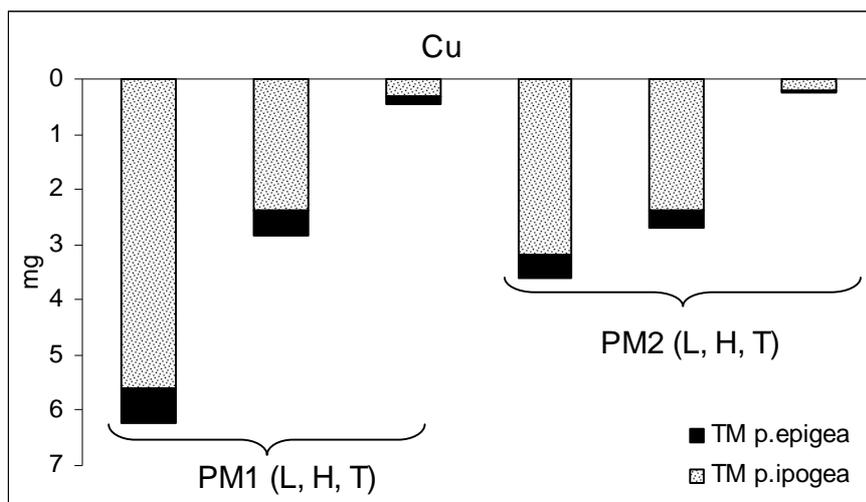


Figura 6.1.6d *Quantità di HM complessive asportate dalle piante di Lolium (L) e Helianthus (H) (riv I+II+III) e di Thlaspi (T) allevate sui suoli PM1 e PM2*

6.2 Suoli

6.2.1 Proprietà fisiche e chimiche

In tabella 6.2.1 e in figura 6.2.1, sono riportati i valori di pH (in H₂O), CE, CaCO₃ totali, CO e CSC dei suoli PM1 e PM2 controllo (PM1-C e PM2-C, vasi senza piante portati avanti durante l'esperimento di crescita insieme ai vasi coltivati) e dei suoli PM1 e PM2 su cui si è realizzata la crescita di *Lolium perenne* (PM1-L, PM2-L) (riv I, II e III), *Helianthus annuus* (PM1-H, PM2-H) (riv I, II e III) e *Thlaspi caerulescens* (PM1-T, PM2-T). Per ogni substrato, le differenze accertate tra i parametri fisici e chimici del suolo controllo e del suolo dopo le crescite vegetali, costituiscono indicazione degli effetti prodotti dalle piante, di seguito descritti.

Il pH, la conducibilità, la dotazione in carbonio organico e la capacità di scambio cationico, dei suoli PM1-C e PM2-C hanno valori simili a quelli riportati in tabella 4.1.1 e descritti in paragrafo 4.1.1.

Sia in PM1 sia in PM2 si osservano quelle proprietà che risultano caratteristiche dei suoli di siti siderurgici dismessi (Buondonno et al., 1998; Venditti et al., 2000a)

Con la crescita vegetale si osservano piccole diminuzioni del pH, significative in PM2. *Lolium* e *Helianthus* determinano sempre riduzioni maggiori, pari a 0.2 (PM1) ed a 0.4-0.5 unità (PM2), rispetto a *Thlaspi* (riduzioni di 0.1 unità per il suolo PM1-T e di 0.2 unità per il suolo PM2-T) (figura 6.2.1).

La CE ugualmente decresce. Nel suolo PM1, la riduzione è significativa dopo lo sviluppo di *Lolium* e *Helianthus* (meno 0.5-0.3 unità) ed è meno marcata per effetto della crescita di *Thlaspi* (meno 0.1 unità); nel suolo PM2, che già ha una CE inferiore a PM1, si verifica la situazione opposta (riduzione non significativa di 0.2-0.1 unità in PM2-L e PM2-H, e significativa di 0.4 unità in PM2-T).

Il contenuto di carbonati totali dei suoli post *Lolium*, *Helianthus* e *Thlaspi* non è generalmente significativamente diverso da quello dei suoli PM1-C e PM2-C. Le variazioni misurate sono piccole e perlopiù negative in post crescita. L'incremento osservato su PM1-T (76 ± 1.9 g kg⁻¹, vs. 52 ± 1.0 g kg⁻¹) è di difficile interpretazione, ma non imputabile alla pianta (figura 6.2.1).

Come atteso, la crescita delle piante determina un incremento dei valori di CO dei suoli, soprattutto in PM2. In PM1-H e PM1-T la variazione del contenuto di carbonio organico è significativa (17 ± 2.8 e 24 ± 0.8 g kg⁻¹) con incrementi del 12 e 41% rispetto a PM1-C. In PM2-L, PM2-H e PM2-T, il contenuto di CO arriva rispettivamente a 46 ± 1.4 , 63 ± 5.0 e 34 ± 4.3 g kg⁻¹. Nonostante gli elevati incrementi percentuali (64, 125 e 21 %), essi per

Tabella 6.2.1 pH, CE, CaCO₃ totali, CO e CSC dei suoli PM1 e PM2 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium perenne* (L), *Helianthus annuus* (H) e *Thlaspi caerulescens* (T)

	pH H ₂ O	CE dS m ⁻¹	CaCO₃ totali -----g kg ⁻¹ -----	CO	CSC cmol ₍₊₎ kg ⁻¹
	PM1				
C	8.0 ±0.30	1.2 ±0.03	52 ±1.0	17 ±0.4	3.0 ±0.5
L	7.8 ±0.06	0.7 ±0.05	54 ±1.5	17 ±2.8	3.1 ±0.3
H	7.8 ±0.02	0.9 ±0.07	49 ±0.5	19 ±0.1	3.6 ±0.2
T	7.9 ±0.05	1.1 ±0.11	76 ±1.9	24 ±0.8	4.8 ±0.1
	PM2				
C	8.4 ±0.02	0.8 ±0.06	57 ±5.2	28 ±17	3.1 ±2.8
L	8.0 ±0.06	0.6 ±0.06	50 ±1.3	46 ±1.4	2.4 ±1.5
H	7.9 ±0.04	0.7 ±0.01	52 ±0.3	63 ±5.0	2.4 ±2.0
T	8.2 ±0.08	0.4 ±0.03	49 ±2.7	34 ±4.3	3.2 ±2.0

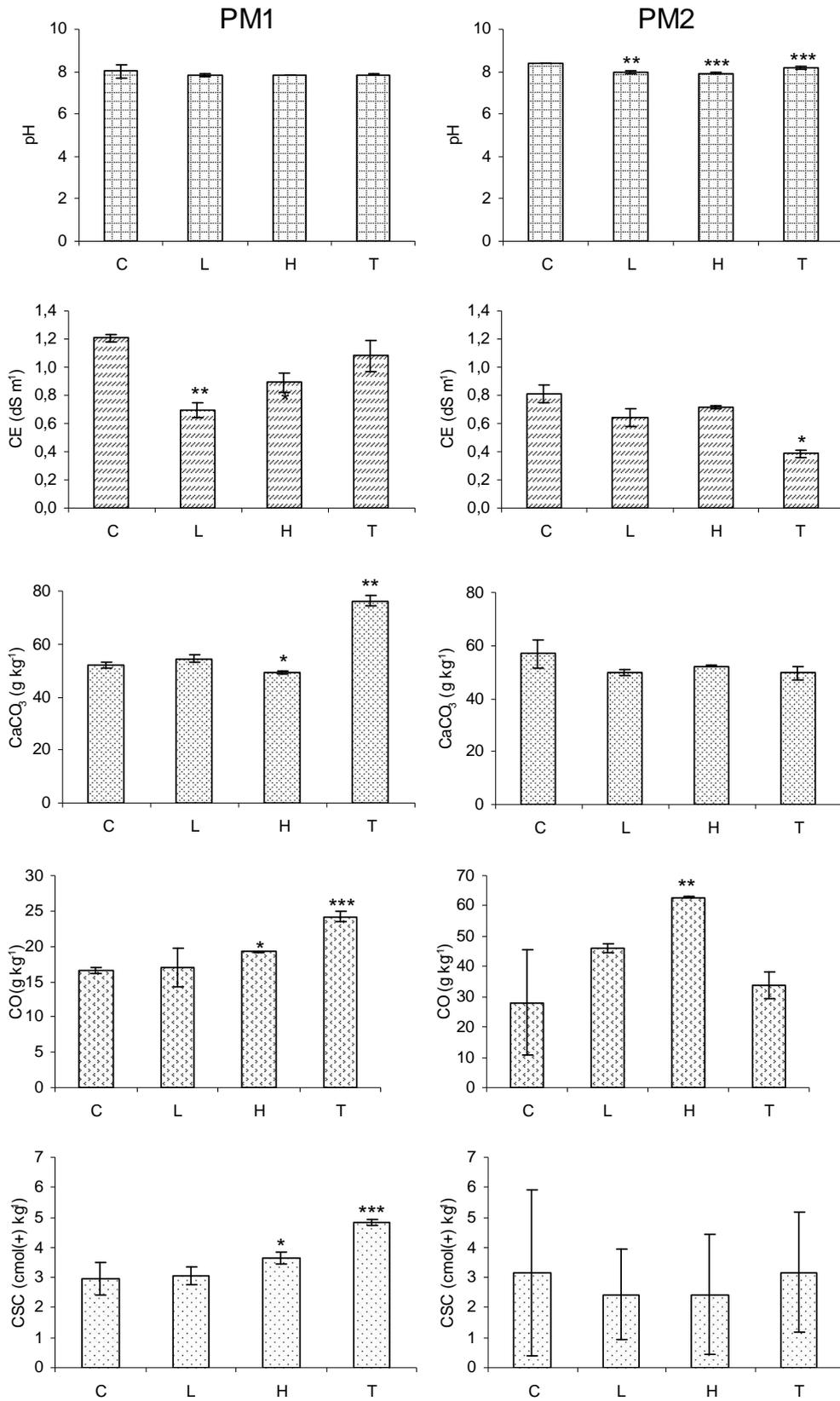


Figura 6.2.1 pH, CE, CO, carbonati totali e CSC dei suoli PM1 e PM2 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T)

PM2-L e PM2-T non sono significativi, a causa della elevata deviazione standard del valore misurato su PM2-C (figura 6.2.1).

La crescita di *Lolium*, *Helianthus* e *Thlaspi* produce incrementi della CSC del suolo PM1, rispettivamente del 3, 20 e 60%, significativi in PM1-H e PM1-T. In PM2, le variazioni della CSC non sono significative a causa della elevata deviazione standard dei valori misurati (figura 6.2.1).

6.2.2 Contenuto totale di HM

L'accuratezza del metodo analitico impiegato è stata testata comparando i valori certificati e i valori misurati dello *Standard Reference Material CRM 141R (Calcareous Loam Soil)* ed esprimendo le differenze come percentuale del valore certificato. La precisione del metodo analitico è espressa dalla deviazione standard della media. I risultati sono riportati in tabella 6.2.2a. Per tutti i metalli, i valori misurati cadono nell'intervallo -2/+6 % dei valori certificati. SD più elevate di 10 si registrano solo per il Pb (SD=11). Tuttavia, considerando i risultati ottenuti, l'accuratezza e precisione del metodo possono essere considerate accettabili per tutti gli elementi analizzati.

Il contenuto totale di HM dei suoli PM1 e PM2 è caratterizzato da una elevata variabilità (così come appare dall'elevata SD delle misure effettuate) e ciò, alla luce dei buoni risultati ottenuti sul materiale certificato, ha costituito indicazione di una distribuzione estremamente disomogenea dei HM nei substrati, cui segue la difficoltà di definirne il contenuto totale, sotto forma di un unico valore. Tale elevata variabilità è tipica di suoli sottoposti a forte pressione antropica (Remon et al., 2005) (tabella 6.2.2b).

Come le proprietà fisiche e chimiche, anche il contenuto di HM dei suoli controllo risulta non significativamente diverso da quello dei suoli campionati (tabella 4.1.2). Il contenuto totale di Cu, Pb e Zn del suolo PM1-C (357 ± 78 , 256 ± 33 , 880 ± 94 mg kg⁻¹) è sempre più elevato dei limiti indicati dal DM 471/1999 per i suoli destinati a verde pubblico e residenziale (120, 100 e 150 mg kg⁻¹). Il suolo PM2-C ha un più basso contenuto totale di Cu (115 ± 41 mg kg⁻¹), inferiore al valore limite indicato dalla normativa italiana, e un contenuto di Pb e Zn (353 ± 97 e 673 ± 90 mg kg⁻¹) non significativamente diverso da quello di PM1-C (tabella 6.2.2b).

Il contenuto totale di Cu, Pb e Zn dei suoli PM1 e PM2 dopo la crescita di *Lolium*, *Helianthus* e *Thlaspi* differisce, ma mai significativamente, rispetto ai controlli (figure 6.2.2a, 6.2.2b). In particolare, il contenuto di Cu del suolo PM2 appare ridotto dopo la crescita delle piante.

Tabella 6.2.2a Risultati analitici ($n=3$) per CRM 141R e BCR 700 Standard Reference Material. Le concentrazioni medie sono in mg kg^{-1}

Elemento	CRM 141R				diff. ¹	BCR 700 (EDTA)				diff. ¹
	Valore certificato		Valore misurato			Valore certificato		Valore misurato		
	media	S.D.	media	S.D.		media	S.D.	media	S.D.	
Cu	46.4	1.8	45.6	3.1	-2	89.4	2.8	87.4	8.6	-2
Pb	57.2	1.2	60.4	11	+6	103	5	105	10	+2
Zn	283	5.0	276	2.0	-2	510	17	492	39	-4

¹ 100* (valore misurato – certificato) / valore certificato

Tabella 6.2.2b Contenuto totale di Cu, Pb e Zn dei suoli PM1 e PM2 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T)

	Cu	Pb	Zn
	----- mg kg^{-1} -----		
	PM1		
C	357 ±78	256 ±33	880 ±94
L	396 ±150	268 ±17	860 ±24
H	369 ±91	284 ±52	935 ±30
T	361 ±28	247 ±6	885 ±2
	PM2		
C	115 ±41	353 ±97	673 ±90
L	81 ±20	306 ±31	639 ±80
H	82 ±6	382 ±1	644 ±41
T	74 ±5	310 ±29	692 ±81

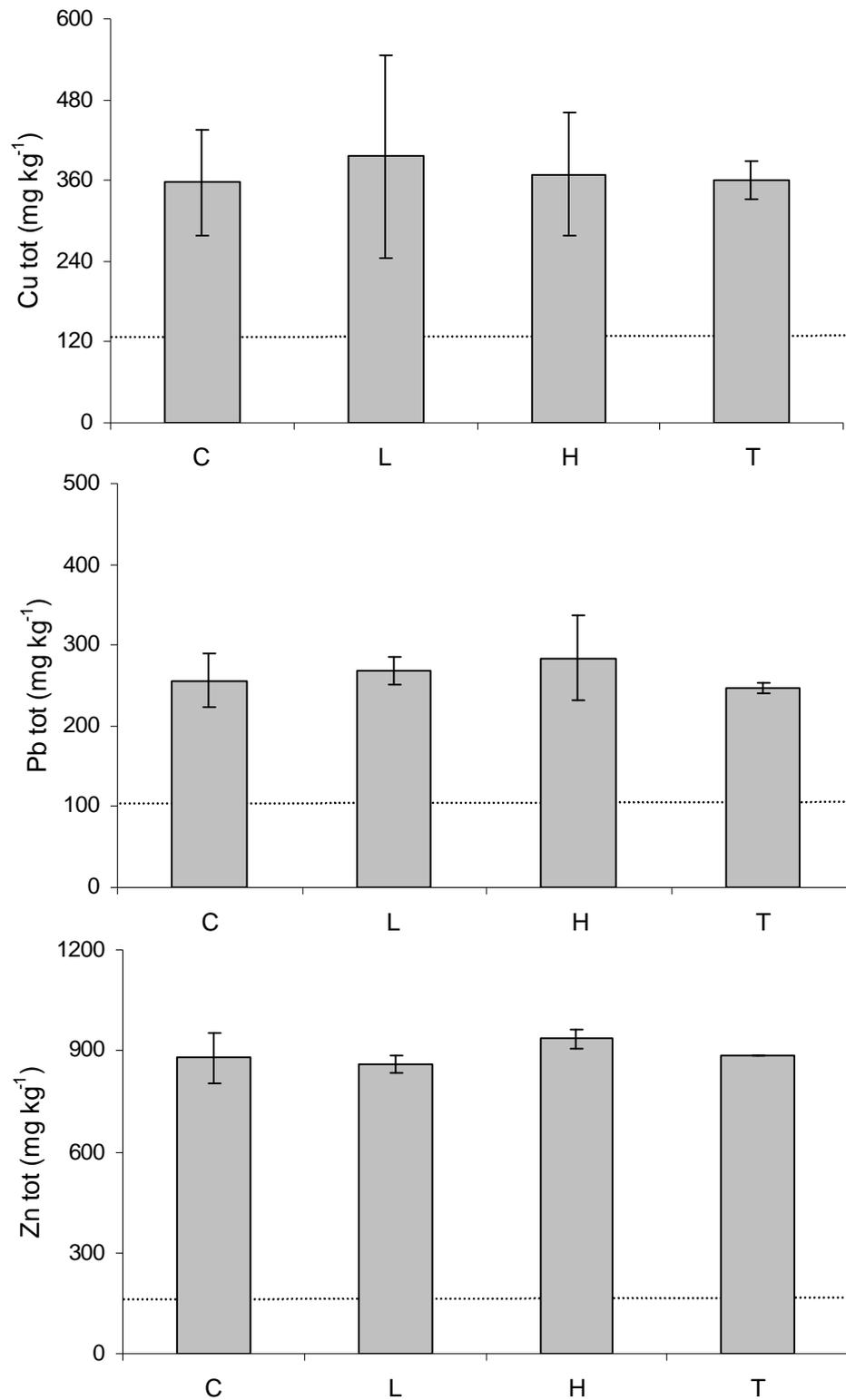


Figura 6.2.2a Contenuto totale (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn del suolo PMI controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T). Sono riportati i valori limite per siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale (DM 471/99)

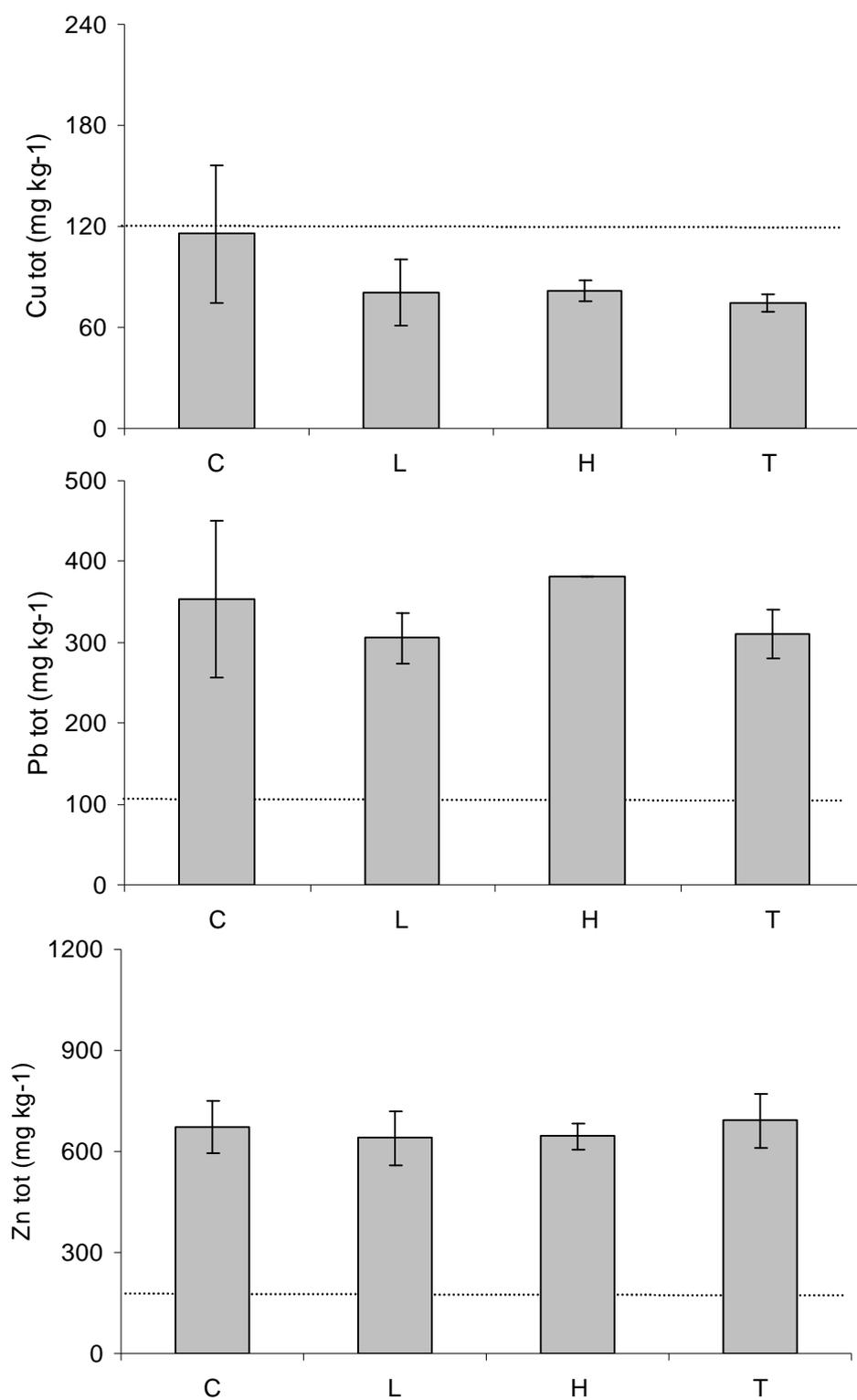


Figura 6.2.2b Contenuto totale (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn del suolo PM2 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T). Sono riportati i valori limite per siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale (DM 471/99)

6.2.3 Disponibilità accertata mediante estrazioni in EDTA

L'accuratezza del metodo analitico è stata testata comparando i valori certificati e i valori misurati dello *Standard Reference Material BCR 700 (Organic-rich Soil)*, ed esprimendo le differenze come percentuale del valore certificato. I risultati sono riportati in tabella 6.2.2a. La precisione del metodo è espressa dalla deviazione standard della media. I valori misurati cadono nell'intervallo $-4/+2$ % dei valori certificati. SD superiori a 10 si registrano solo per lo Zn (39). Tuttavia, considerando i risultati ottenuti, l'accuratezza e precisione del metodo possono essere considerate accettabili.

I suoli PM1-C e PM2-C sono caratterizzati da quantità di Cu_{EDTA} , Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} , pari a: 74 ± 2.2 , 50 ± 1.4 e 51 ± 1.4 mg kg^{-1} ed a 24 ± 1.3 , 63 ± 4.3 e 50 ± 1.4 mg kg^{-1} . Il Cu_{EDTA} è più elevato in PM1-C (di un fattore 3), Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} sono presenti in quantità simili nei due suoli (tabella 6.2.3).

Nel suolo PM1, dopo la crescita di *Lolium*, *Helianthus* e *Thlaspi*, Cu_{EDTA} (41 ± 2.7 , 50 ± 1.3 , 66 ± 1.5 mg kg^{-1}) e Zn_{EDTA} (32 ± 1.7 , 33 ± 0.1 , 36 ± 0.8 mg kg^{-1}) risultano significativamente più bassi rispetto a PM1-C; Pb_{EDTA} aumenta, anche se non significativamente, in seguito alla crescita delle piante. Solo le variazioni di Cu_{EDTA} variano significativamente con la specie vegetale, risultando nell'ordine più marcate in PM1-L e PM1-H rispetto a PM1-T (figura 6.2.3a).

Nel suolo PM2, dopo la crescita di *Lolium*, *Helianthus* e *Thlaspi*, Cu_{EDTA} (17 ± 2.4 , 17 ± 0.7 e 17 ± 1.0 mg kg^{-1}) e Pb_{EDTA} (55 ± 1.2 , 54 ± 2.4 e 53 ± 7.7 mg kg^{-1}) risultano più bassi rispetto a PM2-C. La riduzione è significativa solo per Cu. Zn_{EDTA} aumenta, significativamente in PM2-H e PM2-T (61 ± 7.1 , 64 ± 1.9 e 65 ± 4.1 mg kg^{-1}). Le variazioni di HM_{EDTA} risultano in generale meno accentuate di quelle osservate in PM1 e non differiscono con la specie vegetale (figura 6.2.3b).

Se le concentrazioni di Cu_{EDTA} , Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} sono espresse come percentuale del contenuto totale di HM del suolo, esse, nei suoli PM1-C e PM2-C, nonostante le differenze accertate tra i totali, risultano simili e pari a: 21-21, 19-18, 5.8-7.5 % (tabella 6.2.3). In entrambi i suoli, le quantità di Cu e Pb biodisponibili costituiscono, quindi, una più elevata percentuale del contenuto totale rispetto allo Zn. In post crescita, le quantità percentuali di HM_{EDTA} variano con andamenti simili alle quantità assolute, con l'eccezione del Cu_{EDTA} in PM2, la cui percentuale non cambia pur riducendosi la quantità assoluta (mg kg^{-1}), in seguito alla concomitante riduzione del totale (tabella 6.2.3 e figura 6.2.2b).

In figura 6.2.3c, le variazioni della quantità assoluta di HM_{EDTA} dopo la crescita vegetale ($\Delta\text{HM}_{\text{EDTA}}$), sono poste a confronto con le quantità di HM asportate complessivamente

dalle piante (TM) (vedi paragrafo 6.1.6). In generale, le quantità ΔHM_{EDTA} non coincidono con le quantità TM . In particolare, si osservano due differenti casi: 1) Le quantità ΔHM_{EDTA} sono negative e più elevate delle quantità TM (Cu in PM1 e PM2; Pb in PM2; Zn in PM1). In pratica, la quantità “biodisponibile” si riduce in seguito alla crescita delle piante ($\Delta HM_{EDTA} < 0$), ma la riduzione è maggiore della quantità assorbita dalle piante. I contenuti HM_{EDTA} dei suoli possono ridursi in seguito alla crescita delle piante, sia come conseguenza dell’assorbimento vegetale di HM sia in seguito a modificazioni delle proprietà del suolo che inducono il passaggio di HM da forme “più labili” a forme “meno labili”. 2) Le quantità ΔHM_{EDTA} sono positive nonostante l’allontanamento dal suolo di HM per assorbimento vegetale. E’ questo il caso del Pb in PM1, sebbene le differenze tra Pb_{EDTA} in pre e post crescita non sono risultate significative, e dello Zn in PM2. In pratica, la quantità “biodisponibile” di Zn nel suolo PM2 aumenta in seguito alla crescita delle piante ($\Delta HM_{EDTA} > 0$). In questo caso, le attività metaboliche associate alla crescita delle piante potrebbero avere indotto il passaggio di Zn da forme “non labili” a forme “labili” e, nonostante la riduzione dei contenuti biodisponibili di Zn causati dall’assorbimento vegetale, avere prodotto un incremento della mobilità del metallo.

Se il ΔHM_{EDTA} ed il TM sono espressi come percentuale della quantità iniziale di HM_{EDTA} del suolo $\{[(POST-HM_{EDTA} - PRE-HM_{EDTA})/PRE-HM_{EDTA}] * 100$ e $(TM/PRE-HM_{EDTA}) * 100\}$ è possibile osservare che (figura 6.2.3d):

- i processi di immobilizzazione/mobilizzazione contribuiscono in misura preponderante al ΔHM_{EDTA} rispetto all’assorbimento vegetale
- in termini percentuali le variazioni della quantità biodisponibile in seguito alla crescita delle piante sono consistenti e simili nei due suoli

Pertanto, sebbene le specie vegetali impiegate non asportino che piccole quantità di Cu, Pb e Zn dal suolo, tenuto conto della loro caratteristica di *excluders* (paragrafo 6.1.6), esse inducono riduzioni della mobilità e della disponibilità di Cu sia in PM1 sia in PM2, e di Zn in PM1, ed incrementi della mobilità e della disponibilità di Zn in PM2.

6.2.4 Disponibilità accertata mediante estrazioni sequenziali

Il protocollo di estrazioni chimiche sequenziali adottato fraziona il contenuto totale di Cu, Pb e Zn dei suoli PM1 e PM2 in sette *pool* (figura 5.4.4). La somma delle quantità di HM estratte in sequenza (totale cumulato) dai due suoli è risultata non correlata, ma pari a -18/+27 % del contenuto totale dei metalli estratto in un unico *step* (paragrafo 6.2.2) (tabella 6.2.4a).

Tabella 6.2.3 Contenuto di Cu, Pb e Zn estratto in EDTA dai suoli PM1 e PM2 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T). Tra parentesi sono riportati i valori espressi come % del contenuto totale di HM

	Cu		Pb		Zn
	-----mg kg ⁻¹ -----				
	PM1				
C	74±2.2 (21)		62±22 (19)		51±1.4 (5.8)
L	41 ±2.7 (11)		57 ±19 (22)		32 ±1.7 (3.7)
H	50 ±1.3 (13)		55 ±0.1 (20)		33 ±0.1 (3.8)
T	66 ±1.5 (18)		53 ±8.9 (19)		36 ±0.8 (3.8)
	PM2				
C	24 ±1.3 (21)		63 ±4.3 (18)		50 ±1.4 (7.5)
L	17 ±2.4 (21)		55 ±1.2 (18)		61 ±7.1 (9.6)
H	17 ±0.7 (20)		54 ±2.4 (14)		64 ±1.9 (10)
T	17 ±1.0 (24)		53 ±7.7 (17)		65 ±4.1 (9.4)

Tabella 6.2.4a Contenuto totale di Cu, Pb e Zn estratto in sequenza dai suoli PM1 e PM2 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T). In parentesi è riportata la variazione % rispetto al contenuto totale accertato in un unico step

	Cu		Pb		Zn
	-----mg kg ⁻¹ -----				
	PM1				
C	406±62 (8)		306±40 (+17)		908±111 (+3)
L	352±27 (-11)		261±32 (-3)		835±88 (-3)
H	402±83 (+9)		277±29 (-3)		836±68 (-11)
T	417±113 (16)		290±62 (+15)		809±101 (-9)
	PM2				
C	118±20 (-3)		321±43 (-9)		584±33 (-13)
L	87±23 (+7.0)		389±32 (+27)		534±33 (-16)
H	93±22 (+13)		320±9 (-16)		635±36 (-1)
T	87±10 (+18)		315±13 (+2)		565±24 (-18)

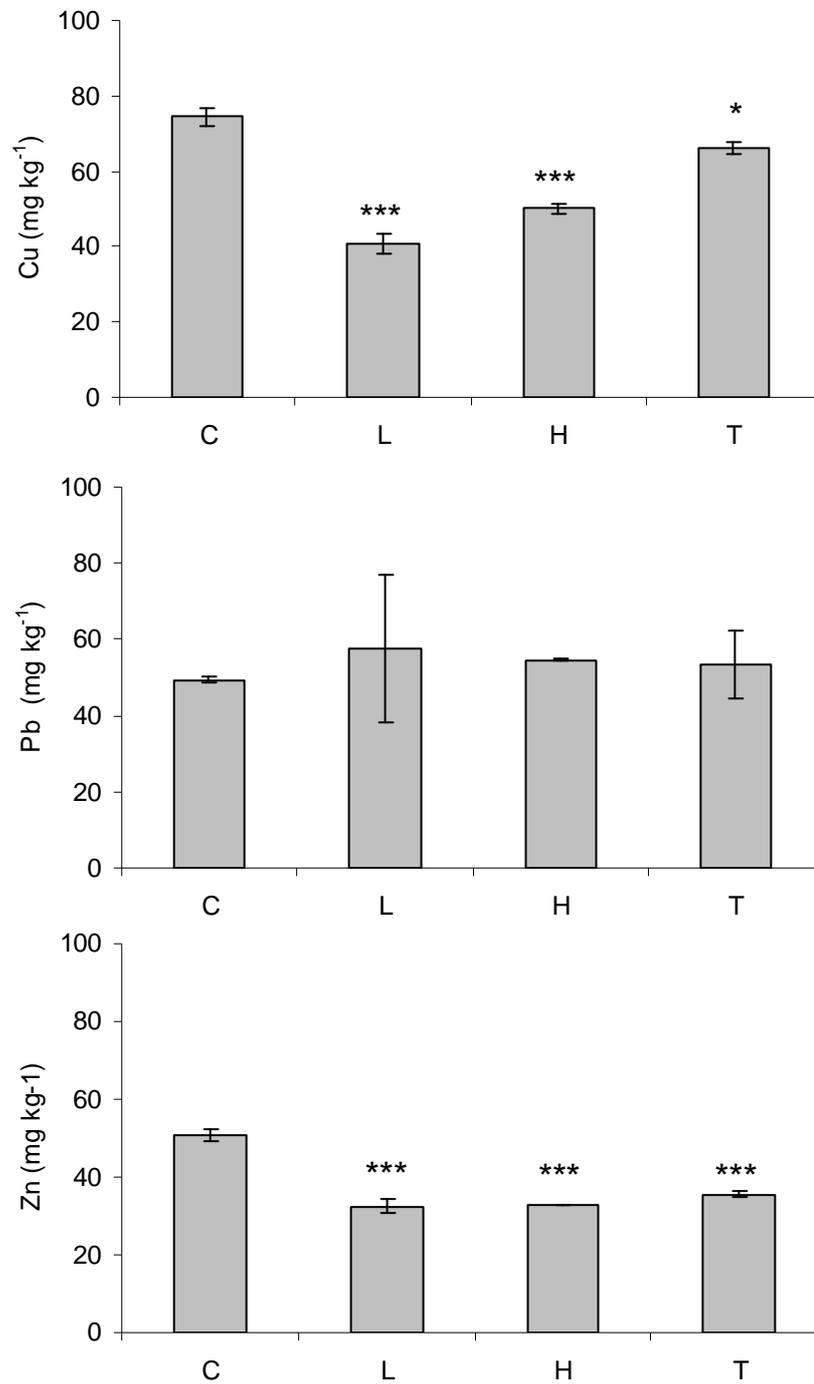


Figura 6.2.3a Contenuto biodisponibile (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn del suolo PM1 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T)

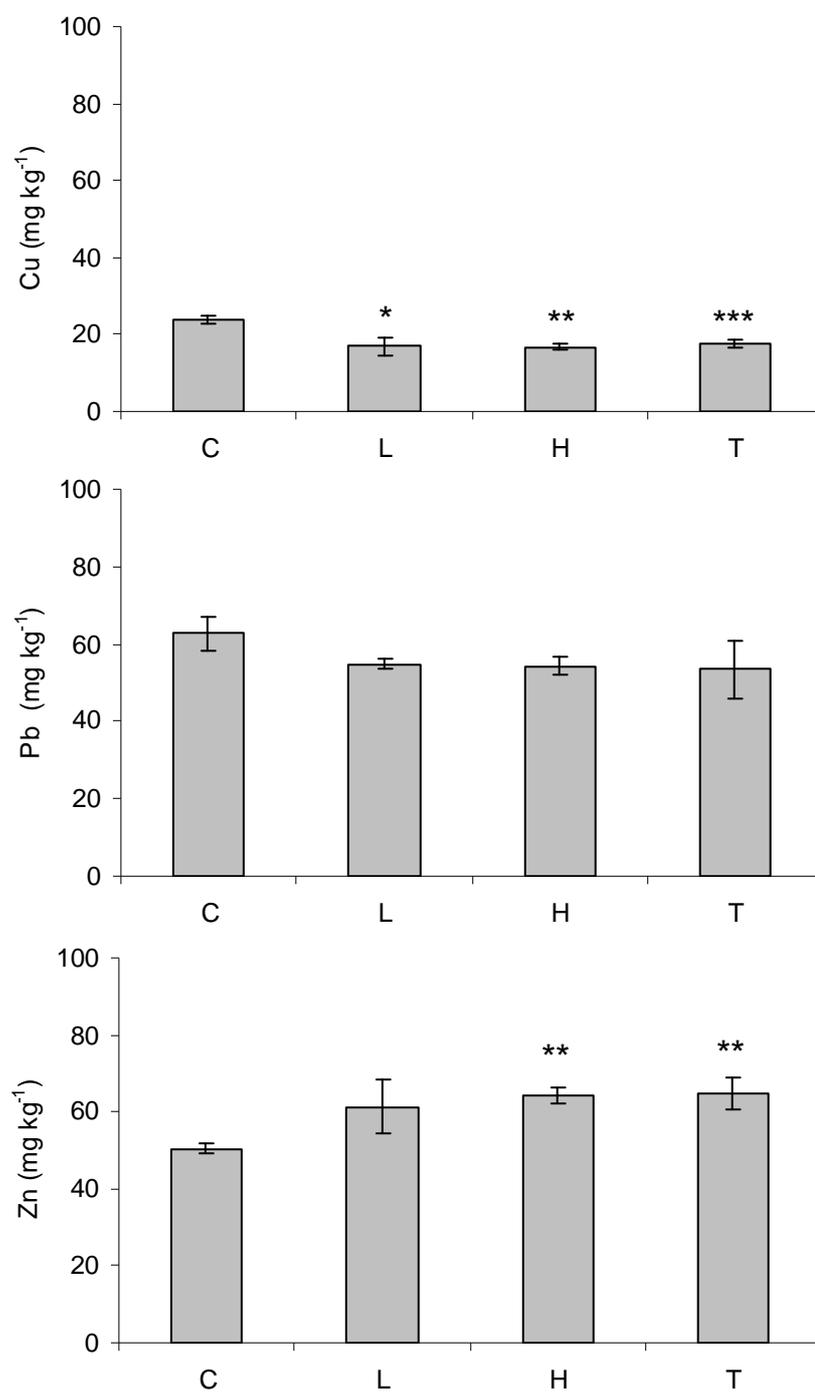


Figura 6.2.3b Contenuto biodisponibile (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn del suolo PM2 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T)

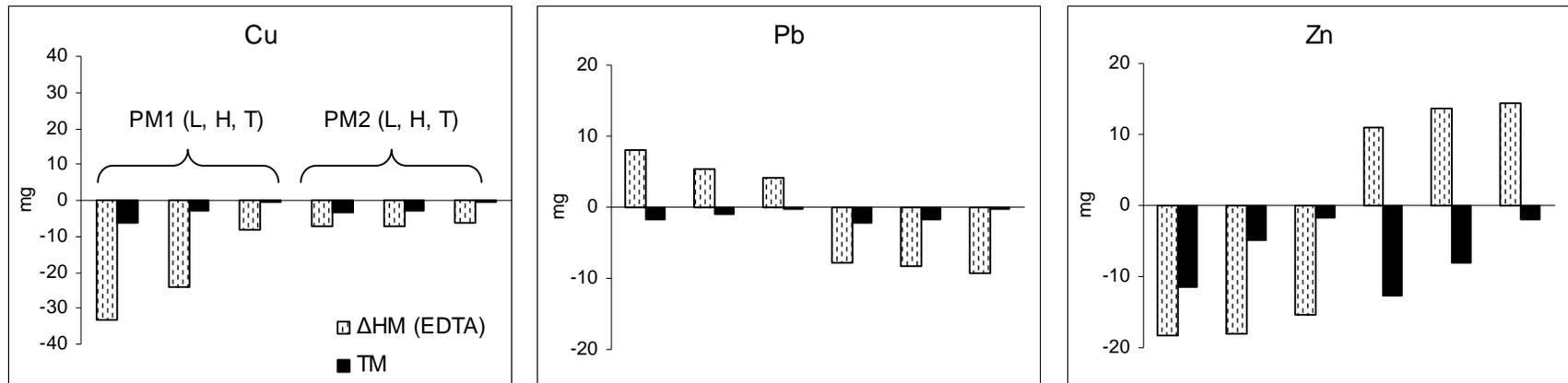
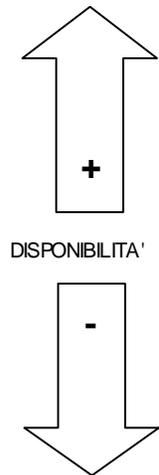


Figura 6.2.3c Confronto tra le quantità ΔHM_{EDTA} e TM dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T) sui suoli PM1 e PM2

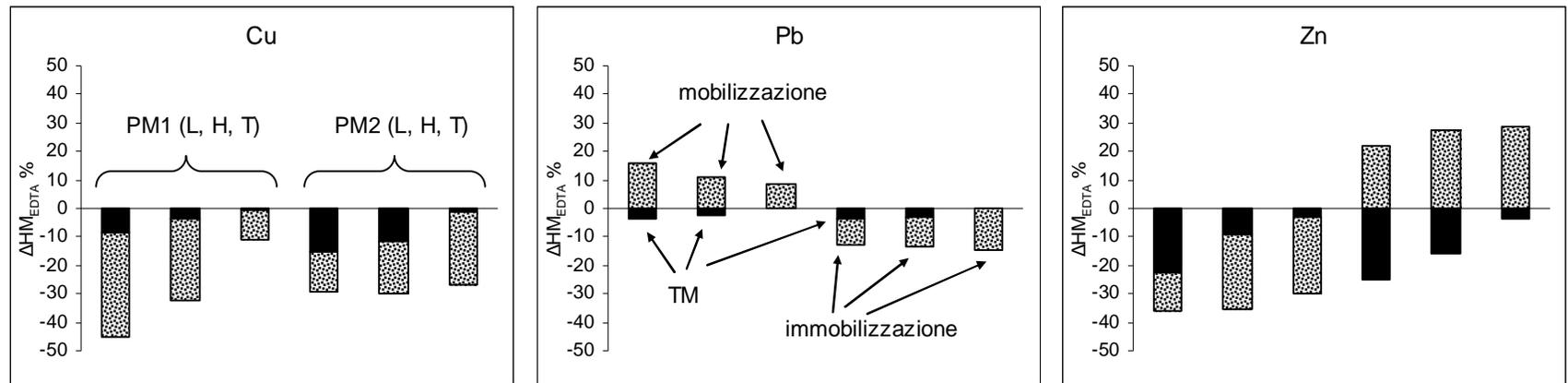
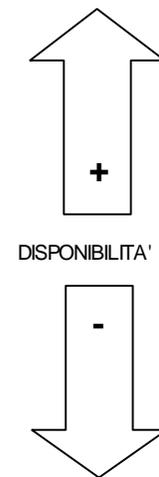


Figura 6.2.3d Quantità $\Delta HM_{EDTA} \%$ dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T) sui suoli PM1 e PM2. Sono separati i contributi delle quantità TM (in nero) e dei processi di mobilizzazione/immobilizzazione (punteggiati)

Nel suolo PM1-C, il Cu ($406 \pm 62 \text{ mg kg}^{-1}$) è estratto prevalentemente nello *step* 7 ($129 \pm 25 \text{ mg kg}^{-1}$, 32% del Cu totale). Importanti quantità dell'elemento sono anche estratte negli *step* 2, 4 e 5 (88 ± 22 , 68 ± 16 e $49 \pm 14 \text{ mg kg}^{-1}$, 22, 17 e 12 %). Negli *step* 1, 3 e 6 le concentrazioni di Cu sono più basse (23 ± 10 , 30 ± 6.6 , $19 \pm 6.6 \text{ mg kg}^{-1}$, 5-7% del Cu totale) (figura 6.2.4a).

Il Pb ($306 \pm 40 \text{ mg kg}^{-1}$) è allontanato dal suolo PM1-C prevalentemente negli *step* 4 e 7 (96 ± 21 e $100 \pm 26 \text{ mg kg}^{-1}$, 32 e 33 % del totale). Importanti quantità dell'elemento sono anche estratte dagli *step* 2 e 3 (40 ± 14 e $34 \pm 6.8 \text{ mg kg}^{-1}$, 13 e 11%). Le concentrazioni di Pb sono basse nelle fasi estrattive 5 e 6 (14 ± 3.2 e $21 \pm 2.7 \text{ mg kg}^{-1}$, 5 e 7 %) e quasi nulle nella fase 1 ($0.8 \pm 0.2 \text{ mg kg}^{-1}$, 0.3 %) (figura 6.2.4a).

Lo Zn ($908 \pm 111 \text{ mg kg}^{-1}$) è estratto da PM1-C quasi esclusivamente nello *step* 7 ($543 \pm 114 \text{ mg kg}^{-1}$, 60% del totale). Le quantità di Zn estratte dagli *step* da 2 a 6 sono basse e simili (in media 73 mg kg^{-1} pari a ~8 %). Il contenuto di Zn allontanato nella fase 1 è anch'esso quasi nullo ($1.0 \pm 0.1 \text{ mg kg}^{-1}$, 0.1 % dello Zn totale) (figura 6.2.4a).

Nel suolo PM2-C, il Cu ($118 \pm 20 \text{ mg kg}^{-1}$) è estratto prevalentemente negli *step* 2, 3, 4 e 7 ($\sim 25 \text{ mg kg}^{-1}$, pari a ~21% del Cu totale in ciascuno *step*). Quantità minori sono estratte nello *step* 5 ($12 \pm 4.7 \text{ mg kg}^{-1}$, 10%). Le concentrazioni di Cu sono molto basse negli *step* 1 e 6 (4.2 ± 1.9 e $2.6 \pm 1.9 \text{ mg kg}^{-1}$, 4 e 2% del Cu totale) (figura 6.2.4b).

Il Pb ($321 \pm 43 \text{ mg kg}^{-1}$) è allontanato dal suolo PM2-C soprattutto dagli *step* 3 e 7 (95 ± 21 e $82 \pm 60 \text{ mg kg}^{-1}$, 30 e 25 % del Pb totale). Rilevanti quantità dell'elemento sono anche estratte negli *step* 2 e 4 (64 ± 14 e $56 \pm 22 \text{ mg kg}^{-1}$, 20 e 18 %). I contenuti di Pb accertati negli *step* 1, 5 e 6 sono bassi (6.1 ± 0.7 , 5.1 ± 3.0 e $12 \pm 5.2 \text{ mg kg}^{-1}$, pari a 1.9, 1.6, 3.7 % del Pb totale) (figura 6.2.4b).

Lo Zn ($584 \pm 33 \text{ mg kg}^{-1}$) è estratto da PM2-C prevalentemente dagli *step* 2 e 3 (113 ± 18 , $233 \pm 46 \text{ mg kg}^{-1}$, 20 e 41 % del totale). Importanti quantità dell'elemento sono estratte dagli *step* 4, 5 e 7 (56 ± 7.7 , 79 ± 2.3 , e $78 \pm 55 \text{ mg kg}^{-1}$, ~12 %). I contenuti di Zn nello *step* 6 sono bassi ($22 \pm 18 \text{ mg kg}^{-1}$, 3.7 %) e pressoché nulli nello *step* 1 ($1.4 \pm 0.4 \text{ mg kg}^{-1}$, 0.2 %) (figura 6.2.4b).

In sintesi, i suoli PM1-C e PM2-C sono caratterizzati da una diversa distribuzione geochemica di Cu, Pb e Zn, illustrata in figura 6.2.4c. Nel suolo PM1-C, la distribuzione di Cu e Pb è prevalentemente riconducibile ad associazioni con minerali di natura silicea

(residuo), e in misura minore, con carbonati e costituenti di natura organica. Nel suolo PM2-C, a tali fasi, più equamente rappresentate, si aggiungono gli ossidi di Fe e Mn facilmente riducibili. Infatti, in PM1-C, la somma delle percentuali residuo+carbonati+organico, per il Cu, è pari al 71% e, per il Pb, al 78%. In PM2-C, la somma delle percentuali riducibile+residuo+carbonati+organico, per il Cu, è pari all'84% e, per il Pb, al 93%. Le differenze tra i due suoli sono in particolar modo evidenti nel caso dello Zn, che, in PM1-C, è prevalentemente incluso in strutture minerali di natura silicea (60%), mentre in PM2-C, è prevalentemente associato ad ossidi di Fe e Mn facilmente riducibili e a carbonati (59%).

In entrambi i suoli, tra le altre fasi geochimiche responsabili della presenza di HM, quella dei minerali di Fe e Al a scarso ordine cristallino sembra svolgere un ruolo non secondario nella ritenzione di Cu e Zn (PM1 e PM2: 10 e 12%). Sempre limitata (PM1 e PM2: 6 e 3%) è la quantità di metalli associata ad ossidi di Fe cristallini. In entrambi i suoli, ad eccezione del Cu, la quantità solubile e scambiabile non supera mai il 4% (figura 6.2.4c).

Le differenti distribuzioni accertate nei due suoli, sembrano indicare che in PM1-C Pb e Zn sono caratterizzati da una minore mobilità e disponibilità rispetto a PM2-C. Infatti, assumendo che le quantità estratte nei primi quattro step siano anche le più mobili e disponibili e sommandole si ottengono i seguenti valori assoluti e percentuali:

- PM1-C (step 1+2+3+4), Cu 209 mg kg⁻¹ o 51%, Pb 171 mg kg⁻¹ o 56%, Zn 221 mg kg⁻¹ o 24% del totale
- PM2-C (step 1+2+3+4), Cu 81 mg kg⁻¹ o 69%, Pb 222 mg kg⁻¹ o 69%, Zn 405 mg kg⁻¹ o 71% del totale

Se la “disponibilità” di Pb e Zn, espressa sia in valore assoluto sia come percentuale del totale, risulta più elevata in PM2 rispetto a PM1, la disponibilità assoluta del Cu è maggiore in PM1, ma quella percentuale è maggiore in PM2.

La crescita vegetale determina variazioni nelle quantità di metalli estratte nei diversi step, che tuttavia, non alterano il *pattern* osservato in PRE-crescita (figura 6.2.4d).

In PM1, Cu è sempre presente in quantità elevate nel residuo minerale (L, H, T,; 132±19, 137±4.3, 123±18 mg kg⁻¹ pari a 38, 34 e 30 % del Cu totale), nei carbonati (58±14, 75±19, 86±23 mg kg⁻¹ pari a 16, 19 e 21 % del Cu totale) e nella sostanza organica (67±9.5, 94±42, 112±58 mg kg⁻¹ pari a 19, 23 e 27 %). Anche il Pb è sempre più concentrato nel residuo (L, H, T: 96±15, 88±1.8, 99±17 mg kg⁻¹ pari a 37, 32 e 34 % di Pb totale), nella sostanza organica (78±12, 92±16, 82±8.8 mg kg⁻¹ pari a 30, 33 e 28 %) e nei carbonati

(28 ± 2.7 , 28 ± 6.2 , 48 ± 22 mg kg⁻¹ pari a 11, 10 e 17 %). Zn risulta sempre preferenzialmente associato al residuo minerale (L, H, T: 497 ± 88 , 510 ± 70 , 475 ± 106 mg kg⁻¹ pari a 60, 61 e 59 % di Zn totale) (figure 6.2.4a, 6.2.4d).

Rispetto a PM1-C, la crescita di *Lolium*, *Helianthus* e *Thlaspi* determina riduzioni della quantità di Cu estratto negli step 1 (L, H, T), 2 (L, H) e 3 (L, H, T), che risultano significative solo per PM1-L e PM1-T, e incrementi di Cu dello step 4 (H, T) che, tuttavia, non risultano mai significativi. Il contenuto di Pb in POST-crescita è significativamente più basso negli step 1 (T), 2 (L), 6 (L, H). Il contenuto di Zn si riduce di poco, ma significativamente, in step 1 e 2 (L), 4 (T), 5 e 6 (H) (figura 6.2.4 a, 6.2.4 d).

In PM2, dopo la crescita vegetale, Cu e Pb sono ancora presenti in elevate quantità nei carbonati (L, H, T, Cu: 18 ± 0.7 , 20 ± 3.0 , 22 ± 1.9 mg kg⁻¹ pari a 22, 21 e 25 % del totale; Pb: 54 ± 2.3 , 55 ± 4.1 , 57 ± 10 mg kg⁻¹ pari a 14, 17 e 18 % del totale), nella frazione riducibile (Cu: 19 ± 0.7 , 21 ± 2.2 , 22 ± 1.8 mg kg⁻¹ pari a 23, 22 e 25 %; Pb: 73 ± 7.8 , 92 ± 5.6 , 95 ± 8.0 mg kg⁻¹ pari a 19, 29 e 30 %), nella frazione ossidabile (Cu: 17 ± 0.7 , 24 ± 8.5 , 18 ± 3.2 mg kg⁻¹ pari a 21, 25 e 21 %; Pb: 69 ± 30 , 38 ± 3.6 , 46 ± 3.4 mg kg⁻¹ pari a 18, 12 e 14 %) e nel residuo minerale (Cu: 16 ± 2.3 , 13 ± 1.3 , 13 ± 1.8 mg kg⁻¹ pari a 20, 14 e 15 %; Pb: 160 ± 45 , 120 ± 0.7 , 100 ± 8.9 mg kg⁻¹ pari a 41, 38 e 32 %). Zn è sempre presente prevalentemente nella frazione riducibile (Zn: 213 ± 10 , 273 ± 22 , 266 ± 16 mg kg⁻¹ pari a 40, 43 e 47 % del totale) e nei carbonati (Zn: 106 ± 2.8 , 133 ± 11 , 102 ± 4.0 mg kg⁻¹ pari a 20, 21 e 18 % del totale) (figura 6.2.4b, 6.2.4d).

Rispetto a PM2-C, la crescita di *Lolium*, *Helianthus* e *Thlaspi* determina riduzioni del contenuto di Cu degli step 1, 2 e 3 (L, H, T), 4 e 5 (L, T) che risultano significative solo per PM2-L in step 2, 3, 4 e 5, per PM2-H in step 2, e per PM2-T in step 1 e 2. Il contenuto di Pb è più basso negli step 2 (L, H, T), 3 (L), 4 (H, T) e 6 (H), ma la riduzione è significativa solo per PM2-L in step 3, per PM2-H in step 4 e 6. Si osserva, inoltre, un incremento del contenuto di Pb in step 4, 5, 6 e 7 di PM2-L, significativo in step 5. Il contenuto di Zn differisce soprattutto in PM2-H, dove aumenta visibilmente in step 1, 2, 3 e 4, ma significativamente solo in step 1 e 2. In PM2-L e PM2-T si osservano solo variazioni piccole e non significative (figure 6.2.4b, 6.2.4d).

Rispetto a PM1-C, la quantità di Cu associata agli step 1+2+3+4 risulta ridotta solo in PM1-L (156 mg kg⁻¹), mentre è leggermente incrementata in PM1-H (208 mg kg⁻¹) e PM1-T (228 mg kg⁻¹). Rispetto a PM2-C, la quantità di Cu associata agli step 1+2+3+4 è

fortemente ridotta dalla crescita vegetale (PM2-L: 57 mg kg⁻¹; PM2-H: 67 mg kg⁻¹; PM2-T: 64 mg kg⁻¹) (figure 6.2.4e, 6.2.4f).

Il contenuto di Pb degli step da 1 a 4 si riduce in post crescita sia in PM1 (PM1-L: 137; PM1-H: 155 mg kg⁻¹; PM1-T: 158 mg kg⁻¹) sia in PM2 (PM2-L: 202 mg kg⁻¹; PM2-H: 190 mg kg⁻¹; PM2-T: 204 mg kg⁻¹) (figure 6.2.4e, 6.2.4f).

La quantità di Zn associata agli step 1+2+3+4 non appare cambiare dopo la crescita delle piante su PM1, mentre *Helianthus* e *Thlaspi* allevate su PM2 ne determinano un incremento (PM2-H: 505 mg kg⁻¹; PM2-T: 426 mg kg⁻¹) (figure 6.2.4e, 6.2.4f).

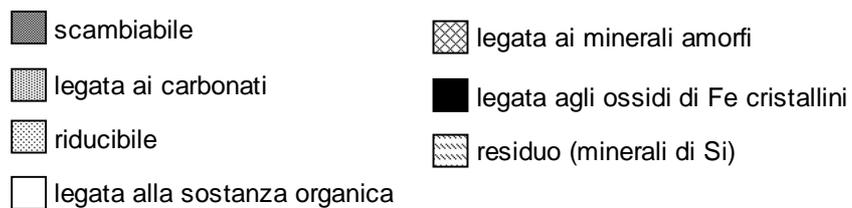
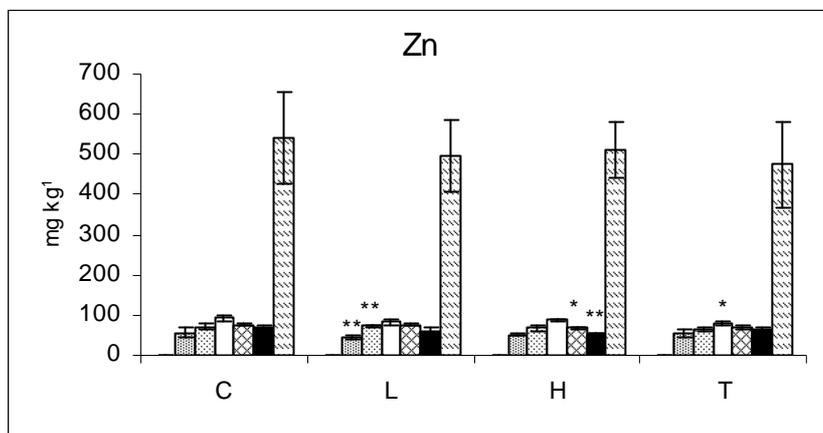
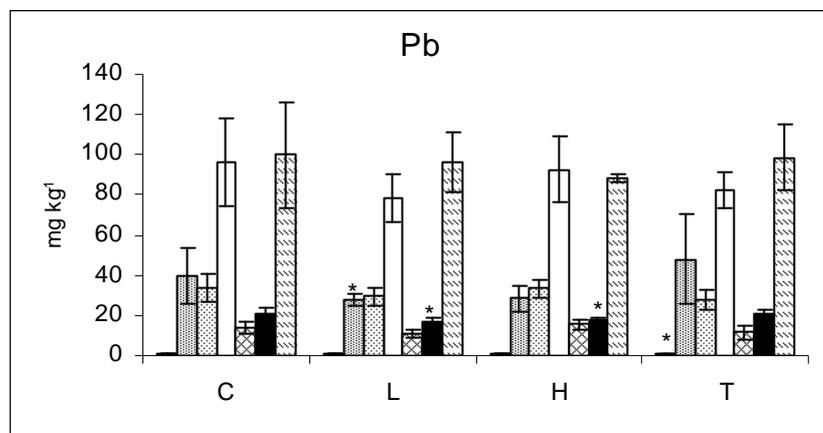
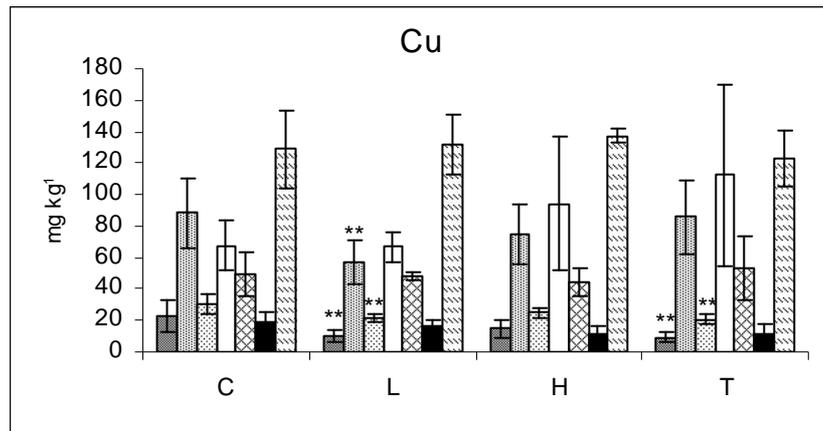


Figura 6.2.4a Contenuto di Cu, Pb e Zn delle frazioni estratte in sequenza dal suolo PMI controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T)

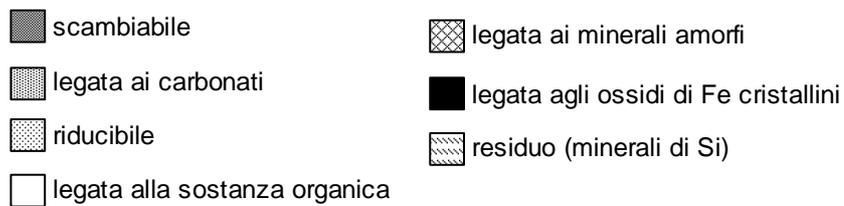
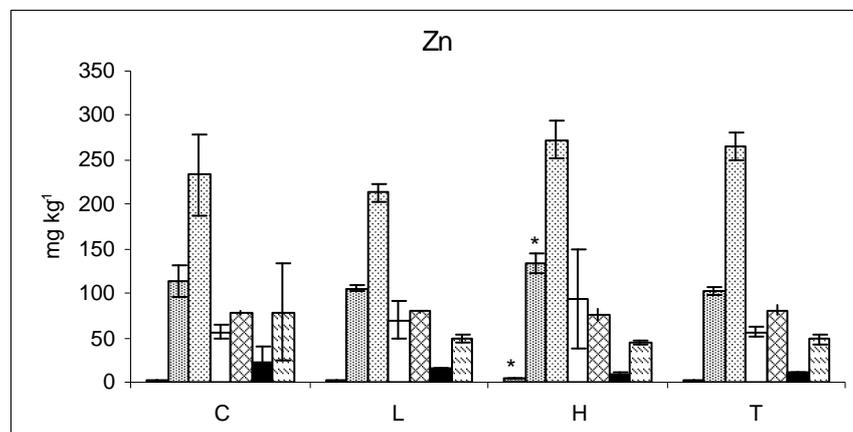
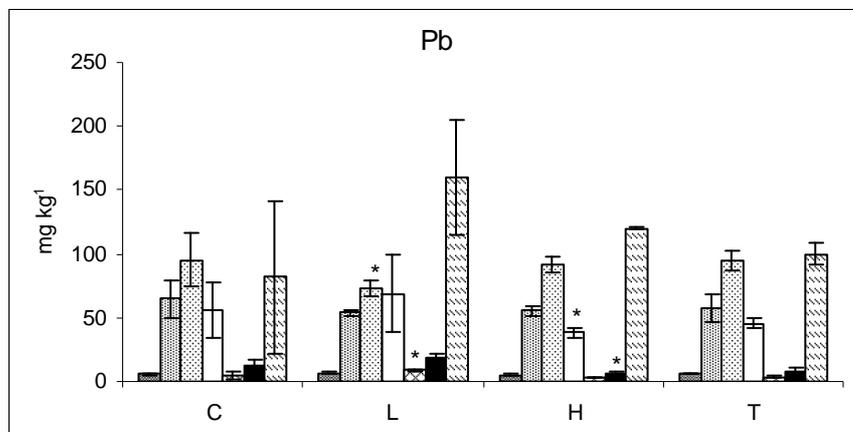
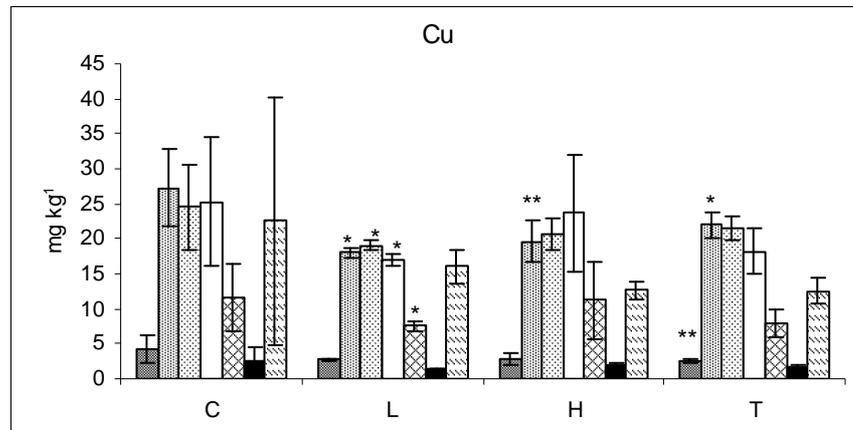


Figura 6.2.4b Contenuto di Cu, Pb e Zn delle frazioni estratte in sequenza dal suolo PM2 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium* (L), *Helianthus* (H) e *Thlaspi* (T)

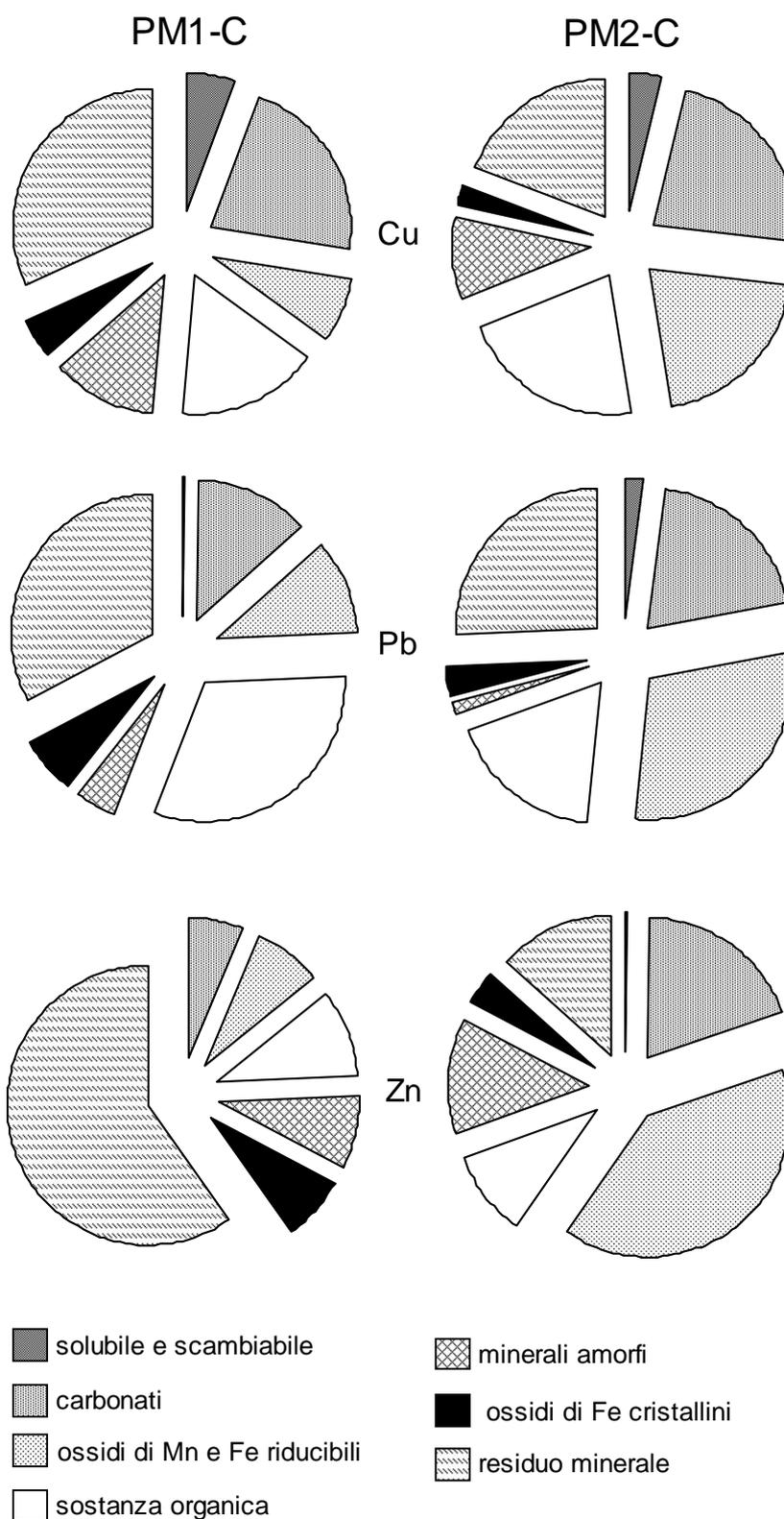


Figura 6.2.4c Speciazione di Cu, Pb e Zn nei suoli PM1 e PM2 di controllo (PM1-C e PM2-C)

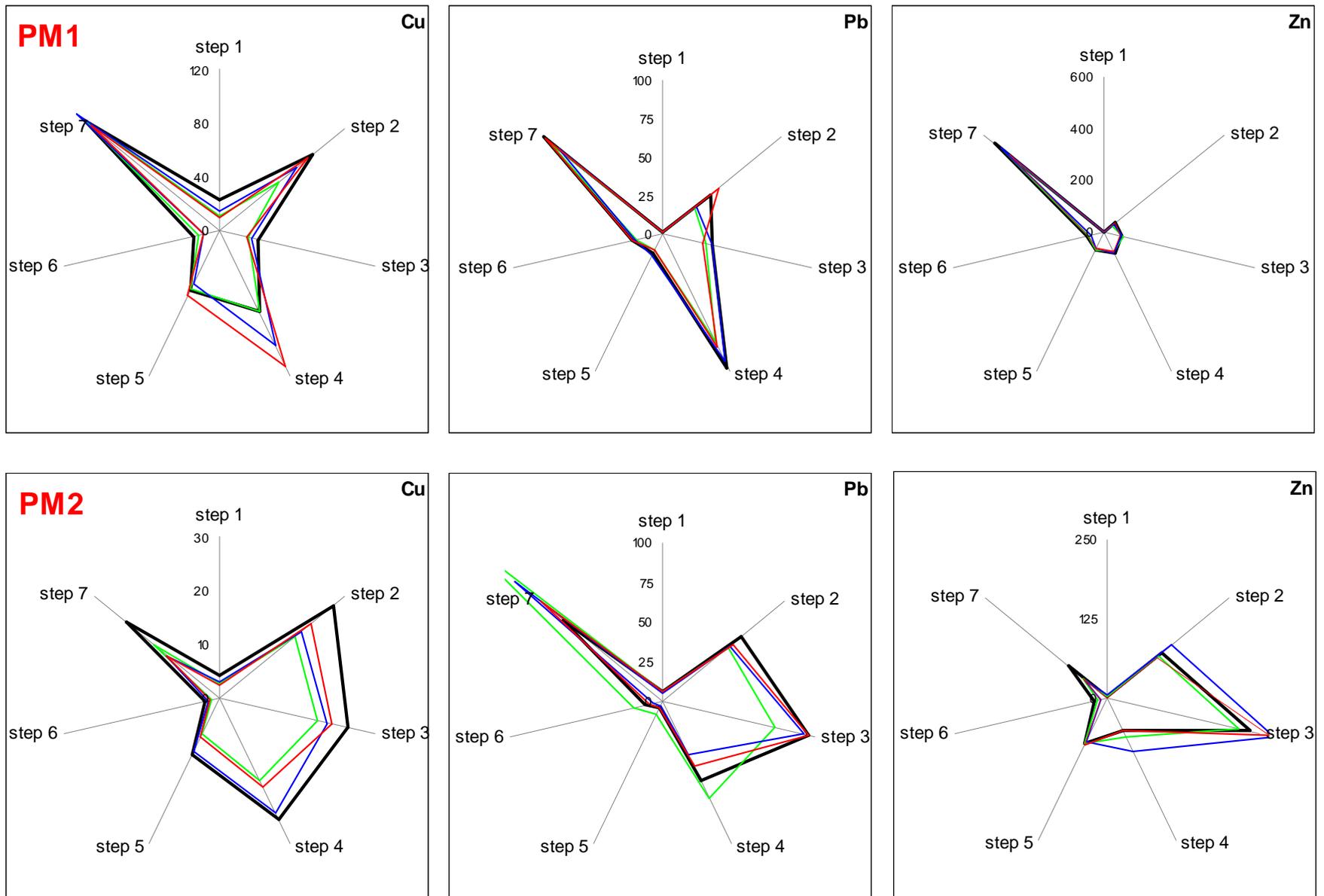


Figura 6.2.4d Pattern di distribuzione di Cu, Pb e Zn nei suoli PM1-C e PM2-C (linea nera), PM1-L e PM2-L (linea verde), PM1-H e PM2-H (linea blu), PM1-T e PM2-T (linea rossa)

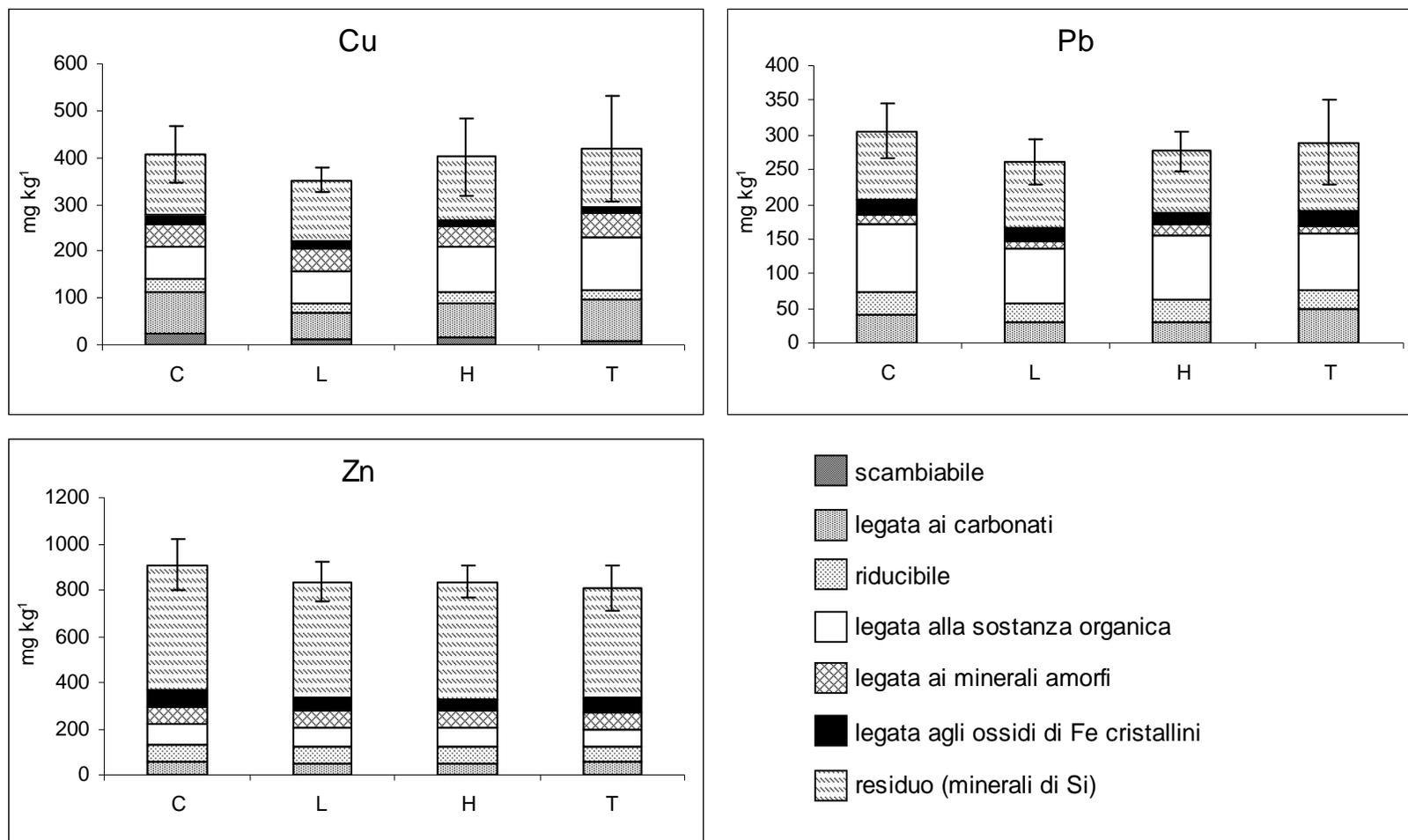
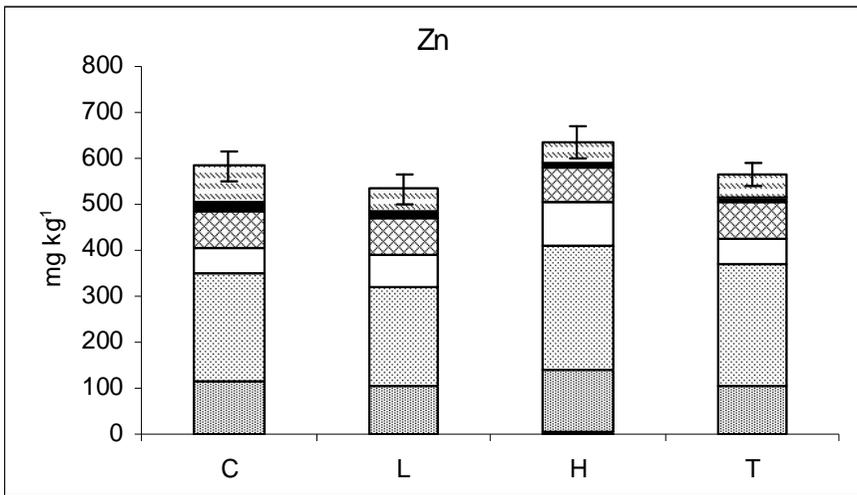
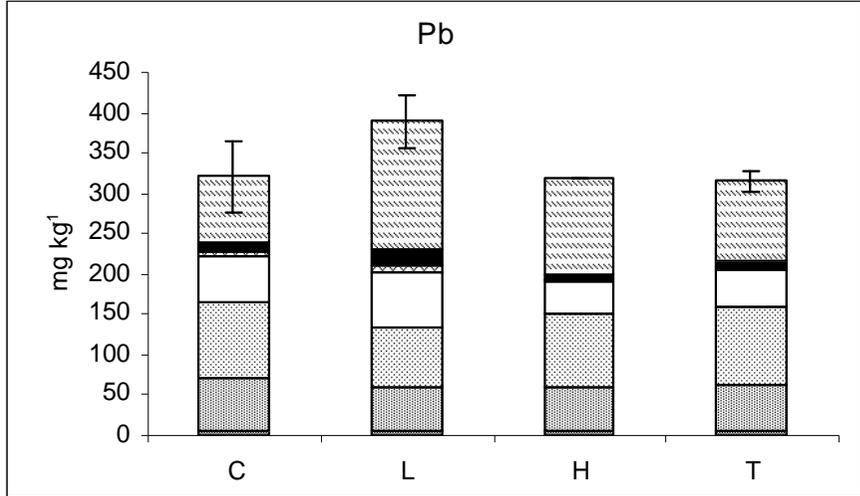
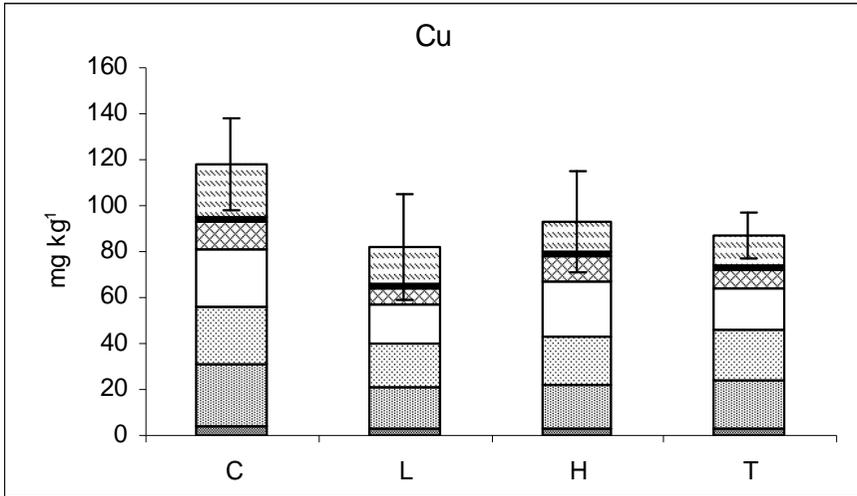


Figura 6.2.4e Contenuto di Cu, Pb e Zn delle frazioni estratte in sequenza dal suolo PMI controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium perenne* (L), *Helianthus annuus* (H) e *Thlaspi caerulescens* (T)



- scambiabile
- ▒ legata ai carbonati
- ▓ riducibile
- legata alla sostanza organica
- ▤ legata ai minerali amorfi
- legata agli ossidi di Fe cristallini
- ▨ residuo (minerali di Si)

Figura 6.2.4f Contenuto di Cu, Pb e Zn delle frazioni estratte in sequenza dal suolo PM2 controllo (C) e dopo la crescita di *Lolium perenne* (L), *Helianthus annuus* (H) e *Thlaspi caerulescens* (T)

6.3 *Discussione dei risultati e considerazioni conclusive*

I substrati. I suoli PM1 e PM2 utilizzati negli esperimenti di crescita in vaso sono risultati essere il prodotto del mescolamento di materiali utilizzati e/o derivati dal ciclo produttivo (minerali del ferro, carbonati, intermedi di lavorazione, scorie), e di materiali terrosi. Essi sono caratterizzati dalla presenza di contaminanti di natura sia inorganica sia organica. In particolare, entrambi i suoli contengono elevate quantità di Pb e Zn. Solo il PM1 risulta anche contaminato da Cu.

I suoli sono sabbiosi, calcarei, con pH moderatamente alcalino (8.0-8.4), bassa conducibilità elettrica, sufficiente dotazione in carbonio organico, bassi valori di CSC, N totale e P assimilabile, rapporto C/N fortemente sbilanciato nei confronti del carbonio, ed elevate percentuali di K e Na scambiabili.

La crescita delle piante. I maggiori problemi connessi con la crescita e lo stabilirsi di vegetazione su scorie metallifere consistono in una carenza di nutrienti, nella scarsità di sostanza organica e in una presenza e disponibilità eccessiva dei metalli tali da risultare tossici per le piante, in quanto direttamente o indirettamente ne influenzano i processi metabolici, quali la respirazione, fotosintesi, scambi gassosi, ecc. (Vansgroveld e Clijsters, 1994).

Nella sperimentazione condotta, *Lolium* e *Helianthus* sono capaci di completare il ciclo di crescita sui suoli contaminati PM1 e PM2, sebbene con una minore produzione di biomassa radicale ed epigea ed un minore sviluppo in altezza delle piante rispetto al suolo controllo. La crescita di *Lolium perenne* si realizza in modo analogo su PM1 e PM2, senza apparenti differenze in termini di altezza delle piante e biomassa prodotta; quella di *Helianthus annuus*, come quella di *Thlaspi caerulescens*, avviene con maggiori difficoltà su PM1 rispetto a PM2.

La concentrazione di macronutrienti dei tessuti vegetali di tutte le specie considerate, riferibile ai valori normalmente riscontrati nelle piante (tabella 6.1.3), sembra indicare, su entrambi i suoli, assenza di carenze nutrizionali (solo il contenuto di P è leggermente al di sotto dei valori considerati "normali"). Pertanto, né la crescita più ridotta delle piante sui substrati contaminati PM1 e PM2 rispetto a S, né le differenze tra PM1 e PM2 osservate per *Helianthus* e *Thlaspi*, sembrano essere in relazione con il basso livello di tali macronutrienti dei substrati contaminati. Viceversa potrebbero essere determinanti la scarsa presenza di fosforo assimilabile (Kramer et al., 2000) e di carbonio organico (Smith e Bradshaw, 1979). E' stato ampiamente dimostrato, infatti, che il P esercita effetti di

detossificazione sui sintomi di fitotossicità da metalli pesanti nelle piante superiori a causa di fenomeni di competizione con questi elementi (Leal et al., 1972; Singh e Dahiya, 1976; Kitagishi e Yamane, 1981).

Nella sperimentazione condotta le specie vegetali non manifestano, dopo la crescita sui suoli contaminati PM1 e PM2, clorosi e necrosi ai margini fogliari, che, come noto in letteratura (Prasad e Hagemeyer, 1999), sono i principali sintomi di tossicità da metalli pesanti. Tuttavia, la tossicità potrebbe manifestarsi a livello biochimico. Studi effettuati su cloroplasti isolati di orzo hanno dimostrato che il Cu, che a livelli normali è un importante costituente della plastocianina, proteina che permette il trasporto degli elettroni tra i fotosistemi PSII e PSI, e lo Zn, ad elevate concentrazioni inibiscono il trasporto fotosintetico degli elettroni (Baron et al., 1995). Esperimenti effettuati su piante di *Avena sativa* cresciute su suoli contaminati da un eccesso di Cu e Pb, hanno dimostrato che in tale graminacea il contenuto in clorofilla totale (a+b) si riduce notevolmente rispetto a quello misurato negli individui sviluppati su suoli normali e la funzionalità dell'apparato fotosintetico risultano danneggiate (Moustakas et al, 1994). Sono stati osservati in risposta all'esposizione delle piante a concentrazioni elevate di HM sia la degradazione della clorofilla e dei carotenoidi (Luna et al., 1994; Gallego et al, 1996; Moustakas et al, 1997), sia l'incremento della quantità totale di tali pigmenti, attribuito all'influenza fertilizzante degli inquinanti (Nash, 1976; Kauppi, 1980; Von Arb e Brunold, 1990, Carreras et al., 1998).

Numerose indagini, hanno dimostrato la capacità di *Lolium perenne* e *Helianthus annuus* di svilupparsi su suoli contaminati con valori di pH, granulometria e contenuto totale di metalli pesanti simile a quelli dei suoli oggetto del presente lavoro (Smith e Bradshaw, 1979; Pichtel e Salt, 1998), pur producendo una biomassa depressa rispetto al controllo (Baker e Proctor, 1990; Lin et al, 2003; Madejon et al, 2003; Murillo et al., 1999).

Lolium è stata definita una *pseudometallofita* o metallofita facoltativa (Smith e Bradshaw, 1979), in quanto, di norma non è presente, ma può crescere su suoli inquinati (Lambinon e Auquier, 1963). Questa abilità può essere relazionata all'evoluzione della tolleranza ai metalli pesanti (Antonovics et al, 1971), che può essere molto rapida (Wu et al, 1975), da qui il termine facoltativa. Gli studi recenti di Lehoczky e Kiss (2002), hanno dimostrato che aumenti della fertilità del suolo, facilitano la crescita della pianta sui suoli contaminati. *Helianthus* presenta un'elevata *tolleranza* ai metalli pesanti e mostra anche una spiccata tendenza all'accumulo di questi elementi in particolar modo nelle radici, così da essere considerata idonea in interventi di fitorimediazione in generale, e di fitostabilizzazione e

rizofiltrazione in particolare (Saxena et al., 1999; Kamnev and Van der Lelie, 2000). D'altra parte, sono noti gli effetti causati dalla tossicità dei metalli pesanti sulla morfologia e struttura delle radici delle piante (Barceló e Poschenrieder, 1990; Symeonidis e Karataglis, 1992, Punz e Sieghardt, 1993; Hagemeyer e Breckle, 1996), e soprattutto sulla produzione di biomassa radicale. In particolare, è stato messo in evidenza che la crescita delle radici di *Helianthus annuus* è inibita da elevate concentrazioni di Cu, che viene accumulato in elevate quantità dalla pianta (Jiang et al, 2000). La suscettibilità di *Helianthus* ad elevate concentrazioni di Cu potrebbe spiegare la sua crescita ridotta sul substrato PM1 rispetto al PM2.

La biomassa epigea prodotta da *Thlaspi* nell'esperimento di crescita in vaso, è confrontabile con quella riportata in letteratura e prodotta dalla stessa specie su suoli calcarei; differentemente, la biomassa ipogea prodotta su PM1 e PM2 risulta più elevata di quella generalmente riportata in letteratura (McGrath et al., 1997; Hammer e Keller, 2002). E' nota la minore dipendenza della nutrizione di *Thlaspi*, rispetto ad altre piante, dalle proprietà fisiche e chimiche del suolo, quali il pH (Hammer and Keller, 2002), così come è nota l'avversità di *Thlaspi* per elevate concentrazioni di Cu nel suolo, che potrebbero giustificare la sua più ridotta crescita su PM1 (Lombi et al., 2001).

Altri fattori, oltre al substrato, influiscono significativamente sulla crescita delle piante. La crescita sia di *Lolium* sia di *Helianthus* è favorita da condizioni climatiche primaverili-estive, perciò essa è maggiore nelle rivegetazioni I e II rispetto alla rivegetazione III, anche se, durante la stagione calda risulta più elevata la percentuale di tessuti senescenti a fine ciclo. Al contrario, *Thlaspi caerulescens* si mostra insofferente alle elevate temperature primaverili-estive.

Accumulo di HM nei tessuti vegetali. Il grado di tolleranza delle specie vegetali si può valutare in base oltre alla produzione di materiale vegetale, all'assorbimento dei metalli e (Pichtel e Salt, 1998).

Tutte le piante utilizzate nell'esperimento di crescita in vaso sono caratterizzate da concentrazioni di HM nei tessuti epigei molto più basse anche di quelle presenti nel suolo ($BF \ll 1$). In base alla classificazione di Perelman (1966) l'assorbimento del Pb è molto debole per tutte ($0.001 < BF < 0.01$), l'assorbimento di Cu e Zn è debole per *Helianthus* ($0.01 < BF < 0.1$) e l'assorbimento di Cu e Zn è intermedio per *Lolium* e *Thlaspi* ($0.1 < BF < 1$).

Le piante asportano, quindi, piccole quantità di HM dai suoli contaminati (ancora più piccole se consideriamo solo le quantità asportabili attraverso il taglio dei tessuti epigei) e potrebbero essere utilizzate solo in interventi molto lunghi di fitoestrazione. Le quantità di HM asportate dalle radici, anche se più elevate di quelle asportate dai tessuti epigei ($TF < 1$), sono sempre molto piccole rispetto alla dotazione di metalli dei suoli. E', pertanto, da escludere che esse possano ridurre il contenuto totale di HM del suolo, attraverso l'asportazione e traslocazione dei contaminanti a livello dei tessuti vegetali. La misura prima e dopo la crescita vegetale del contenuto totale conferma che non vi è variazione del livello di contaminazione.

Esse possono essere classificate come *excluders* o non accumulatrici, in quanto tendono a "mantenere all'esterno" i contaminanti, che assorbono limitatamente e che accumulano (Cu) nella radice senza traslocarli nella parte epigea ($TF < 1$).

Numerosi studi hanno dimostrato che le piante capaci di colonizzare i suoli contaminati da metalli pesanti, posseggono meccanismi che permettono sia l'esclusione che la detossificazione dei contaminanti (Ernst et al., 1992; Rengel, 1997; Ernst, 1998; Hall, 2002).

Il contenuto di Cu, Pb e Zn delle parti apicali, si mantiene, per *Lolium e Helianthus*, negli intervalli di "normalità" (tabella 6.1.4b), pertanto si può ipotizzare in esse la presenza di efficienti meccanismi di esclusione degli elementi tossici. Tali meccanismi sono oggetto di numerosi studi. E' nota la capacità di alcune piante di variare la permeabilità del plasmalemma (Prasad e Hagemeyer, 1999; Kabata-Pendias, 2001) delle cellule radicali o di produrre essudati mucillaginosi che legano fortemente i HM (Morel et al., 1986), per ridurre la penetrazione dei contaminanti nelle radici, e di altre di impedire la traslocazione del metallo alle parti epigee.

Helianthus è considerata una specie vegetale adatta al recupero di siti contaminati da Zn (Van der Lelie et al., 2001). Nella sperimentazione condotta, invece, Zn è come il Pb ed il Cu, accumulato in scarsa quantità nei tessuti di *Helianthus*.

In *Thlaspi caerulescens* le concentrazioni di Cu (PM1) e Zn (PM1 e PM2) nelle parti apicali risultano più elevate di quelle di *Lolium* ed *Helianthus* e di quelle ritenute tossiche (tabella 6.1.4b). Sono qui ipotizzabili, oltre a meccanismi di esclusione, anche meccanismi di detossificazione. Tali meccanismi prevedono la trasformazione del metallo ad opera di peptidi ricchi in Cys, come metallotionine (Clemens, 2001), e fitochelatine (Cobbett, 2000; Goldsbrough, 2000), che agiscono come *shuttle* legando gli elementi tossici e facilitando il loro trasporto nel vacuolo attraverso il tonoplasto (Prasad e Hagemeyer, 1999). I

meccanismi di compartimentazione dello Zn nel vacuolo sono noti (Ernst et al, 1992), e sono stati riscontrati principalmente nelle specie iper-accumulatrici (Chaney et al. 1997). Essi potrebbero impedire che lo Zn accumulato in elevate concentrazioni in *Thlaspi*, provochi danni morfologici e fisiologici alla pianta. Viceversa, i livelli fitotossici di Cu (> 20 mg kg⁻¹ s.s.) dei tessuti epigei della pianta potrebbero spiegare la stentata crescita di *Thlaspi* sul suolo PM1.

Il contenuto di Cu dei tessuti epigei di *Thlaspi caerulescens* allevata su PM1 è molto al di sotto sia dei limiti di iperaccumulo (10g kg⁻¹, 1 %). Esso risulta compreso nell'intervallo 20-590 mg kg⁻¹ riscontrato nelle piante cresciute su suoli contaminati da industrie siderurgiche (Kabata-Pendias, 2001). Tenuto conto della ben documentata incapacità di *Thlaspi* ad iperaccumulare Cu, i valori accertati risultano confrontabili con quelli riportati dalla letteratura (Frey et al., 2000).

Nonostante la nota capacità di *Thlaspi* di iperaccumulare Zn, il contenuto di Zn dei tessuti epigei delle piante allevate su PM1 e PM2, sebbene più elevato di quello di *Lolium* ed *Helianthus*, è di molto inferiore ai valori (1700-6000 mg kg⁻¹) riscontrati su suoli calcarei con pari o inferiore livello di contaminazione ed anche più basso del contenuto di Zn dei tessuti ipogei (McGrath et al., 1997; Hammer and Keller, 2002). I BF e TF, in genere pari a 6-34 e 5-7 (McGrath et al., 1997), nella sperimentazione condotta risultano uguali a 0.37-0.54 e 0.59-0.70. Inoltre, le quantità TM asportate dai tessuti epigei anziché risultare pari a 4-7.6 mg (McGrath et al., 1997), sono appena 1.2-1.5 mg. Le proprietà del suolo che favoriscono la fitoestrazione da parte di *Thlaspi* non sono ancora ben conosciute. E' nota, però, la maggiore produzione di biomassa e l'iperaccumulo di Cd (> 100 mg kg⁻¹, 0.01 %) e di Zn (> 10000 mg kg⁻¹, 1%) sui suoli con pH acido rispetto ai suoli calcarei (Kayser et al., 2000). Limitatamente al suolo PM1, inoltre, la tossicità da Cu potrebbe aver ridotto l'assorbimento di Zn (Ebbs e Kochian, 1997; Lombi et al., 2001).

Sebbene le piante di *Thlaspi* contengano più Zn nei tessuti epigei, le quantità di metallo asportabili dal suolo mediante taglio delle parti epigee, non risultano significativamente più elevate rispetto a *Lolium* e *Helianthus*. Ciò è da ricondurre allo scarso numero di piante allevate per vaso e alla minore biomassa prodotta da *Thlaspi* per kg di suolo. Infatti, la biomassa prodotta a fine crescita, è significativamente diversa con la specie vegetale e decresce nell'ordine: *Lolium* > *Helianthus* >> *Thlaspi*. Se si aumentasse il numero di piante di *Thlaspi* allevate su PM1 e PM2, si potrebbero ottenere più elevate asportazioni di

Zn. Pertanto, *Thlaspi* sarebbe idonea a fitoestrarre lo Zn dai suoli PM1 e PM2, riducendone nel tempo il contenuto totale.

I contenuti di Pb appaiono particolarmente bassi nei tessuti epigei (McGrath et al., 1997).

Effetti della crescita delle piante sulle proprietà del suolo. In questo lavoro, i cambiamenti indotti dalla crescita vegetale sul suolo sono stati valutati separando da ogni vaso tutto il suolo in esso contenuto che, tenuto conto dei lunghi periodi di crescita, e della fitta esplorazione da parte delle radici, è stato considerato come rhizo soil.

La crescita delle piante induce sui suoli PM1 e PM2 una riduzione dei valori di pH. Ciò è stato accertato anche da McGrath et al. (1997) in suoli contaminati dopo la crescita di *T. caerulescens* e *T. ochroleucum*. Questo potrebbe essere messo in relazione al rilascio da parte della pianta di acidi organici ad azione acidificante e di idrogenioni per garantire l'elettroneutralità cellulare in seguito ad assorbimento elevato di nutrienti in forma cationica. Tuttavia, indagini condotte su suoli contaminati sia calcarei sia acidi hanno evidenziato, in seguito alla crescita di *Thlaspi*, incrementi del grado di reazione (Hammer e Keller, 2002; Knight et al., 1997). Nonostante tali discordanze, è opinione diffusa e condivisa che i cambiamenti di pH del suolo non sono indotti dalla pianta per aumentare la solubilizzazione di HM nel suolo e quindi per favorirne l'assorbimento. Nessuna indagine è stata infatti capace di evidenziare specifici pattern di essudazione radicale o cambiamenti dell'ambiente rizosferico tali da favorire l'assorbimento di HM, in particolare Cd e Zn, da parte della pianta (Zhao et al., 2001; Keller e Hammer, 2004).

La crescita delle piante è associata in tutti i substrati ad un incremento significativo del contenuto di carbonio organico. Tale risultato può essere messo in relazione con la crescita delle radici, con la produzione di essudati radicali e con l'incremento dello sviluppo di microrganismi nel suolo (Calace et al., 2002). Tuttavia non è stata riscontrata alcuna correlazione significativa tra la produzione di biomassa radicale e il contenuto in carbonio organico nel suolo dopo la crescita.

La presenza di sostanza organica nel suolo, generalmente costituita da molecole naturali a struttura nota (acidi alifatici, polisaccaridi, aminoacidi) e da acidi umici e fulvici (Sposito, 1989; Senesi, 1992), influenza il destino degli elementi in traccia nel suolo in differenti modi. Gli acidi umici, agiscono principalmente come agenti immobilizzanti dei metalli. I fulvici e altre molecole a basso peso molecolare, possono formare complessi metallo-organici solubili (Alloway, 1995; Ross, 1994). La presenza di batteri ed altri

microrganismi, può avere effetto decontaminante, in seguito alla fissazione dei metalli per adsorbimento alle pareti cellulari e alle capsule (Beveridge et al, 1995).

È noto (Hoffman e Barber, 1971; Schreiner et al., 1997) che la crescita delle radici induce un diminuzione della densità apparente del suolo nonché altri cambiamenti nelle proprietà fisiche, con la formazione di aggregati, ulteriormente favorita dall'accumulo di essudati radicali, come zuccheri e mucillagini, e dallo sviluppo di microrganismi che di tali sostanze si nutrono. Lo sviluppo di ife fungine micorriziche, che legano particelle di suolo e radici delle piante, migliora la stabilità strutturale del suolo, riducendone l'erosione e contribuendo al successo della fitostabilizzazione dei suoli contaminati (Tisdall e Oades, 1982; Burns e Davis, 1986; Miller e Jastrow, 1990; Schreiner et al., 1997).

Effetti della crescita delle piante sulla disponibilità di HM. Nei siti contaminati i metalli risultano presenti in forme molto diverse e la loro disponibilità per le piante varia ampiamente (Freedman e Hutchinson, 1981; Thornton, 1981; Kabata-Pendias, 2001). È difficile definire, in termini quali-quantitativi, la frazione biodisponibile dei metalli, ovvero la quantità di HM che può essere assorbita dalle piante (Prasad e Hagemeyer, 1999).

In questo studio, la biodisponibilità reale è stata "quantificata" mediante la misura delle concentrazioni dei metalli nei tessuti vegetali e la biodisponibilità potenziale di HM è stata "quantificata" mediante l'uso di EDTA, uno degli estraenti più comunemente utilizzati a tale scopo (Lakanen e Ervio, 1971), ma impiegato secondo modalità "nuove" (0,05 M a pH 7.00 ± 0.05) proposte dal BCR (Report EUR 19774 EN), che consentono di effettuare l'estrazione dei HM a valori di pH non troppo diversi da quelli dei suoli indagati.

Le estrazioni sequenziali, condotte secondo un protocollo dettagliato, descrivono la distribuzione di HM tra forme geochemiche diverse e possono essere utili per definire "qualitativamente" la frazione biodisponibile dei HM, ovvero per capire da quale/i *pool* originano Cu, Pb e Zn assorbiti dalle piante e quelli estratti in EDTA. Esse consentono di meglio comprendere gli effetti sulla biodisponibilità dei HM prodotti della crescita vegetale, causati dall'assorbimento di HM, da alterazioni del pH, produzione di sostanza organica, ecc.

Il contenuto di metalli pesanti nelle piante è stato già discusso.

Il contenuto (mg kg^{-1}) di metalli pesanti estraibile in EDTA (HM_{EDTA}) dei substrati PM1 e PM2 in PRE-crescita risulta più elevato per il Cu in PM1 (di un fattore 3), mentre il Pb_{EDTA} e lo Zn_{EDTA} sono presenti in quantità simili nei due suoli. Le quantità HM_{EDTA} rappresentano una simile percentuale del contenuto totale di Cu, Pb e Zn dei due suoli, più

elevata per il Cu e il Pb (~20%) rispetto allo Zn (~6.5%). Pertanto, le quantità di HM_{EDTA} rispecchiano le differenze di contenuto totale di metalli, quindi l'intensità della contaminazione dei suoli, le cui proprietà fisiche e chimiche (pH, CO, contenuto di argilla, ecc.), sono pressoché costanti.

Sebbene Cu, Pb e Zn siano presenti nei suoli PM1 e PM2 in concentrazioni superiori ai limiti stabiliti per legge, essi risultano scarsamente disponibili per le piante: ciò potrebbe spiegare, insieme ai meccanismi di esclusione dei HM messi in atto dalle piante, la capacità di specie tolleranti non accumulatrici come *Lolium* ed *Helianthus*, di colonizzare tali substrati.

Le quantità ($mg\ kg^{-1}$) biodisponibili di Cu, Pb e Zn estratte dai suoli PM1 e PM2, sono risultate inferiori a quelle estratte mediante EDTA a pH 4.65 e dello stesso ordine di grandezza di quelle estratte mediante DTPA a pH 7.3 da suoli calcarei contaminati (Hammer and Keller, 2002).

Generalmente, è difficile mettere in evidenza correlazioni tra le quantità di metalli (totale, biodisponibile e forme geochimiche) presenti nel suolo e l'assorbimento degli stessi da parte della pianta (Sims e Kline, 1991; De Pieri et al., 1996; Pichtel e Anderson, 1997; Pichtel e Salt, 1998).

Nella sperimentazione condotta, il contenuto di HM dei tessuti epigei varia in funzione del contenuto totale ed estraibile in EDTA di metalli del suolo, che in PM1 e PM2 risultano associati. Infatti, il contenuto di Cu dei germogli risulta significativamente più elevato nelle piante allevate su PM1, mentre non si osservano differenze nei contenuti di Pb e Zn delle piante allevate su PM1 e PM2 (ad eccezione del contenuto di Zn in *Thlaspi*). Anche Prasad e Hagemeyer (1999) hanno trovato una correlazione significativa tra le quantità di Cu e Pb assorbite da *Helianthus annuus* e il contenuto totale dei due elementi nel suolo.

Le concentrazioni di Cu e Zn dei tessuti epigei non risultano molto diverse dalle quantità biodisponibili dei metalli accertate nel suolo mediante l'estrazione in EDTA. Le concentrazioni di Pb dei tessuti epigei risultano, invece, molto più basse delle quantità biodisponibili. Comunque, la ridotta fitoestrazione è sempre riconducibile ai meccanismi di esclusione messi in atto dalle piante e non alla limitata disponibilità degli elementi nei suoli, tenuto conto che le concentrazioni di HM dei tessuti ipogei sono sempre molto più elevate rispetto alle quantità HM_{EDTA} .

La distribuzione tra le forme geochimiche dei HM nel suolo, riflette sia l'affinità degli elementi per certi costituenti del suolo, sia la particolare natura dei substrati e la forma di input.

La distribuzione nei suoli PM1 e PM2 di Cu e Pb tra forme geochimiche risulta simile. In PM1, essi si riscontrano in associazione con minerali di natura silicea (residuo), e in misura minore, a carbonati e costituenti di natura organica. Nel suolo PM2, a tali fasi, si aggiungono gli ossidi di Fe e Mn facilmente riducibili. In PM2, lo Zn si distribuisce in modo analogo agli altri elementi, mentre in PM1 esso è prevalentemente incluso in strutture minerali di natura silicea.

La distribuzione del Cu tra *pool* diversi è in contrasto con la tendenza del metallo ad associarsi quasi esclusivamente alla sostanza organica (McLaren e Crawford, 1973). Ciò potrebbe essere in parte causato dal basso contenuto di questa nei suoli PM1 e PM2 e in parte dalla elevato apporto ai suoli di materiali (scarti e minerali) provenienti dal ciclo di produzione dell'acciaio, ricchi in rame. Cu e Pb si concentrano nei *pool* più disponibili, soprattutto in PM2. Questo è vero per lo Zn solo in PM2, mentre in PM1 tale elemento, concentrato nel residuo, ha una distribuzione del tutto singolare e di non facile interpretazione. Zeien e Bruemmer (1991) Kayser (2000) e Hammer e Keller (2002) hanno verificato situazioni simili in suoli calcarei contaminati dove, a distanza di più di 20 anni dall'evento inquinante, tutti i HM, ad eccezione dello Zn, risultavano ancora prevalenti nei *pool* più disponibili, e le hanno interpretate come conseguenza sia di un più veloce passaggio dello Zn rispetto agli altri HM da forme labili a meno labili, sia di un particolare forma di input dello Zn. Nell'area Parco Minerali, oggetto di studio, potrebbe essersi stata per lo Zn una diversa fonte inquinante per i due suoli e ciò potrebbe essere la causa della diversa speciazione del metallo riscontrata in PM1 e PM2.

L'assorbimento di HM da parte delle piante è generalmente relazionato all'attività dei metalli in soluzione (Hare e Tessier, 1996; Moffet e Brand, 1996). I risultati delle estrazioni chimiche condotte sui substrati prima della crescita delle piante, hanno evidenziato che tutti i metalli sono presenti in concentrazioni limitate nella frazione solubile e scambiabile (*step* 1). Tali risultati sembrano indicare nei suoli PM1 e PM2 una scarsa biodisponibilità di HM sia in condizioni "naturali". Anche Venditti et al. (2000a) e, Adamo et al. (2002) verificarono in suoli contaminati da HM con caratteristiche simili, concentrazioni limitate di metalli estratte da soluzioni acquose a pH 6.6-7.6 e da soluzioni di acido acetico 0.1 M (solo le concentrazioni dello Zn risultano > 20 % del contenuto totale). Inoltre, tenuto conto dell'elevato contenuto di carbonati e dell'elevata *buffering capacity* dei suoli, essi concludevano che non solo la biodisponibilità reale dei HM era ridotta, ma anche quella "in condizioni di stress".

Le quantità di Cu asportate da *Lolium* (PM1 e PM2: 6.2 e 3.6 mg), *Helianthus* (2.8 e 2.7 mg) e *Thlaspi* (0.5 e 0.3 mg) risultano più basse delle quantità solubili e scambiabili di metallo accertate nei suoli (PM1 e PM2: 23 e 4.2 mg). Le quantità di Pb asportate dalle piante (PM1 e PM2, L: 1.8 e 2.3 mg; H: 1.1 e 1.7 mg; T: 0.1 e 0.2 mg) sono simili o più basse delle quantità di Pb scambiabili e solubili nei suoli (PM1 e PM2: 0.8 e 6.1 mg). Solo per lo Zn, le quantità asportate dai vegetali (PM1 e PM2, L: 11 e 13 mg; H: 4.8 e 8.0 mg; T: 1.7 e 2.0 mg) risultano più elevate delle quantità di elemento presente nei suoli in forma solubile e scambiabile (PM1 e PM2: 1.0 e 1.4 mg). Quindi, il *pool* “solubile e scambiabile” dovrebbe essere sufficiente a rifornire le piante di Cu e Pb, e dovrebbe, inoltre, essere ridotto, e in alcuni casi azzerato, dopo la crescita delle piante. Inoltre, l’accumulo di Zn nelle piante sembra indicare che esse sono capaci di accedere a *pool* di Zn diversi da quello solubile e scambiabile (Hammer e Keller, 2002).

Le quantità estratte nei primi quattro *step* (HM₁₋₄), le forme dei metalli disponibili per la pianta in tempi medio-brevi, rappresentano, in PM1, il 51% del Cu, 56% del Pb e 24% dello Zn, in PM2, il 69% del Cu e del Pb e il 71 % dello Zn. Pertanto, i suoli sembrano caratterizzati da una più elevata mobilità e disponibilità dei HM rispetto a quella stimata mediante estrazione in EDTA. Le quantità HM₁₋₄ sono, invece, confrontabili, in PM1, con i *pool* di Cu, Pb e Zn associati rispettivamente a solubili e scambiabili + minerali amorfi (*step* 1+5), solubili e scambiabili + carbonati (*step* 1+2) e carbonati (*step* 2), in PM2 con i *pool* di Cu, Pb e Zn associati rispettivamente a sostanza organica (*step* 4), carbonati (*step* 2) e sostanza organica (*step* 4). Assumendo che l’EDTA sia idoneo ad estrarre le forme di HM potenzialmente accessibili alle piante, si deve ipotizzare che esse, come quelle realmente assorbite, siano rappresentate da *pool* diversi a seconda del metallo e del suolo considerati.

Le interazioni radici-suolo hanno un’importante influenza sulla disponibilità e/o solubilità di molti elementi, quali Zn, Fe, Mn, Cu e P (Marschner et al., 1987 McLaughlin et al, 2000; Ge et al., 2000).

In PM1, la quantità di Cu_{EDTA} e Zn_{EDTA} si riduce in seguito alla crescita delle piante, ma la riduzione è significativamente più elevata della quantità assorbita dalle piante.

I contenuti HM_{EDTA} di PM1 sembrano ridursi, sia come conseguenza dell’assorbimento vegetale di HM sia in seguito a modificazioni delle proprietà del suolo che inducono il passaggio di HM da forme “più labili” a forme “meno labili”. In PM2, la quantità “biodisponibile” di Zn aumenta in seguito alla crescita delle piante. In questo caso, le

attività metaboliche associate alla crescita delle piante sembrano indurre il passaggio di Zn da forme “non labili” a forme “labili” e, nonostante la riduzione dei contenuti biodisponibili di Zn causati dall’assorbimento vegetale, produrre un incremento della mobilità del metallo. Si osserva che i processi di immobilizzazione/mobilizzazione contribuiscono in misura preponderante al $\Delta\text{HM}_{\text{EDTA}}$ rispetto all’assorbimento vegetale e, in termini percentuali, le variazioni della quantità biodisponibile in seguito alla crescita delle piante sono consistenti e simili sia in PM1 sia in PM2. Pertanto, sebbene le specie vegetali impiegate non asportino che piccole quantità di Cu, Pb e Zn dal suolo, tenuto conto della loro caratteristica di *excluders*, esse inducono riduzioni della mobilità e della disponibilità di Cu sia in PM1 sia in PM2, e di Zn in PM1, ed incrementi della mobilità e della disponibilità di Zn in PM2.

I risultati dell’estrazioni sequenziali risultano coerenti con i risultati dell’estrazione in EDTA.

Mettono in evidenza, infatti, riduzioni della quantità di Cu, Pb e Zn in PM1 e di Cu e Pb in PM2, associate ai *pool* più labili, che corrispondono, al netto delle piccole quantità assorbite dalle piante, ad incrementi dei *pool* fasi meno labili, non sempre chiaramente evidenziati. In PM2, viceversa, è registrato un incremento del contenuto di Zn nelle fasi più labili a scapito di quelle meno labili.

Le quantità di HM_{1-4} , risultano sempre significativamente più elevate delle quantità HM_{EDTA} ma le variazioni di HM_{1-4} e di HM_{EDTA} sono correlate ($r > 0.8$). In effetti, le quantità HM_{EDTA} in POST-crescita sono ancora associate alle fasi della sequenziale, in PM1: $\text{Cu}_{\text{EDTA}}\text{-Cu}_5$ (P: 0.3; r: 0.6), $\text{Zn}_{\text{EDTA}}\text{-Zn}_2$ (P: 0.02; r: 0.7) e in PM2: $\text{Cu}_{\text{EDTA}}\text{-Cu}_4$ (P: 0.2; r: 0.7), $\text{Pb}_{\text{EDTA}}\text{-Pb}_2$ (P: 0.2; r: 0.9), $\text{Zn}_{\text{EDTA}}\text{-Zn}_4$ (P: 0.3; r: 0.5).

Inoltre, eccetto che per il Cu, non si osservano in POST-crescita le riduzioni attese della frazione solubile e scambiabile dei metalli, che rimangono sostanzialmente invariate. Per il Cu, le riduzioni risultano inversamente proporzionali alle quantità di metallo assorbite dalle piante (r: -0.5).

In definitiva, la crescita di *Lolium*, *Helianthus* e *Thlaspi*, sui suoli PM1 e PM2, determina effetti sulla speciazione dei metalli diversi a seconda della specie, e con la specie, a seconda del suolo, per intensità e/o *pool* bersaglio. Tali effetti, inoltre, risultano poco selettivi nei confronti dei *pool* di HM e spesso, determinano le variazioni a carico dei quelli considerati meno labili, e non dei più labili. Tale risultato sembra offrire due diverse interpretazioni, non necessariamente antitetiche: 1) diverse frazioni geochimiche dei

metalli possono essere influenzate dall'assorbimento delle piante: la frazione biodisponibile del metallo è data, di volta in volta, da *pool* diversi; 2) il suolo svolge un ruolo non passivo e tende a ridistribuire i HM a seguito di assorbimento di HM da parte delle piante o sotto le mutate condizioni determinate dalla crescita vegetale.

Le differenze nella metodologia dell'estrazione sequenziale, nella contaminazione dei suoli, e nel *background* storico dei suoli analizzati, rendono molto difficile confrontare i risultati ottenuti nella sperimentazione condotta con i dati riportati in letteratura; nonostante ciò, negli esperimenti di Zein e Brummer (1991), e in quelli più attuali di Hammer e Keller (2002), si riscontrano risultati simili a quelli mostrati nel presente lavoro. Infatti confrontando suoli con simile pH (~ 8), sostanza organica, (~2%), e N totale (0.02%), tali Autori hanno riscontrato che su suoli calcarei alcune specie vegetali (*Salix viminalis* e *Thlaspi caerulescens*), utilizzano principalmente i metalli delle frazioni scambiabili e legate ai carbonati (in particolare Cd, Cu e Zn) rispetto a quelle associate agli ossidi di Fe e Mn facilmente riducibili: ciò è indice del fatto che le piante non estraggono i metalli con la stessa efficienza da tutti i *pool*.

Tali studi sottolineano la difficoltà di stime della biodisponibilità effettiva e potenziale dei HM mediante l'uso dei metodi di estrazione chimica selettiva convenzionali. Gli Autori riscontrano riduzioni di HM estraibili in NaNO₃, conseguenti la crescita di *Thlaspi caerulescens* su suoli calcarei e acidi, più basse delle quantità di HM assorbite dalla pianta, e interpretano tale fenomeno come conseguenza di un processo di ridistribuzione di HM nel suolo che riporta prontamente il *pool* labile dei HM ai valori originari a spese dei *pool* meno labili. Gli Autori sottolineano che a causa di tale processo *Thlaspi* sembra attingere da *pool* di HM diversi da quello immediatamente disponibile. Inoltre, le riduzioni delle quantità di HM estraibili in EDTA (pH 4.65) e DTPA (Lindsay e Norvell, 1978) coincidono con le quantità assorbite da *Thlaspi* solo per Cd e Zn su suoli acidi, e la loro rappresentatività della biodisponibilità reale dei HM viene meno per i suoli calcarei e per *Salix viminalis*, pianta non iperaccumulatrice.

7. RIVEGETAZIONE DA PIANTE SPONTANEE: RISULTATI

7.1 *Campionamento di suoli e specie vegetali spontanee condotto nel 2004*

7.1.1 *Contenuto totale di HM dei suoli*

Nel novembre 2004, sono stati campionati i suoli di superficie dell'area "Parco Minerali" PM1 e PM2, che risultavano completamente rivegetati da specie spontanee (indicati, quindi, come PM1-R e PM2-R) e il suolo LAM esterno all'area PM, ed anche esso colonizzato da piante spontanee.

Il contenuto totale di HM dei suoli è stato analizzato (tabella 7.1.1). I suoli PM1-R e PM2-R sono risultati caratterizzati da quantità di contaminanti inorganici più basse di quelle riscontrate in PM1 e PM2 (tabella 4.1.2). Inoltre, nel suolo PM2-R si è accertata una contaminazione da Hg (3 mg kg^{-1}), che non era presente in PM2.

Anche nei suoli rivegetati PM1-R e PM2-R, come nei suoli PM1 e PM2, si riscontrano quantità di Pb (114 ± 5.7 , 219 ± 13) e di Zn (243 ± 16 , 488 ± 32) più elevate dei valori limite indicati nella colonna B del DL 471/99 (Pb e Zn: 100 e 150 mg kg^{-1}). I contenuti di Cu (PM1-R e PM2-R: 63 ± 5.7 e $70 \pm 0.7 \text{ mg kg}^{-1}$), pur più elevati di quelli riscontrati in LAM ($16 \pm 0.7 \text{ mg kg}^{-1}$), risultano, invece, inferiori al limite di legge (120 mg kg^{-1}), sia in PM1-R sia in PM2-R.

I suoli rivegetati dell'area PM, si differenziano l'uno dall'altro per i più elevati contenuti di As in PM1-R, di Pb e di Zn in PM2-R (figura 7.1.1).

Il suolo LAM è risultato caratterizzato da quantità di HM sempre più basse rispetto ai valori limite.

Una buona correlazione ($r > 0.8$) è stata accertata tra i contenuti totali di Cu, Pb e Zn dei suoli PM1-R, PM2-R e LAM.

7.1.2 *Le specie vegetali spontanee*

Nel novembre 2004, i suoli PM1-R, PM2-R e LAM mostravano una ben sviluppata copertura vegetale di piante erbacee ed arbustive.

L'indagine fitoecologica ha portato alla identificazione di 15 taxa appartenenti a 10 famiglie (tabella 7.1.2). Delle 15 entità raccolte, 11 sono risultate costituite da piante erbacee, perenni (emicriptofite) o annuali/biennali (terofite), e 4 da piante legnose

Tabella 7.1.1 Contenuto totale (mg kg^{-1}) di HM dei suoli PM1-R, PM2-R e LAM

	PM1-R	PM2-R	LAM	A*	B**
Antimonio	0.2±0.0	< 0.2	< 0.2	10	30
Arsenico	46±19	15±0.7	10±0.3	20	50
Berillio	2.3±0.2	3.8±0.0	2.7±0.2	2	10
Cadmio	0.47±0.1	1.1±0.1	0.09±0.0	2	15
Cobalto	13±3.1	6.2±0.6	4.1±0.1	20	250
Cromo tot	24±0.7	35±1.5	3.6±0.6	150	800
Mercurio	0.24±0.0	3.0±1.2	0.12±0.0	1	5
Nichel	33±5.4	22±1.6	4.4±0.2	120	500
Piombo	114±5.7	219±13	32±0.5	100	1000
Rame	63±5.7	69±0.7	16±0.7	120	600
Selenio	1.4±0.2	< 0.3±	< 0.3	3	15
Stagno	4.5±0.7	4.5±0.7	2±0.0	1	350
Tallio	0.79±0.1	0.67±0.0	0.94±0.1	1	10
Vanadio	31±0.6	38±2.0	31±1.8	90	250
Zinco	243±16	488±32	69±4.9	150	1500

*valori limite (mg kg^{-1}) riportati nel DM 471/99 per i siti ad uso verde pubblico, privato e residenziale; **per i siti ad uso commerciale ed industriale

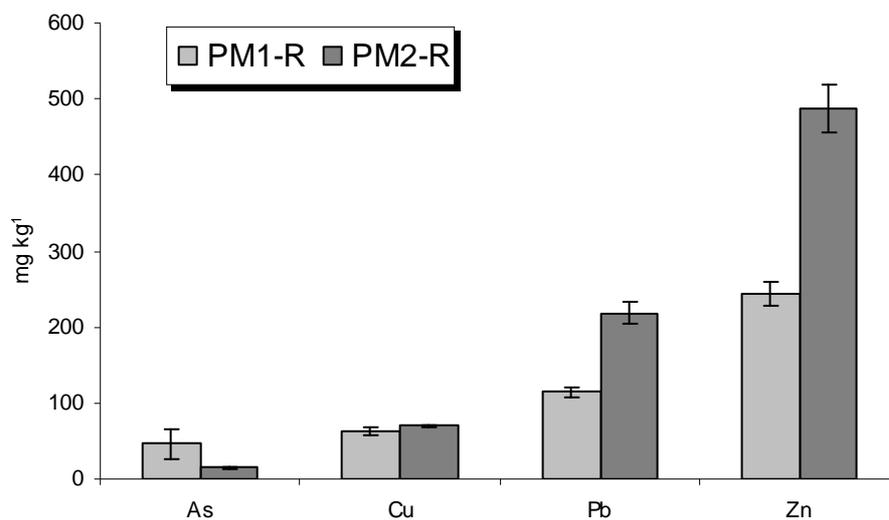


Figura 7.1.1 Contenuto totale di contaminanti inorganici dei suoli PM1-R e PM2-R

Tabella 7.1.2 Classificazione tassonomica delle specie vegetali spontanee campionate nell'area "Parco Minerali " nel 2004

Famiglia	Specie	Forma biologica	Suolo
Asteraceae	<i>Artemisia arborescens</i>	Fanerofita	LAM
	<i>Dittrichia viscosa</i>	Fanerofita	LAM
	<i>Asteracea sp.</i>		PM2-R
Apiaceae	<i>Daucus sp.</i>	Terofita	PM1-R, PM2-R
Brassicaceae	<i>Raphanus sp.</i>	Terofita	LAM
Cichoriaceae	<i>Sonchus oleraceus</i>	Terofita	PM1-R
Euphorbiaceae	<i>Mercurialis annua</i>	Terofita	LAM
Fabaceae	<i>Bituminaria bituminosa</i>	Terofita	LAM
	<i>Medicago sp.</i>	Terofita	PM2-R
	<i>Melilotus albus</i>	Terofita	PM2-R
Geraniaceae	<i>Geranium rotundifolium</i>	Terofita	PM1-R, PM2-R
Myrtaceae	<i>Eucalyptus sp.</i>	Fanerofita	LAM
Plantaginaceae	<i>Plantago lanceolata</i>	Emicriptofita	LAM
Pittosporaceae	<i>Pittosporum sp.</i>	Fanerofita	LAM
Poaceae	<i>Dactylis glomerata</i>	Emicriptofita	LAM, PM1-R, PM2-R

(fanerofite). L'unica specie vegetale presente sia nell'area "Parco Minerali", in corrispondenza dei suoli PM1-R e PM2-R, sia all'esterno della stessa, in corrispondenza del suolo LAM, è rappresentata da *Dactylis glomerata*. Segue una breve descrizione di alcune delle specie vegetali spontanee identificate (figura 7.1.2):

ARTEMISIA ARBORESCENS, detto assenzio arbustivo. Pianta perenne arbustiva, con fusto eretto alto fino a 70 cm e ramoso di colore grigio-argenteo per la presenza di un fitto tomento, foglie bipennatosette, capolini disposti in pannocchie, fiori tubulosi giallo-bruni; il frutto è un achenio affusolato e gibboso. A volte assume sfumature rossastre. E' una specie molto comune, pioniera, che cresce nei luoghi aridi, spesso vicino alla costa, su campi, macerie, discariche, terreni assolati e calcarei.

DITTRICHIA VISCOSA, pianta erbacea perenne, scaposa, ovvero provvista di gemme poste a livello del terreno e con asse fiorale allungato, privo di foglie, alto sino a 150 cm, legnoso alla base, ramificato in alto. E' vischiosa e pelosa ed emana un forte e sgradevole odore resinoso che le serve per tener lontani gli erbivori. Le foglie sono alterne, sessili, numerose, a forma lanceolata. L'infiorescenza è a forma di pannocchia piramidale, costituita da numerose calatidi, appressati all'apice del fusto. I fiori sono tutti di colore giallo dorato. Il frutto è un piccolo achenio peloso (cipsela), con pappo giallastro, formato da uno stretto ciuffo di peli uniti in prossimità della base. *Dittrichia viscosa* è caratteristica del bacino mediterraneo europeo; in Italia è comune in tutta la penisola e isole, meno frequente al nord. Predilige i terreni calcarei e argillosi. Vegeta da 0 a 800 m negli incolti e nei campi non più coltivati, si adatta anche nelle scarpate, dove con il suo apparato radicale profondo riesce a trattenere il terreno. E' una pianta mielifera: fornisce il polline nei periodi autunnali quando le fioriture sono limitate. Per le sue virtù medicinale veniva usata sulle ferite come emostatico e cicatrizzante: le sue foglie essiccate erano usate in sostituzione del tabacco.

DAUCUS CAROTA, nomi volgari: carota selvatica, ceppo bianco, pasticciona, virga pastoris. Pianta biennale, a volte perenne, con fittone radicale legnoso, sottile e facilmente riconoscibile per il caratteristico odore di carota. Ha un aspetto molto variabile con portamento compatto oppure slanciato ed espanso. Gli steli sono generalmente pelosi. Alta sino a 1 m. L'infiorescenza è un'ombrella costituita da piccoli fiori quasi sempre bianchi, a volte rosa (il centrale porpora-nerastro). Le brattee distese durante la fioritura, si piegano a

palla al momento della fruttificazione. I frutti sono acheni ovali provvisti di aculei uncinati. Di origine eurasiatica è divenuta cosmopolita; in Italia è comune in tutto il territorio. Vegeta negli incolti, nei prati lungo le strade, in genere negli ambienti aridi, sino a 1.400 m. E' erba aromatica, medicamentosa e usata in cosmetologia.

SONCHUS OLERACEUS, detto crespigno. Pianta decisamente versatile: i semi possono restare in quiescenza fino ad otto anni per poi germogliare tranquillamente, è considerata in molti paesi una specie infestante. L'aspetto è di una pianta annuale o biennale, con scapo florale cilindrico e cavo, alto fino ad un metro. La radice è grossa e ricca di lattice, come pure le altre parti della pianta. I fiori sono capolini di fiori gialli riuniti in lassi corimbi. Il frutto è un achenio costoluto e rugoso. Il crespigno cresce un po' dovunque, nei prati ma anche nelle colture orticole, ed è un'infestante di coltivi sarchiati, giardini, vigneti, discariche, strade. Predilige terreni ricchi di elementi nutritivi e di azoto. Il crespigno trova uso come alimento.

MERCURIALIS ANNUA o mercorella, e' una pianta annuale, termofila, anemofila (vive in luoghi molto ventosi). La mercorella ha un sistema d'impollinazione che prevede con un meccanismo d'inturgidimento il lancio di un elevato numero di fiori maschili all'apertura delle antere. Il nome fu attribuito in onore di Mercurio che, secondo la mitologia greca, scoprì le sue virtù curative. Contiene saponine, un olio etero, sostanze amare e trimetilamina. E' velenosa. Frequente, di solito in terreni asciutti, sciolti di coltivi arati, vigneti, giardini, anche su discariche.

BITUMINARIA BITUMINOSA, o trifoglio bituminoso o trifogline. Sia il nome del genere che quello specifico sono ispirati all'odore di bitume che questa pianta emette se sfregata. E' una pianta erbacea scaposa, con caratteristico odore di bitume (frutto delle numerose ghiandole resinose sparse su tutto il suo corpo), con fusto scuro, striato, alto fino a 60 cm, ramoso ed eretto. Le foglie con lungo picciolo, divise in tre segmenti ellittici arrotondati all'apice, lucidi e interi. I fiori sono raccolti in capolini emisferici, portati da un lungo peduncolo, hanno il calice campanulato, ispido e con setole argentee. Corolla vistosa, papilionata blu violacea o lilla e bianca, con vessillo stretto e allungato e le ali più lunghe della carena. Il frutto è una camera allungata, di circa 2 cm, a forma di becco che sporge appena dal calice. Areale centrato sulle coste mediterranee, ma con prolungamenti verso nord e verso est. In siepi, incolti, margini di strade, boscaglie su suoli non troppo aridi fino

a 1000 m di quota. E' di scarso interesse medicinale anche se viene ancora utilizzata come tonico, mentre in passato veniva usata come espettorante nelle affezioni dell'apparato respiratorio e l'infuso delle sue foglie come cicatrizzante e lenitivo nelle ferite e nei morsi di serpenti.

PLANTAGO LANCEOLATA, indicata con numerosissimi nomi volgari (piantaggine minore, piantaggine femmina, lanciola, petacciola, centonervi, cinquenervi, lingua di cane, Pio quinto, erba di S. Antonio, erba pitocchina, scontamano, piantana, orecchie di gatto, orecchie d'asino). Pianta perenne erbacea alta sino a 45 cm, con breve e grosso rizoma. Le foglie in rosetta basale, sono lunghe, diritte, lanceolate, solitamente glabre. All'altezza delle foglie basali spuntano scapi fiorali, che, terminano con una spiga di fiori ovale o conica. La corolla è tubolare e in forma di imbuto. I 4 stami dotati di lunghi filetti e di antere gialle oltrepassano la corolla biancastra. Diffusa in quasi tutta Europa, in Italia è pianta molto comune in tutto il territorio; vegeta negli orti, nelle macerie, lungo le strade, nei campi e nei pascoli, fiorisce da aprile a giugno sino a 2.000 m. Questa pianta è utilizzata e coltivata dall'industria farmaceutica per le sue molte proprietà curative (antibatterica, espettorante, emostatica, astringente, oftalmica, lenitiva, lassativa, emolliente e per preparare sciroppi contro la tosse). Come foraggio invece, non è di gran profitto in quanto come tutte le piantaggini, seccando, si polverizza.

MELILOTUS ALBUS, o meliloto bianco, o tribolo bianco o meliloto di Buchara. Dal greco "méli" = "miele" e "lōtós" = "biada" o "trifoglio", perché queste piante costituiscono un'importante fonte di nettare per gli insetti e di foraggio per il bestiame. Pianta annuale o bienne, di aspetto erbaceo eretto, con fusti molto ramosi dal forte odore di cumarina, che la pianta contiene sotto forma di composto organico e che si libera con l'essiccamento. Raggiunge anche i 120 cm di altezza. Le foglie sono picciolate, trifogliate, lanceolate con margine finemente seghettato. Le infiorescenze sono racemi ascellari, ricchi di piccoli fiori di colore bianco-crema. I frutti sono legumi ovali glabri e bruni. E' di origine euro-asiatica, in Italia è comune nei luoghi erbosi, degli incolti, degli ambienti ruderali, la si trova facilmente, grazie ai cicli vegetativi brevissimi, insediata nei ciottoli ai margini dei corsi d'acqua, fiorisce da luglio a settembre sino a 1.200 m. Ha proprietà emollienti, sedative e antispasmodiche, anche se per uso officinale è più noto il *Melilotus officinalis* (pianta simile ma con fiori gialli), buona mellifera, ottima foraggera.



Figura 7.1.2 Piante spontanee campionate nell'area ex ILVA nel 2004 – 1 e 2: *Daucus carota*, infiorescenza e radice; 3: *Dittrichia viscosa*; 4: *Bituminaria bituminosa*; 5: *Plantago lanceolata*; 6: *Sonchus oleraceus* (continua)



Figura 7.1.2 Piante spontanee campionate nell'area ex ILVA nel 2004 – 7: *Dactylis glomerata*; 8: *Mercurialis annua*; 9: *Medicago*; 10: *Geranium rotundifolium*; 11: *Artemisia arborescens*; 12: *Melilotus albus*

Tuttavia se questa pianta si trova nel fieno umido si forma, a partire dalla cumarina, un composto chimico che impedisce la coagulazione del sangue. Il bestiame che mangia questo fieno può morire d'emorragia in seguito a qualche ferita anche piccola.

DACTYLIS GLOMERATA, erba mazzolina, monocotiledone della famiglia delle Poacee. Pianta erbacea perenne, con un profondo sistema radicale, forma ampi ciuffi d'erba. Il culmo è glabro, eretto, alto fino a 140 cm. Le foglie sono ruvide, verdi o azzurro-verdi, lunghe 30-60 cm, larghe fino a 10 mm. Le infiorescenze sono erette. Le spighe, lunghe fino a 8 mm. e formate da 2-4 fiori, sono raccolte in ciuffi portati alla fine delle ramificazioni e sono disposte solo su un lato. Fiorisce in luglio - agosto, talvolta anche prima, in maggio. Cresce bene su suoli a diversa tessitura e di diversa profondità. Non cresce bene invece su suoli salini e dove la falda acquifera è alta. Cresce su quasi ogni tipo di terreno, ma prospera meglio su terreni argillosi. E' in grado di resistere alla scarsità d'acqua e sopporta temperature elevate. Si trova nelle regioni temperate di Europa, Africa, Asia, Australia e America Centrale e Meridionale, in aree disturbate, campi e prati.

7.1.3 Contenuto di HM dei tessuti vegetali

E' stato determinato il contenuto di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigei ed ipogeici delle specie vegetali spontanee cresciute sui suoli PM1-R e PM2-R e di *Dactylis glomerata* cresciuta sul suolo LAM. I risultati sono riportati in tabella 7.1.3 e in figura 7.1.3. Per l'accuratezza e precisione del metodo analitico impiegato si rimanda al paragrafo 6.1.4.

In PM1-R e PM2-R, le concentrazioni di HM dei tessuti vegetali variano con la specie vegetale e risultano spesso significativamente più basse di quelle misurate per *Dactylis* su LAM che, quindi, non possono essere considerate valori di *background* per tutte le specie vegetali studiate. Viceversa, le concentrazioni di HM dei tessuti vegetali di *Dactylis* su PM1-R e PM2-R risultano sempre più elevate, con un incremento significativo per Cu e Zn ($P < 0.05$), rispetto a quelle misurate in *Dactylis* su LAM (figura 7.1.3).

I contenuti di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigeici variano rispettivamente da un minimo di 5.8 ± 0.9 , 1.4 ± 0.9 e 27 ± 0.9 mg kg⁻¹ (*Daucus*) ad un massimo di 12 ± 0.9 (*Dactylis*), 6.8 ± 0.9 (*Dactylis*) e 49 ± 0.9 (*Dactylis* e *Geranium*) mg kg⁻¹ su PM1-R, e da un minimo di 4.2 ± 0.9 , 1.1 ± 0.9 e 13 ± 0.9 mg kg⁻¹ (*Melilotus*) ad un massimo di 10 ± 1.3 (*Asteracea*), 7.6 ± 0.9 (*Geranium*) e 59 ± 0.9 (*Medicago*) mg kg⁻¹ su PM2-R (tabella 7.1.3). Tali valori sono

Tabella 7.1.3 Contenuto totale (mg kg^{-1} ss 70°C) di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigei e ipogei delle piante spontanee cresciute su PM1-R, PM2-R e LAM (*Dactylis*)

suolo	specie	Cu		Pb		Zn	
		<i>t.epigeo</i>	<i>t.ipogeo</i>	<i>t.epigeo</i>	<i>t.ipogeo</i>	<i>t.epigeo</i>	<i>t.ipogeo</i>
LAM	<i>Dactylis</i>	4.4±0.5	18±0.9	3.9±0.9	22±0.9	39±0.9	63±0.9
PM1-R	<i>Daucus</i>	5.8±0.9	9.2±1.3	1.4±0.9	4.7±2.6	27±0.9	41±0.9
	<i>Geranium</i>	9.4±1.8	19±2.2	4.7±0.9	22±0.9	49±0.9	70±4.8
	<i>Dactylis</i>	12±0.9	20±1.0	6.8±0.9	19±2.8	48±0.9	139±3.8
	<i>Sonchus</i>	9.2±0.9	27±3.8	n.d.	22±0.9	37±0.9	77±0.9
	MEDIA	9.1±2.5	19±7.5	4.3±2.7	17±8.5	40±10	82±41
PM2-R	<i>Melilotus</i>	4.2±0.9	9.9±0.9	1.1±0.9	6.3±1.8	13±0.9	24±0.9
	<i>Asteracea</i>	10±1.3	13±3.8	2.1±0.9	3.1±0.9	40±0.9	60±8.3
	<i>Daucus</i>	6.3±0.9	9.4±0.9	3.7±0.9	2.5±0.9	44±0.9	31±2.8
	<i>Geranium</i>	9.2±0.9	10±1.8	7.6±0.9	4.9±0.9	36±0.9	72±1.8
	<i>Dactylis</i>	6.5±0.9	25±1.8	5.2±0.9	25±3.8	54±0.9	131±5.8
	<i>Medicago</i>	9.0±1.8	38±0.9	3.0±0.9	38±2.8	59±0.9	166±6.8
	MEDIA	7.5±2.2	18±11	3.8±2.3	13.4±14	41±16	81±57

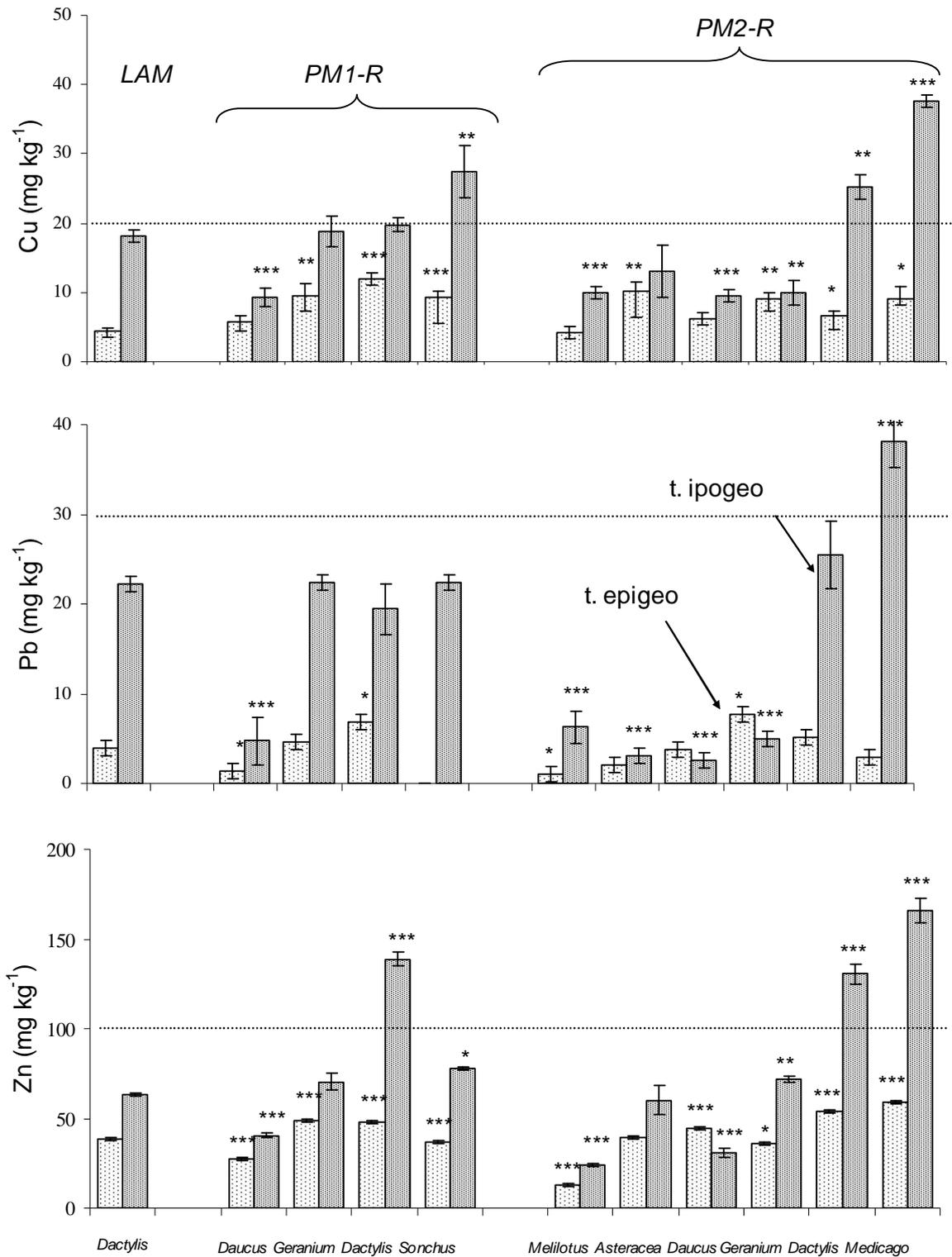


Figura 7.1.3 Contenuto di Cu, Pb e Zn dei tessuti epigei e ipogei delle specie vegetali spontanee cresciute sui suoli PM1-R e PM2-R . Confronto con le concentrazioni di HM di *Dactylis glomerata* cresciuta su LAM (t-test di student: *, **, *** $p < 0.05, 0.01, 0.001$)

compresi negli intervalli di concentrazione di Cu, Pb e Zn normalmente osservati nelle piante e sono inferiori ai limiti di tossicità (tabella 6.1.4b).

I contenuti di Cu, Pb e Zn dei tessuti ipogei variano rispettivamente da un minimo di 9.2 ± 1.3 , 4.7 ± 2.6 e 41 ± 0.9 mg kg⁻¹ (*Daucus*) ad un massimo di 27 ± 3.8 (*Sonchus*), 22 ± 0.9 (*Geranium e Sonchus*) e 139 ± 3.8 (*Dactylis*) mg kg⁻¹ su PM1-R, e da un minimo di 9.4 ± 0.9 , 2.5 ± 0.9 (*Daucus*) e 24 ± 0.9 mg kg⁻¹ (*Melilotus*) ad un massimo di 38 ± 0.9 , 38 ± 2.8 e 166 ± 6.8 mg kg⁻¹ (*Medicago*) su PM2-R (tabella 7.1.3). Per ogni specie vegetale, i valori relativi ai tessuti ipogei risultano più elevati di quelli riscontrati nei tessuti epigei. Pertanto, le specie spontanee studiate presentano un accumulo preferenziale di HM a livello della radice.

Le variazioni inter-specie delle concentrazioni di HM dei tessuti epigei sono più piccole rispetto a quelle osservate nei tessuti ipogei, dove si evidenzia una molto più elevata capacità di accumulo di Cu e Pb in *Dactylis*, *Sonchus* e *Medicago* (Cu e Pb >20 mg kg⁻¹) rispetto a *Daucus*, *Melilotus* e *Asteracea* (Cu <13 e Pb <6 mg kg⁻¹). *Geranium* mostra nella radice un maggior accumulo di Cu e Pb su PM1-R (Cu e Pb: 19 ± 2.2 e 22 ± 0.9 mg kg⁻¹) rispetto a PM2-R (Cu e Pb: 10 ± 1.8 , 4.9 ± 0.9 mg kg⁻¹).

Riguardo allo Zn, i contenuti più elevati si riscontrano nelle radici di *Dactylis* e *Medicago* (Zn >131 mg kg⁻¹). *Daucus*, *Melilotus* e *Asteracea* (Zn <60 mg kg⁻¹) confermano la loro scarsa attitudine all'assorbimento di HM dal suolo (figura 7.1.3).

I contenuti di Cu e Pb e Zn dei tessuti ipogei sono meglio correlati ($r > 0.7$) di quelli dei tessuti epigei ($r: 0.5$).

Il contenuto di metalli dei tessuti epigei e ipogei delle piante, in media più elevati sul suolo PM1-R, non differiscono significativamente sui due substrati (t-test, $P > 0.05$).

7.1.4 Indici di bioaccumulo e di traslocazione

Gli indici *BF*, *TF* ed il rapporto *BF/TF* relativi alla piante spontanee cresciute sui suoli PM1-R, PM2-R e LAM (*Dactylis*) sono riportati nelle figure 7.1.4a-c. Per la definizione degli indici suddetti, si rimanda al paragrafo 6.1.5.

Le piante spontanee presentano sempre un contenuto di Cu, Pb e Zn nei tessuti epigei più basso rispetto al contenuto totale del suolo ($BF \ll 1$).

I valori *BF* sui suoli contaminati sono tendenzialmente uniformi e risultano, in media, leggermente più elevati su PM1-R (Cu, Pb, Zn: 0.14 ± 0.04 , 0.04 ± 0.02 , 0.16 ± 0.04) rispetto a PM2-R (Cu, Pb, Zn: 0.11 ± 0.03 , 0.02 ± 0.01 , 0.08 ± 0.03). Le differenze misurate sono

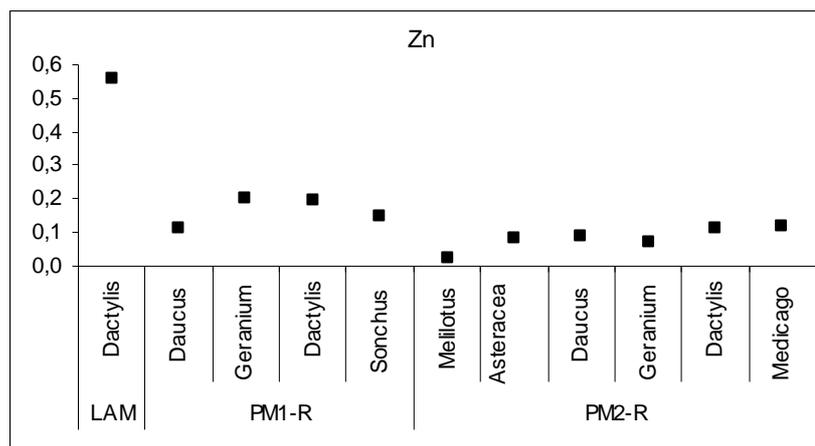
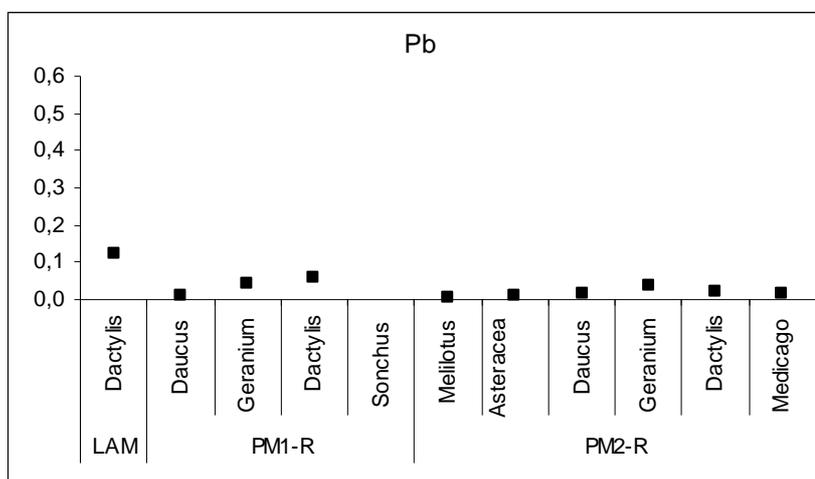
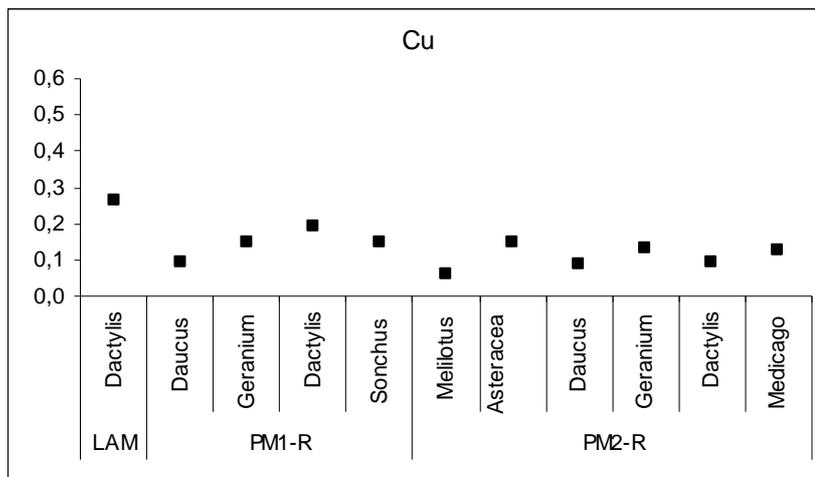


Figura 7.1.4a Indici di bioaccumulo (BF) relativi alle piante spontanee cresciute sui suoli PM1-R, PM2-R e LAM (Dactylis)

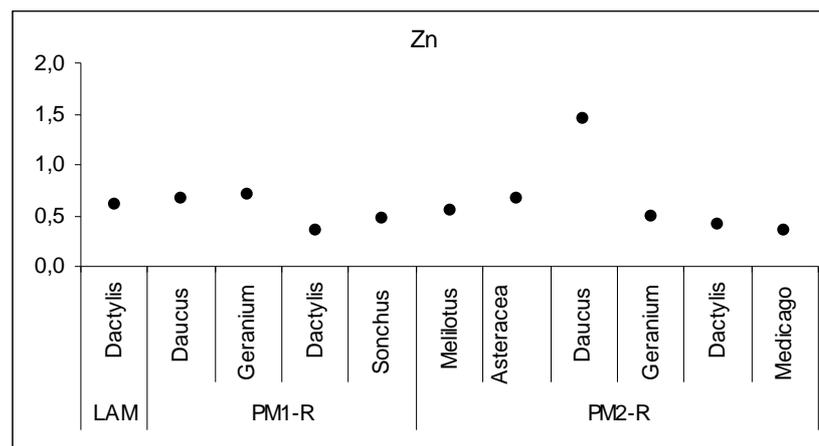
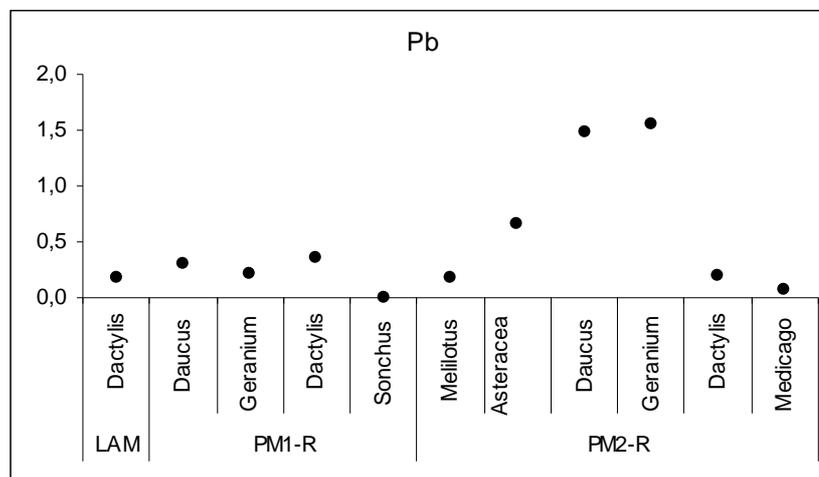
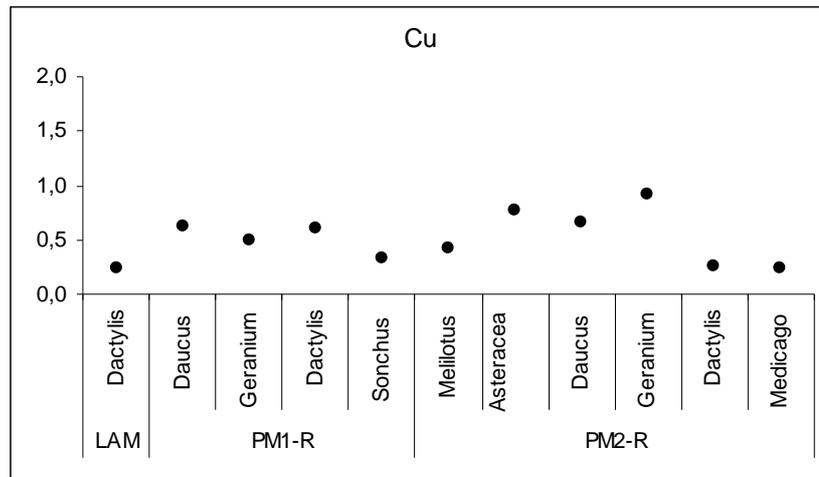


Figura 7.1.4b Indici di traslocazione (TF) relativi alle piante spontanee cresciute sui suoli PM1-R, PM2-R e LAM (Dactylis)

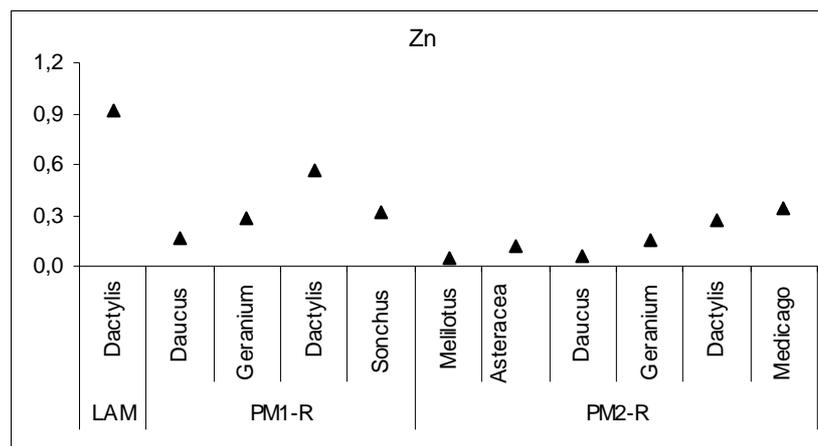
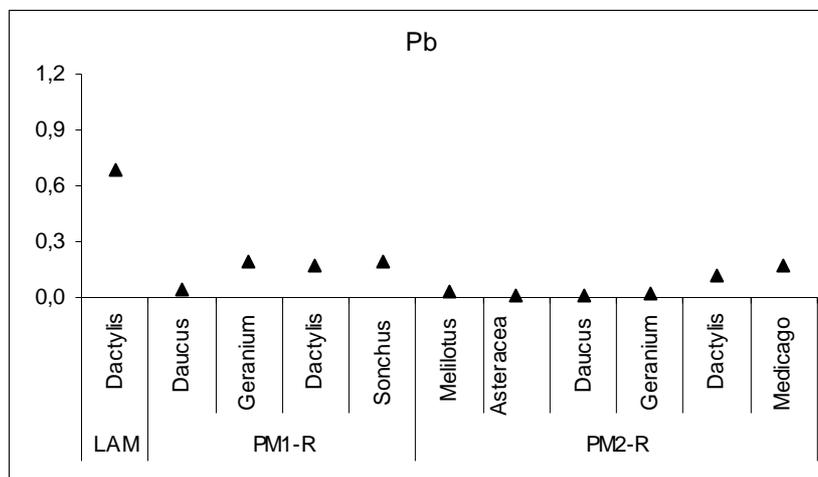
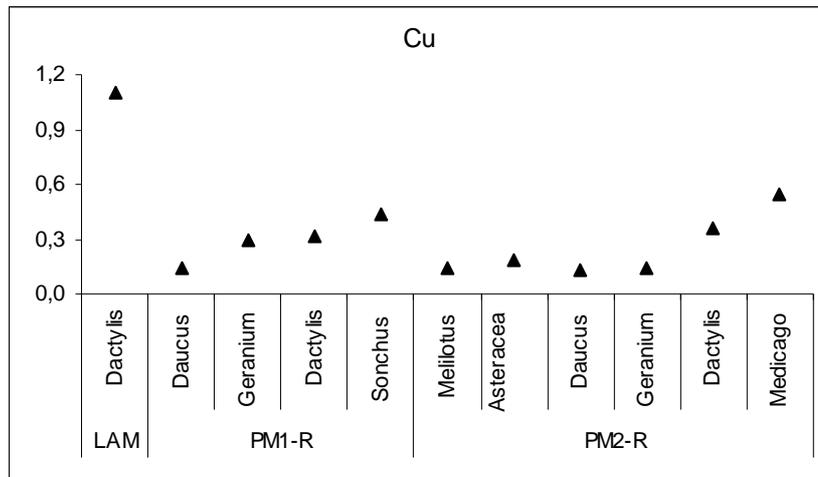


Figura 7.1.4c Indici BF/TF relativi alle piante spontanee cresciute sui suoli PM1-R, PM2-R e LAM (Dactylis)

significative ($P < 0.05$) solo per Zn. In *Dactylis* su LAM si accertano valori *BF* più alti (Cu, Pb e Zn: 0.26, 0.12, 0.56) di quelli accertati per tutte le piante sui suoli contaminati.

I fattori di bioaccumulo *BF* risultano, in effetti, correlati negativamente ai contenuti totali di Cu, Pb e Zn dei suoli ($r: -0.8$).

Su tutti i substrati, le specie vegetali spontanee mostrano un maggiore bioaccumulo di Cu e di Zn, rispetto al Pb (figura 7.1.4a).

Il contenuto di Cu Pb e Zn dei tessuti epigei delle piante spontanee è inferiore a quello dei tessuti ipogei ($TF < 1$). Si registrano valori $TF \geq 1$ solo per *Daucus* (Pb e Zn, 1.5 e 1.4) e *Geranium* (Cu e Pb, 0.9 e 1.6) su PM2-R. Le differenze del contenuto di HM riscontrate tra germoglio e radice sono significative.

Su suoli contaminati i *TF* risultano, in media, più elevati su PM2-R (Cu, Pb e Zn: 0.6 ± 0.2 , 0.7 ± 0.7 e 0.6 ± 0.4) rispetto a PM1-R (Cu, Pb e Zn: 0.5 ± 0.1 , 0.2 ± 0.1 , 0.5 ± 0.2). Su LAM si accertano valori *TF* bassi per Cu e simili per Pb e Zn (Cu, Pb e Zn: 0.2, 0.2, 0.6) rispetto a quelli accertati sui suoli contaminati. Comunque, le differenze tra i suoli non sono significative a causa di valori *TF* poco uniformi tra le specie cresciute sullo stesso suolo.

La traslocazione dei HM è simile in PM2-R (*TF*: 0.6-0.7) e differisce su PM1-R e su LAM, per effetto di una minore traslocazione rispettivamente di Pb e di Cu e Pb (*TF*: 0.2) (figura 7.1.4b).

Sui suoli contaminati i rapporti *BF/TF* evidenziano assenza di bioaccumulo di Cu, Pb e Zn a livello delle radici delle piante spontanee ($BF/TF < 1$). I valori *BF/TF* risultano poco uniformi e sono più elevati, per Cu in *Sonchus* su PM1-R (*BF/TF*: 0.4) e in *Dactylis e Medicago* su PM2-R (*BF/TF*: 0.4 e 0.5), e per Zn, in *Dactylis* su PM1-R (*BF/TF*: 0.6). Essi sono, in media, più alti su PM1-R (Cu, Pb, Zn: 0.3 ± 0.1 , 0.2 ± 0.1 , 0.3 ± 0.2) rispetto a PM2-R (Cu, Pb, Zn: 0.2 ± 0.2 , 0.06 ± 0.1 , 0.2 ± 0.1), ma tali differenze non sono significative a causa di scarsa omogeneità dei valori. Nelle radici di *Dactylis* su LAM, si osserva un più consistente bioaccumulo di HM (Cu, Pb, Zn, *BF/TF*: 1.1, 0.7 e 0.9) rispetto alle piante spontanee cresciute sui suoli contaminati, inclusa la *Dactylis* stessa.

In effetti, i rapporti *BF/TF*, come i valori *BF* risultano correlati negativamente ai contenuti totali di Cu, Pb e Zn dei suoli ($r: -0.8$).

Anche nelle radici, come nei germogli, le piante spontanee mostrano un maggiore bioaccumulo di Cu e Zn, rispetto a Pb.

7.1.5 Proprietà fisiche e chimiche di bulk e rhizo soil

Le proprietà fisiche e chimiche di *bulk e rhizo soil* separati dalle specie spontanee cresciute sui suoli PM1-R e PM2-R e dalla *Dactylis glomerata* cresciuta su LAM sono riportate nelle tabelle 7.1.5a, 7.1.5b. Le caratteristiche fisiche e chimiche dei *bulk soil* di PM1-R e PM2-R risultano influenzate dalla specie vegetale.

Il pH (in H₂O) varia da un minimo di 7.9±0.01 (*Geranium* e *Sonchus*) ad un massimo di 8.3±0.01 (*Daucus*) in PM1-R, e da un minimo di 7.6±0.01 (*Asteracea*) ad un massimo di 8.7±0.02 (*Medicago*) in PM2-R. Esso ha, in media, valori alcalini/subalcalini leggermente più elevati (8.2±0.2) in PM2-R rispetto a PM1-R (8.1±0.2) (IUSS) (tabella 7.1.5a).

La conducibilità, compresa negli intervalli da 0.18±0.03 (*Daucus*) a 0.37±0.03 dS m⁻¹ (*Geranium*) in PM1-R, e da 0.17±0.01 (*Melilotus*) a 0.30±0.01 dS m⁻¹ (*Asteracea*) in PM2-R, ha valori medi di 0.28±0.1 (PM1-R) e di 0.22±0.01 dS m⁻¹ (PM2-R), bassi ma compresi nel campo dei valori (0.2-2.0 dS m⁻¹) generalmente riscontrabile in suoli non salini. Essa sembra indicare una concentrazione totale di sali disciolti apparentemente non sfavorevole alla crescita vegetale (tabella 7.1.5a).

Il contenuto totale di CaCO₃ varia con la specie vegetale da fortemente calcareo (25-50 g kg⁻¹) a calcareo (CaCO₃ >50 g kg⁻¹). Solo nel *bulk soil* dell'*Asteracea* risulta leggermente inferiore (21±2.6 g kg⁻¹). Il contenuto totale di carbonati è in media più elevato in PM2-R (83±54 g kg⁻¹) rispetto PM1-R (45±13 g kg⁻¹), a causa di quantità di CaCO₃ particolarmente alte nei *bulk soil* di *Melilotus* e *Medicago* (177±1.4 e 153±1.2 g kg⁻¹) (tabella 7.1.5a).

La dotazione in carbonio organico dei *bulk soil* è buona (in media, 38±0.9 g kg⁻¹ in PM1-R e 24±11 g kg⁻¹ in PM2-R), eccetto per i *bulk soil* di *Melilotus* e *Medicago* in PM2-R (6.7±0.1 e 14±0.3 g kg⁻¹). Il CO rappresenta circa il 46 e 22% del C totale in PM1-R e PM2-R, rispettivamente. Le quantità di carbonio (in media, 83±7 in PM1-R e 105±13 g kg⁻¹ in PM2-R) e azoto totale (in media, 2.0±0.8 in PM1-R e 1.8±0.3 g kg⁻¹ in PM2-R), risultano elevate (C e N totale nei suoli agrari: 8-20 e 0.8- 2 g kg⁻¹) (tabella 7.1.5a). Tuttavia, in entrambi i *bulk soil*, il rapporto C/N, estremamente variabile con la specie vegetale, è sempre sbilanciato nei confronti del carbonio (C/N medio, 49±22 in PM1-R e 64±13 in PM2-R), indicando la presenza di peculiari costituenti organici, non umici, poveri di N e, quindi, poco suscettibili alla decomposizione microbica, e la possibilità deficienze nutrizionali per le piante a seguito della competizione per le forme di azoto disponibili tra esse e i microrganismi

Tabella 7.1.5a Proprietà fisiche e chimiche di bulk soil di piante spontanee cresciute sui suoli PM1-R, PM2-R e LAM

Suolo		pH	CE	CaCO ₃	CO	C tot	N tot	C/N	CSC	Ca	Mg	K	Na
		H ₂ O	dS m ⁻¹	-----g kg ⁻¹ -----				-----cmol ₍₊₎ kg ⁻¹ -----					
LAM	<i>Dactylis</i>	7.9 ±0.02	0.13 ±0.00	1.5 ±2.2	5.0 ±0.2	14 ±1.5	2.3 ±0.1	6.0	7.0	3.0	0.2	1.6	0.4
PM1-R	<i>Daucus</i>	8.3 ±0.01	0.18 ±0.03	52 ±1.2	37 ±1.9	89 ±8.2	1.2 ±0.2	74	15	6.4	0.5	1.8	0.9
	<i>Geranium</i>	7.9 ±0.01	0.37 ±0.03	58 ±0.5	- -	75 ±2.6	3.1 ±0.3	24	22	7.0	1.0	8.7	5.4
	<i>Dactylis</i>	8.2 ±0.01	0.34 ±0.05	40 ±3.8	- -	89 ±7.9	1.5 ±0.1	60	17	8.9	0.5	3.4	1.1
	<i>Sonchus</i>	7.9 ±0.01	0.23 ±0.00	30 ±0.04	39 ±2.1	79 ±3.5	2.1 ±0.3	38	14	7.3	0.3	2.3	0.7
	MEDIA	8.1 ±0.2	0.28 ±0.1	45 ±13	38 ±0.9	83 ±7.1	2.0 ±0.8	49±22	17±3.7	7.4±1.1	0.5±0.3	4.0±3.2	2.0±2.3
PM2-R	<i>Melilotus</i>	8.7 ±0.02	0.17 ±0.00	177 ±1.4	6.7 ±0.1	82 ±6.3	1.2 ±0.1	68	7.8	4.5	1.0	1.3	0.6
	<i>Asteracea</i>	7.6 ±0.01	0.30 ±0.01	21 ±2.6	35 ±1.1	118 ±9.7	3.0 ±0.1	39	22	10.2	0.8	3.0	0.9
	<i>Daucus</i>	8.3 ±0.00	0.20 ±0.00	34 ±0.01	35 ±3.9	123 ±5.0	1.8 ±0.6	70	7.0	3.5	0.4	2.6	1.1
	<i>Geranium</i>	8.4 ±0.01	0.19 ±0.00	68 ±0.1	20 ±0.1	105 ±10	1.4 ±0.1	77	9.9	7.2	0.4	1.7	0.7
	<i>Dactylis</i>	8.0 ±0.02	0.21 ±0.00	47 ±0.2	35 ±0.3	108 ±25	1.3 ±0.1	81	5.8	7.0	0.3	1.3	0.6
	<i>Medicago</i>	8.4 ±0.00	0.21 ±0.00	153 ±1.2	14 ±0.3	93 ±18	1.8 ±0.1	50	8.3	6.4	0.5	1.4	0.5
	MEDIA	8.2 ±0.2	0.22 ±0.1	83 ±54	24 ±11	105 ±15	1.8 ±0.7	64±16	10.1±1.7	6.5±2.3	0.5±0.3	1.9±0.7	0.7±0.2

Tabella 7.1.5b Proprietà fisiche e chimiche di rhizo soil di piante spontanee cresciute sui suoli PM1-R, PM2-R e LAM

Suolo		pH	CE	CaCO ₃	CO	C tot	N tot	C/N	CSC	Ca	Mg	K	Na
		H ₂ O	dS m ⁻¹	-----g kg ⁻¹ -----				----- cmol(+) kg ⁻¹ -----					
LAM	<i>Dactylis</i>	7.6 ±0.01	0.18 ±0.00	2.9 ±1.33	9.6 ±0.8	15 ±0.4	2.8 ±0.10	5.2	12	4.9	0.6	2.1	0.6
PM1-R	<i>Geranium</i>	-	-	-	-	-	-	-	24	14	1.1	7.3	3.6
	<i>Dactylis</i>	7.9 ±0.01	0.27 ±0.01	-	-	-	-	-	19	10	0.5	3.2	1.1
	<i>Sonchus</i>	7.7 ±0.01	0.27 ±0.01	25 ±0.08	-	93 ±3.8	2.5 ±0.3	37	17	9.0	0.4	2.6	0.7
	MEDIA	7.8 ±0.1	0.27 ±0.0	25 ±0.08	-	93 ±3.8	2.5 ±0.3	37	20±1.6	11±2.8	0.7±0.4	4.4±2.6	18±1.6
PM2-R	<i>Geranium</i>	-	-	-	-	-	-	-	9.2	8.6	0.8	2.1	0.8
	<i>Dactylis</i>	7.8 ±0.01	0.25 ±0.00	30 ±1.43	35 ±6.0	113 ±9.2	2.0 ±0.5	57	7.9	8.0	0.5	1.3	0.6
	<i>Medicago</i>	8.1 ±0.01	0.26 ±0.01	167 ±0.22	18 ±0.5	95 ±12	2.2 ±0.2	44	11	11	0.5	1.9	0.6
	MEDIA	8.0 ±0.3	0.26 ±0.01	98 ±97	27 ±12	104 ±13	2.1 ±0.1	50±9	9.4±1.6	9±1.5	0.6±0.2	1.8±0.4	0.6±0.1

(Remon et al., 2005). La presenza di N biodisponibile in quantità limitate è caratteristica dei suoli di siti industriali dismessi (Álvarez et al., 2003). Tale nutriente è spesso limitante nei suoli.

La capacità di scambio cationico è tendenzialmente uniforme sia in PM1-R sia in PM2-R, e risulta in media di 17 ± 3.7 in PM1-R e 10 ± 1.7 $\text{cmol}_{(+)} \text{kg}^{-1}$ in PM2-R. Valori più elevati rispetto alla media si riscontrano nei *bulk soil* di *Geranium* in PM1-R e di *Asteracea* in PM2-R (in entrambe, $22 \text{ cmol}_{(+)} \text{kg}^{-1}$). I valori di CSC misurati sembrano indicare una buona capacità di ritenzione delle forme cationiche da parte dei suoli tali da impedire la perdita di elementi nutritivi per lisciviazione (tabella 7.1.5a). Essa può essere spiegata dalla buona dotazione di carbonio organico dei suoli, e dalla elevata carica negativa di questi, dovuta agli alti valori di pH dei suoli (Álvarez et al., 2003).

In PM1-R e PM2-R, le basi scambiabili rappresentano, in media rispettivamente: Mg: 3 e 6 %, K: 22 e 21 %, Na: 10 e 8 %, Ca: 44 e 71 % della CSC. Per un contenuto elevato di K e basso di Mg, il rapporto Mg/K risulta fortemente sbilanciato a favore del K (tabella 7.1.5a). Differenze significative ($P < 0.05$) tra i *bulk soil* delle piante spontanee cresciute su PM1-R e PM2-R sono riscontrabili solo per i valori di CE, CO ($> \text{PM1-R}$) e di C totale ($> \text{PM2-R}$). Esse tuttavia non risultano particolarmente pronunciate.

Rispetto al *bulk soil* di *Dactylis glomerata* cresciuta su suolo LAM, i *bulk soil* delle piante spontanee cresciute su PM1-R e PM2-R risultano caratterizzati da valori più elevati di pH, CE, CaCO_3 , CO, C totale, rapporto C/N, CSC e basi scambiabili, cioè di tutti i parametri fisici e chimici, eccetto N totale (tabella 7.1.5a).

Rispetto ai suoli PM1 e PM2 non rivegetati, utilizzati negli esperimenti di crescita in vaso (tabella 4.1.1), i *bulk soil* dei suoli rivegetati presentano valori simili di pH, CaCO_3 , molto più bassi di CE, e molto più elevati di CO (PM1-R) N totale e CSC. I contenuti di Mg e K risultano sempre sbilanciati, ma è minore l'eccesso Na scambiabile.

In PM1-R, PM2-R e LAM, i valori di *bulk e rhizo soil* risultano significativamente diversi per pH, CSC, N totale e Mg di scambio ($P < 0.001$).

Le variazioni dei parametri fisici e chimici dei *bulk soil*, riscontrate nei *rhizo soil*, sono prodotte dalla crescita delle specie vegetali spontanee (tabella 7.1.5b). Esse sono rappresentate da diminuzioni significative del pH, pari a 0.3-0.2 unità, incrementi significativi di CE, CSC, K, Na e Mg scambiabili, CO, C e N totale (figura 7.1.5) e riduzione del rapporto C/N.

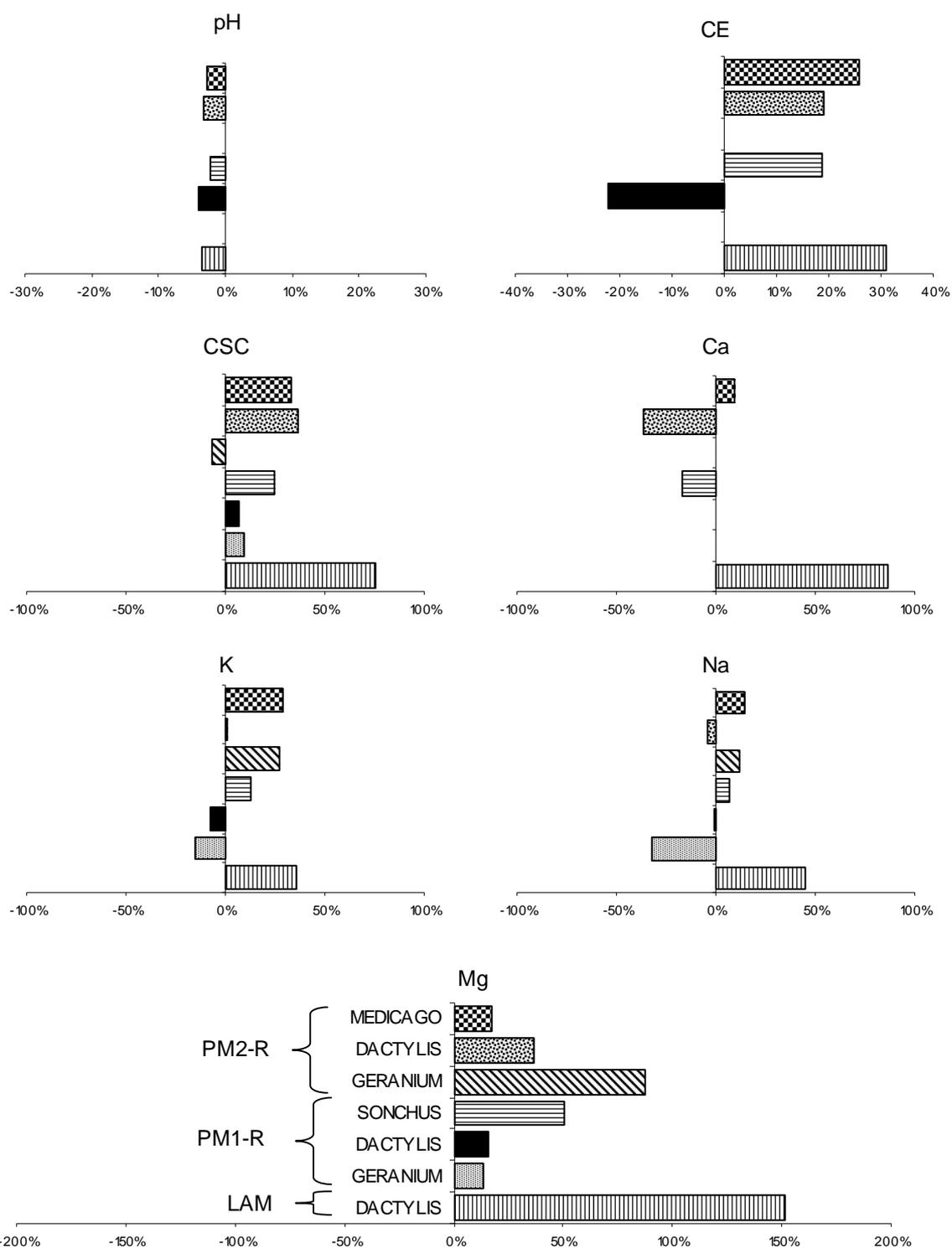


Figura 7.1.5 *Variatione dei parametri fisici e chimici dei suoli PM1-R, PM2-R e LAM, prodotta dalla crescita delle specie vegetali spontanee. Sono riportati i valori percentuali dati da: (bulk soil - rhizo soil)/ bulk soil (continua)*

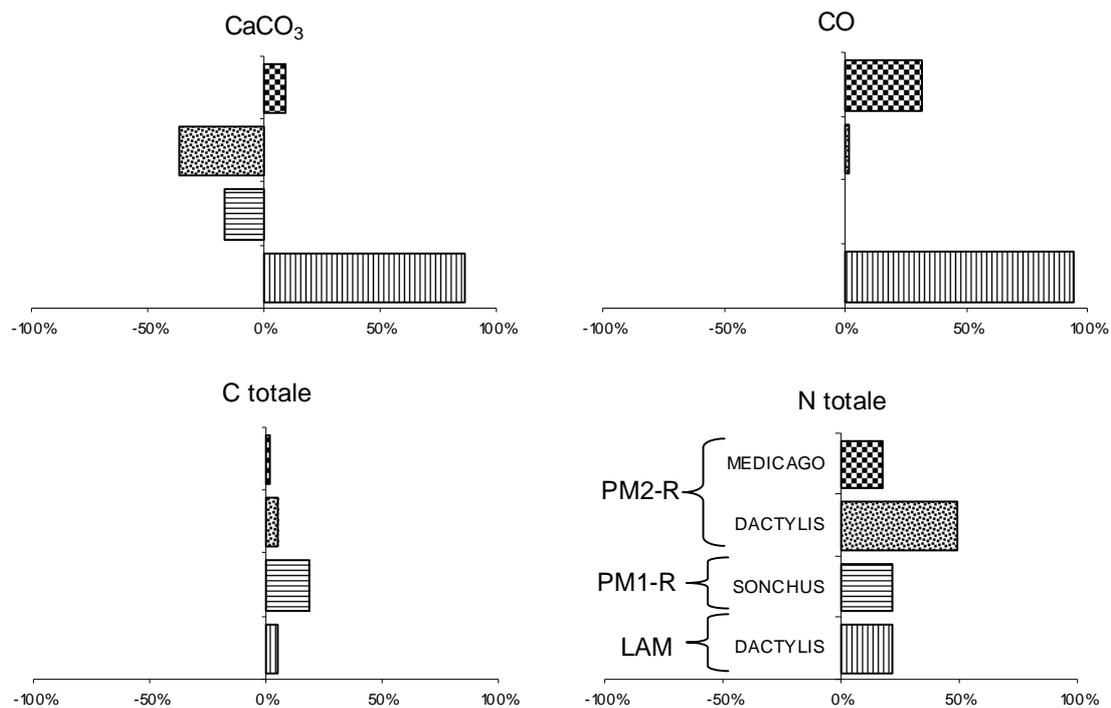


Figura 7.1.5 Variazione dei parametri fisici e chimici dei suoli PM1-R, PM2-R e LAM, prodotta dalla crescita delle specie vegetali spontanee. Sono riportati i valori percentuali dati da: (bulk soil - rhizo soil)/bulk soil

Gli effetti prodotti sui parametri fisici e chimici del suolo dipendono sia dalla specie vegetale, sia dal suolo considerati. In particolare, le variazioni indotte *Dactylis* su LAM risultano spesso più accentuate di quelle indotte da *Dactylis* e dalle altre piante spontanee su PM1-R e PM2-R (figura 7.1.5).

I parametri fisici e chimici del suolo appaiono fortemente interdipendenti: Nei *bulk soil* sono state evidenziate le correlazioni ($r > 0.6$): pH-CaCO₃; CE con CO, CSC, Ca, K, Na e Σ basi scambiabili; CO con C totale, K, Na e Σ basi scambiabili; N totale con CSC, K, Na e Σ basi scambiabili. Nei *rhizo soil*, sono state riscontrate le correlazioni ($r > 0.6$): pH con CE, K e Σ basi scambiabili; CE con CO, C totale, K e Σ basi scambiabili; CaCO₃ con K e Σ basi scambiabili; CO con C totale; C totale con K e Σ basi scambiabili; N totale con CSC, Ca, Mg.

Inoltre, per ogni parametro, sono sempre riscontrate correlazioni tra i valori in *bulk e rhizo soil*.

7.1.6 Disponibilità di HM in *bulk e rhizo soil* accertata mediante EDTA

Le quantità di Cu, Pb, Zn estraibili in 0.05 M EDTA a pH 7 (HM_{EDTA}) da *bulk e rhizo soil* delle specie spontanee cresciute sui suoli contaminati PM1-R e PM2-R e di *Dactylis glomerata* cresciuta su LAM sono riportate in tabella 7.1.6a. Per l'accuratezza e precisione del metodo analitico impiegato si rimanda al paragrafo 6.2.3.

Il suolo PM1-R è caratterizzato da quantità medie di Cu_{EDTA}, Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} rispettivamente pari a: 8.5±0.9, 27±9, 31±7 mg kg⁻¹ (*bulk soil*) e 9.6±1.0, 24±2, 34±3 mg kg⁻¹ (*rhizo soil*). Il suolo PM2-R è caratterizzato da quantità medie di Cu_{EDTA}, Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} rispettivamente pari a, 6.9±2, 22±8, 27±12 mg kg⁻¹ (*bulk soil*) e 7.3±1, 20±7, 27±8 mg kg⁻¹ (*rhizo soil*). Le quantità medie (mg kg⁻¹) di HM_{EDTA} decrescono nell'ordine: Zn > Pb >> Cu, e nell'ordine: PM1-R > PM2-R. Nei *rhizo soil*, le quantità di Cu_{EDTA} e Zn_{EDTA} sono più elevate, e quelle di Pb_{EDTA} più basse, rispetto ai *bulk soil* (tabella 7.1.6a).

Nel suolo LAM (*Dactylis*), le quantità di Cu_{EDTA}, Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} in *bulk soil* (1.8±0.03, 11±2, 11±0.4 mg kg⁻¹) e in *rhizo soil* (2.6±0.1, 13±5.5, 13±0.9 mg kg⁻¹) sono inferiori a quelle riscontrate in PM1-R e PM2-R. Esse decrescono nell'ordine: Zn = Pb >> Cu. Nei *rhizo soil* risultano sempre più elevate rispetto ai *bulk soil* (tabella 7.1.6a).

In PM1-R, PM2-R e LAM, i contenuti di Cu_{EDTA}, Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} dei *bulk soil*, come i contenuti totali, sono correlati ($r > 0.7$). Nei *rhizo soil*, correlazioni sono riscontrate per Zn_{EDTA} - Cu_{EDTA} ($r: 0.6$) e Zn_{EDTA} - Pb_{EDTA} ($r: 0.9$). Per ogni metallo, il contenuto HM_{EDTA}

di *bulk* e *rhizo soil* è correlato ($r > 0.8$). Il contenuto di Cu e Zn dei tessuti epigei delle piante spontanee è correlato ($r = 0.5-0.6$) al contenuto di Cu_{EDTA} e Zn_{EDTA} di *bulk* e *rhizo soil*. Il contenuto di Pb e Zn dei tessuti ipogei è correlato ($r = 0.5-0.6$) alle quantità di Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} di *bulk* e *rhizo soil*.

Sia in PM1-R sia in PM2-R, le differenze di HM_{EDTA} osservate tra *bulk* e *rhizo soil* risultano non significative ($P > 0.05$) ad eccezione di quelle relative a Cu_{EDTA} in PM1-R ($P < 0.05$) perché le variazioni *bulk-rhizo* di HM_{EDTA} sono funzione della specie vegetale considerata e spesso risultano contrapposte.

Considerando ogni singola specie, invece, le variazioni *bulk-rhizo* di HM_{EDTA} risultano consistenti e significative in tutti i suoli.

Gli incrementi delle quantità di Cu_{EDTA} e Zn_{EDTA} nel *rhizo soil* risultano sempre maggiori del ~20 e 13 % rispetto alle rispettive quantità estratte dal *bulk soil*, e sono particolarmente elevati, per il Cu, in *Dactylis* su LAM (45%) e, per lo Zn, in *Geranium* su PM2-R (25%) (figura 7.1.6). Si osservano, inoltre, decrementi consistenti di Cu_{EDTA} e Zn_{EDTA} da *bulk* a *rhizo soil*, in *Medicago* (Cu: -27% e Zn: -13%) e *Sonchus* (Zn: -20%) (figura 7.1.6).

Le quantità di Pb si riducono da *bulk* a *rhizo soil* di circa il 5%, e in misura maggiore per *Geranium* su PM1-R (-46%). Per *Dactylis* su LAM, l'incremento di Pb nel *rhizo* rispetto al *bulk soil* è del 17% (figura 7.1.6).

Le quantità di HM_{EDTA} rappresentano in media, più elevate percentuali del totale in LAM (Cu_{EDTA} , Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} : 11, 35 e 16 % in *bulk soil*, e il 16, 41 e 19 % in *rhizo soil*) e PM1-R (Cu_{EDTA} , Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} : 13, 24 e 13 % in *bulk soil* e 15, 21 e 14 % in *rhizo soil*) rispetto a PM2-R (Cu_{EDTA} , Pb_{EDTA} e Zn_{EDTA} : 10, 10 e 5 % in *bulk soil* e 11, 9 e 6 % in *rhizo soil*) (tabella 7.1.6b).

La percentuale di Cu_{EDTA} è compresa fra il 10 ed il 20%, ad eccezione del campione relativo a *Melilotus* su PM2-R (3% del totale); quella di Pb_{EDTA} è più variabile con valori compresi tra 6 (*Melilotus* su PM2-R) e 41 % (*Dactylis* su LAM). La percentuale di Zn_{EDTA} risulta sempre inferiore al 20 %, e in PM2-R <10% dello Zn totale. (tabella 7.1.6b).

Le quantità assolute ($mg\ kg^{-1}$) di HM_{EDTA} di PM1-R e PM2-R sono molto ridotte rispetto a quelle dei suoli PM1 e PM2 non rivegetati. Le quantità percentuali di HM_{EDTA} risultano, in PM1-R, più basse per Cu, ma più alte per Pb e Zn, rispetto a PM1, e in PM2-R, sempre più basse rispetto a PM2. (paragrafo 6.2.3). Pertanto, la disponibilità e mobilità di Cu in PM1-R e di Cu, Pb e Zn in PM2-R si è ridotta nel tempo, più di quanto si sia ridotto il contenuto totale di HM. La disponibilità e mobilità di Pb e Zn in PM1-R, invece, si è ridotta in misura minore rispetto al contenuto totale dei HM.

Tabella 7.1.6a Contenuto (mg kg^{-1}) di Cu, Pb e Zn estratto in EDTA (pH 7) dai bulk e rhizo soil delle piante spontanee cresciute su PM1-R, PM2-R e LAM (*Dactylis*)

suolo	specie	Cu		Pb		Zn	
		bulk	rhizo	bulk	rhizo	bulk	rhizo
LAM	<i>Dactylis</i>	1.8±0.03	2.6±0.1	11±2	13±5	11±0.4	13±0.9
PM1-R	<i>Daucus</i>	9.3±0.1	n.d.	20±0.9	n.d.	21±1.7	n.d.
	<i>Geranium</i>	8.2±0.2	9.2±0.1	40±0.2	22±1.1	32±1.2	37±8.1
	<i>Dactylis</i>	7.3±0.04	8.9±0.1	24±0.5	23±0.3	32±0.5	34±0.2
	<i>Sonchus</i>	9.1±0.1	11±0.5	26±1.2	26±2.3	38±0.5	31±10
	MEDIA	8.5±0.9	9.6±1.0	27±9	24±2	31±7	34±3
PM2-R	<i>Melilotus</i>	1.8±0.04	n.d.	13±0.4	n.d.	10±0.5	n.d.
	<i>Asteracea</i>	5.9±0.01	7.1±0.3	18±3.1	16±0.5	22±0.2	25±1.5
	<i>Daucus</i>	7.1±0.4	n.d.	21±2.5	n.d.	30±2.7	n.d.
	<i>Geranium</i>	5.5±0.2	6.4±0.2	15±0.3	14±1.5	17±0.6	21±4.1
	<i>Dactylis</i>	7.6±0.3	9.5±0.5	20±0.5	20±0.5	20±1.1	24±1.6
	<i>Medicago</i>	8.5±0.3	6.2±0.2	34±1.9	31±2.3	44±0.8	39±0.1
	MEDIA	6.9±2	7.3±1	22±8	20±7	27±12	27±8

Tabella 7.1.6b Contenuto (% totale) Cu, Pb e Zn estratto in EDTA (pH 7) dai bulk e rhizo soil delle piante spontanee cresciute su PM1-R, PM2-R e LAM (*Dactylis*)

suolo	specie	Cu		Pb		Zn	
		bulk	rhizo	bulk	rhizo	bulk	rhizo
LAM	<i>Dactylis</i>	11%	16%	35%	41%	16%	19%
PM1-R	<i>Daucus</i>	15%	n.d.	18%	n.d.	9%	n.d.
	<i>Geranium</i>	13%	15%	35%	19%	13%	15%
	<i>Dactylis</i>	12%	14%	21%	20%	13%	14%
	<i>Sonchus</i>	14%	17%	22%	23%	16%	13%
	MEDIA	13%	15%	24%	21%	13%	14%
PM2-R	<i>Melilotus</i>	3%	n.d.	6%	n.d.	2%	n.d.
	<i>Asteracea</i>	8%	10%	8%	7%	5%	5%
	<i>Daucus</i>	10%	n.d.	10%	n.d.	6%	n.d.
	<i>Geranium</i>	8%	9%	7%	7%	3%	4%
	<i>Dactylis</i>	11%	14%	9%	9%	4%	5%
	<i>Medicago</i>	12%	9%	16%	14%	9%	8%
	MEDIA	10%	11%	10%	9%	5%	6%

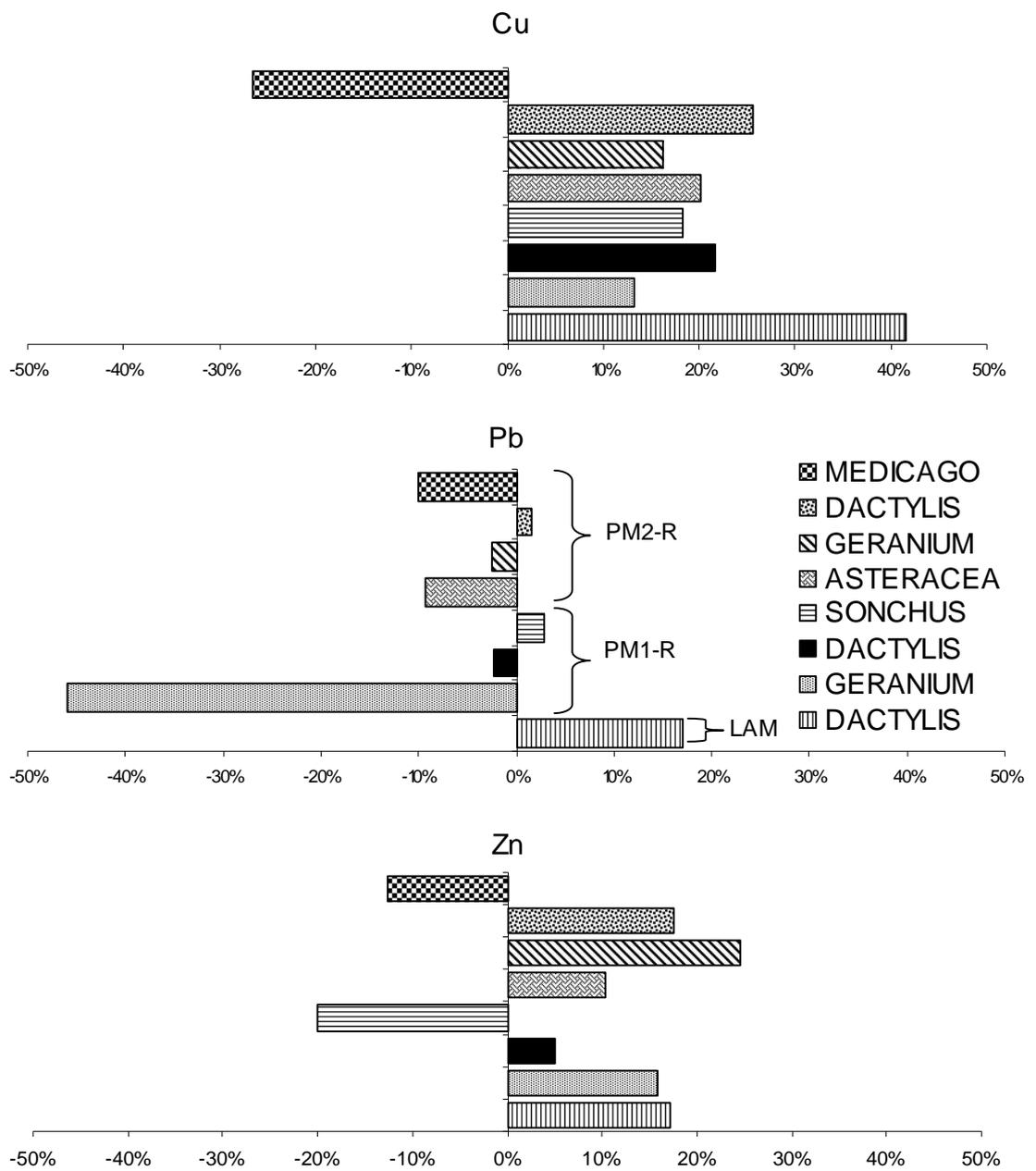


Figura 7.1.6 Variazione delle quantità di HM_{EDTA} nei suoli PM1-R, PM2-R e LAM, prodotta dalla crescita delle specie vegetali spontanee. Sono riportati i valori percentuali dati da: $(HM_{EDTA} \text{ bulk soil} - HM_{EDTA} \text{ rhizo soil}) / HM_{EDTA} \text{ bulk soil}$

7.2 *Campionamento di suoli e specie vegetali spontanee condotto nel 2006*

7.2.1 *Le specie vegetali spontanee*

L'indagine fitoecologica condotta sui materiali grossolani "puliti" (PM-BG) e sui fanghi ancora contaminati (PM-BF), raccolti in trincee sotto forma di cumuli, nonché sui materiali utilizzati nella ricostruzione dei profili pedologici (PM-BR), ha portato alla identificazione di 8 taxa appartenenti a 7 famiglie (Tabella 7.2.1). Le specie raccolte, sono risultate costituite perlopiù da piante erbacee annuali/biennali (terofite). Rappresentanti del genere *Artemisia*, *Melilotus* e *Medicago* sono state rinvenute nell'area "Parco Minerali" sia nel 2004 sia nel 2006.

I materiali PM-BG e PM-BF sono risultati interamente colonizzati da una sola specie vegetale spontanea, rappresentata da *Melilotus albus* per PM-BG, e da *Artemisia annua* per PM-BF. I materiali PM-BR, invece, sono risultanti colonizzati da una associazione di più specie vegetali. Segue una breve descrizione delle specie identificate (figura 7.2.1):

PHYTOLACCA AMERICANA, nomi volgari: uva turca, cremesina, amaranto, uva da colorare, vite di Spagna. Il nome deriva dal greco phyton: pianta e da lacca, cioè "lacca vegetale" per il colore del frutto maturo che, se spremuto, secerne un succo viola intenso che macchia fortemente. E' una vigorosa pianta erbacea con radice verticale ingrossata e fusto, eretto, glabro, leggermente carnoso, spesso arrossato e più volte biforcuto, alto fino a 3 m. Le foglie glabre, alterne, sono ovali-lanceolate. La pagina superiore è di un verde brillante, mentre quella inferiore è verde opaca con nervature prominenti spesso colorate di rosso. I fiori crescono in densi racemi lunghi fino a 15 cm. I frutti col diametro di 10 mm, sono simili a bacche di colore rosso porpora scuro tendente al nero ed hanno la forma di una zucca marcata da 10 coste corrispondenti ai 10 semi contenuti nel suo interno. Sono riuniti in grappoli persistenti e diventano penduli a maturazione per un graduale incurvamento dei peduncoli verso il basso. L'amaranto è originario del Nord America, in Italia è comune in tutto il territorio, si sviluppa su terreni incolti, campi, giardini, margini di strade, da 0 a 400 m. Contiene phytolaccatossina e saponine steroidiche, sali, amidi, gomme, sostanze coloranti, un alcaloide tossico e istamine ed ha proprietà emetiche, narcotiche e coloranti. Le foglie e le bacche sono velenose. I frutti vengono usati dall'industria per la preparazione di coloranti alimentari, dopo la eliminazione delle sostanze nocive.

Tabella 7.2.1 Classificazione tassonomica delle specie vegetali spontanee campionate sui suoli PM-BG, PM-BF e PM-BR nel 2006

Famiglia	Specie	Forma biologica	Suolo
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca americana</i>	Terofita	PM-BR
Asteraceae	<i>Artemisia annua</i>	Terofita	PM-BR, PM-BF
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium album</i>	Terofita	PM-BR, PM-BG
Euphorbiaceae	<i>Euforbia</i>		PM-BR
Poaceae	(non clas.)		PM-BR
Fabaceae	<i>Medicago sp.</i>		PM-BR
Fabaceae	<i>Melilotus albus</i>	Terofita	PM-BR
Resedaceae	<i>Reseda alba</i>	Terofita	PM-BR



4



Figura 7.2.1 Piante spontanee campionate nell'area ex ILVA nel 2006 – 1: *Phytolacca americana*, bacche; 2: *Artemisia annua*; 3: *Melilotus albus*, legumi; 4: *Reseda alba*; 5: *Chenopodium albus*, infiorescenza e pianta

ARTEMISIA ANNUA, assenzio annuale. Oltre all'odore, colpisce la forma delle foglie, 2-3 pennatosette, con le ultime lacinie disposte a pettine. Col tempo il fusto diventa rossiccio. Vive da 0 a 500 m di altitudine. Ha distribuzione euro asiatica; in Italia è più frequente al Nord. I capolini sono piccolissimi (2 mm. di diametro), penduli, con squame paglierine, verdi sulla nervatura.

CHENOPODIUM ALBUM, detto farinello selvatico, per la patina farinosa che ricopre l'infiorescenza. Pianta erbacea che può superare il metro di altezza: ha la radice a fittone, fusto eretto ramificato a piramide conica. Le foglie sono alterne romboidali leggermente dentate lunghe 3 - 6 cm. di color verde pallido tendente al biancastro. I fiori bianchi verdastri sono molto piccoli e insignificanti radunati in infiorescenze globose. Vive da 0 a 1500 m di altitudine. Ha distribuzione cosmopolita; infestante nei luoghi aridi e nelle discariche in Italia è più frequente al Nord. Pianta nitrofila, frequente. Si rinviene nei campi e sulle macerie ed è una delle prime piante che spuntano sui terreni che sono stati rimossi per fare delle costruzioni edili. Ha proprietà farmaceutiche: Contiene ferro e vitamina B1; non è usata in erboristeria. Era utilizzata in cucina dall'uomo neolitico di tutta Europa e dagli Indiani nordamericani. Più o meno l'intera pianta è buona e gustosa, ma essi ne mangiavano i semi maturi, macinandoli nel cibo.

RESEDA ALBA, nomi volgari: reseda bianca, erba ruchetta. deriva dal latino "resedare" = "calamare", a indicare le proprietà medicinali della pianta. E' una pianta annua o perenne, di aspetto erbaceo cespuglioso, fusti robusti, eretti, alta sino a 80 cm. Le foglie pennatosette, di colore grigio-verde. I fiori bianchi formano lunghi grappoli all'apice dei fusti. I frutti sono capsule ovoidi ristrette all'apice. La pianta è di origine mediterranea; in Italia è comune nelle regioni del centro, del sud e delle isole, assente in quelle settentrionali. Vegeta negli incolti, muri, rocce, predilige i luoghi sabbiosi e il clima secco. Fiorisce da aprile a ottobre, anche se in condizioni particolarmente favorevoli la si può trovare da gennaio a dicembre, sino a 1.000 m. Ha proprietà diuretiche, calmanti, antireumatiche e anticatarrali. Discreta mellifera.

7.2.2 *Proprietà fisiche e chimiche dei suoli*

Le proprietà fisiche e chimiche dei materiali PM-BG, PM-BF e PM-BR separati dalle specie spontanee sono riportate nella tabella 7.2.2.

I materiali PM-BG e PM-BF campionati risultano costituiti, PM-BG da sabbia grossa e dalla frazione di particelle a diametro maggiore della sabbia fine (diametro 0.075-2 mm), e PM-GF dalla frazione di particelle a diametro minore della sabbia fine e dalla frazione argillo-limosa (diametro delle particelle <0.075 mm). Il pH (in H₂O) ha valori elevati, alcalini (8.8±0.02) per PM-BG e peralcalini (9.1±0.04) per PM-BF (IUSS).

Il contenuto dei carbonati totali indica che sia PM-BG (CaCO₃, 56±0.4 g kg⁻¹) sia PM-BF (99±0.1 g kg⁻¹) possono essere considerati suoli calcarei (CaCO₃ > 50 g kg⁻¹).

Tenuto conto dell'assenza di argilla, PM-BG presenta una buona dotazione in carbonio organico (15±1.3 g kg⁻¹) e un'elevata capacità di scambio cationico (12.6 cmol₍₊₎ kg⁻¹), superiori anche rispetto a quelle riscontrate nel materiale più fine PM-BF (CO: 12±1.6 g kg⁻¹; CSC: 9.5 cmol₍₊₎ kg⁻¹). Le quantità di C (27±1.2 g kg⁻¹ in PM-BG e 21±0.3 g kg⁻¹ in PM-BF) e di N totale (0.6±0.01 g kg⁻¹ in PM-BG e 0.8±0.01 g kg⁻¹ in PM-BF) sono basse in entrambi i materiali. Il rapporto C/N risulta sbilanciato nei confronti del carbonio, in particolare in PM-BG (C/N, 45 e 28).

I valori di magnesio scambiabile rappresentano 12 e 11%. Particolarmente elevate le percentuali di K (16 e 18 % della CSC) ed elevate quelle di Na scambiabile (26 e 23 % della CSC). Il Ca ammonta al 43 e 48 % della CSC.

Le caratteristiche fisiche e chimiche del materiale PM-BG variano con la specie vegetale. Il pH (in H₂O) ha in media valori alcalini (8.7±0.2) e varia da un minimo di 8.2±0.02 (*Medicago*) ad un massimo di 9.0±0.05 (*Reseda*). Il contenuto dei carbonati totali, in media di 18±3.5 g kg⁻¹, oscilla tra valori mediamente calcarei (*Graminacea* e *Euforbia*, CaCO₃: 14±1.4 e 14±1.6 g kg⁻¹) a valori fortemente calcarei (*Reseda* 25±0.2 g kg⁻¹). La dotazione in carbonio organico è estremamente variabile con la specie (da un minimo di 5±0.5 g kg⁻¹ in *Amaranto* ad un massimo di 19 g kg⁻¹ in *Melilotus* e *Medicago*).

Ad un contenuto di N totale (in media 0.7±0.1 g kg⁻¹) sostanzialmente costante corrisponde un contenuto di C totale (in media, 20±6.2 g kg⁻¹), e quindi un rapporto C/N, estremamente variabile con la specie vegetale. Il rapporto C/N è sempre sbilanciato nei confronti del carbonio (C/N medio, 31±11), indicando la presenza nel materiale PM-BR di peculiari costituenti organici, non umici, poveri di N e, quindi, poco suscettibili alla decomposizione microbica, e la possibilità deficienze nutrizionali per le piante a seguito della competizione per le forme di azoto disponibili tra esse e i microrganismi.

La capacità di scambio cationico è mediamente poco elevata (8.9±3.2 cmol₍₊₎ kg⁻¹) ed i valori sono particolarmente bassi in *Medicago* (5.1 cmol₍₊₎ kg⁻¹). I valori di Mg, K e Na di

scambio rappresentano rispettivamente il 5, 16 e 13 % della CSC. Ca risulta pari a 39 % della CSC (tabella 7.2.2).

Sono state evidenziate correlazioni: pH-K scambiabile (r: 0.6); carbonati totali e CO (r: 0.6), C (r: 0.8) e N totali (r: 0.7), Ca e Mg scambiabili (r: 0.8); CO-C totale (r: 0.9); C totale e Ca e Mg scambiabili (r: 0.7); N totale e CSC (r: 0.6) e Mg scambiabile (r: 0.7).

Rispetto ai suoli rivegetati da specie spontanee PM1-R e PM2-R campionati nell'area PM nel 2004 (tabella 7.1.5a), il suolo PM-BR presenta più elevati valori di pH e più bassi valori di CaCO₃, CO, C e N totali e C/N. meno K , più Na. I contenuti di Na, K e Ca e Mg risultano sempre sbilanciati, ma è minore l'eccesso di K e Na scambiabili.

Tabella 7.2.2 Proprietà fisiche e chimiche dei suoli PM-BG, PM-BF e PM-BR

Suolo	pH	CaCO ₃	CO	C tot	N tot	C/N	CSC	Ca	Mg	K	Na
	H ₂ O	-----g kg ⁻¹ -----				----- cmol(+) kg ⁻¹ -----					
PM-BG <i>Melilotus</i>	8.8 ±0.02	56 ±0.4	15 ±1.3	27 ±1.2	0.6 ±0.01	45	12.6	5.4	1.5	2.0	3.3
PM-BF <i>Artemisia</i>	9.1 ±0.04	99 ±0.1	12 ±1.6	21 ±0.3	0.8 ±0.01	28	9.5	4.6	1.0	1.7	2.2
PM-BR <i>Chenopodium</i>	8.8 ±0.01	20 ±1.3	11 ±0.2	20 ±0.6	0.7 ±0.01	29	7.5	2.3	0.7	1.0	0.5
<i>Artemisia</i>	8.7 ±0.03	18 ±1.4	18 ±8	31 ±14	0.7 ±0.20	41	10	4.5	0.6	0.8	0.6
<i>Graminacea</i>	9.0 ±0.01	14 ±1.4	10 ±0.4	13 ±0.5	0.6 ±0.01	22	11	3.3	0.4	3.5	3.4
<i>Reseda</i>	9.0 ±0.05	25 ±0.2	10 ±1.0	20 ±1.1	0.9 ±0.03	22	9.5	2.3	0.8	1.5	0.9
<i>Amaranto</i>	8.6 ±0.01	19 ±0.2	5 ±0.5	14 ±0.1	0.8 ±0.01	17	15	4.6	0.4	1.4	2.4
<i>Melilotus</i>	8.5 ±0.2	15 ±3.5	19 ±7	25 ±10	0.7 ±0.3	34	9.5	4.4	0.5	1.4	1.4
<i>Euforbia</i>	8.7 ±0.03	14 ±1.6	11 ±0.9	16 ±1.4	0.5 ±0.09	33	8.5	2.2	0.2	0.7	0.7
<i>Medicago</i>	8.2 ±0.02	19 ±3.1	19 ±0.2	28 ±1.2	0.5 ±0.36	52	5.1	3.0	0.3	1.1	0.6
MEDIA	8.7 0.2	18 ±3.5	12 ±4.8	20 ±6.2	0.7 ±0.1	31 ±11	8.9 ±3.2	3.2 ±1.0	0.5 ±0.2	1.4 ±0.9	1.2 ±1.0

7.3 *Discussione dei risultati e considerazioni conclusive*

I substrati di crescita delle piante spontanee. I suoli dell'area "Parco Minerali" PM1 e PM2, campionati nel 2004, quando risultavano completamente rivegetati da specie spontanee (e indicati, quindi, come PM1-R, PM2-R), sono stati analizzati e sono risultati caratterizzati da quantità di contaminanti inorganici più basse di quelle riscontrate nei stessi suoli, campionati dopo la dismissione dell'impianto siderurgico e utilizzati negli esperimenti di crescita in vaso. Ciò è indicativo dell'avvenuto abbattimento dei livelli di contaminazione, in conseguenza degli interventi di bonifica dell'area PM, realizzati mediante l'asportazione degli orizzonti più superficiali di suolo.

In PM1-R e PM2-R, il contenuto di Pb e di Zn, più alto in PM2-R, è risultato, tuttavia, ancora superiore ai valori limite (DL 471/99). Viceversa, quello di Cu è risultato inferiore. Nel tempo, anche le proprietà fisiche e chimiche dei suoli PM1 e PM2 risultano essere cambiate.

Le differenze tra i suoli PM1-R e PM2-R non sono particolarmente pronunciate. In entrambi i suoli, persistono quelle proprietà che accomunano i suoli dei siti siderurgici dismessi (Buondonno et al., 1998; Venditti et al., 2000a), e si riscontrano valori simili di pH (subalcalini/alcalini) e CaCO_3 (fortemente calcarei/calcarei), valori inferiori di CE, e valori superiori di CO, N totale e CSC, rispetto ai suoli PM1 e PM2. I contenuti di Mg e K risultano ancora sbilanciati ma, nei suoli rivegetati, è minore l'eccesso Na scambiabile.

I cambiamenti delle proprietà fisiche e chimiche di PM1 e PM2, in definitiva, sembrano aver comportato un generale aumento della fertilità dei suoli.

In PM1-R e PM2-R, la biodisponibilità di Cu, Pb e Zn, data dalla quantità (mg kg^{-1}) di HM estratta in 0.05 M EDTA a pH 7 (HM_{EDTA}), è simile. Essa risulta, invece, ridotta rispetto a quella dei suoli PM1 e PM2 (in PM1-R e PM2-R, di un fattore pari a 9 e 3 per Cu, 2 e 3 per Pb, 2 e 2 per Zn). Anche la quantità di HM_{EDTA} espressa come percentuale del contenuto totale di HM, è più bassa, eccetto quella di Pb e Zn in PM1-R. Pertanto, nei suoli dell'area PM, la biodisponibilità dei HM si è ridotta nel tempo, più di quanto si sia ridotto il contenuto totale di HM (tranne quella di Pb e Zn in PM1-R che, invece, si è ridotta in misura minore).

La scarsa disponibilità dei HM potrebbe spiegare, insieme ai meccanismi di esclusione dei HM messi in atto dalle piante, la capacità di specie spontanee di colonizzare i suoli PM1-R e PM2-R.

I materiali campionati nel 2006, prodotti dall'attività di bonifica rappresentati da materiali grossolani puliti (PM-BG), fini contaminati (PM-BF) ed dal suolo utilizzato *in situ* per la ricostruzione del profilo pedologico (PM-BR), sono contraddistinti, rispetto ai substrati PM1 e PM2, pre e post rivegetazione, da valori di pH particolarmente elevati (8.8-9.1).

Il grado di fertilità dei substrati non appare sostanzialmente variato dopo la bonifica.

Le specie vegetali campionate. Le specie rinvenute, sia nel 2004 sia nel 2006, sono rappresentate da piante normalmente riscontrate in ambienti degradati, quali, margini stradali, macerie, scarpate ferroviarie, discariche, giardini e coltivi abbandonati. Molte di esse risultano prediligere suoli asciutti, sabbiosi o sassosi, ricchi in elementi nutritivi e di azoto, e ciò rappresenta un'ulteriore indicazione delle caratteristiche dei suoli presenti nell'area PM nel 2004 e 2006.

Accumulo di HM nei tessuti vegetali. Le specie spontanee campionate nel 2004 sui suoli contaminati presentano un accumulo preferenziale di Cu, Pb e Zn a livello della radice (TF <1), salvo alcune eccezioni (*Daucus*, Pb e Zn e *Geranium*, Cu e Pb). Le concentrazioni di HM dei tessuti ipogei sono, comunque, più basse di quelle riscontrate nel suolo (BF/TF <1).

L'ancor più limitato contenuto di HM dei tessuti epigei risulta compreso negli intervalli di concentrazione normalmente osservati nelle piante, ed è inferiore ai limiti di tossicità.

Le variazioni inter-specie delle concentrazioni di HM dei tessuti epigei sono piccole. Invece, nei tessuti ipogei si evidenzia una molto più elevata capacità di accumulo di HM in alcune specie (*Dactylis*, *Sonchus*, *Geranium* e *Medicago*) rispetto ad altre (*Daucus*, *Melilotus* e *Asteracea*).

Come *Lolium* e *Helianthus*, anche le piante spontanee mostrano, nei germogli e nelle radici, un maggiore bioaccumulo di Cu e Zn, rispetto al Pb.

Nei tessuti vegetali epigei delle piante spontanee, il contenuto di Cu e Zn è confrontabile, quello di Pb più ridotto, di quello misurato nelle piante di *Lolium* e *Helianthus* allevate sui suoli PM1 e PM2. Nei tessuti ipogei, invece, le quantità di HM sono di gran lunga più ridotte di quelle riscontrate in *Lolium* e *Helianthus* ed il rapporto tra concentrazione di HM nei tessuti epigei e ipogei (TF), risulta, quindi, meno sbilanciato.

Il confronto dei valori BF e BF/TF consente di misurare l'efficienza di bioaccumulo a livello dei germogli e delle radici. Allora, si può affermare che la capacità di fitostrazione è leggermente più elevata, per il Cu e lo Zn, e più bassa per Pb, nelle piante spontanee

rispetto alle piante coltivate. L'accumulo di HM a livello delle radici appare molto meno efficiente nelle piante spontanee rispetto al piante allevate in vaso.

Il contenuto di HM delle piante, non differiscono significativamente sui due substrati, pur caratterizzati da livelli di contaminazione diversi di Pb e Zn. Tuttavia, le concentrazioni di Cu e Zn in *Dactylis*, significativamente più elevate su PM1-R e PM2-R rispetto a LAM, sembrano indicare, almeno per questa specie, un legame tra contenuto totale di HM nel suolo e contenuto di HM nella pianta. In effetti, come per le piante allevate in vaso, il bioaccumulo risulta correlato negativamente ai contenuti totali di Cu, Pb e Zn dei suoli ($r: -0.8$), cioè, all'aumentare del contenuto totale di HM nei substrati corrisponde un pari incremento della concentrazione dei metalli nei tessuti vegetali né epigei né ipogei (i *BF* e *BF/TF* diminuiscono).

Le concentrazioni di Cu e Zn dei tessuti epigei non risultano molto diverse dalle quantità biodisponibili dei metalli accertate nei suoli. Le concentrazioni di Pb dei tessuti epigei risultano, invece, molto più basse delle quantità biodisponibili. Comunque, la fitoestrazione di Cu e Zn non è limitata dalla disponibilità degli elementi nei suoli, ma è riconducibile ai meccanismi di esclusione messi in atto dalle piante, tenuto conto che le concentrazioni di HM dei tessuti ipogei sono sempre più elevate rispetto alle quantità HM_{EDTA} . Simili risultati erano ottenuti anche per le piante allevate in vaso.

In conclusione, sui suoli PM1-R e PM2-R le piante spontanee assorbono piccole quantità di HM dai suoli contaminati. In esse, si può ipotizzare la presenza di efficienti meccanismi di esclusione degli elementi tossici, simili a quelli ipotizzati per le piante di *Lolium* ed *Helianthus* (Morel et al., 1986; Prasad e Hagemeyer, 1999; Kabata-Pendias, 2001;).

Le piante possono essere classificate come *excluders* o non accumulatrici in quanto tendono a “mantenere all'esterno” i contaminanti, che assorbono limitatamente anche a livello della radice. In base alla classificazione di Perelman (1966) l'assorbimento del Pb è debole ($0.01 < BF < 0.1$), quello di Cu e Zn è intermedio ($0.1 < BF < 1$). E', pertanto, da escludere che esse possano ridurre il contenuto totale di HM del suolo.

Tale risultato è stato ottenuto in altri siti siderurgici dismessi, aventi caratteristiche simili, ed in particolare valori di pH alcalini, a quelle del sito oggetto di studio e contraddistinti però anche da una più elevata disponibilità dei HM (estrazioni in DTPA a p 7.3) (Remon et al., 2005). Al contrario, le piante spontanee (*Festuca sp.*, *Salix atrocinerea*, *Fragola alnus*, *Quercus robur*) di siti contaminati da HM, a pH acido, hanno mostrato elevata capacità di accumulo e fitoestrazione di alcuni inquinanti (Mn, Fe, Zn) (Álvarez et al., 2003).

L'accumulo di HM nelle specie vegetali spontanee, come per quelle coltivate, dipende dalla concentrazione e dalla speciazione dei HM, e dalle caratteristiche dei suoli e delle piante (Welch, 1995; Ernst 1996). Pertanto, in aggiunta ai metodi chimici di analisi sul suolo, lo studio della diversità di specie, dei sintomi di tossicità da HM e del contenuto di HM nei tessuti vegetali delle comunità di piante spontanee presenti sul sito contaminato, è considerato, da studi attuali, un utile strumento per la comprensione della biodisponibilità di tali inquinanti (Dudka et al., 1995, 1996; Cobb et al., 2000; Stoltz e Greger, 2002; Gimmler et al., 2002). Tale approccio, inoltre, potrebbe portare alla identificazione di specie particolarmente idonee per la fitorimediazione, intesa sia come fitoestrazione sia come fitostabilizzazione, e rendere tale tecnica di riqualificazione una reale alternativa alle tecniche chimico-ingegneristiche (Vangrosveld e Clijsters, 1995; Kramer et al., 2000; Olson e Fletcher, 2000; Wong, 2003).

Effetti della crescita delle piante sulle proprietà del suolo. In questo lavoro, i cambiamenti indotti dalla crescita vegetale sulle proprietà dei suoli PM1-R e PM2-R sono stati valutati misurando le variazioni dei parametri fisici e chimici dei *bulk soil*, riscontrate nei *rhizo soil*. Bisogna, tuttavia, sottolineare che nei *bulk soil* di PM1-R e PM2-R sono state osservate variazioni specie-specifiche delle proprietà del suolo che sono risultate correlate ($r > 0.7$) a quelle riscontrate nei *rhizo soil*. E' allora ipotizzabile che, non solo le variazioni *bulk-rhizo* delle proprietà del suolo, ma anche le variazioni osservate tra i *bulk soil*, siano causate dalla crescita delle piante.

Le variazioni *bulk-rhizo* delle proprietà del suolo indotte dalla crescita delle piante spontanee su PM1-R e PM2-R, sempre significative e, specie-specifiche e suolo-specifiche, sembrano produrre un miglioramento delle proprietà fisiche e chimiche (riduzioni del pH, incrementi di CE, CSC, K, Na e Mg scambiabili, CO, C e N totale e riduzione del rapporto C/N).

La riduzione dei valori di pH, osservata già dopo la crescita di *Lolium*, *Helianthus* e *Thlaspi*, anche per le specie spontanee può essere messa in relazione al rilascio da parte della pianta di acidi organici ad azione acidificante e di idrogenioni, unicamente per garantire l'elettroneutralità cellulare in seguito ad assorbimento elevato di nutrienti in forma cationica (McGrath et al., 1997), e non per aumentare la solubilizzazione di HM nel suolo e quindi favorirne l'assorbimento (Zhao et al., 2001; Keller e Hammer, 2004).

La crescita delle radici, la produzione di essudati radicali e l'incremento dello sviluppo di microrganismi nel suolo (Calace et al., 2002), sono probabilmente all'origine del più elevato contenuto di carbonio organico osservato nei *rhizo* rispetto ai *bulk soil*.

Sono stati già discussi gli effetti derivanti dalla presenza di sostanza organica sulle proprietà del suolo e sulla disponibilità e mobilità dei metalli (paragrafo 6.3).

Le proprietà del suolo PM-BR sono, come quelle dei suoli PM1-R e PM2-R, condizionate dalla crescita delle piante spontanee, con effetti diversi a seconda della specie vegetale.

Effetti della crescita delle piante sulla disponibilità di HM. I cambiamenti indotti dalla crescita vegetale sulla disponibilità dei HM nei suoli PM1-R e PM2-R, sono stati valutati misurando le variazioni delle quantità HM_{EDTA} da *bulk* a *rhizo soil*.

Anche in questo caso, come osservato per le proprietà fisiche e chimiche del suolo, va sottolineato che, in PM1-R e PM2-R, gli effetti della crescita vegetale sulla disponibilità dei metalli si producono sia sui *rhizo* sia sui *bulk soil*. Infatti, si osservano variazioni specie-specifiche tra i *bulk soil* delle quantità HM_{EDTA} , che sono correlate ($r > 0.8$) a quelle riscontrate nei *rhizo soil*.

In PM1-R e PM2-R, le variazioni *bulk-rhizo* delle quantità HM_{EDTA} dipendono in intensità e natura sia dalla specie vegetale, sia dal suolo considerati e sono sempre significative. Nei *rhizo soil*, le quantità di Cu_{EDTA} e Zn_{EDTA} sono generalmente più elevate (>20 e 13%), e quelle di Pb_{EDTA} spesso più basse (>-5%), rispetto ai *bulk soil*.

I cambiamenti indotti dalla crescita delle piante spontanee, in definitiva, sembrano produrre, in PM1-R e PM2-R, una mobilizzazione di Cu e Zn ed una immobilizzazione del Pb.

La riduzione della biodisponibilità del Pb non può essere associata all'assorbimento del metallo da parte della pianta, considerando le ridottissime quantità di Pb presenti nei tessuti vegetali. I contenuti Pb_{EDTA} sembrano ridursi, piuttosto, per effetto di modificazioni delle proprietà del suolo che inducono il passaggio di Pb da forme "più labili" a forme "meno labili".

La quantità "biodisponibile" di Cu e Zn aumenta in seguito alla crescita delle piante. In questo caso, le attività metaboliche associate alla crescita delle piante spontanee sembrano indurre il passaggio di Cu e Zn da forme "non labili" a forme "labili" e, nonostante la piccola riduzione dei contenuti biodisponibili di Cu e Zn causati dall'assorbimento vegetale, produrre un incremento della mobilità dei metalli. In termini percentuali, gli incrementi della quantità biodisponibile di Cu e Zn nel *rhizo soil* sono più pronunciate delle riduzioni di Pb_{EDTA} . Esse sono di pari intensità sia in PM1-R sia in PM2-R.

Non è chiaro come la crescita delle piante spontanee determini tali modificazioni della biodisponibilità dei HM. Correlazioni tra le quantità di metallo biodisponibile e le proprietà del suolo studiate sono state riscontrate solo per: $HM_{EDTA-CE}$ ($r > 0.5$), $Cu_{EDTA-CO}$ ($r: 0.8$), Cu_{EDTA-C} totale ($r: 0.6$) e $Pb_{EDTA-Na}$ di scambio ($r: 0.6$). In accordo con Kabata-Pendias (2001), l'adsorbimento sulla sostanza organica rappresenta il principale meccanismo di ritenzione del Cu.

In conclusione, sebbene le specie vegetali impiegate non asportino che piccole quantità di Cu, Pb e Zn da PM1-R e PM2-R, tenuto conto della loro caratteristica di *excluders*, esse inducono lievi riduzioni della mobilità e della disponibilità di Pb, e forti incrementi della mobilità e della disponibilità di Cu e Zn in entrambi i suoli.

8. CARATTERIZZAZIONE DEI PRODOTTI DI PRECIPITAZIONE DEL Fe(II) IN PRESENZA DI HA: RISULTATI

Si riportano gli effetti di acidi umici (HA), sull'ossidazione di Fe(II) e conseguente formazione di ossidi/idrossidi di ferro, prodotti in soluzioni di perclorato di Fe(II) (0.01 M) in presenza di quantità diverse di HA (R: HACO₂H mol_c / Fe(II) mol_c, pari a 0, 0.0001, 0.001, 0.01 e 0.1), in ambiente acido (pH 5.0) e alcalino (pH 8.0), dopo 1 settimana (T1), 1 mese (campioni T3) e 8 anni dalla preparazione delle soluzioni (campioni T4) I prodotti di precipitazione derivanti dall'ossidazione del Fe(II) sono stati studiati con analisi strumentali (XRD, FT-IR, TEM) e estrazioni chimiche selettive.

8.1.1 Osservazioni XRD

I risultati della diffrazione ai raggi X sono stati assemblati comparando, per ciascun pH e rapporto R = HA/Fe(II), diffrattogrammi ottenuti in tempi T1, T3 e T4 (tempo di invecchiamento della soluzione dopo la sua preparazione: T1: 1 settimana, T3: 1 mese, T4: 8 anni) (figure a-f)

Sono stati identificati i picchi caratteristici della goethite (4.19, 2.69, 2.46, 2.25, 1.71 Å), della maghemite (2.95, 2.52, 2.09, 1.61 Å). I primi risultano particolarmente pronunciati per i campioni a pH 5, mentre sono appena accennati in quelli a pH 8, caratterizzati da più elevate quantità di maghemite (probabilmente insieme a magnetite).

La presenza di HA in rapporti R < 0.1 non sembra influenzare la natura degli ossidi/idrossidi di Fe dei precipitati, che risultano anche confrontabili con quelli presenti nei precipitati in assenza di HA.

Gli spettri ottenuti a R = 0.1 (solo campioni T1 e T3) mostrano significative differenze rispetto a quelli ottenuti a R < 0.1. Sia in ambiente acido che alcalino la presenza di HA ha ridotto la formazione degli ossidi cristallini ed, in particolare, della goethite.

8.1.2 Osservazioni TEM

In figura 8.1.2 a-l sono riportate le immagini al microscopio elettronico a trasmissione ottenute dai campioni T3 e T4. Sono in seguito descritte, e confrontate, le forme in esse osservate.

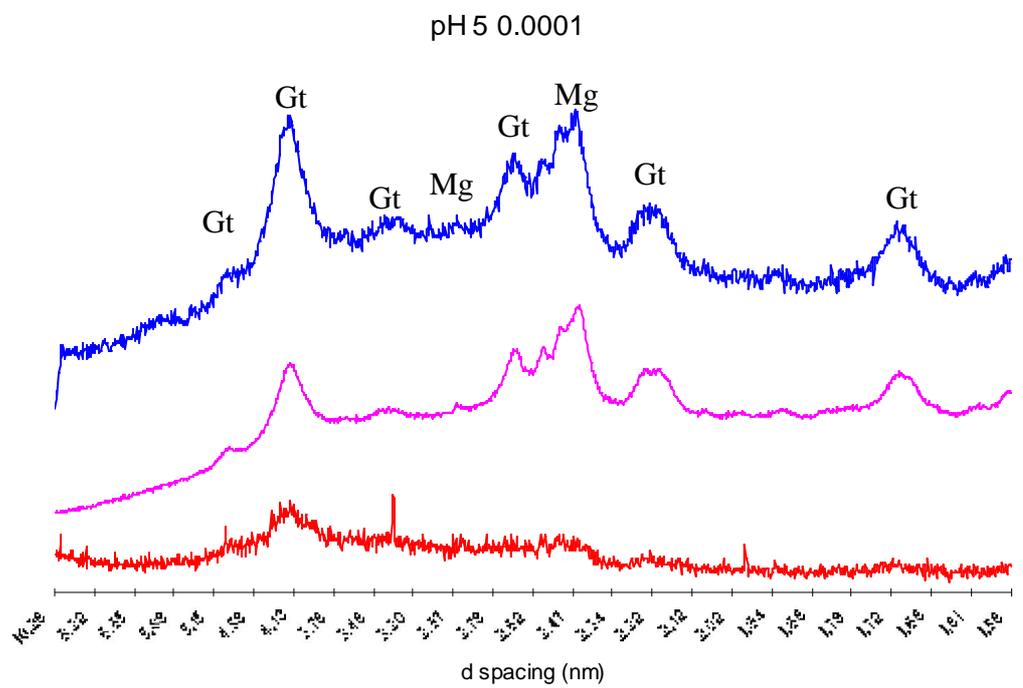
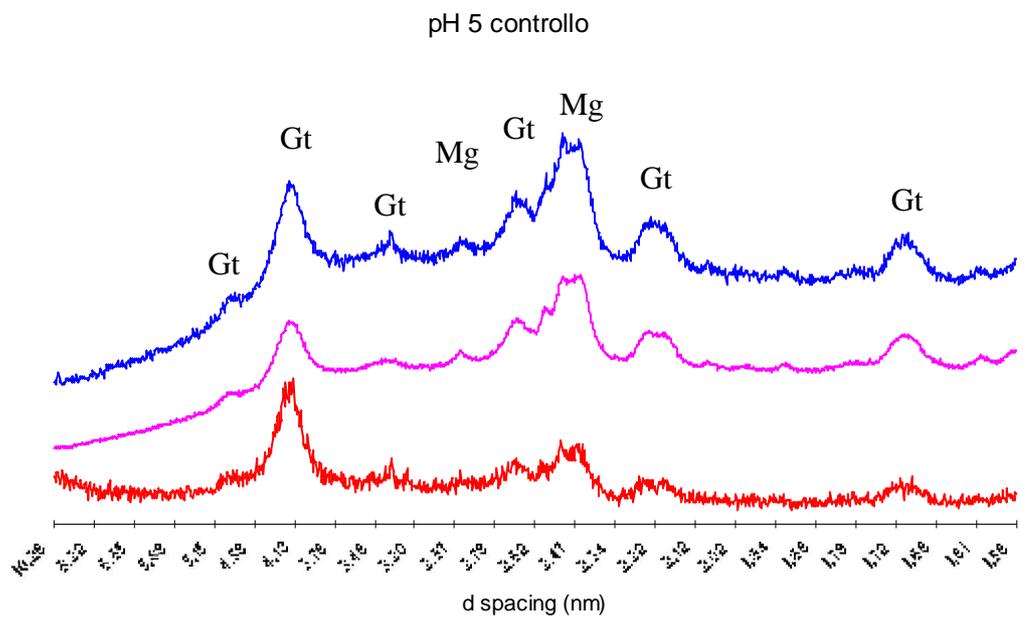


Figura 8.1.1a Spettro XRD dei prodotti di precipitazione del Fe a pH 5 e $R = 0$ e 0.0001, dopo 1 settimana (T1), 1 mese (T3) e 8 anni dalla fine della preparazione delle soluzioni. Gt: goethite; Mg: maghemite

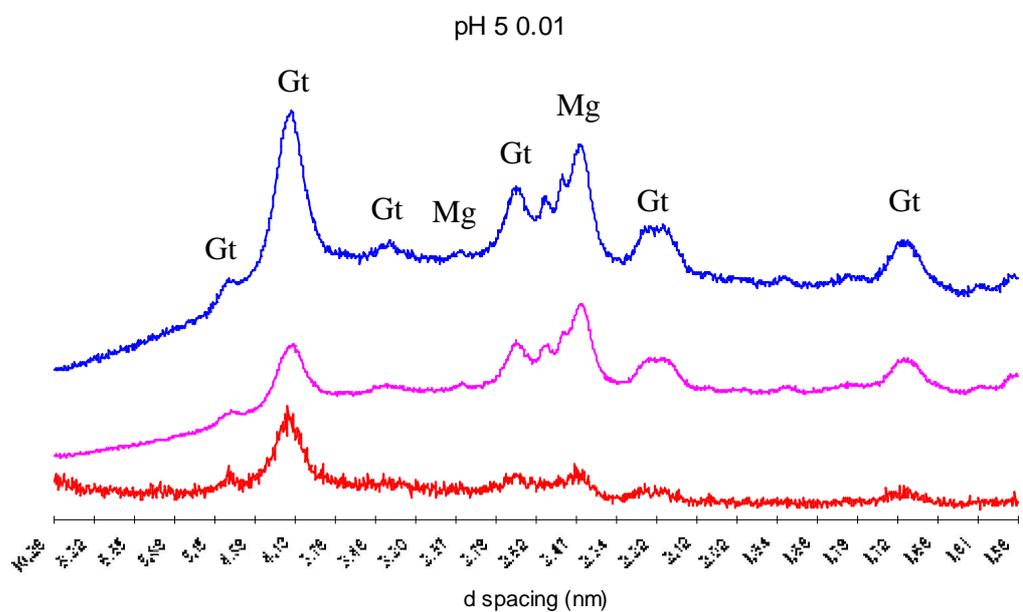
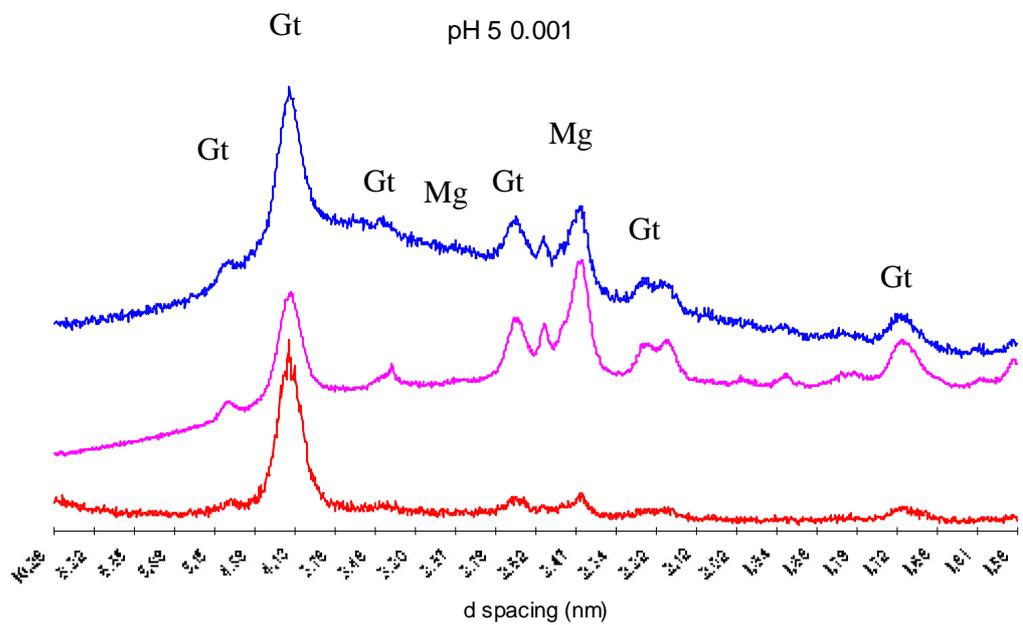


Figura 8.1.1b Spettro XRD dei prodotti di precipitazione del Fe a pH 5 e $R = 0.0001$ e 0.001 , dopo 1 settimana (T1), 1 mese (T3) e 8 anni dalla fine della preparazione delle soluzioni. Gt: goethite; Mg: maghemite

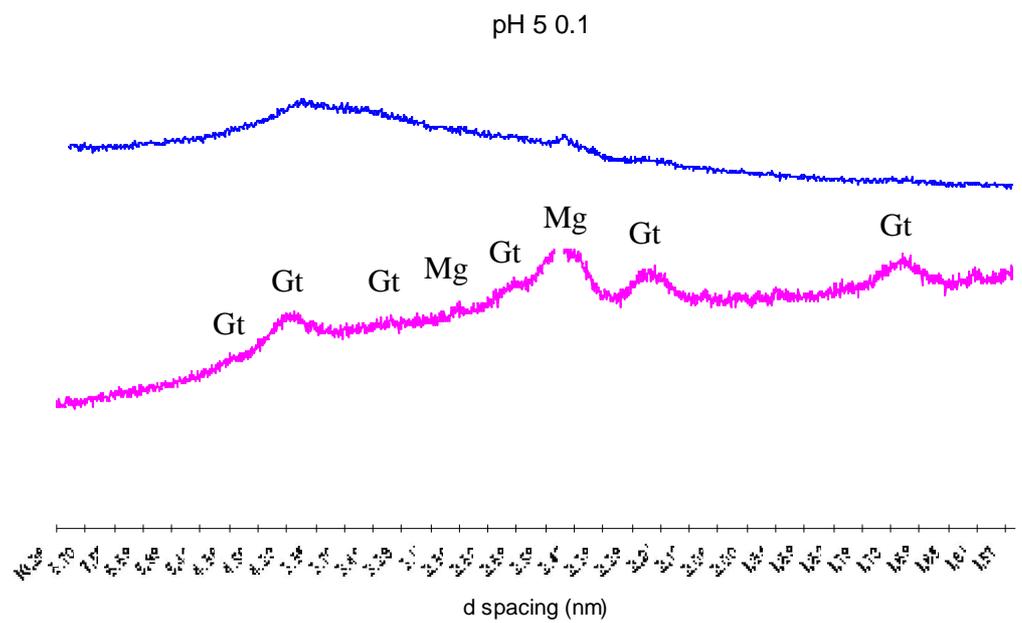


Figura 8.1.1c Spettro XRD dei prodotti di precipitazione del Fe a pH 5 e $R = 0.1$ dopo 1 settimana (T1) e 1 mese (T3) dalla fine della preparazione delle soluzioni. Gt: goethite; Mg: maghetite

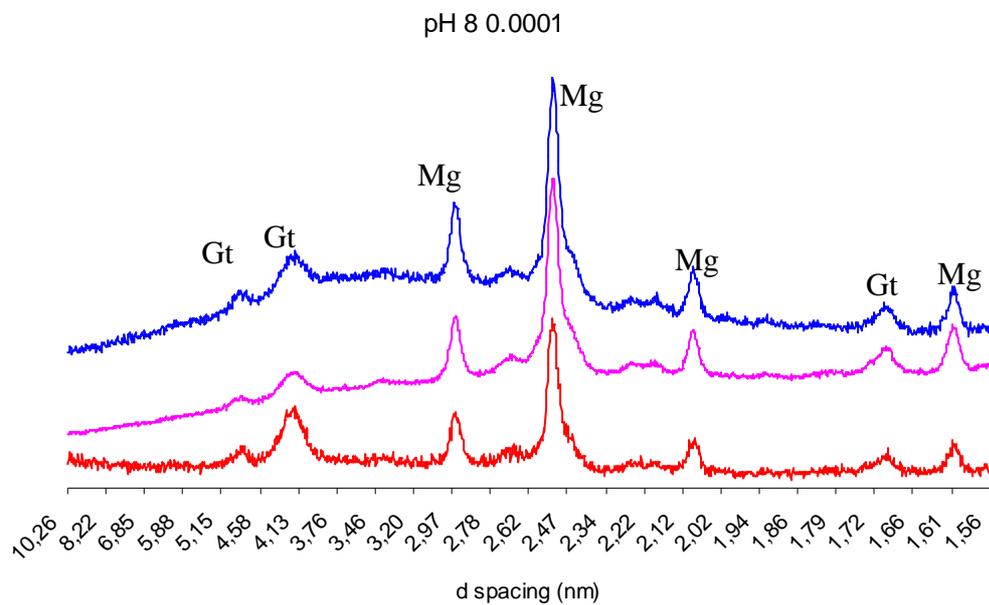
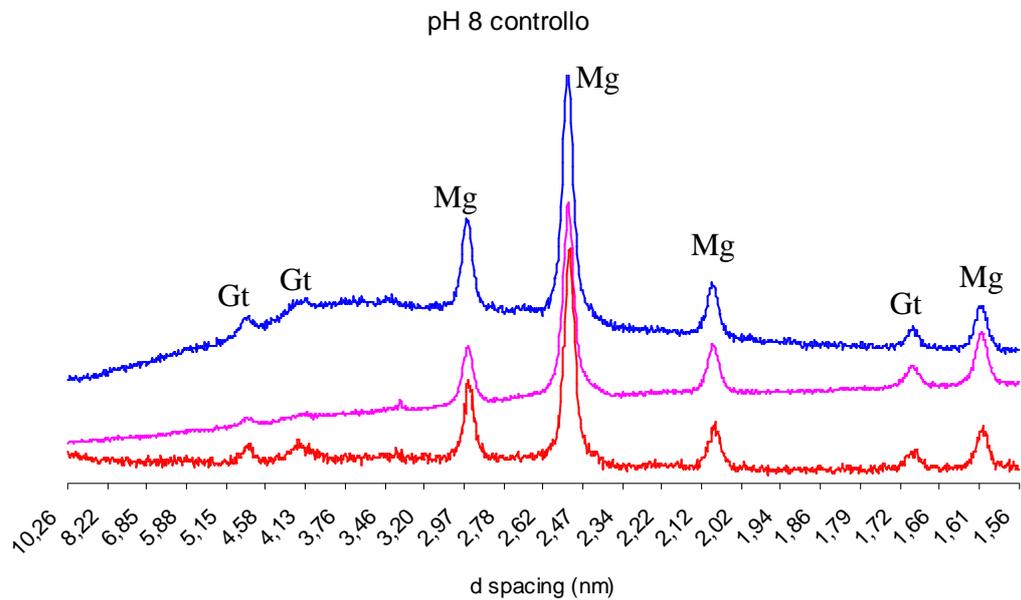


Figura 8.1.1d Spettro XRD dei prodotti di precipitazione del Fe(II) a pH 8 e $R = 0$ e 0.0001, dopo 1 settimana (T1), 1 mese (T3) e 8 anni dalla fine della preparazione delle soluzioni. Gt: goethite; Mg: maghemite

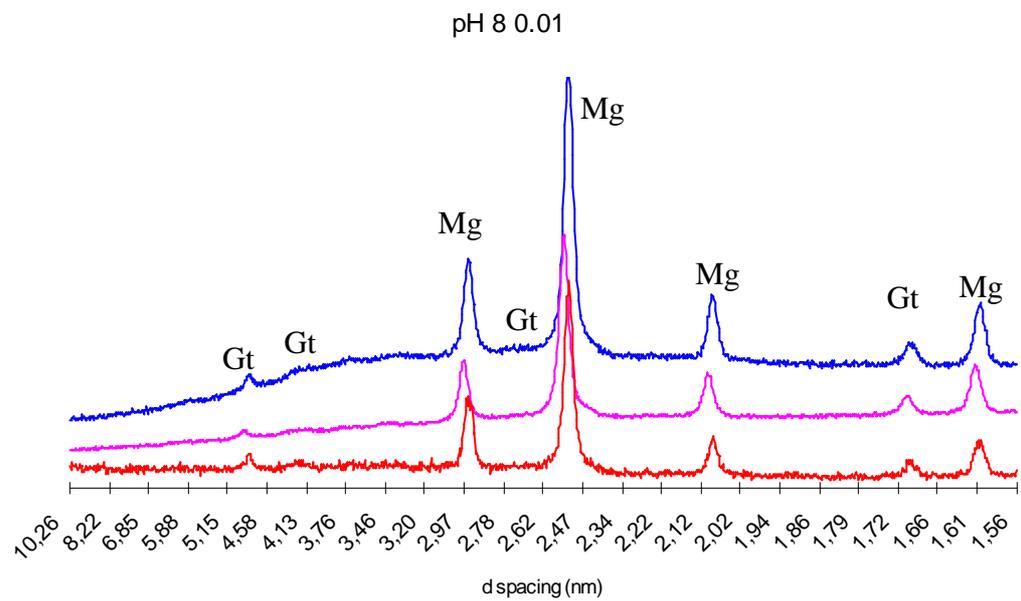
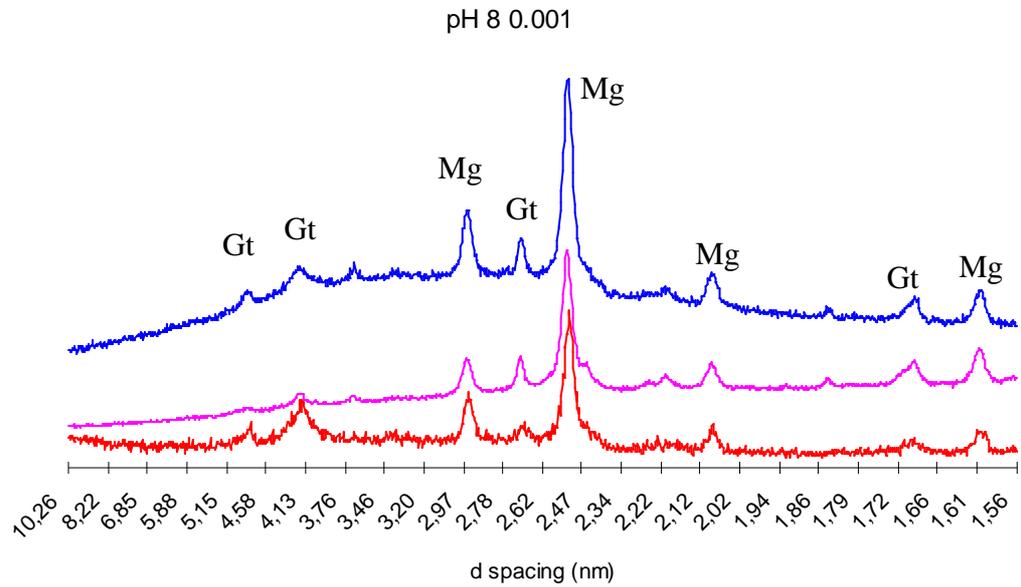


Figura 8.1.1e Spettro XRD dei prodotti di precipitazione del Fe(II) a pH 8 e $R = 0.001$ e 0.01 , dopo 1 settimana (T1), 1 mese (T3) e 8 anni dalla fine della preparazione delle soluzioni. Gt: goethite; Mg: maghemite

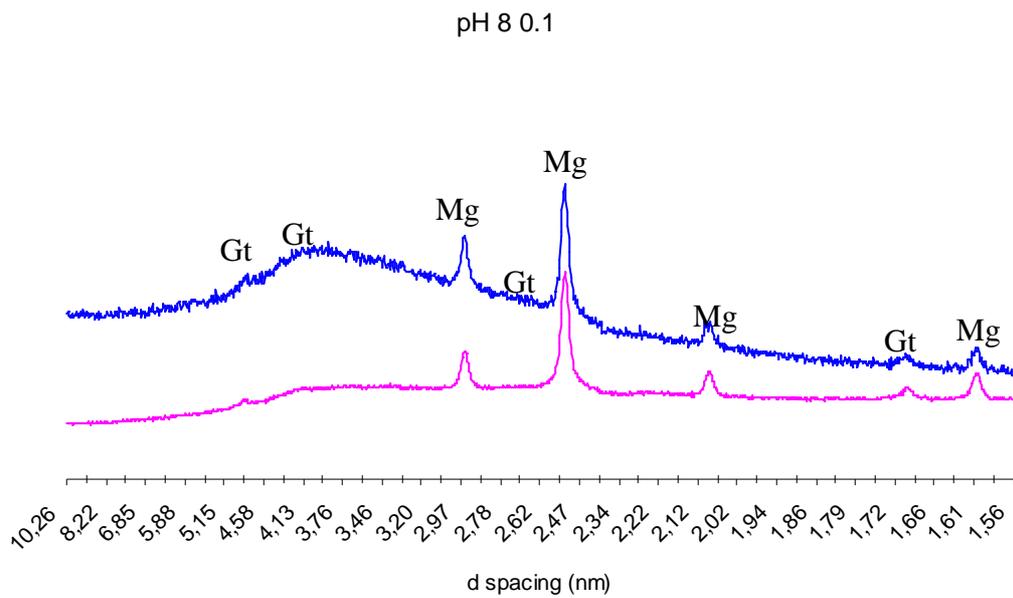


Figura 8.1.1f Spettro XRD dei prodotti di precipitazione del Fe(II) a pH 8 e $R = 0.1$, dopo 1 settimana (T1) e 1 mese (T3) dalla fine della preparazione delle soluzioni. Gt: goethite; Mg: maghemite

T3, pH 5 (figura 8.1.2f-h):

- Controllo (0.0 HA): goethite in forma di strutture aghiformi, poco definite
- 0.001 HA/Fe(II): addensamento delle strutture aghiformi di goethite
- 0.001 HA/Fe(II): goethite in forma di strutture aghiformi ben definite
- 0.01 HA/Fe(II): addensamento delle strutture aghiformi di goethite in presenza di una matrice spugnosa
- 0.1 HA/Fe(II): strutture con morfologia globulare non costante (ferridrite?)

T4, pH 5 (figura 8.1.2a-c):

- Controllo (0.0 HA): goethite in ben espresse strutture aghiformi (gli aghi di goethite sembrano essere meglio espressi dopo 8 anni di invecchiamento dei campioni)
- 0.0001, 0.001, 0.01 HA/Fe(II): goethite in ben espresse strutture aghiformi con dimensioni/definizione minore all'aumentare del valore R (I campioni T4 sembrano essere caratterizzati da più alta omogeneità di composizione rispetto ai T3).

T3, pH 8 (figura 8.1.2h-l):

- Controllo (0.0 HA): cubi di maghemite + rari aghi di goethite
- HA/Fe(II): cubi di maghemite + frequenti aghi di goethite
- HA/Fe(II): cubi di maghemite + aghi di goethite + bacchette of lepidocrocite
- HA/Fe(II): cubi di maghemite
- HA/Fe(II): cubi di maghemite, avvolti in matrice a struttura globulare

T4, pH 8 (figura 8.1.2d-e):

- Controllo (0.0 HA): cubi di maghemite + frequenti aghi di goethite (dopo 8 anni di invecchiamento, sembra essere aumentata la quantità di goethite)
- 0.0001 HA/Fe(II): cubi di maghemite + aghi di goethite (anche in questo campione la quantità di strutture aghiformi di goethite sembra essere aumentata rispetto al campione T3)
- 0.001 HA/Fe(II): cubi di maghemite + aghi di goethite (a differenza del campione T3, non si osserva la presenza della lepidocrocite)
- 0.01 HA/Fe(II): quasi esclusivamente cubi di maghemite (la goethite era del tutto assente nel campione invecchiato un mese)

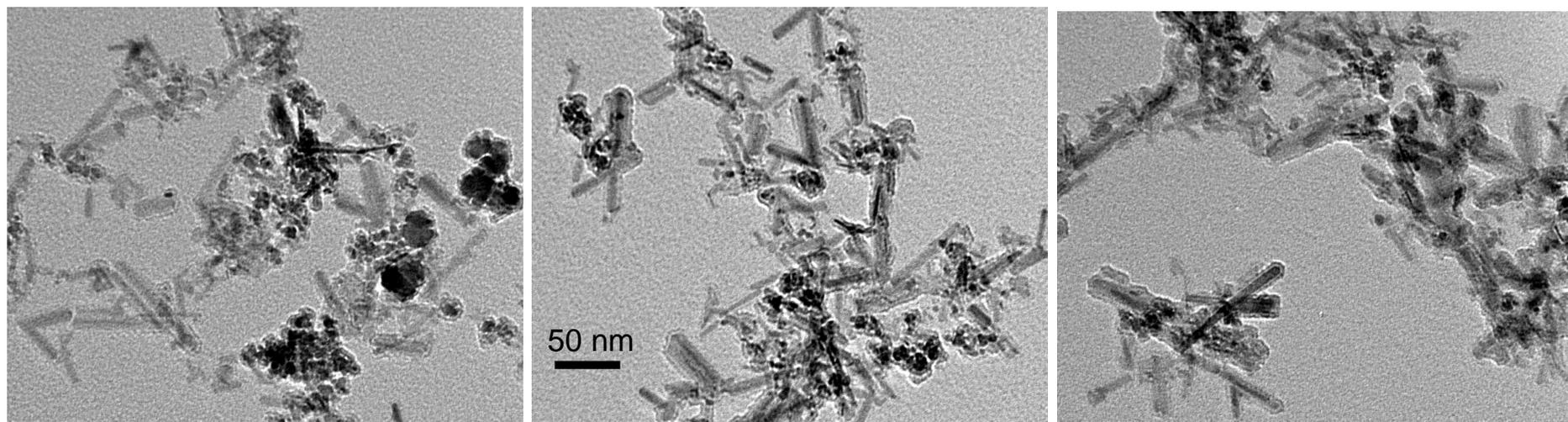
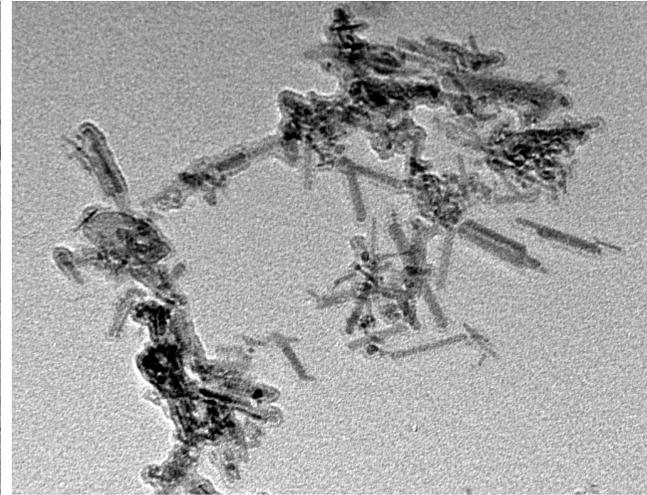
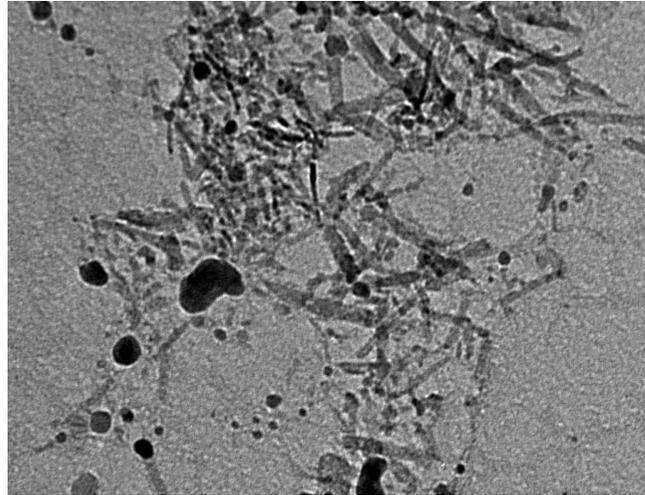


Figura 8.1.2a Campione T4 a pH 5 e $R = 0$ (controllo)

1-2



3-4

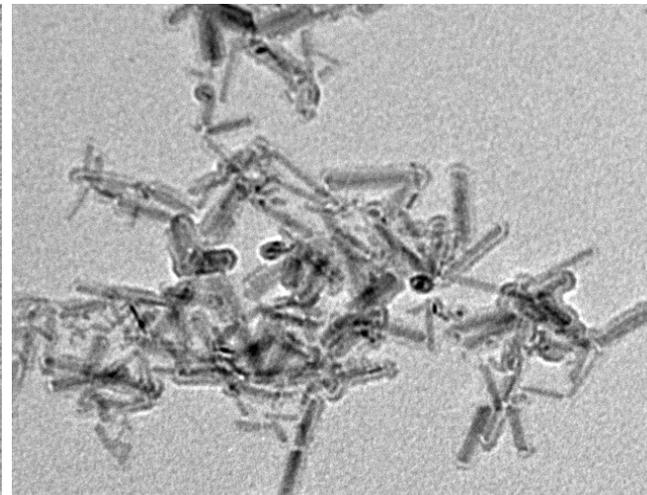
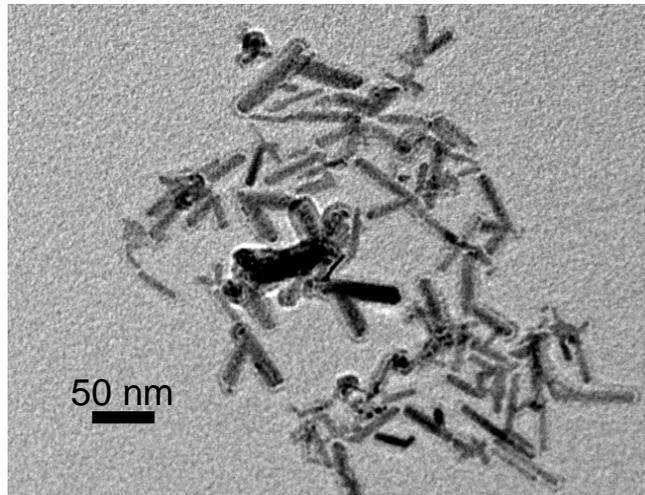
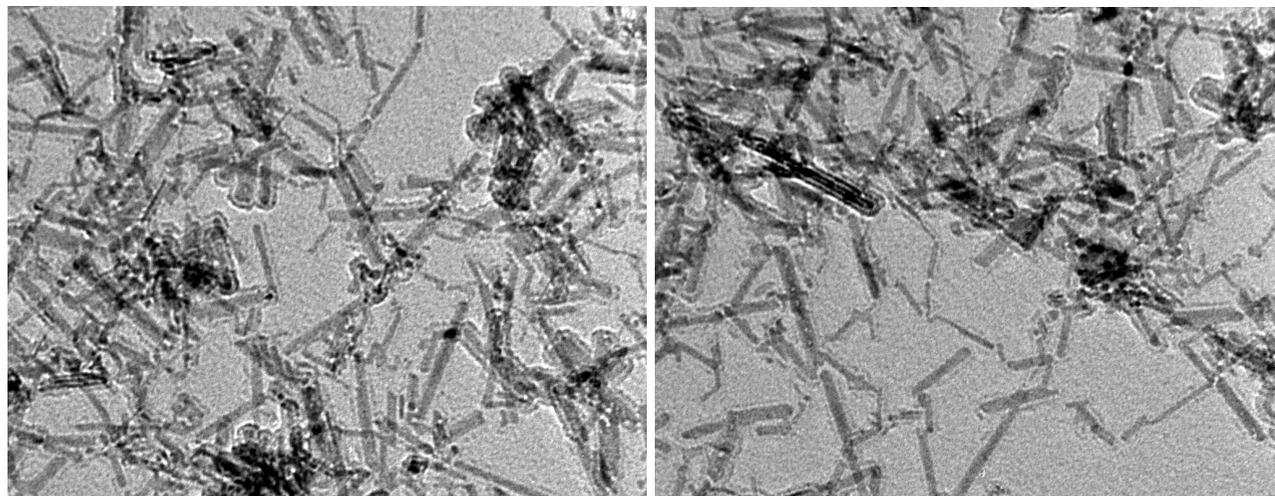


Figura 8.1.2b Campioni T4 a pH 5 e $R = 0.0001$ (foto 1-2) e 0.001 (foto 3-4)

1-2



3-4

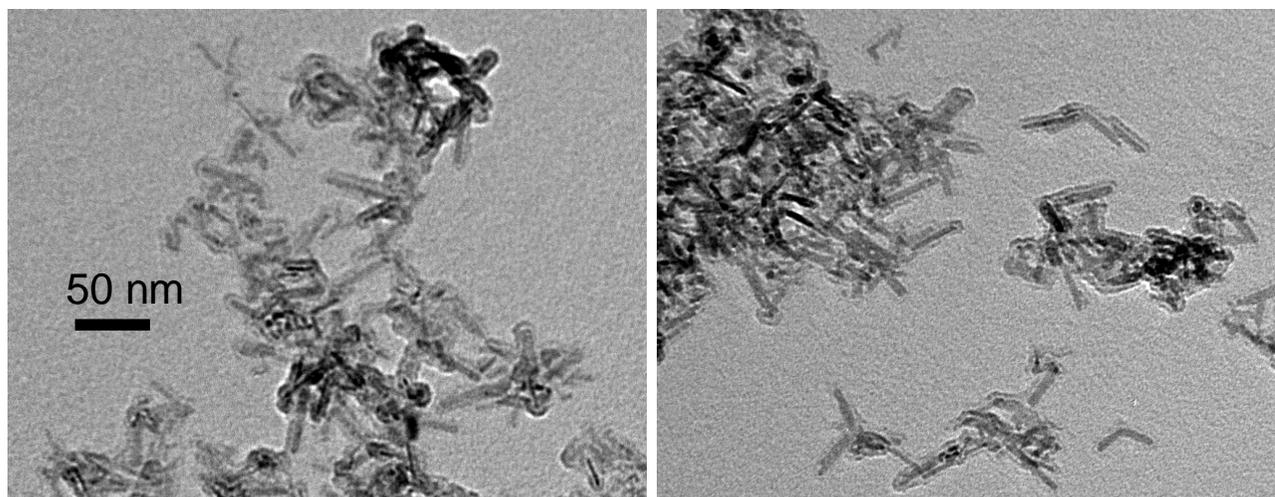


Figura 8.1.2c Campioni T4 a pH 5 e $R = 0.001$ (foto 1-2) e 0.01 (foto 3-4)

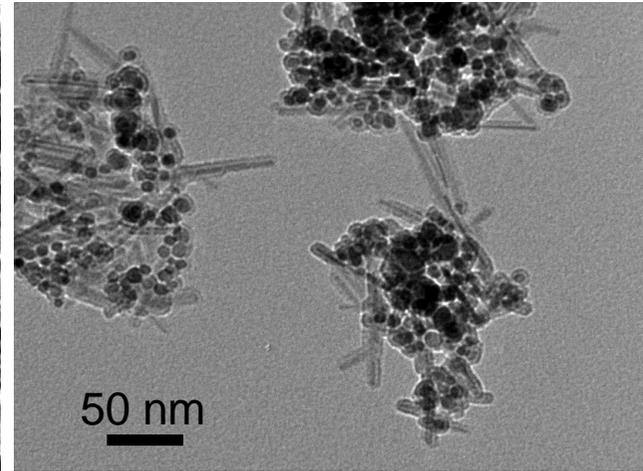
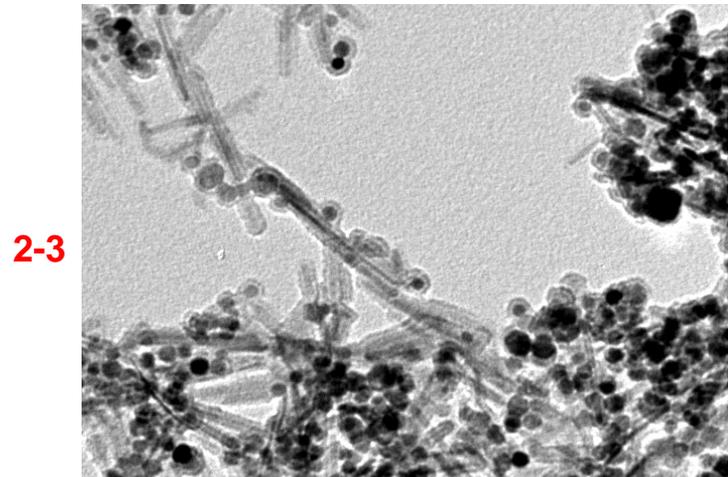
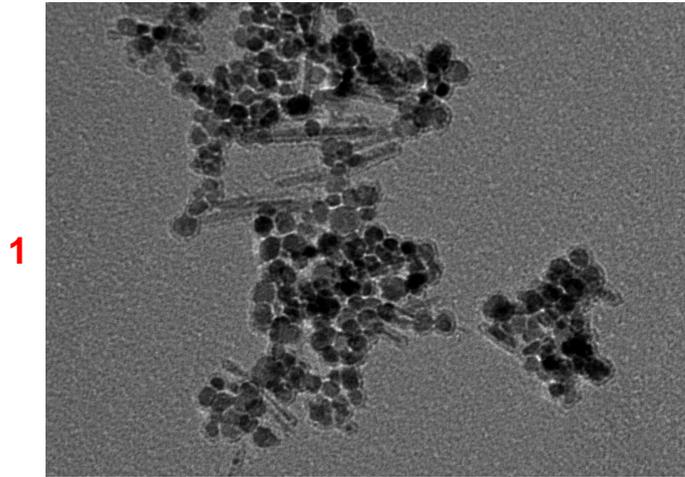
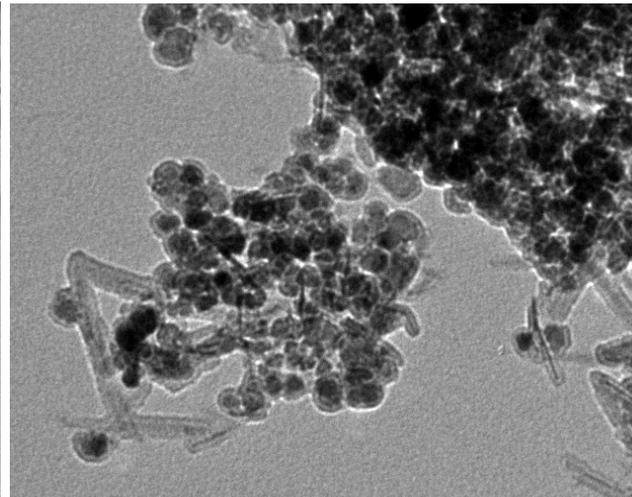
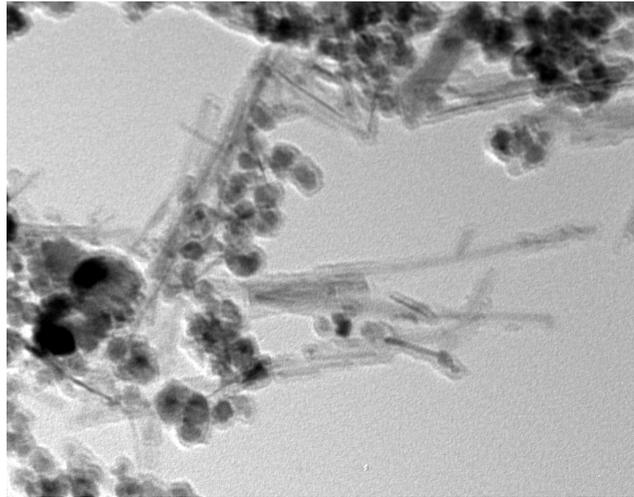


Figura 8.1.2d Campioni T4 a pH 8 e $R = 0$ (controllo, foto 1) e 0.0001 (foto 2-3)

1-2



3-4

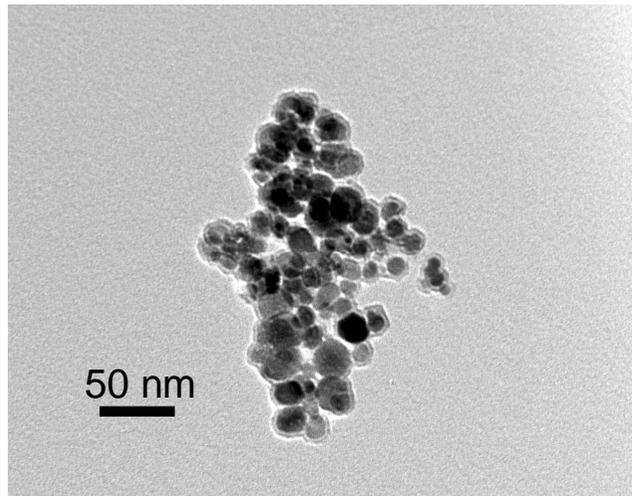
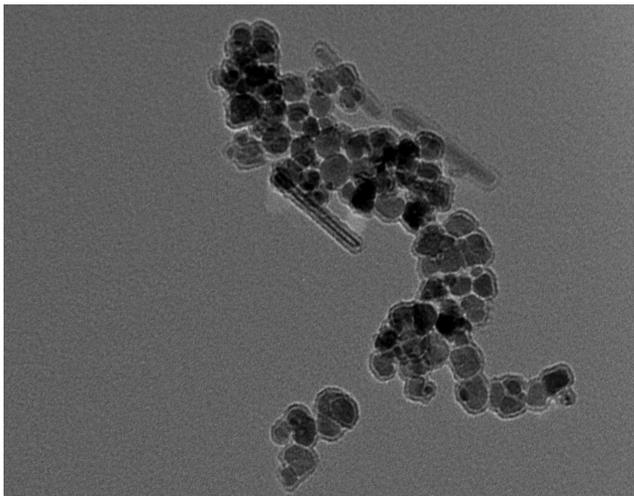
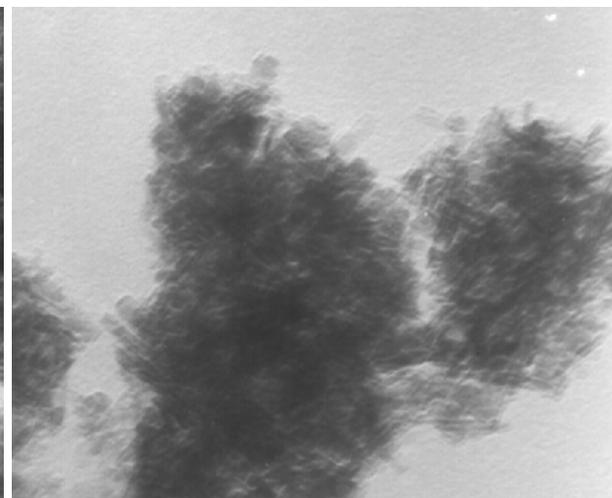
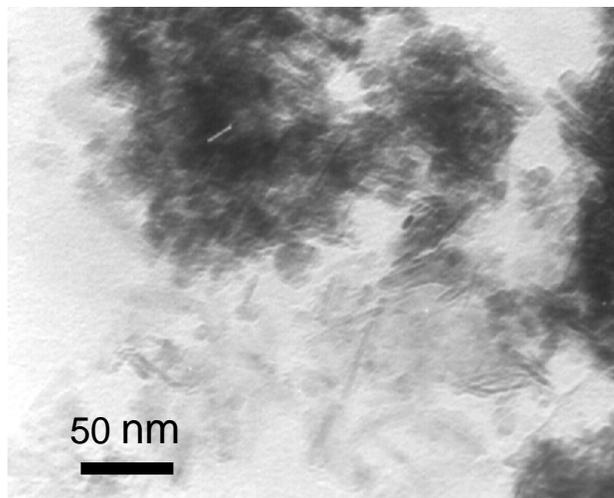


Figura 8.1.2e Campioni T4 a pH 8 e $R = 0.001$ (foto 1-2) e 0.01 (foto 3-4)

1-2



3

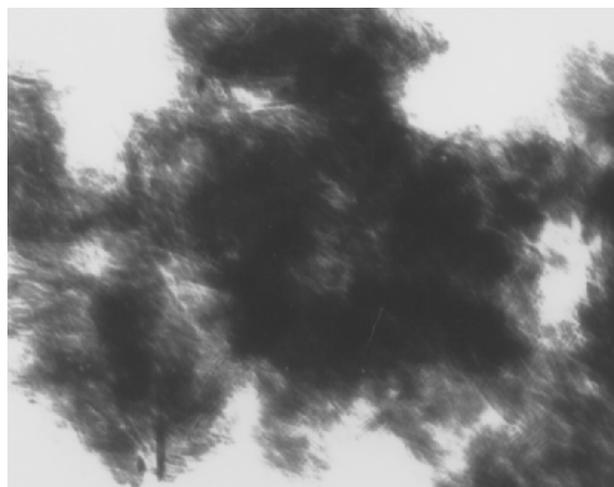
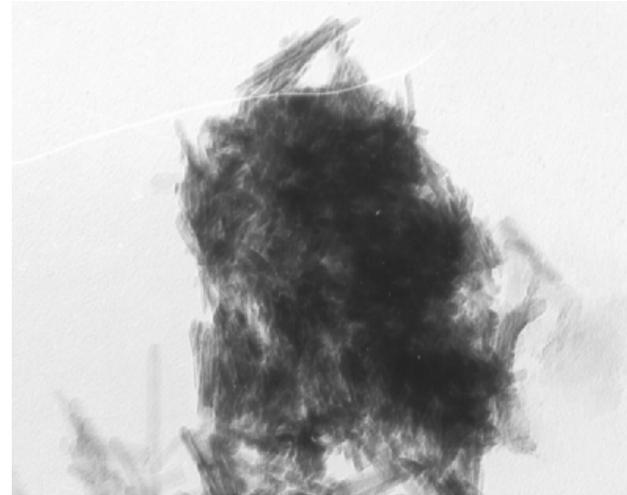
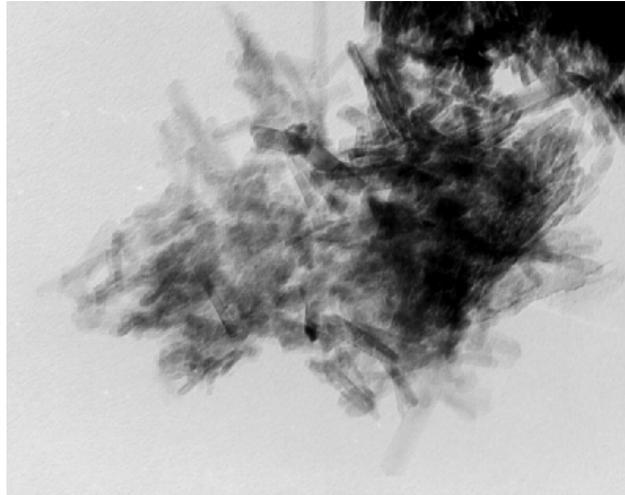


Figura 8.1.2f Campione T3 a pH 5 e $R = 0$ (controllo, foto 1-2) e 0.0001 (foto 3)

1-2



3-4

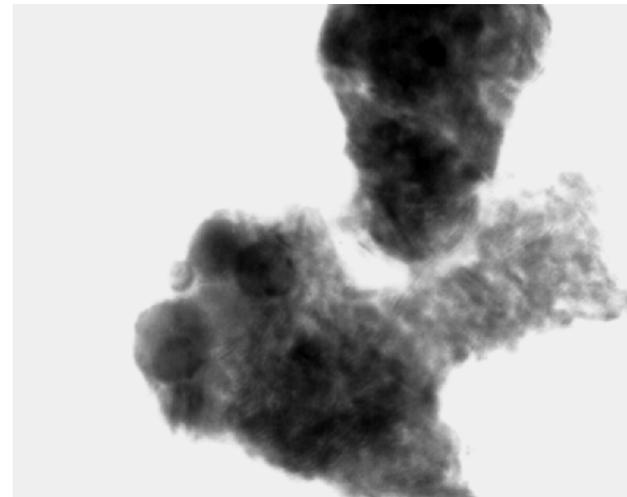
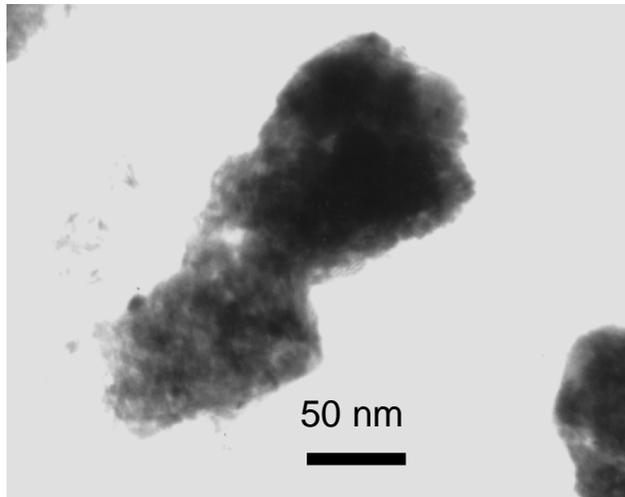
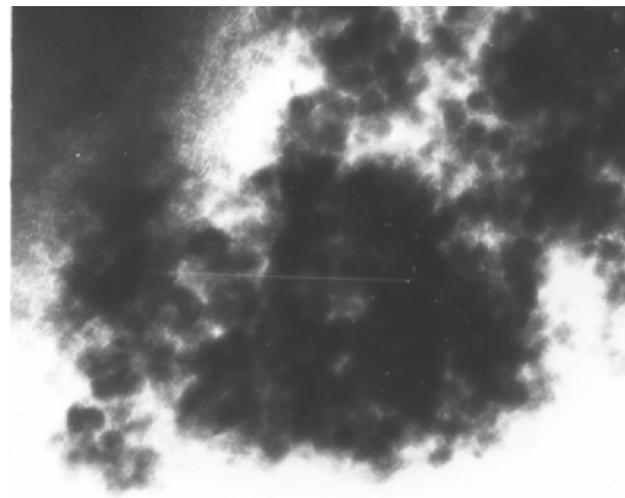
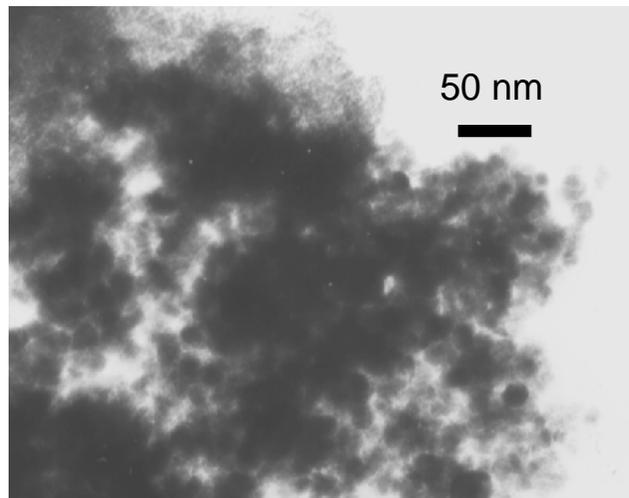


Figura 8.1.2g Campioni T3 a pH 5 e R = 0.001 (foto 1-2) e 0.01 (foto 3-4)

1-2



3-4

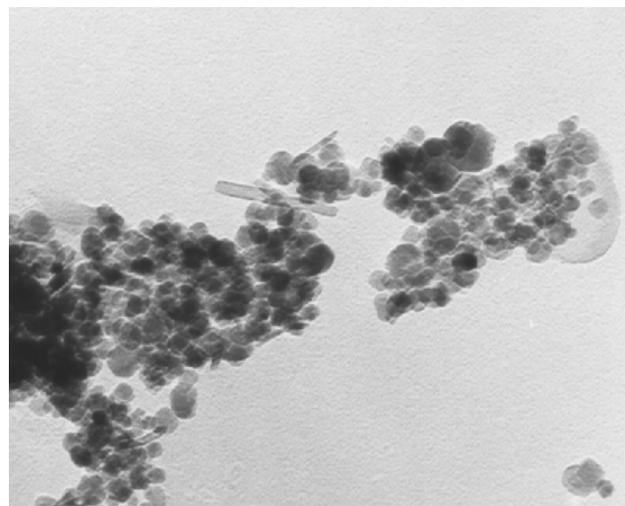
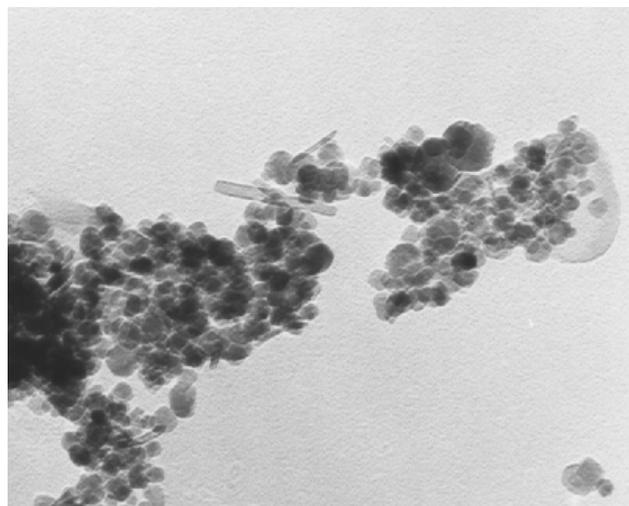
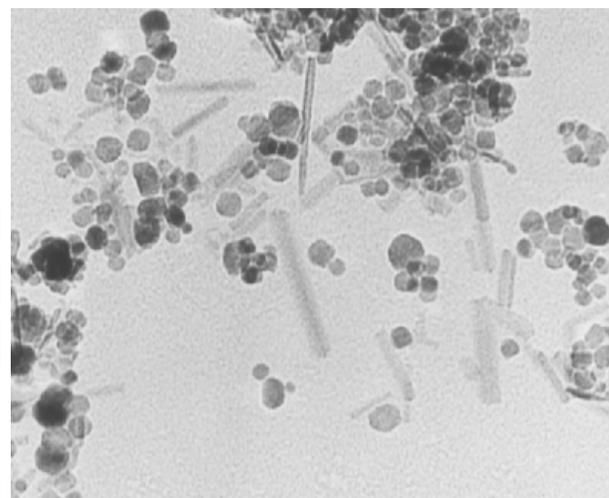
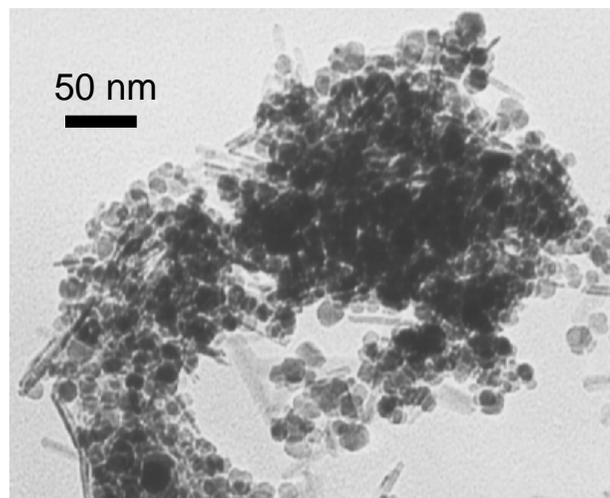


Figura 8.1.2h Campioni T3 a pH 5 e $R = 0.1$ (foto 1-2) e a pH 8 e $R = 0$ (controllo, foto 3-4)

1-2



3-4

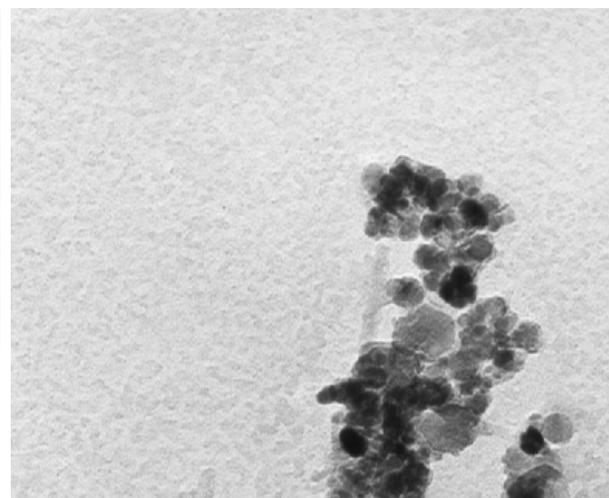
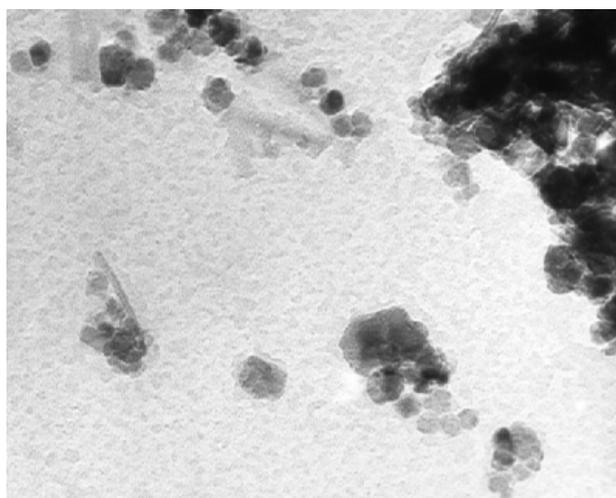
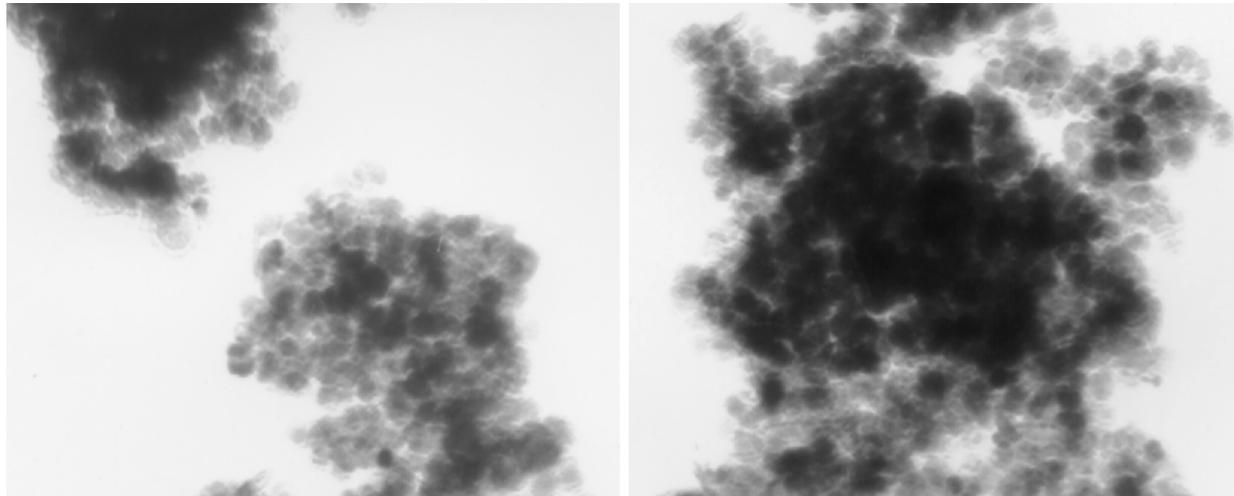


Figura 8.1.2i Campioni T3 a pH 8 e $R = 0.0001$ (foto 1-2) e 0.001 (foto 3-4)

1-2



3-4

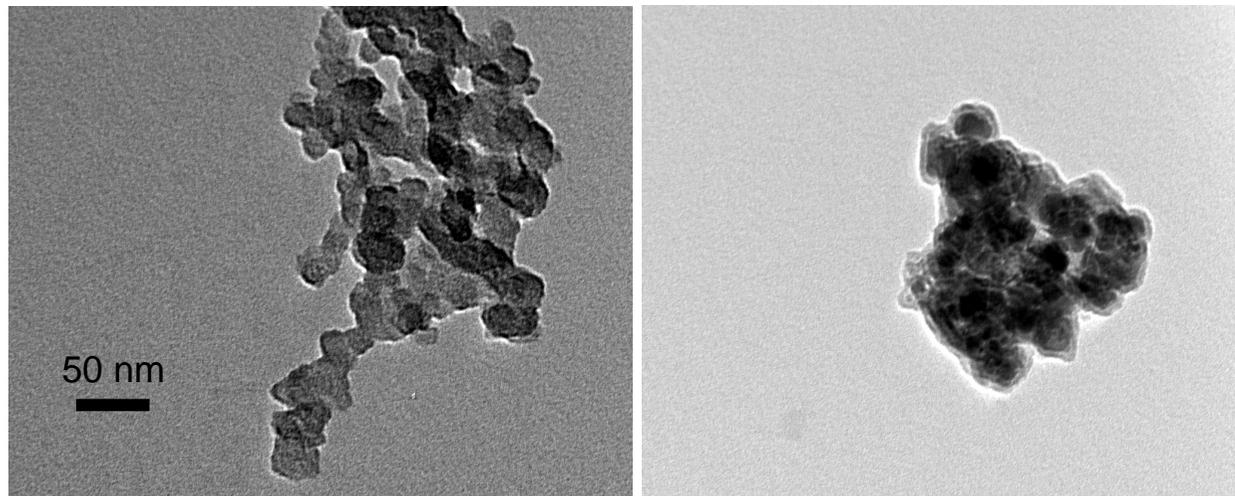


Figura 8.1.21 Campioni T3 a pH 8 e $R = 0.01$ (foto 1-2) e 0.1 (foto 3-4)

8.1.3 Osservazioni FT-IR

L'interpretazione degli spettri è stata realizzata grazie ai lavori di M. J. Wilson (1987), V. C. Farmer (1974) e V. C. Farmer & F. Palmieri (1975). Gli spettri IR dei campioni T4 sono stati comparati con quelli dei campioni T3 (non riportati).

Tutti i campioni mostrano idratazione (bande caratteristiche di assorbimento delle molecole d'acqua intorno a 3400 and 1630 cm^{-1}), in particolar modo i campioni T4. Inoltre, l'analisi IR di campioni non lavati ha evidenziato che le bande a 1109 and 1122 cm^{-1} , più intense per i campioni T3 a pH5, sono riconducibili alla presenza di impurità di NaClO_4 , come pure quelle intorno a 625-636 cm^{-1} . Tali risultati hanno messo in rilievo che nei campioni T3 la disidratazione è stata più efficiente, nei campioni T4 la dialisi ha consentito la riduzione drastica delle impurità e delle interferenze ad esse associate.

La goethite è presente in tutti i campioni indipendentemente dall'invecchiamento e dal pH delle soluzioni. Infatti, gli spettri IR presentano sempre le bande di assorbimento at 3153 (OH *stretching*), 891 and 799 cm^{-1} (OH *vibration*), caratteristiche di tale ossidrossido del Fe.

Per i campioni T3, tali bande differiscono per posizione, intensità e forma con la quantità di HA. Il campione con $R = 0.001$, sembra caratterizzato da un più basso contenuto di materiale amorfo e da una più ordinata cristallizzazione della goethite (più basso picco di assorbimento a 3400 cm^{-1} ; forma e rapporto tra l'intensità dei picchi della goethite, specifici per tale prodotto). Il con $R = 0.1$, presenta più basse frequenze per entrambi i segnali di vibrazione degli OH (886 e 792 a pH 5; 887 e 795 a pH 8). Ciò potrebbe essere causato sia da una maggiore interazione della goethite con gli acidi umici, a seguito della formazione di legami idrogeno, sia da una diversa morfologia dei cristalli (probabilmente più piccoli con più ampia superficie). A pH 5 si registra inoltre un forte assorbimento tra 400 and 700 cm^{-1} , probabilmente dovuto alla presenza di elevate quantità di idrossidi amorfi di Fe (probabilmente ferridrite).

Rispetto ai T3, nei campioni T4 i segnali OH *stretching* e OH *vibration* (3153, 891 and 799 cm^{-1}) della goethite appaiono, a pH 5, meno variabili con il rapporto HA/Fe(II), ed a pH 8, più intensi (in particolare per $R = 0.0001$ e 0.001).

A pH 5 la presenza di goethite è confermata dalle rilevanti bande intorno a 620, 406 e 276 cm^{-1} aventi forme e intensità relative tipiche di tale prodotto, mentre a pH 8 questi picchi risultano nascosti da quelli della maghemite a 636, 584 562 445 e 397 cm^{-1} . Dopo otto anni, le bande 20, 406 e 276 cm^{-1} risultano più intense e, quelle a 406 and 276 cm^{-1} , sono spostate verso più basse frequenze .

Non si può escludere la presenza di lepidocrocite (bande caratteristiche a 1022 e 1154 cm^{-1}) nei campioni T3 a pH 8, soprattutto con rapporti HA/Fe(II) elevati. Dopo 8 anni di invecchiamento delle soluzioni, non più rilevato alcun segnale associabile alla lepidocrocite.

L'aumento del contenuto di acidi umici con l'aumento del rapporto $R = \text{HA/Fe(II)}$ è testimoniato dal crescente assorbimento in corrispondenza delle bande intorno a 2900, 1630 and 1400 cm^{-1} osservabile però solo nei campioni T3 e non in quelli T4.

E' interessante notare che a pH 8 è sempre presente una più intensa banda di assorbimento dei C – H a 2900 cm^{-1} che non appare modificarsi nel tempo.

A pH 8, inoltre, in particolare nei campioni T3 a $R = 0.1$ e T4 a $R = 0.01$, i HA risultano in parte protonati (spalla a 1720 cm^{-1} e picco a 1200-1300 cm^{-1}). A pH 5, invece, sembra essere adsorbita sulla matrice minerale soprattutto la frazione polare dei HM (principalmente carboidrati, banda a 1032 cm^{-1}), specialmente nel campione T3 a $R = 0.1$.

8.1.4 Estrazioni chimiche selettive

Le quantità di ossidi di Fe a scarso ordine cristallino (Fe estratto in ossalato di ammonio) dei prodotti di precipitazione sono state espresse come percentuale del contenuto totale di Fe ($100 * \text{Fe}_{\text{ossalato}}/\text{Fe}_{\text{totale}}$). I risultati relativi ai campioni T3 e T4 sono riportati nelle tabelle 8.1.4a, 8.1.4b.

I precipitati T3 con $R = 0$ sono risultati caratterizzati da un contenuto di materiale poco cristallino a pH 5 e pH 8, rispettivamente del 29 e 95 % del $\text{Fe}_{\text{totale}}$. I precipitati T4 con $R = 0$ sono risultati caratterizzati da un contenuto di materiale poco cristallino a pH 5 e pH8, rispettivamente del 56 e 103 % del $\text{Fe}_{\text{totale}}$. Si osservano percentuali di $\text{Fe}_{\text{ossalato}}$ più elevate a pH 8 rispetto a quelle estratte a pH 5. Ciò potrebbe essere dovuto alla parziale dissoluzione della maghemite prodotta dall'ossalato di ammonio (Parfitt and Childs, 1988). All'aumentare di R, le quantità percentuali di $\text{Fe}_{\text{ossalato}}$ risultano variare in modo non costante.

I risultati ottenuti con le estrazioni chimiche non sono coerenti con le osservazioni al TEM, e con gli spettri FT-IR e XDR. Infatti, non si osserva la riduzione delle quantità percentuali di Fe estraibile in ossalato di ammonio, attesa con l'invecchiamento dei campioni né l'aumento di tali quantità con il rapporto R come conseguenza del disturbo prodotto dai HM alla cristallizzazione dei complessi formati in seguito all'ossidazione del Fe(II)

Tabella 8.1.4a *Quantità di ossidi amorfi di Fe nei campioni T3*

R = HA/Fe(II)	Fe _{totale}	Fe _{ossalato}	Fe _{ossalato} /Fe _{totale}
pH 5			
control	557	159	29%
0.0001	499	180	36%
0.001	516	60	12%
0.01	525	109	21%
pH 8			
control	541	513	95%
0.0001	556	445	80%
0.001	569	427	75%
0.01	535	513	96%

Tabella 8.1.4b *Quantità di ossidi amorfi di Fe nei campioni T4*

R = HA/Fe(II)	Fe _{totale}	Fe _{ossalato}	Fe _{ossalato} /Fe _{totale}
pH 5			
control	635	354	56%
0.0001	501	329	66%
0.001	480	126	26%
0.01	459	312	68%
pH 8			
control	566	584	103%
0.0001	529	464	88%
0.001	543	506	93%
0.01	544	544	100%

8.1.5 *Discussione dei risultati e considerazioni conclusive*

Durante la pedogenesi, il ferro è comunemente mobilizzato come Fe(II). Poche ricerche sono state condotte sull'influenza dei comuni costituenti della sostanza organica del suolo, sulle trasformazioni dei prodotti di ossidazione del Fe(II).

In questo lavoro, si riportano gli effetti di acidi umici (HA) sull'ossidazione di Fe(II) e conseguente formazione di ossidi/idrossidi di ferro, prodotti in soluzioni di perclorato di Fe(II) (0.01 M) in presenza di quantità diverse di HA (R: HACO₂H mol_c/ Fe(II) mol_c, pari a 0, 0.0001, 0.001, 0.01 e 0.1), in ambiente acido (pH 5.0) e alcalino (pH 8.0), dopo 1 settimana (T1), 1 mese (campioni T3) e 8 anni dalla preparazione delle soluzioni (campioni T4).

I risultati ottenuti dalle analisi strumentali (XDR, FT-IR, TEM) sono confrontabili.

In T1, T3 e T4, in assenza di HA, il materiale di precipitazione è risultato costituito, a pH 5, da goethite, a pH 8, in prevalenza da maghemite e da tracce di goethite. L'invecchiamento delle soluzioni determina, a pH 5, l'aumento della cristallinità della goethite, ed a pH 8, l'aumento della quantità di goethite. La maghemite risulta meno soggetta a variazioni di quantità e grado di cristallizzazione in funzione del tempo di invecchiamento delle soluzioni.

La presenza di HA in rapporti $R < 0.1$ non sembra aver influenzato la natura degli ossidi/idrossidi di Fe formati, che risultano anche confrontabili con quelli formati in assenza di HA. Essi, quindi, risultano costituiti, a pH 5, da goethite, a pH 8, in prevalenza da maghemite e da tracce di goethite. Si può notare, tuttavia, al crescere di R una variazione del grado di cristallinità della goethite. Con l'invecchiamento si osserva, come in assenza di HA, a pH 5, un aumento della cristallinità della goethite, ed a pH 8, un aumento della quantità di goethite.

Infine, i complessi ottenuti a $R = 0.1$ (solo campioni T1 e T3) mostrano significative differenze nella natura dei prodotti di precipitazione rispetto a quelli ottenuti a $R < 0.1$. Sia in ambiente acido che alcalino la presenza di HA ha ridotto la formazione di goethite. A pH 5 le stesse condizioni hanno, inoltre, condotto alla formazione di quantità consistenti di complessi Fe-HA e di ossidi di Fe a scarso ordine cristallino (probabilmente ferridrite). È stato dimostrato che la presenza di acido citrico, un acido organico a basso peso molecolare, a bassi rapporti citrato/Fe(II) (0.0005-0.005) favorisce la formazione di cristalli di lepidocrocite a scapito della goethite. A più alto rapporto citrato/Fe(II) (0.01 - 0.1), la cristallizzazione risulta disturbata e il sistema evolve verso la formazione di ossidi non cristallini del Fe (Krishnamurti e Huang, 1991, 1993).

Il Fe(II), ossidato in condizioni leggermente acide, inizialmente dà la “*green solution complexes o green rusts*”, caratterizzata dalla struttura a fogli sovrapposti descritta da Misawa et al. (1974), e che successivamente, per ulteriore ossidazione, evolve in goethite (Murray, 1979). In presenza di elevate quantità di HA $R = 0.1$), la formazione di complessi Fe-HA probabilmente inibisce la sovrapposizione dei foglietti e la formazione della struttura intermedia descritta da Misawa et al. (1974) e determina la formazione dell’ossido a scarso ordine cristallino, ferrihydrite (Krishnamurti and Huang, 1993)

Il Fe(II), ossidato in condizioni leggermente alcaline, inizialmente dà la “*green solution complexes o green rusts*”, caratterizzata dalla struttura a fogli sovrapposti descritta da Misawa et al. (1974), e che successivamente, per disidratazione e ulteriore ossidazione, evolve in maghemite (Bernal et al., 1959; Misawa et al., 1974). In presenza delle quantità di HA nei rapporti HA/Fe(II) studiati, non sembra avere un grosso impatto sulla natura e cristallinità dei prodotti di ossidazione di Fe(II).

In conclusione i risultati della presente sperimentazione confermano che in assenza di HA la goethite e la maghemite sono gli ossi/ossidrossidi di Fe più stabili derivanti dall’ossidazione di Fe(II) a pH 5.0 e 8.0, rispettivamente. A pH 5, elevate quantità di HA ($R = 0.1$) modificano impediscono la cristallizzazione della goethite e portano alla formazione di ferrihydrite.

9. BIBLIOGRAFIA

- Adamo P., Arienzo M., Bianco M. R., Violante P., 2002. Heavy metal contamination of the soils devoted to stocking raw materials in the former ILVA iron-steel industrial plant of Bagnoli (south Italy). *The Science of the Total Environment* 295: 17-34
- Alloway B.J. 1995. The origin of heavy metals in soils. pp.38-57 In: Alloway B.J. (Ed.), *Heavy metals in soils*, 2nd ed. Blackie Academic and Professional, London
- Álvarez E., Fernández Marcos M. L., Vaamonde C., Fernández-Sanjrjo M. J.. 2003. Heavy metals in the dump of an abandoned mine in Galicia (NW Spain) and in spontaneously occurring vegetation, *The Science of the Total Environment* 313: 185-197
- Amalfitano C., Quezada R. A., Wilson M. A. and Hanna J. V. 1995. Chemical composition of humic acids: a comparison with precursor "light fraction" litter from different vegetations using spectroscopic techniques. *Soil Sci.* 159: 391-401.
- Anderson T. 1997. Development of Phytoremediation Handbook: Consideration for Microbial Degradation in the Rhizosphere. <http://es.epa.gov/ncercq/ru/index.html>
- Angelone M., e Bini C. 1992. Trace elements concentrations in soils and plants of western Europe. pp. 19-60. In Adriano, D.C., editor. *Biogeochemistry of trace metals*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL
- Annersten, H. and Hafner, S.S. 1973. Valency distribution in synthetic spinels of the series Fe₃O₄-g-Fe₂O₃. *Z. Kristallogr.* 137: 321-340.
- Antonovics J., Bradshaw A.D., Turner RG. 1971 Heavy metal tolerance in plants. *Adv Ecol Res.* 7:1-85.
- Arienzo M., Adamo P., Cozzolino V., 2004. The potential of *Lolium perenne* for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site. *The Science of the Total Environment* 319: 13-25
- Baker A.J.M. Proctor J., 1990. The influence of cadmium, copper, lead and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles. *Plant Syst. Evol.* 173:91-108.
- Baker A.J.M, Reeves R. D., McGrath SP. 1991. *In situ* decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal-accumulating plants – a feasibility study. *In situ Bioreclamation*, eds RE Hinchee, RF Olfenbuttel, pp 539-544, Butterworth-Heinemann, Stoneham MA
- Baker A J. M., McGrath S.P., Sidoli C.M.D., Reeves R. D., 1994a. The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soil using crops of metal-accumulating plants *Resour. Conserv. Recycl.* 11: 41-49
- Baker A J. M., Reeves R. D., Hajar A.S.M., 1994b. Heavy metals accumulation and tolerance in British population of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J and C. Presl (Brassicaceae). *New Phytol.* 127: 61-68

- Baker A.J.M., McGrath S.P., Reeves R.D., Smith J.A.C. 2000. Metal Hyperaccumulator Plants: A Review of the Ecology and Physiology of a Biological Resource for Phytoremediation of Metal-Polluted Soils. In: "Phytoremediation of Contaminated Soil and Water", ed. CRC Press LLC, 85-107
- Bañuelos G.S., Ajwa H.A., Terry N., Downey S., 1997. Phytoremediation of Selenium-Laden Effluent Fourth International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium, April 28-May 1, New Orleans, LA. 3:303
- Barceló J., Poschenrieder C. 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *J. Plant Nutr.* 13:1-37.
- Baron M., Arellano J.B., Gorge J.L. 1995. Copper and photosystem II: A controversial relationship. *Physiol. Plant.* 94:174-180.
- Baumann A., 1885. Das Verhalten von Zinksaten gegen Pflanzen und im Broden. *Landwirtsch. Vers.-Stantn* 31:1-53.4
- Bernal, J.D., Dasgupta, D.R. and Mackay, A.L. 1959. The oxides and hydroxides of iron and their structural interrelationships. *Clay Min. Bull.* 4: 15-30.
- Beveridge T.J. Schultze-Lam S., Thompson J.B., 1995. Detection of anionic sites on bacterial walls, their ability to bind toxic heavy metals and form sedimentable flocs and their contributions to mineralization in natural freshwater environments. In: Allen H.E., Huang C.P., Bailey G.W., Bowers A.R. Metal speciation and contamination of soil. Lewis Publishers, Boca Raton, F.L.
- Bitton G., Koopman B. 1994. Bacterial and enzymatic bioassays for toxicity testing in the environment. *Review of Environmental Contamination and Toxicology* 125:1-22
- Blaylock M.J. and Huang J.W., 1999. Phytoextraction of metals. In *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*, eds, I Raskin, BD Ensley, pp 53-70, John Wiley & Sons Inc, New York, NY
- Bowen H.J.M. 1979. *Environmental Chemistry of the Elements*. Academic Press. London
- Broekaert J.A.C., Gucer S., and Adams F. 1990. Metal speciation in the environment. Proc. NATO Adv. Study Inst. Cesme, Turkey 9-29 October 1989, Springer, Berlin
- Brummer G.W., Gerth J., and Herms U. 1986. Heavy metal species, mobility and availability in soils. *Z. Pflanzenernehr. Bodenk.* 149:382-398
- Buondonno A. e Coppola E., 2000. Metodi di Dissoluzione Selettiva, *In: Metodi di Analisi Mineralogica del Suolo* (Adamo P., ed.), FrancoAngeli, Milano
- Burken J.G., Schnoor J.L., 1997. Uptake and metabolism of atrazine by poplar trees. *Environ. Sci. Tech.* 31:1399-1406
- Burns R.G., Davis J.A., 1986. The microbiology of soil structure. *Biol. Agric. Hortic.* 3:95-113.

- Calace N., Petronio B. M., Picciolo M., Pietroletti M. 2002. Heavy Metal Uptake By Barley Growing in Polluted Soils: Relationship with Heavy Metal Speciation in Soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 33 (1 & 2), 103-115.
- Carreras H. A., Gudiño G. L., Pignata M. L., 1998; Comparative biomonitoring of atmospheric quality in five zones of Cordoba city (Argentina) employing the transplanted lichen *Usnea* sp. *Environmental Pollution* 103:317-325. Elsevier.
- Chaney R.L. 1983. Plant uptake of inorganic waste. In *Land Treatment of Hazardous Waste*, eds J.E. Parr, P.B. Marsh, J.M. Kla, pp 50-76, Noyes Data Corp, Park Ridge II
- Chaney Rufus L., Malik M., M. Li. Yin, Brown S.L., Brewer E. P., Angle S.J., Baker A.J.M. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Current opinion in Biotechnology*, 8:279-284.
- Chaney R.L., Li Y.M., Angle J.S., Baker A.J.M., Reeves R.D, Brown S. L., Homer F.A., Malik M., Chin M. 1999. Improving metal hyperaccumulators wild plants to develop commercial phytoextraction systems: Approaches and progress. In *Phytoremediation of contaminated Soil and Water*, eds N. Terry, G.S. Bañuelos, CRC Press, Boca Raton, FL
- Chaney R.L., Brown S.L., Li Y.M., Angle J.S., Stuczynski T.I., Daniels W. L., Henry C.L., Siebelec G., Malik M., Ryan JA., Compton H. 2000. "Progress in Risk assessment for Soil Metals and In-situ Remediation and Phytoextraction of Metals from Hazardous Contaminated Soils". U.S-EPA "Phytoremediation: State of Science" May 1-2, 2000, Boston, MA
- Chao T.T., and Zhou L. 1983. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 47:225-232
- Chlopecka A., Bacon J.R., Wilson M.J., and Kay J. 1996. Forms of cadmium, lead, and zinc in contaminated soils from southwest Poland. *J. Environ. Qual.* 25:69-79
- Clemens S., 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta.* 212:475-486.
- Clevenger T.E. 1990. Use of sequential extraction to evaluate the heavy metals in mining wastes. *Water Air Soil Pollution* 50, 241-254
- Cobbett C.S., 2000. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy- metal detoxification. *Current Opinion in Plant Biology.* 3: 211-216.
- Corbisier P., van der Lelie D., Borremans B., Provoost A., de Lorenzo V., Brown N.L., Lloyd J.L., Csoregi E., Johansson G., Mattiasson B. 1999. Whole-cell and proin based biosensor for detection of bioavailable heavy metals in environmental samples. *Analytica, Chemica Acta* 387, 235-244
- Cornell R.M. and Schwertmann, U. 1996. *The Iron Oxides. Structure, properties, reactions, occurrence and uses.* VCH, Weinheim.
- Crowley D.E., Wang YC, Reid CPP, Szansiszlo P.J. 1991. Mechanism of iron acquisition from siderophores by microorganisms and plants. *Plant and Soil* 130: 179-198

- Cunningham S.D., Berti W.R. 1993. Phytoremediation of contaminated soils: Progress and Promise – In: Symposium on bioremediation and bioprocessing. 38(2) 265-268 American Chemical Society, Division of Petroleum Chemistry. Washington, D.C.
- Davidson C.M., Ferreira P.C.S., and Ure A.M. 1999. Some sources of variability in application of the three-stage sequential extraction procedure recommended by BCR to industrially-contaminated soil. *Fresenius J. Anal. Chem.* 363:446-451
- De Pieri L.A., Buckley W.T., Kowalenko C.G., 1996. Micronutrient concentrations of commercially grown vegetables and of soils in the Lower Fraser Valley of British Columbia. *Can. J. Soil. Sci.* 77:51-57.
- Del Rio M., Font R., Almela C., Vélez D., Montoro R., De Haro Bailón A.. (2002) Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guardamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine, *Journal of Biotechnology* 98: 125-137
- Ebbs D.S., Lasat MM, Brady D.J., Cornish J, Gordon R, Kochian L.V. 1997. Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated site. *J. Envir. Qual.* 26:1424-1430
- EPA 2000. Introduction to phytoremediation. Washington: U.S. Environmental Protection Agency; EPA/600/R-99/107
- Ernst WHO, Verkleij JAC, Schat H. (1992) Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica.* 41:229-248.
- Ernst WHO, 1998. Effects of heavy metals in plants at the cellular and organismic level. In: Schüürmann G., Markert B., (eds.). *Ecotoxicology*, Wiley, New York, Spektrum, Heidelberg, pp. 587-620.
- Ernst W. H. O., 2005. Phytoextraction of mine wastes – Options and impossibilities, *Chemie der Erde Geochemistry* S1, 29-42
- Essington M.E., Mattigod S.V. 1991. Trace element solid-phase associations in sewage sludge and sludge-amended soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55:350-356
- Feitknecht, W. 1959. Über die Oxydation von festen hydroxyverbindungen des eisens in wässrigen lösungen. *Z. Elektrochem.* 63: 34-43.
- Förstner U. 1985. Chemical forms and reactivities of metals in sediments. pp. 1-31. In Leschsber, R., Davis, R.A., and L'Hemite, P. (eds.). *Chemical methods for assessing bioavailable metals in sludges and soils.* Elsevier, London
- Freedman, B.. Hutchinson T.C.. 1981. Sources of metal and elemental contamination of terrestrial environments. 35-94. In N.W. Lepp (ed). *Effect of heavy metal pollution in plants.* Applied Science Publ., London.
- Frey B., Keller C., Zierold K., Schulin R. 2000. Distribution of Zn in functionally different leaf epidermal cells of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Cell Environ.* 23: 675-687
- G.S.R. Krishnamurti & P. M. Wuang, 1991. *Clays and Clay Min.*, 39: 1-28

- Gallego S M, Benavides M P, Tomaro M L 1996 Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement oxidative stress. *Plant Sci.* 121, 151-159.
- Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana. Regolamento recante criteri, procedure e modalità per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati, ai sensi dell'articolo 17 del decreto legislativo 5/2/1997, n. 22, e successive integrazioni e modificazioni. 1999; 471:67.
- Goldsbrough P. 2000. Metal tolerance in plants: the role of phytochelatins and metallothioneins. *In*: Terry N., Banuelos G., eds. *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press LLC, 221-233.
- Hagemeyer J., Breckle S.W., (1996). Growth under trace element stress. *In*: Waisel Y., Eshel A., Kafkafi U. (eds). *Plant roots: the hidden half*. 2nd edn. Dekker, New York, pp. 415-433.
- Hall, J. L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 53, N. 366:1-11.
- Hammer D. and Keller C. 2002. Changes in the Rhizosphere of metal-Accumulation Plants Evidenced by Chemical Extractants. *J. Environ. Qual.* 31:1561-1569
- Hare L.; Tessier A. 1996. Predicting Animal Cadmium Concentrations in Lakes. *Nature*, 360: 430-468.
- Hartman W.J.Jr. 1975. An evaluation of land treatment of municipal wastewater and physical siting of facility installations. Washington DC; US Department of Army
- Hlavay J., Prohasca T., Weisz M., Wenzel W.W., Stinger G.J. 2004. Determination of trace elements bound to soils and sediment fractions (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* 76: 415-442
- Hoffmann W.F., Barber S.A. 1971. Phosphorus uptake by wheat (*Triticum aestivum*) as influenced by ion accumulation in the rhizocylinder. *Soil. Sci.* 112: 256-262.
- International Humic Substances Society (IHSS) 1985. Outline of humic and fulvic acids extraction procedure. *Communications of the IHSS, Colorado School of Mines*
- JCPDS. 1974. Selected powder diffraction data for minerals. JCPDS, International Centre for Diffraction Data, Swarthmore, PA. U.S.A.
- JCPDS. 1981. Selected powder diffraction data for minerals. JCPDS, International Centre for Diffraction Data, Swarthmore, PA. U.S.A.
- Jiang W, Liu D, Li H 2000. Effects of Cu on root growth, cell division, and nucleolus of *Helianthus annuus* L. *Elsevier. The science of tota Environ.* 256, 59-65.
- Kabata-Pendias A. 2001. Trace elements in soils and plants, 3rd ed. CRC Press Inc., Boca Raton, FL
- Kamnev AA, Van der Lelie D. 2000. Chemical and biological parameters as tools to evaluate and improve heavy metal phytoremediation. *Biosci Rep* 20: 239-258.

- Kauppi M., 1980. Fluorescence microscopy and microfluorometry for the examination of pollution damage in lichens. *Annales Botanici Fennici*. 17:163-173.
- Kayser A, Wenger K., Keller A., Attinger W., Felix H., Gupta S., Schulin R., 2000. Enhancement of phytoextraction of Zn Cd and Cu from calcareous soil: The use of NTA and sulphur amendments. *Environ. Sci. Technol.* 34: 1778-1783
- Kayser A., 2000. Evaluation and enhancement of phytoextraction of heavy metals from contaminated soils. Diss ETH no. 13563. swiss Fedral Inst. Of Technol., Zürich
- Kitagishi K., Yamane I., Eds., 1981. Heavy metal pollution in soils of Japan, Japan Science Society Press, Tokio. pp. 302.
- Knight B., Zhao F.J., McGrath S.P., Shen Z.G., 1997. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* in contaminated soils and its effects on the concentration and chemical speciation of metals in soil solution. *Plant soil* 197: 71-78
- Knight B.P., Chaudri A.M., McGrath SP., Giller K.E. 1998. Determination of chemical availability of cadmium and zinc in soils using inert soil moisture samplers. *Env. Poll.* 99: 293-298
- Kovalevsky AL., 1969 adsorbition of natural radioactive elements in plants. *Trudy Buryay Inst. Yestvestvenn., Nauk.* 2:195
- Kramer P. A., Zabowsky D., Scherer G., Everett R. L., (2000) Native Plant Restoration of Copper Mine Tailings: II. Field Survival, Growth, and Nutrient Uptake. *J. Environ. Qual.* 29:1770-1777.
- Krishnamurti G.S.R. and Huang P.M. 1991. Influence of citrate on the kinetics of Fe(II) oxidation and the formation of iron oxyhydroxides. *Clays and Clay Minerals* 39: 28-
- Krishnamurti G.S.R. and Huang P.M. 1993. Formation of lepidocrocite from Fe(II) solutions: Stabilization by citrate. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57: 861-867 .
- Lambinon, J.; Auquier, P. 1963. La flore et la vegetation des terrains calaminaires de la Wallonie Septentrionale et de la Rhenanie Aixoise. Types chorologiques et groups ecologiques. *Natura Mosana*, 16:113-132.
- Lasat M.M., 2002. Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanism. *J. Environ. Qual.* Jan-Feb; 31(1):109-20
- Leal A., Gomez M., Sanchez-Raya J. A., Yaněz J., Recalde L. (1972). Effect of boron absorption on accumulation and distribution of phosphate, paper presented at 3rd Coll. Le Contrôle de l'adimentation des Plantes Cultivées, Budapest, September 4. 763.
- Lehoczky E., Kiss Z. 2002. Cadmium and Zinc uptake by Ryegrass (*Lolium perenne* L.) in relation to soil metals. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 33, Nos. 15-18, pp. 3177-3187.
- Lin J, Jiang W, Liu D 2003. Accumulation of copper by roots, hypocotyls, cotyledons and leaves of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Elsevier Bioresource Technology* 86, 151-155.

- Luna C.M., Gonzalez C.A., Trippi V.S., 1994. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant. Cell. Physiol.* 35:11-15.
- Madejon P., Murillo J.M., Marañón T., Cabrera F., Soriano M.A. (2003) Trace element and nutrient accumulation in sunflower plants two years after the Aznacollar mine spill
- MAFF. 1986. Advice on avoiding pollution from manures and other slurry wastes. MAFF Booklet 2200. MAFF Publications, London
- Mattigod S.V., Page A.L., and Thornton I. 1986. Identification of some trace element minerals in a mine-waste contaminated soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50:254-258
- McGrath S.P., Shen Z.G., Zhao F.J., 1997. Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils. *Plant Soil* 188: 153-159
- McLaren R.G., Crawford D.V., 1973. Studies on soil copper: I. The fractionation of copper in
- Mehra O.P. and Jackson N.L., 1960. Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. *Clays and Clay Minerals*, 7th Conf., 317-327
- Miller R.M., Jastrow J.D. 1990. Hierarchy of root and mycorrhizal fungal interactions with soil aggregation. *Soil Biol. Biochem.* 22:579-584.
- Misawa, T., Hashimoto, K. and Shimodaira, S. 1974. The mechanism of formation of iron oxide and oxyhydroxides in aqueous solutions at room temperature. *Corros. Sci.* 14: 131-149.
- Moffet, J. W.; Brand, L. E. 1996. Production of Strong, Extracellular Cu Chelators by Marine Cyanobacteria in Response to Cu Stress. *Limnol. Oceanogr.* 41:388-395.
- Morel J. L., Mench M., Guckert, A. 1986. Measurement of Pb²⁺, Cu²⁺ and Cd²⁺ binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots.- *Biol. Fertil. Soils* 2:29-34.
- Moustakas M., Lanaras T., Symeonidis L., Karataglis S., 1994. Growth and some photosynthesis characteristics of field grown *Avena sativa* under copper and lead stress. *Photosynthetica.* 30:389-396.
- Murillo J M, Marañón T, Cabrera F, López R 1999. Accumulation of Heavy metals in sunflower and sorghum plants affected by the Guadiamar spill. *Elsevier The Science of the Total Environ.* 242, 281-292.
- Murray, J.M. 1979. Iron oxides. *Rev. Mineralogy.* 6: 47-98.
- Nanda Kumar P.B.A., Dushenkov V, Motto H., Raskin I., 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Tech.* 29(5): 1232-1238
- Nash T. H., III. 1976. Sensitivity of lichens to NO₂ fumigations. *The Bryologist.* 79:103-106.
- Norland M R, Veith D L., 1995. Revegetation of coarse taconite iron ore tailing using municipal solid waste compost. *J. Haz. Mat.* 41: 123-134

- Parfitt R.L. and Childs C.W. 1988. Estimation of forms of Fe and Al: A review, and analysis of contrasting soils by dissolution and Mössbauer methods. *Austr. J. Soil*
- Park C.H., Keyhan M., Matin A. 1999. Purification and characterization of chromate reductase in *Pseudomonas putida*. *Abs. Gen. Meet. American Soc. Microbiol* 99: 536
- Paton G.I., Campbell C.D., Glover L.A., and Killham K. 1995. Assessment of bioavailability of heavy metals using lux modified constructs of *Pseudomonas fluorescens*. *Lett. Appl. Microbiol.* 20:52-56.
- Paton G.I., Rattray E.A.S., Campbell C.D., Meussen H., Cresser M.S., Glover L.A., and Killham K. 1997. Use of genetically modified microbial biosensors for soil ecotoxicity testing. pp. 397-418. In Pankhursts, C.S., Doube, B., and Gupta, V., eds., *Bioindicators of soil health*. CAB International, Wallingford, UK.
- Pichtel J., Anderson M., 1997. Trace metal bioavailability in municipal solid waste and sewage sludge composts. *Biores. Technol.* 60:223-229.
- Pichtel, J.; Salt, C. 1998. Vegetative Growth and Trace Metal Accumulation on Metalliferous Wastes. *J. Environ. Qual.* 27: 618-624.
- Pierzynsky G.M., Schnoor M.K., Banks., Tracy., Licht L.A., Erickson L.E., 1994. Vegetative remediation of superfund sites. *Mining and its environmental impact*. Royal Soc. Chem. *Issues in Environ Sci. Technol.* 1, 49-69
- Prasad M. N. V., Hagemeyer J. 1999. *Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems*. Springer. Germany.
- Pueyo M., Rauret G., Lück D., Yli-Halla M., Muntau H., Quevauviller Ph., López-Sánchez J.F. 2001. Certification of the extractable contents of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in a freshwater sediment following a collaboratively tested and optimised three-step sequential extraction procedure . *J. Environ. Monit.* 3:243-250
- Punz W.F., Sieghardt H. 1993. The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. *Env. Exp. Bot.* 33:85-98.
- Raskin I., Naida Kumar P.B.A., Dushenkov S., Sal D.E. 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 5:285-290
- Raskin I., 2000. <http://www.aspb.org/publicaffairs/briefing/phytoremediation.cfm>
- Remon E., Bouchardon J.-L., Cornier B., Guy B., Leclerc J.-C., Faure O., (2005). Soil characteristics, heavy metal availability and vegetation recovery at a former metallurgical landfill: Implications in risk assessment and site restoration, *Environmental Pollution* 137: 316-323
- Rengel Z. 1997. Mechanisms of plant resistance to toxicity of aluminum and heavy metals. In: Basra A.S., Basra R.K (eds). *Mechanisms of environmental stress resistance in plants*. Harwood Amsterdam, pp 241-276. *Res.* 26: 121-144 .
- Riffaldi R., e Levi-Minzi R. 1989. Il controllo degli inquinamenti in agricoltura: gli inquinanti inorganici. pp.568-577. In Sequi, P. *Chimica del suolo*. Pàtron Editore, Bologna

- Romheld V., Marschner H., 1986. Mobilization of iron in the rhizosphere of different plant species. *Adv. Plant. Nutr.* 2: 155-204
- Ross S.M., 1994. Retention, transformation and mobility of toxic metals in soils. In: Ross S.M. (ed). *Toxic metals in soil-plant systems*. Wiley, Chirchester. pp 63-151.
- Salt D.E., Blaylock M., Kumar P.B.A. N., Dushenkov V., Ensley B. D., Chet I., Raskin I. 1995. Phytoremediation: A novel strategy for removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotech.* 13: 468-475
- Salt D.E., Prince R.C., Baker A.J.M., Raskin I., Pickering I.J. 1999. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 33:713-717
- Saxena PK, KrishnaRaj S, Dan T, Perras MR, Vet6takkorumakankav NN (1999) Phytoremediation of heavy metal contaminated and polluted soils. In: Prasad MNV, Hagemeyer J, editors. *Heavy metal stress in plants. From molecules to ecosystems*. Berlin: Springer-Verlag. p. 305-329
- Schreiner R.P., Mihara K.L., McDaniel H., Bethlenfalvay G.J., (1997). Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Plant Soil.* 188:199-209
- Schwertmann U. 1964. Differenzierung der eisenoxide des bodens durch extraktion mit ammoniumoxalat-losung. *Z. Pflanzenernahr. Dung. Bodenk.* 105: 194-202.
- Senesi N., 1992. Metal-humic substance complexes in the environment. Molecular and mechanistic aspects by multiple spectroscopic approach. In: Adriano D.C. (ed.). *Biogeochemistry of trace elements*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. pp. 429-496
- Sims J.T., Kline J.S., 1991. Chemical fractionation and plant uptake of heavy metals in soils amended with co-composted sewage sludge. *J. Environ. Qual.* 20:387-395.
- Singh M., Dahiya S.S., 1976. Effect of calcium carbonate and iron on the availability and uptake of iron, manganese, phosphorus and calcium in pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Soil* 44:511-520
- Smith R. A. H., A. D. Bradshaw, 1979. The use of metal tolerant plant populations for the reclamation of metalliferous wastes. *J. Appl. Ecol.* 16: 595-612
- Sposito G., 1989. *The environmental chemistry of aluminium*. CRC Boca Raton FL. USA.
- Symeonidis L., Karataglis S., 1992. Interactive effects of cadmium, lead and zinc on root growth of two metal tolerant genotypes of *Holcus lanatus* L. *Biometals* 5:173-178.
- Tessier A., Campbell P.G.C., and Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analyt. Chem.* 51:844-851
- Thornton, I. 1981. Geochemical aspects of the distribution and form of heavy metals in soils. 1-33. In: N.W. Lepp (ed). *Effect of heavy metal pollution in plants*. Applied Science Publ., London.
- Tisdall J.M., Oades J.M., 1982. Organic matter and water stable aggregation in soils. *J. Soil. Sci.* 33:141-163.

- Ure A., Quevauviller H., Muntau H., and Griepink B. 1993.a. Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the CEC. *Int. J. Environ. Analyt. Chem.* 51:135-151
- Ure A., Quevauviller H., Muntau H., and Griepink B. 1993.b. Improvements in the determination of extractable contents of trace metals in soil and sediment prior to certification. *Chemical Analysis. BCR information. Commission of the European Communities, Luxembourg*
- Ure, A., Davidson, C.M. 2002. Chemical speciation in soils and related materials by selective chemical extraction. In: Ure, A., Davidson, C.M., 2002 (Eds.). *Chemical Speciation in the Environment. Blackwell, Oxford*
- Van der Lelie D, Schwitzguebel JP, Glass DJ, Vangrosveld J, Baker A 2001. Assessing phytoremediation's progress in the United States and Europe. *Environ. Sco. Technol.* 35: 447-452
- Vangrosveld J, Van Assche F, Sterckx J, Clijsters H., 1993. Rehabilitation studies on an old non-ferrous waste dumping ground: effects of metal immobilization and revegetation. *Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environment*, In: Allen R J, Nriagu J O, (Eds), CEP Consultants, Edinburgh, 563-566.
- Vangrosveld J, Van Assche F, Clijsters H., 1995. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: in situ metal immobilization and revegetation *Environmental Pollution*, 87: 51-59
- Vangrosveld J, Van Assche F, Clijsters H., 1991. Reclamation of a 'desert like' site in the North east of Belgium: Evolution of the metal pollution and experiments in situ. *Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environment*, ed. J. G. Farmer, CEP Consultants, Edinburgh, 58-61
- Vangrosveld J., Clijsters H. 1994. Toxic effects of metals. In: *Plants and Chemical Elements . Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity.* Ed. M. E. Farago. 149-177. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany.
- Violante P., 2000. *Metodi di Analisi Chimica del suolo.* Ministero delle politiche agricole e forestali. Franco Angeli. Milano
- Violante P. 2002. *Chimica del suolo e nutrizione delle piante.* Edagricole Calderini, Bologna
- Wong M. H., 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere* 50: 775-780
- Wu L., Bradshaw A.D, Thurman D.A. 1975. The potential for evolution of heavy metal tolerance in plants. III. The rapid evolution of copper tolerance in *Agrostis stolonifera*. *Heredity, London*, 34:165-287.
- Zeien H. and G. Bruemmer, 1991. Assessment of mobility and binding form of heavy metals in soils using sequential extraction. (In German). *Mitt. Dtsch. Bodenkd. Ges.* 66 (1): 53