

Phytoremediation di suoli agricoli contaminati da idrocarburi mediante *Ricinus communis* L. in un'ottica di economia circolare: analisi della tolleranza della specie agli inquinanti e ruolo della comunità rizosferica ed endofitica associata.

## Riassunto

L'inquinamento dei suoli dovuto a sversamenti di idrocarburi rappresenta un grave problema ambientale su scala globale, per gli ingenti danni causati agli ecosistemi e all'uomo. In questo contesto, la *phytoremediation*, cioè l'utilizzo di piante e microrganismi ad esse associati, per il risanamento di aree contaminate, rappresenta attualmente una tecnica di bonifica compatibile con l'ambiente e dai costi contenuti. L'utilizzo di specie vegetali oleaginose, inoltre, potrebbe permettere di associare la bonifica alla produzione di bio-combustibile, in un'ottica di economia circolare. L'obiettivo di questo progetto di tesi è stato indagare la tolleranza agli idrocarburi della specie arbustiva oleaginosa *Ricinus communis* L., caratterizzarne le comunità batteriche associate che potrebbero entrare in gioco nei processi di fitorimediazione ed escludere un eventuale effetto negativo degli idrocarburi presenti nel suolo sulla quantità di olio prodotto dalle piante.

A tale scopo è stato allestito un esperimento in campo, in un'area agricola del nord ovest milanese dove, nel 2015, si era verificato uno sversamento di gasolio da una condotta interrata. Nell'area sono state individuate parcelle caratterizzate da 3 differenti classi di concentrazione di idrocarburi pesanti C>12 (<125 mg/Kg, 125-1250 mg/Kg, >1250 mg/Kg), che sono state coltivate con due diverse varietà di ricino (*R. communis* var. *catanese*; *R. communis* var. *pisana*) ed in parte trattate con "ammendanti" composti da miscele di funghi e batteri noti per le loro capacità di degradare idrocarburi (HOB) e promuovere la crescita della pianta (PGPB). La tolleranza agli idrocarburi di *R. communis* è stata indagata per mezzo di una caratterizzazione morfo-funzionale che ha permesso di valutare la germinazione, la sopravvivenza, lo stato di salute, la crescita e lo sviluppo dell'apparato radicale delle piante delle due varietà. Inoltre, per *Ricinus communis* var. *catanese*, le comunità batteriche di suolo e rizosfera, nonché quella endofitica delle radici, sono state caratterizzate qualitativamente con tecniche di biologia molecolare e/o qualitativamente mediante conte al microscopio a fluorescenza. Infine, la quantificazione dell'olio è stata effettuata a partire da estratti ottenuti con metodo Soxhlet. I dati raccolti nel corso dell'esperimento sono stati rielaborati ed analizzati con tecniche di analisi statistica univariata (ANOVA, PERMANOVA univariata, SNK test) e multivariata (PERMANOVA; PRIMER e PAST).

Innanzitutto, dall'analisi dei dati sulla tolleranza di *R. communis* agli idrocarburi è emerso che, entrambe le varietà di ricino, sono apparse in grado di germinare, sopravvivere e crescere anche in terreni contaminati da concentrazioni elevate di idrocarburi pesanti (>1250 mg/Kg), nonostante si

siano riscontrate alcune differenze per i tratti morfo-funzionali considerati tra varietà, concentrazioni di idrocarburi e presenza di ammendanti (e.g. ritardo nella germinazione, riduzione dell'efficienza fotosintetica e diversa produzione di biomassa). Tuttavia, dal confronto tra le due specie, il ricino catanese è risultato caratterizzato da un maggiore sviluppo ed approfondimento dell'apparato radicale e da una più elevata produzione di semi, indipendentemente dalla concentrazione di idrocarburi e dalla presenza di "ammendanti". Dall'analisi delle comunità batteriche sono emerse differenze significative nell'abbondanza batterica tra suolo e rizosfera, in relazione alla concentrazione di inquinanti e alla presenza di ammendanti, con valori marcatamente più elevati per la rizosfera alle alte concentrazioni di C>12 (> 1250 mg/Kg). La struttura delle due comunità, invece, è risultata simile, con differenze significative nella composizione in generi solo tra le alte (>1250 mg/Kg) e le basse (<125 mg/Kg) concentrazioni di idrocarburi. Alcune rilevanti differenze nella struttura della comunità batterica sono state osservate anche per l'endosfera delle radici di ricino catanese, rispetto alla concentrazione di idrocarburi e alla presenza di ammendanti. Alle alte concentrazioni di C>12, in particolare, tutte le comunità indagate sono risultate particolarmente ricche di taxa batterici PGPB e HOB (e.g. *Methylosinus*, *Mycobacterium*, *Sphingomonas*, *Parabur- kholderia*, *Enterobacter*).

Infine, dall'analisi dei dati ottenuti con la quantificazione dell'olio si è osservata, come atteso, una più alta percentuale di olio nei semi della pianta rispetto agli altri organi. Tale percentuale è risultata più elevata alle basse concentrazioni di inquinante, indicando un effetto negativo della presenza di idrocarburi sulla sintesi di olii. Tuttavia, la quantità riscontrata per seme è risultata comunque cospicua.

In conclusione, questo studio ha dimostrato che, nonostante *Ricinus communis* non rappresenti attualmente una coltura particolarmente diffusa nel Nord Italia, a causa delle caratteristiche meteorologiche non molto favorevoli al suo sviluppo, questa specie, ed in particolare la varietà catanese, si è dimostrata in grado di tollerare concentrazioni anche elevate di idrocarburi, riuscendo a germinare, sopravvivere, crescere e sviluppare un apparato radicale profondo. Un contributo a tale tolleranza è sicuramente conferito dalle comunità di batteri endofiti delle radici e rizosferici: infatti, la loro analisi ha evidenziato la presenza di numerosi generi noti per le loro capacità di degradare idrocarburi e promuovere la crescita della pianta.

Tutti questi risultati confermano che ricino catanese potrebbe quindi rappresentare una specie promettente da utilizzare nell'ambito della *phytoremediation* di suoli contaminati da idrocarburi, anche in un'ottica di economia circolare, come confermato dai dati relativi alle percentuali di olio estratto dai suoi semi.