

Impact of heavy metal contaminated soils on *Miscanthus x giganteus*: an *in situ* experiment

di Giulia Bastia

Introduzione

L'impatto ambientale causato dall'inquinamento da parte di attività antropogeniche è un problema globale e complesso dovuto ai risvolti che questo ha dimostrato di avere sugli ecosistemi e sulla salute umana. I metalli pesanti sono considerati una delle principali cause di inquinamento del suolo (Singh and Kalamdhad 2011; Panagos et al. 2013) e la loro non biodegradabilità risulta in una persistenza prolungata nell'ambiente contaminato. Inoltre, differenti tipologie di contaminanti presentano diversi effetti in base al loro potenziale cancerogeno, di dispersione, di solubilità in acqua e di biodisponibilità (Panagos et al. 2013).

I metodi fisico-chimici si sono dimostrati inappropriati per bonificare ampie superfici a causa degli alti costi associati ad essi e agli effetti negativi che sono stati riscontrati sugli ecosistemi. Per questi motivi la ricerca ha puntato sullo studio e sullo sviluppo di metodologie innovative e naturali, in grado di migliorare la qualità dell'ambiente e, allo stesso tempo, ridurre il rischio associato alla presenza di contaminanti.

Inquadramento del sito e problematiche

In questo lavoro è stato studiato il sito "Metaleurop Nord", localizzato nella regione francese Nord Pas De Calais, nel cuore dell'area industriale, ed è considerato una delle aree più contaminate in Europa. Il sito ha subito per più un secolo le emissioni atmosferiche e le deposizioni, principalmente di piombo (Pb), zinco (Zn) e cadmio (Cd), da parte delle due fonderie presenti nella zona, la Metaleurop Nord e la Nyrstar. All'inizio degli anni '80 le prime mappature del sito mostrarono una superficie totale interessata dalla contaminazione di circa 120 km² con concentrazioni di cadmio, zinco e piombo 20-50 volte più elevate rispetto ai livelli rilevati nelle zone non inquinate (Sterckeman et al., 2002). Il grado di contaminazione non è omogeneo in tutta l'area, ma decresce progressivamente allontanandosi dagli impianti (Douay et al., 2011). Inoltre, circa 750 ha di superficie agricola risultano contaminati da più di 200 mg/kg di piombo nell'orizzonte superficiale e, tra questi, in alcune aree la contaminazione supera anche i 1000 mg/kg.

Due sono i principali problemi connessi all'alto livello di metalli pesanti nel suolo: l'impatto ambientale, in quanto, nelle zone maggiormente contaminate, si è riscontrata un'importante disfunzione nell'ecosistema suolo con un elevati rapporti C/N, diminuzione dell'attività microbica e diminuzione della biodiversità della fauna, e la contaminazione delle colture agricole, le quali presentano concentrazioni di cadmio e zinco che superano i valori consentiti dall'Unione Europea e dalla Francia ((European Commission, 2006), e che, dunque, rendono le colture non idonee al consumo umano, causando, conseguentemente, un'ingente perdita economica.

Gestione del sito

Per la gestione del sito Metaleurop Nord è stato preso in considerazione il fitomanagement. Questa tecnologia consiste nell'utilizzo di una coltura non alimentare per alleviare i rischi sull'ambiente e sulla salute, ripristinando i servizi ecosistemici, e portare benefici economici (Evangelou, 2015). Le specie vegetali devono dunque essere tolleranti ai contaminanti, riducendo il loro trasferimento all'interno della catena alimentare, e produrre elevate quantità di biomassa.

Nello specifico, in questa ricerca è stata studiata la fitostabilizzazione quale tecnologia di fitomanagement. Questa strategia prevede l'utilizzo di una specie vegetale "excluder", tollerante ad alte concentrazioni di metalli pesanti, che riesca ad immobilizzare l'inquinante nel suolo accumulandolo nella rizosfera attraverso le radici (Pilon-Smits and Freeman, 2006). Inoltre, le piante che crescono su suoli contaminati agiscono come copertura vegetale in modo tale da ridurre l'erosione eolica ed idrica e migliorare i parametri biochimici del suolo, incrementando la sostanza organica e l'attività biologica.

La specie vegetale excluder che è stata scelta per questo studio è il *Miscanthus x giganteus*, pianta C4, rizomatosa, perenne e non invasiva, originatasi dall'ibridazione tra il *Miscanthus sinensis* ed il *Miscanthus sacchariflorus*. Questa pianta è conosciuta per essere una delle colture più promettenti per l'utilizzazione non alimentare, dovuta alla sua grande capacità di adattamento a diverse tipologie di climi e suoli e al suo alto potenziale di crescita, che permette di sfruttare economicamente la sua biomassa. Inoltre, il miscanto gioca un ruolo importante nella degradazione di inquinanti aromatici e nel ripristino dell'ecosistema suolo e dei parametri fisico-chimici ad esso associati.

Obiettivi dello studio

Gli obiettivi di questa ricerca sono studiare lo stress indotto da metalli pesanti su una varietà di *Miscanthus x giganteus* cresciuta in campo (*in situ*), attraverso la misurazione di specifici bioindicatori, e studiare l'effetto di tre differenti pratiche agronomiche (densità di semina, fertilizzazione e micorrizzazione) sullo stress indotto da metalli pesanti in tre varietà di miscanto (A, B ed I). Infine, sono stati confrontati i risultati ottenuti dallo studio del miscanto cresciuto in campo con i risultati ottenuti da un precedente studio effettuato invece in vaso (*ex situ*).

Metodologia

I metalli pesanti presenti nel suolo influenzano negativamente lo stato di salute della pianta, generando uno stress, al quale le piante cercano di far fronte utilizzando diverse strategie, come la compartimentalizzazione, la complessazione ed un sistema antiossidante. Per valutare lo stress indotto dai metalli pesanti sono stati selezionati diversi bioindicatori appartenenti al sistema antiossidante, quali attività enzimatiche (ascorbato perossidasi o APX e superossido dismutasi o SOD) ed attività non enzimatiche (carotenoidi, tannini, flavonoidi, antociani e composti fenolici), ma anche clorofilla a e clorofilla b. Tutti i bioindicatori scelti sono stati estratti dai tessuti fogliari dei campioni raccolti direttamente in campo seguendo uno specifico protocollo (Linè et. Al) e sono stati misurati spettrofotometricamente. La diminuzione di clorofille, carotenoidi e metaboliti

secondari rispetto al campione di controllo sono indice di stress, così come l'aumento delle attività enzimatiche.

Il disegno sperimentale attuato per lo studio consiste nel piantare il miscanto in quattro appezzamenti agricoli (MC, M200, M500, M700), i quali si avvicinano progressivamente alla fonderia e, conseguentemente, M200 è il suolo meno contaminato mentre M700 è invece il più contaminato ed i nomi rappresentano approssimativamente le concentrazioni di metalli pesanti nel suolo. MC è invece il suolo non contaminato, utilizzato come riferimento.

Risultati

Per quanto riguarda i risultati ottenuti dai campioni cresciuti in campo, entrambe le attività enzimatiche (APX e SOD) non hanno mostrato differenze significative tra tutti i gruppi confrontati (MC, M200, M500 e M700). Tra i metaboliti secondari, invece, le concentrazioni di tannini e flavonoidi mostrano un incremento significativo nel campione maggiormente contaminato rispetto a tutti gli altri gruppi. Carotenoidi e clorofilla a non mostrano differenze significative, a differenza della concentrazione di clorofilla b, la quale invece mostra un incremento nei due suoli maggiormente contaminati (M500 ed M700) rispetto ad M200 ed il suolo di controllo.

Il confronto tra i dati ottenuti dall'esperimento *in situ* ed *ex situ*, evidenzia ampie differenze di valori in quasi ogni bioindicatore considerato. Ascorbato perossidasi (APX) e superossido dismutasi (SOD), mostrano un incremento significativo dell'attività nei campioni *ex situ*, cresciuti in serra. Una situazione simile è mostrata dai pigmenti fotosintetici, in quanto i campioni *in situ* mostrano un incremento della concentrazione già a partire dal suolo non contaminato, raggiungendo poi il valore massimo nei suoli maggiormente contaminati. Per quanto riguarda i metaboliti secondari, soprattutto i composti fenolici ed i flavonoidi, mostrano un decremento significativo delle concentrazioni nei campioni cresciuti in campo in tutti i gruppi confrontati e, anche in questo caso, la differenza è significativa anche nei campioni di controllo. In generale, i campioni *in situ* mostrano un livello di stress indotto da metalli pesanti significativamente inferiore rispetto ai campioni in vaso. È importante sottolineare il dato che emerge tra i campioni di controllo a confronto, in quanto questo dimostra come le piante che crescono in vaso risentono negativamente delle condizioni artificiali in cui si trovano a crescere, questo stress va poi a sommarsi allo stress metallo-indotto nei suoli contaminati.

Lo studio effettuato sugli effetti dell'applicazione delle pratiche agronomiche sullo stress delle piante, ha evidenziato un incremento significativo nella concentrazione dei flavonoidi nella varietà A a bassa densità di semina ed un incremento nell'attività di APX nella varietà I fertilizzata. Chiaramente, un solo bioindicatore risultato significativamente differente per ciascuna pratica agronomica indica che densità di semina e fertilizzazione non hanno effetti sulla salute della pianta. La micorrizzazione, invece, mostra un incremento significativo nell'attività di SOD nelle varietà B ed I micorrizzate, un incremento della concentrazione di clorofilla a e clorofilla b ed un decremento della concentrazione di tannini nella sola varietà B micorrizzata ed, infine, un decremento nella concentrazione di flavonoidi nelle varietà B ed I micorrizzate. I dati mostrano risultati contrastanti, in quanto sembra che la micorrizzazione influenzi positivamente i pigmenti fotosintetici ed i metaboliti secondari, ma negativamente le attività enzimatiche. Probabilmente questi risultati dipendono dalla specie di fungo endomicorrizico utilizzata per la simbiosi con il

Miscanthus x giganteus, in quanto studi precedenti eseguiti con altre specie hanno portato a risultati molto diversi da quelli ottenuti in questo lavoro.

Conclusioni

Il *Miscanthus x giganteus* ha dimostrato un ottimo adattamento ed un buon livello di tolleranza ai metalli pesanti nelle condizioni naturali *in situ*. Dall'applicazione delle tre pratiche agronomiche, è emerso che la densità di semina e la fertilizzazione non hanno effetti significativi sulla pianta. Questo studio è stato effettuato su terreni agricoli e, dunque, già fertili, per cui il fatto che non sia necessaria l'applicazione di fertilizzanti al suolo rappresenta sicuramente un elemento positivo, non solo da un punto di vista economico, ma anche da un punto di vista ambientale. Inoltre, la possibilità di poter piantare più individui nello stesso campo senza influenzare negativamente la salute e lo sviluppo della pianta, gioca certamente un ruolo fondamentale per poter sfruttare economicamente più biomassa possibile. Per quanto riguarda la micorrizzazione, è necessario approfondire, con ulteriori studi, il ruolo che le diverse specie di funghi hanno sulla salute della pianta, in modo tale da poter trovare la specie per effettuare la simbiosi ottimale e, in questo modo, poter migliorare l'efficienza della fitostabilizzazione.

Il confronto tra risultati *in situ* ed *ex situ*, invece, dimostra come le piante cresciute in vaso mostrino uno stress già a partire dai campioni di controllo dato dalle condizioni artificiali in cui la pianta si trova a crescere in vaso. Questo è un risultato importante in quanto, generalmente, in letteratura, gli esperimenti riguardanti la fitodepurazione vengono condotti in vaso, ma questa ricerca dimostra come gli esperimenti *ex situ* non siano indicati per lo studio di queste tecnologie in quanto non rappresentano come realmente la pianta si adatta e cresce nelle condizioni naturali del campo, che sarà poi il luogo in cui la pianta dovrà effettivamente svolgere il ruolo per il quale è stata scelta.

Bibliografia

Douay, F., Pelfrene, A., Planque, J., Fourrier, H., Richard, A., Roussel, H., Girondelot, B., 2013. Assessment of potential health risk for inhabitants living near a former lead smelter. Part 1: metal concentrations in soils, agricultural crops, and homegrown vegetables. *Environ. Monit. Assess.* 185, 3665-3680.

European Commission, Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs., 2006.

Evangelou M. W. H., Papazoglou E. G., Robinson B. H., Schulin R., 2015. Phytomanagement: Phytoremediation and the Production of Biomass for Economic Revenue on Contaminated Land.

Liné, C., Gruyer, N., Dorais, M., Souki, K. A., Pourrut, B., in preparation. Development of a high-throughput multi-parameter biomarker set to evaluate plant health.

Panagos, P., Van Liedekerke, M., Yigini, Y., Montanarella, L., 2013. Contaminated Sites in Europe: Review of the Current Situation Based on Data Collected through a European Network. *J. Environ. Public Health.* 2013, 11.

Pilon-Smits, E. A., Freeman, J. L., 2006. Environmental cleanup using plants: Biotechnological advances and ecological considerations. *Front. Ecol. Environ.* 4, 203-210.

Singh, J., Kalamdhad, A. S., 2011. Effects of Heavy Metals on Soil, Plants, Human Health and Aquatic Life. *Int. J. Res. Chem. Environ.* 1, 15-21.

Sterckeman, T., Douay, F., Proix, N., Fourrier, H., Perdrix, E., 2002. Assessment of the contamination of cultivated soils by eighteen trace elements around smelters in the North of France. *Water Air Soil Pollut.* 135, 173-194.