

Utilizzo di specie agrarie nel fitorisanamento di suoli contaminati da metalli pesanti e metalloidi: (I) lo stato dell'arte

Luca Marchiol*, Guido Fellet, Giuseppe Zerbi

*Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine
Via delle Scienze 208, 33100 Udine*

Data di presentazione: 15 novembre 2006

Data di accettazione: 6 maggio 2007

Riassunto

L'utilizzo di piante per rimuovere elementi inquinanti da suoli e sedimenti, teoricamente ha un potenziale molto elevato soprattutto per i costi di intervento molto contenuti rispetto alle tecniche di bonifica tradizionali e per la sua sostenibilità.

La ricerca ha raggiunto importanti acquisizioni sui processi di assimilazione, traslocazione e compartimentazione dei metalli pesanti nei tessuti vegetali. Tuttavia ciò non consente ancora di prevedere quando sarà possibile applicare la tecnica per interventi su scala estensiva. Oltre al problema legato alle specie vegetali più adatte, poco si è indagato sui molteplici aspetti della gestione agronomica della fitoestrazione.

In questa rassegna viene presentato lo stato dell'arte sulla ricerca dedicata alla fitoestrazione di metalli pesanti, e in particolare alle potenzialità offerte dalle specie iperaccumulatrici e quelle di interesse agrario.

Parole chiave: inquinamento, metalli pesanti, fitoestrazione, specie iperaccumulatrici, specie agrarie.

Summary

PHYTOREMEDIATION OF SOILS POLLUTED BY HEAVY METALS AND METALLOIDS USING CROPS:
(I) THE STATE OF THE ART

Phytoremediation has a strong potential as a natural, solar-energy driven remediation approach for the treatment of soils and sediments polluted. Research has focused several aspects of the process of uptake, translocation and storage of heavy metals in plants. However we can not predict when the technique could find practical application on large scale.

Beyond the evaluation of the best suited species, little has been inquired on the multiple aspects of the agronomic management of phytoextraction.

This review provides a synthesis of current knowledge on phytoextraction of metals from soils and their accumulation in plants.

Key-words: pollution, heavy metals, phytoextraction, hyperaccumulators; crops.

1. Introduzione

Ogni anno nell'Unione Europea vengono investite ingenti somme per interventi di bonifica e recupero ambientale di aree soggette ad inquinamento di diversa natura ed intensità; si stima

l'esistenza di circa 1,6 milioni di siti inquinati nei quali dovranno essere eseguiti degli interventi di risanamento ambientale. Gli ingenti costi di questi interventi tenderanno ad aumentare nei prossimi anni a causa dell'ingresso nell'Unione Europea dei paesi dell'Europa Cen-

* Autore corrispondente: tel.: +39 0432 558611; fax +39 0432 558603. Indirizzo e-mail: marchiol@uniud.it

Ricerca realizzata con il contributo finanziario di PRIN 2005 – Progetto di Ricerca di Rilevante Interesse Nazionale.

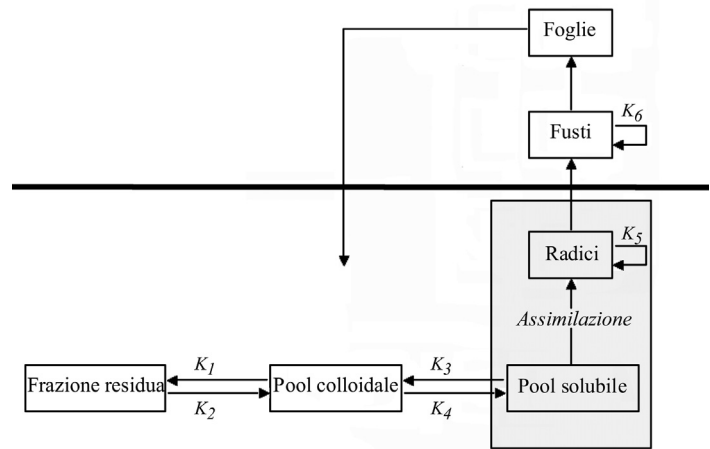


Figura 1. Modello del processo di fitoestrazione dei metalli pesanti.

Figure 1. Model for phytoextraction process of heavy metals.

tro-Oriente (Andersen, 2000). In Italia in circa il 2.5% del territorio nazionale è stato riconosciuto uno stato di inquinamento tale da richiedere interventi di bonifica (APAT, 2005).

Lo sviluppo delle tecniche di bonifica da applicare negli interventi di disinquinamento ha avuto un grande impulso negli ultimi trent'anni; in questo lasso di tempo si è creato un mercato che oggi muove interessi molto forti. Negli Stati Uniti attualmente le tecniche di fitorisanamento rappresentano solo lo 0.5% degli interventi di bonifica, ciò tuttavia equivale a circa 125-180 milioni anno⁻¹ (Pilon-Smits, 2005). Nell'Unione Europea si stima che il costo delle operazioni di bonifica dei siti inquinati potrà essere compreso tra 60-110 miliardi di € (E.C., 2002).

La ricerca scientifica internazionale è impegnata nello studio di efficaci metodi di bonifica a basso costo allo scopo di disporre di alternative o complementi, ai tradizionali metodi di bonifica di tipo chimico-fisico, spesso efficaci ma non sostenibili, soprattutto laddove gli oneri della bonifica cadono sulle amministrazioni pubbliche. Uno di questi metodi prevede la possibilità di utilizzare – in determinati contesti ed entro certi limiti – piante superiori eventualmente in associazione con microrganismi.

Il termine *phytoremediation* – fitorisanamento – indica genericamente quegli interventi di bonifica di suoli inquinati condotti mediante l'impiego di piante in grado di rimuovere, immobilizzare elementi inquinanti o degradare composti organici grazie ad opportune pratiche di gestione (Salt et al., 1998).

Sin dai suoi albori (Jaffrè, 1976; Brooks et al., 1977), la *phytoremediation* ha suggerito diverse

potenziali future applicazioni. Recenti esperienze confermano la possibilità di utilizzare alcune piante per interventi di bonifica di *brownfields* per contenere gli oneri del recupero ambientale (Blaylock e Huang, 2000); si sono ipotizzati interventi in aree contaminate da radionuclidi (Dushenkov, 2003); sono stati eseguiti interventi-pilota su sedimenti di origine fluviale e lagunare inquinati da metalli pesanti (Mertens et al., 2004), così come nei recuperi ambientali delle aree contaminate da scorie minerarie o nelle discariche di scorie di processo delle attività estrattive o industriali (Renault et al., 2001; Stoltz and Greger, 2002). Infine, si ritiene possibile associare il fitorisanamento ai trattamenti tradizionali costituendo così dei trattamenti integrati da impiegare in quei casi in cui si debba intervenire su matrici multicontaminate (Roote, 2003).

In realtà, ad oggi, alle forti aspettative non corrispondono ancora concrete applicazioni di tecniche di fitorisanamento condotte su larga scala.

Il fitorisanamento comprende la fitoestrazione e la fitostabilizzazione, entrambe adatte ad essere impiegate per interventi in suoli inquinati da metalli pesanti, e la fitodegradazione e fitovolatilizzazione, rispettivamente adatte a interventi di bonifica condotti in suoli inquinati da composti organici e elementi altamente volatili (Lai e Chen, 2004).

La fitoestrazione consiste nella rimozione di metalli e metalloidi da suoli inquinati attraverso la assimilazione di questi da parte di piante accumulatrici o iperaccumulatrici e la successiva raccolta della biomassa, avviata in seguito al più opportuno smaltimento.

In figura 1 è riportato schematicamente il

processo di fitoestrazione dei metalli pesanti. L'efficienza del processo è funzione di molteplici aspetti: chimici, fisici e biologici.

Come è noto i metalli pesanti si trovano nel suolo in diverse specie in relazione alle condizioni e composizione del suolo e alle variabili ambientali (Adriano, 2001). Ciò assume una rilevante importanza nella prospettiva del processo di fitoestrazione, infatti esso può essere inteso come una ciclica successione di fasi in cui (i) la pianta assimila, esaurendola, la quota di metallo biodisponibile, e di fasi in cui (ii) si verifica la ricarica della frazione biodisponibile (Hamon e McLaughlin, 1999). È questa visione del processo a dare fondamento concettuale alla cosiddetta "fitoestrazione assistita" (Salt et al., 1998), la quale implica l'utilizzo di specie vegetali metallo-tolleranti e ad elevata produzione di biomassa, la cui attitudine all'assimilazione dei metalli pesanti viene incrementata in risposta all'impiego di sostanze chelanti in grado di aumentare la biodisponibilità dei metalli pesanti nel suolo (Quartacci et al., 2006) (fig. 2).

Oltre alle relazioni suolo-pianta, il processo di fitoestrazione deve essere ancora ottimizzato anche per gli aspetti che riguardano la gestione della biomassa in fase di post-raccolta. La figura 3 illustra alcune ipotesi di gestione della biomassa ottenibile a valle di un ciclo di fitoestrazione. La biomassa vegetale dopo avere sequestrato il/i metallo/i deve essere raccolta e ade-

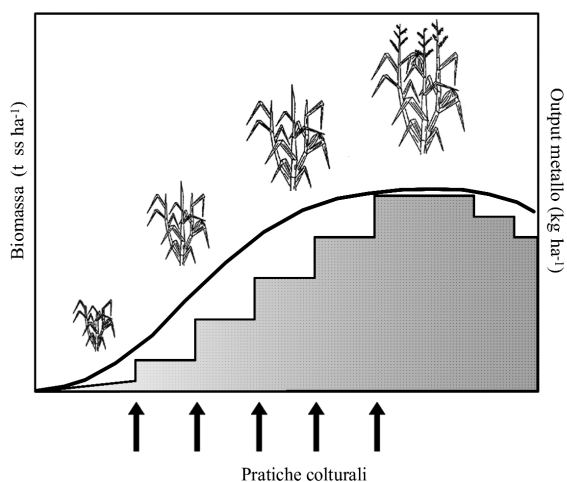


Figura 2. Fitoestrazione assistita e asportazioni di metalli pesanti (modificato da Salt et al., 1998).

Figure 2. Assisted phytoextraction and removal of heavy metals (from Salt et al., 1998, modified).

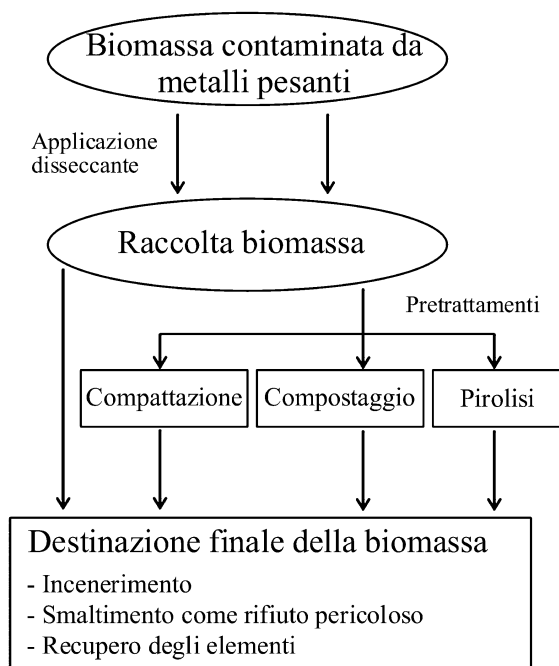


Figura 3. Strategie per la gestione delle biomasse contaminate dai metalli pesanti risultanti da interventi di fitoestrazione (Sas-Nowosielska et al., 2004).

Figure 3. Strategy for the management of biomass contaminated by heavy metals from phytoextraction operations (Sas-Nowosielska et al., 2004).

guatamente trattata (Whiting et al., 2004), considerando che, qualora il processo fosse molto efficiente, la biomassa conterrebbe elevate concentrazioni di metalli pesanti. Ciò da un lato sarebbe un successo ma dall'altro imporrebbe di dover gestire, e smaltire il materiale – divenuto rifiuto pericoloso – con le modalità e precauzioni previste dalla legge.

Al momento, pur essendo allo studio diverse soluzioni tecniche, l'incenerimento e il successivo smaltimento delle ceneri in discarica controllata risulta essere la soluzione più realistica sia da un punto di vista economico, sia ambientale (Sas-Nowosielska et al., 2004).

2. Utilizzo di specie iperaccumulatrici

Secondo la definizione di Baker e Brooks (1989) una specie vegetale può essere definita "iperaccumulatrice" quanto nei propri tessuti vengono rilevate concentrazioni di Cd, Cu, Co, Ci, Ni e Pb > 1.000 mg kg⁻¹, oppure concentrazioni di Mn o Zn > 10.000 mg kg⁻¹. Questi va-

Tabella 1. Livello di concentrazione di elementi in foglie di piante non iperaccumulatrici e iperaccumulatrici (da Reeves et al., 1995, modificato).

Table 1. Concentration level of elements in leaves from not hyperaccumulator and hyperaccumulator species (from Reeves et al., 1995, modified).

Elemento	Specie non iperaccumulatrici			Specie iperaccumulatrici ($\mu\text{g g}^{-1}$ ss)
	Basso ($\mu\text{g g}^{-1}$ ss)	Normale ($\mu\text{g g}^{-1}$ ss)	Alto ($\mu\text{g g}^{-1}$ ss)	
Cd	0,03 - 0,1	0,1 - 3	10	100 - 3000
Co	0,05 - 0,2	0,2 - 5	50	1000 - 10000
Cr	0,05 - 0,2	0,2 - 5	100	1000 - 7700
Cu	1 - 5	5 - 25	100	1000 - 12500
Fe	10 - 60	60 - 600	2500	10000 - 35000
Mn	5 - 20	20 - 400	2000	10000 - 50000
Ni	0,20 - 10	1,0 - 10	50	1000 - 40000
Se	0,01 - 0,1	0,1 - 1	10	1000 - 11400
Pb	0,01 - 0,1	0,1 - 5	100	100 - 6000
Zn	5 - 20	20 - 400	2000	10000 - 50000

lori, stabiliti arbitrariamente, debbono essere considerati come un riferimento e non hanno validità assoluta. Nella tabella 1 sono riassunti i valori di concentrazione di alcuni metalli pesanti rilevati nelle foglie di piante normali e iperaccumulatrici (Reeves et al., 1995).

In realtà non è raro rilevare nelle radici di diverse piante elevate concentrazioni di metalli pesanti, ad esempio Zn in concentrazioni di 1.000-2.000 mg kg⁻¹. Siamo in presenza di un fenomeno di iperaccumulazione? La risposta dipende dal comportamento della pianta. Se, allevata in coltura idroponica, la pianta dimostra di tollerare elevate concentrazioni di Zn pienamente biodisponibile, accumula l'elemento e lo trasloca nella parte aerea sino a raggiungere valori > 1 nel rapporto tra le concentrazioni shoot/root, siamo effettivamente in presenza di una vera specie iperaccumulatrice. Questa sequenza di eventi è stata dimostrata da Shen et al. (1997) su *Thlaspi caerulescens*, brassicacea spontanea divenuta la pianta modello per gli studi sulle specie iperaccumulatrici.

La mancata verifica della traslocazione in passato ha tratto in inganno molti ricercatori, i quali basandosi unicamente sul confronto numerico tra le concentrazioni osservate e i limiti proposti da Baker e Brooks (1989) ritenevano di avere individuato nuove specie iperaccumulatrici. Molte piante, allevate in coltura idroponica sono effettivamente in grado di raggiungere e superare la soglia di 10.000 mg kg⁻¹ di Zn nei propri tessuti, ma ciò sino a conseguenze letali.

Adottando un corretto approccio sperimen-

tale sono state individuate oltre 400 specie iperaccumulatrici; in tabella 2 sono riportati alcuni esempi di iperaccumulatrici associate alle concentrazioni dei metalli pesanti assimilati.

Chaney et al. (2000), considerando nel suo complesso il processo di fitorisanamento, hanno definito i caratteri fondamentali delle piante potenzialmente adatte alla fitoestrazione di metalli

Tabella 2. Concentrazioni massime di metalli pesanti rilevate in foglie di specie iperaccumulatrici (⁽¹⁾Ma et al., 2001; ⁽²⁾Escarré et al., 2000; ⁽³⁾Shan et al., 2003; ⁽⁴⁾Brooks, 1977; ⁽⁵⁾Malaisse et al., 1979; ⁽⁶⁾Reeves et al., 1999; ⁽⁷⁾Reeves e Brooks, 1983b; ⁽⁸⁾Rosenfeld e Beath, 1964; ⁽⁹⁾Anderson et al., 1999; ⁽¹⁰⁾Ernst, 1974; ⁽¹¹⁾Ernst et al., 2004).Table 2. Maximum concentrations of heavy metals recorded in leaves from hyperaccumulator species (⁽¹⁾Ma et al., 2001; ⁽²⁾Escarré et al., 2000; ⁽³⁾Shan et al., 2003; ⁽⁴⁾Brooks, 1977; ⁽⁵⁾Malaisse et al., 1979; ⁽⁶⁾Reeves et al., 1999; ⁽⁷⁾Reeves e Brooks, 1983b; ⁽⁸⁾Rosenfeld e Beath, 1964; ⁽⁹⁾Anderson et al., 1999; ⁽¹⁰⁾Ernst, 1974; ⁽¹¹⁾Ernst et al., 2004).

Elemento	Concentrazione (mg kg ss ⁻¹)	Specie
As	23.000 ⁽¹⁾	<i>Pteris vittata</i>
Cd	7.400 ⁽²⁾	<i>Thlaspi caerulescens</i>
Ce	3.950 ⁽³⁾	<i>Dicropeteris dichotoma</i>
Co	10.220 ⁽⁴⁾	<i>Haumanniastrum robertii</i>
Cu	12.300 ⁽⁵⁾	<i>Ipomoea alpina</i>
Ni	38.530 ⁽⁶⁾	<i>Psychotria costivenia</i>
Pb	8.200 ⁽⁷⁾	<i>Thlaspi rotundifolium</i>
Se	14.900 ⁽⁸⁾	<i>Astragalus racemosus</i>
Tl	2.130 ⁽⁹⁾	<i>Iberis intermedia</i>
Zn	25.000 ⁽¹⁰⁾	<i>Thlaspi caerulescens</i>
	29.230 ⁽¹¹⁾	<i>Arabidopsis halleri</i>

pesanti. In queste piante, in particolare si debbono riconoscere i seguenti caratteri: (i) buona attitudine ad assimilare il/i metallo/i e ad accumularli preferibilmente nella biomassa epigea; (ii) buona tolleranza al/ai metallo/i; (iii) rapido accrescimento e elevata produzione di biomassa; (iv) semplicità della gestione agronomica e facilità di raccolta della biomassa.

In relazione a questi aspetti, nonostante il grande potenziale teorico, l'ipotesi di utilizzare le specie iperaccumulatrici in interventi di fito-risanamento su larga scala presenta alcuni elementi di debolezza.

Un primo aspetto, ben noto agli specialisti, è legato alle caratteristiche ecologiche di queste piante. Le specie iperaccumulatrici diffuse nell'emisfero boreale sono piante erbacee di taglia ridotta e caratterizzate da un tasso di accrescimento molto basso; ciò sembra essere la conseguenza del costo energetico richiesto per sostenere i meccanismi fisiologici della iperaccumulazione dei metalli pesanti (Boyd, 1998).

Da un punto di vista ecologico, in larga parte sono specie endemiche di aree dove i suoli presentano contenuti anomali di diversi elementi, come ad esempio *Thlaspi pindicum* rilevata nei suoli ultramafici della Grecia (Psaras e Manetas, 2001) e *Minuartia verna* nelle aree minerarie dell'Inghilterra (Brooks, 1998), oppure sono adattate ad ambienti estremi, come *Thlaspi rotundifolium* subsp. *cepaifolium* pioniera dei ghiaioni delle Alpi Giulie (Brooks, 1998). Queste piante però sono anche in grado di adattarsi a condizioni ambientali differenti, originando, entro specie, popolazioni diverse. La presenza di *Thlaspi caerulescens*, è stata rilevata sia in suoli metalliferi, (serpentine, calamine), sia in suoli non metalliferi (Reeves e Brooks, 1983a; Meerts e Van Isacker, 1997; Escarré et al., 2000).

Esiste una notevole variabilità nella espressione della iperaccumulazione; è stato dimostrato che piante di *Thlaspi caerulescens* appartenenti a popolazioni presenti in suoli non metalliferi sono in grado di concentrare Zn nelle foglie ad un livello molto superiore rispetto a specie non iperaccumulatrici (Reeves et al., 2001). Tuttavia altre indagini hanno messo in luce una elevata variabilità della iperaccumulazione manifestata da individui di *Arabidopsis halleri* appartenenti alla stessa popolazione; piante prelevate nello stesso sito contaminato hanno rivelato concentrazioni fogliari di Zn

comprese tra 0.6-5% del peso secco (MacNair, 2002); non è stato chiarito quali siano i motivi di questo comportamento ma è ragionevole pensare ad una combinazione di fattori ambientali e determinanti genetici.

Anche la produzione di biomassa delle specie iperaccumulatrici ha mostrato di essere molto variabile; osservazioni condotte ancora su *Thlaspi caerulescens* da Felix (1997), Schwartz (1997), McGrath et al. (2000), Hammer e Keller (2003) hanno dimostrato produzioni variabili tra 0.5 e 13.4 t ha⁻¹, in relazione alle diverse condizioni ecologiche del sito. McGrath et al. (2006) in una prova parcellare in corso da alcuni anni hanno rilevato produzioni di biomassa in *Thlaspi caerulescens* e *Arabidopsis halleri* rispettivamente di 0.44-1.31 t ha⁻¹ e 0.002-0.25 t ha⁻¹ nel corso del 2003, mentre nel 2004 la media calcolata per entrambe le specie è risultata compresa nell'intervallo 0.29-1.44 t ha⁻¹.

Facendo riferimento alle caratteristiche definite da Chaney et al. (2000) e riportate in precedenza, la taglia ridotta delle iperaccumulatrici e il loro ridotto tasso di accrescimento non sono elementi favorevoli al loro utilizzo in interventi di fitoestrazione. Tuttavia, si può dimostrare che la magnitudo del fattore concentrazione è superiore a quella della produzione di biomassa (Brown et al., 1995a, b; McGrath, 1998). Ipotizziamo un intervento di fitoestrazione condotto in un suolo contaminato da Zn con la specie iperaccumulatrice X e la specie metallo-tollerante Y; queste, mediamente, sono in grado in grado di accumulare nei propri tessuti rispettivamente 10.000 e 500 µg di Zn per g di sostanza secca. A parità di produzione di biomassa – supponiamo 5 t ha⁻¹, bassa per le specie agrarie ma elevata per le iperaccumulatrici – la quantità di inquinante estratto dal suolo per ciclo sarebbe pari a 100 kg ha⁻¹ per X e di soli 5 kg ha⁻¹ per Y. Quindi, l'altissima efficienza di fitoestrazione delle iperaccumulatrici è in grado di compensare la scarsa produzione di biomassa, pertanto di per sé, la ridotta produzione di biomassa delle specie iperaccumulatrici non costituirebbe un problema.

Un altro aspetto che mette in dubbio l'ipotesi di utilizzo delle specie iperaccumulatrici su larga scala è legato alla loro estrema specializzazione. In conseguenza del loro percorso evolutivo, queste piante si sono altamente specializzate nei confronti di un singolo metallo o di

una coppia di elementi. Ad esempio, la già citata *Thlaspi caerulescens* è una iperaccumulatrice di Zn e Cd (Zhao et al., 2003), il genere *Alyssum*, comprende 48 specie iperaccumulatrici di Ni (Baker e Brooks, 1989), mentre *Humaniastrium robertii* è la specie più efficiente nella iperaccumulatrice di Co e Cu (Brooks, 1977).

Nella prospettiva di interventi di fitoestrazione, ci si chiede se una condizione di multi-contaminazione interferisca negativamente sul potenziale delle specie iperaccumulatrici, o se al contrario queste sono in grado di comportarsi normalmente. Alcuni studi hanno affrontato questo aspetto. L'effetto di disturbo del Cu sulla iperaccumulazione di Zn in *Thlaspi caerulescens* e *Cardaminopsis halleri* (in seguito divenuta *Arabidopsis halleri*) è stato messo in luce da McLaughlin e Henderson (1999). Successive osservazioni condotte ancora su piante di *Thlaspi caerulescens* allevate in coltura idroponica, hanno messo in luce che la attesa iperaccumulazione di Zn veniva significativamente ridotta dalla presenza in soluzione di elevate concentrazioni di Cu e Pb; questi elementi, non solo non venivano iperaccumulati nei tessuti della pianta, ma erano in grado di influire negativamente sul metabolismo della pianta determinando una sensibile produzione di biomassa (Walker e Pilar Bernal, 2004). Evidenze sperimentali ottenute McGrath et al. (2006) hanno confermato che *Thlaspi caerulescens* non possiede una tolleranza al Cu superiore a quella di piante non iperaccumulatrici.

Da ciò discende che in un intervento di fitoestrazione su un suolo contaminato da più metalli pesanti sarebbe necessario coltivare specie diverse individuate in base alla loro specializzazione. Ma abbiamo visto che le condizioni del suolo potrebbero interferire sull'espressione del potenziale delle specie iperaccumulatrici.

I dubbi e le incertezze che sorgono dall'analisi degli aspetti precedenti sono dovuti al fatto che la gran parte dei lavori pubblicati in letteratura estendono alla dimensione applicativa osservazioni condotte in ambiti sperimentali confinati. Utilizzando dati rilevati nel corso di esperienze condotte in coltura idroponica, in vaso o in lisimetri utilizzando suoli inquinati artificialmente o effettivamente inquinati, gli autori hanno studiate le prestazioni delle singole piante e successivamente, attraverso dei semplici calcoli, hanno esteso i dati ottenuti riferen-

doli ad ettaro. Si tratta, quindi, di dati estrapolati teoricamente e non effettivamente confermati in condizioni reali (McGrath, 2006).

Nel 1995 si prevedeva di disporre nell'arco di vent'anni di elementi sufficienti per la definizione dei protocolli operativi degli interventi di fitorisanamento (Ernst, 1995). Giunti a metà strada sembra che tale previsione sia stata piuttosto ottimistica. Molti aspetti devono ancora essere affrontati, altri non hanno rispettato le attese, altri ancora soffrono qualche incertezza. Al momento, la possibilità di impiegare su larga scala le specie iperaccumulatrici ricade tra questi ultimi.

3. Utilizzo di specie agrarie

L'ipotesi di impiegare specie di interesse agrario nel fitorisanamento è oggetto di verifiche. Certamente alla luce di quanto discusso da Chaney et al. (2000), esistono elementi oggettivi che non escludono questa ipotesi.

Diverse specie di interesse agrario hanno dimostrato una certa tolleranza ai metalli pesanti e, soprattutto, di tollerare la presenza di più metalli pesanti senza eccessive riduzioni della produzione di biomassa (Adriano, 2001).

Un aspetto molto favorevole alle specie agrarie è rappresentato dalla gestione agronomica; questa però deve essere riconsiderata alla luce del risultato utile, che a questo punto non è più un prodotto, ma un processo.

Le specie agrarie non raggiungono le prestazioni assolute delle iperaccumulatrici ma, oltre ad essere più produttive, consentono di definire più realisticamente dei protocolli di intervento e quindi di progettare la filiera del processo di fitoestrazione con uno spettro di intervento teoricamente più ampio.

Contrariamente alle specie iperaccumulatrici, sono disponibili ibridi e/o varietà in grado di garantire, da un lato un adattamento ecologico alle condizioni ambientali più diverse, dall'altro la stabilità nell'espressione fenotipica dei caratteri genetici. In sostanza, le specie agrarie posseggono tutti gli elementi che mancano alle specie iperaccumulatrici.

In linea teorica la soluzione al problema sarebbe quella di avviare dei programmi di ibridazione tra specie iperaccumulatrici e specie agrarie per ottenere l'ideotipo da utilizzare nel fitorisanamento, ovvero una specie vegetale in grado di produrre 30-40 t di biomassa per ciclo

colturale e di assimilare e traslocare verso la parte epigea tutti i metalli presenti nel suolo inquinato con un fattore di bioaccumulazione > 1 (McGrath e Zhao, 2003). Una volta ottenuta la pianta specializzata per interventi di fitorisanamento di suoli inquinati da metalli pesanti si porrà il problema di come gestire questa pianta.

In questa rassegna vengono presentate le esperienze relative alle osservazioni sul potenziale di fitoestrazione dei metalli pesanti da parte di specie di interesse agrario, erbacee e legnose, condotte in prove di campo, condotte nel recente passato o ancora in corso.

I dati pubblicati sono piuttosto scarsi. Per quanto riguarda la situazione italiana una delle cause va ricercata nel fatto che le normative in vigore restringono fortemente l'accesso ai siti inquinati censiti per motivi di sicurezza. Ciò non significa che la possibilità di strutturare prove sperimentali non sia consentita, tuttavia essa non è chiaramente regolamentata: per questo motivo può accadere che le stesse amministrazioni, potenzialmente interessate ai risultati della ricerca, non sappiano attraverso quali percorsi amministrativi autorizzare le attività medesime (Marchiol et al., 2005).

Un caso a parte è rappresentato dalle sperimentazioni in corso presso la stazione di ricerca di Rothamsted (Inghilterra); presso questo centro di ricerca è stata condotta la prima sperimentazione parcellare su *Thlaspi caerulescens* (McGrath, 1993; Baker et al., 1994). La particolarità risiede nel fatto che la contaminazione da metalli pesanti delle parcelle di Rothamsted, e in particolare di quelle del *Woburn Market Garden Experiment* è la diretta conseguenza delle prove agronomiche di lunga durata svolte nel periodo 1942-1967. A causa del continuo apporto di ammendanti organici nelle parcelle sperimentali è stato riscontrato un elevato accumulo di metalli pesanti; in particolare Cd 2.6-12.5 mg kg⁻¹, Cu 16.7-131 mg kg⁻¹ e Zn 108-366 mg kg⁻¹ hanno superato i limiti imposti dall'Unione Europea (CEC, 1986) per i terreni agricoli (McGrath et al., 2006). Per i ricercatori di Rothamsted, quindi non è stato necessario ricercare sul territorio un sito inquinato, ma hanno potuto operare, per così dire, in casa.

Prove pilota di fitoestrazione *in situ* con utilizzo di specie erbacee di interesse agrario sono state condotte in Spagna e in Svizzera.

Gli studi condotti nell'area di Aznalcóllar

(Andalusia, Spagna) si sono sviluppati dopo il 1998 quando il crollo di un bacino contenente rifiuti minerari derivanti dalle attività di estrazione e lavaggio della pirite, ha provocato l'inquinamento di una superficie di circa 45 km² lungo il fiume Guadiamar a causa della dispersione di circa 5 milioni di t di scorie acide, molto ricche in metalli pesanti (Grimalt et al., 1999). Superata la fase di emergenza diverse aree inquinate comprese in questa zona sono divenute una palestra sperimentale per molti ricercatori. Il profilo più superficiale del suolo dell'area di Aznalcóllar è risultato contaminato in modo rilevante da As (2.900 mg kg⁻¹), Cu (1.550 mg kg⁻¹), Pb (7.900 mg kg⁻¹) e Zn (7.100 mg kg⁻¹).

In queste condizioni sono stati condotti diversi esperimenti che avevano una duplice finalità; in un primo momento si volevano definire le conseguenze dell'inquinamento nelle aree agricole (Murillo et al., 1999), mentre in seguito si è valutato il potenziale di fitoestrazione di *Helianthus annuus* (Madejon et al., 2003) e di *Brassica juncea* (Clemente et al., 2005) e soprattutto gli eventuali incrementi delle asportazioni dei metalli dal suolo inquinato in relazione a diverse modalità di fertilizzazione.

Più recentemente sono stati pubblicati i risultati di esperimenti condotti ancora su *Brassica juncea* lungo un arco temporale di quattro anni. Clemente et al. (2006) hanno confermato che le pratiche agronomiche considerate nell'esperimento (fertilizzazioni, apporto di ammendanti, correzioni del pH del suolo) sono in grado di incrementare la fitoestrazione di metalli pesanti da parte di *Brassica juncea*. Ciò ha determinato una diminuzione della frazione bio-disponibile di diversi metalli, riducendo in questo modo la mobilità degli elementi e il rischio di diffusione della contaminazione alle acque profonde; allo stesso tempo si è assistito ad un recupero della componente microbica del suolo e quindi ad un miglioramento della qualità biologica della matrice, precedentemente alterata a causa dell'inquinamento. Considerando che le prestazioni della fitoestrazione di entrambe le colture nelle condizioni dell'area di Aznalcóllar non hanno raggiunto valori molto elevati, Clemente et al. (2006) proiettano il contributo di *Helianthus annuus* e di *Brassica juncea* e della loro gestione agronomica nella prospettiva della fitostabilizzazione e della attenuazione naturale (Mulligan e Yong, 2004).

Una serie di prove di fitoestrazione *in situ* sono state condotte nelle località di Dornach (Basilea, Svizzera) e Caslano (comune del Canton Ticino, Svizzera).

Il suolo del sito sperimentale di Dornach, risulta inquinato da Cd, Cu e Zn a causa delle emissioni secche provenienti da una fonderia posta a circa 4.5 km, e attiva nella zona sino alla metà degli anni '80 del secolo scorso. Nel profilo 0-20 cm del suolo di Dornach (calcareo, pH 7.3) sono state rilevati 2.5 mg kg⁻¹ di Cd, 516 mg kg⁻¹ di Cu e 673 mg kg⁻¹ di Zn (Kayser et al., 2000). Anche nell'area di Caslano, gli esperimenti sono stati condotti su un suolo inquinato da Cd, Cu e Zn, ma in questo caso la contaminazione era dovuta a rilasci incontrollati di fosse settiche durati circa venti anni e terminati nel 1980. Ciò ha determinato un arricchimento dello strato superficiale del suolo sia di sostanza organica, sia di metalli. Nel suolo di Caslano si sono rilevati: 2.8 mg kg⁻¹ di Cd, 264 mg kg⁻¹ di Cu e 1.158 mg kg⁻¹ di Zn. In entrambi i siti i metalli superavano sia limiti di attenzione, che quelli di bonifica imposti dalla legislazione svizzera, basata sui principi della analisi del rischio.

Un ulteriore elemento di interesse era rappresentato dalla diversa tipologia del suolo delle località, calcareo (Dornach) e acido (Caslano), per le conseguenze che ne derivano sulla diversa biodisponibilità dei metalli presenti.

Negli esperimenti condotti a Dornach, grazie ad un impianto sperimentale dotato di 28 parcelle (2.5 x 2.5 m) è stata osservata la fitoestrazione di *Brassica juncea*, *Zea mays*, *Nicotiana tabacum* ma anche di *Salix viminalis* e, per confronto, delle iperaccumulatrici *Thlaspi caerulescens* e *Arabidopsis halleri*. In queste piante, Keller et al. (2003), nel corso di un biennio hanno osservato le modalità di sviluppo, la densità e la distribuzione spaziale dell'apparato radicale, ma anche l'assimilazione e la traslocazione dei metalli pesanti, le produzioni di biomassa e le effettive asportazioni di metalli.

Si è potuta verificare la specializzazione di *Thlaspi caerulescens* nei confronti di Cd e Zn, ma questa ha asportato una quota di Cu inferiore a quella di *Brassica juncea*, *Zea mays*, *Nicotiana tabacum*. Interessanti anche le osservazioni sulla profondità raggiunta dalle radici, non elevata (0.2 m) quella di *Thlaspi*, maggiore (0.7 m) quella di *Zea mays*, testimoni della diversa capacità di esplorazione del suolo delle specie.

Le osservazioni su *Salix viminalis* condotte a Dornach da Keller et al. (2003) sono state successivamente sviluppate da Hammer et al., (2003) ed estese anche Caslano, confrontando in questo caso le prestazioni della specie arborea con quelle di *Thlaspi caerulescens* (Hammer e Keller, 2003; Keller e Hammer, 2005).

L'attività sperimentale in pieno campo sulle piante arboree è più diffusa. Dalla letteratura si ricava che negli ultimi anni sono state condotte diverse prove sperimentali *in situ* per verificare il possibile utilizzo di specie legnose da biomassa per il fitorisanamento di suoli e sedimenti contaminati. Ciò potrebbe essere imputabile al fatto che le piante arboree sono più adatte ad essere impiegate in operazioni di ripristino ambientale permanente. Un altro motivo potrebbe essere legato all'interesse di poter produrre legname in aree marginalizzate. Infine, considerando che in ogni caso il fitorisanamento è una tecnica di bonifica che richiede lunghi periodi di intervento, potrebbe essere più accettabile utilizzare piante arboree dal ciclo più lungo rispetto le piante erbacee.

Dickinson e Pulford (2005) e Laureynsen et al. (2005) hanno osservato rispettivamente il comportamento di *Salix viminalis* e di *Populus* allevati in pieno campo in aree industriali inquinate. Recentemente French et al. (2006) hanno condotto delle prove di allevamento di *Salix*, *Populus hybrids*, *Alnus*, *Betula* e *Larix* in siti industriali, discariche controllate, e aree di spargimento di fanghi di depurazione. Infine, Vervaeke et al. (2003) e Meers et al. (2005) hanno verificato il comportamento di *Salix* allevato in aree di smaltimento di sedimenti contaminati sia da metalli pesanti che da oli minerali e IPA.

4. Sviluppi della ricerca

Nel corso degli ultimi dieci anni l'interesse rivolto alla iperaccumulazione di metalli pesanti è cresciuto in maniera esponenziale; un numero rilevante di lavori scientifici che hanno indagato molteplici aspetti del fenomeno, dapprima esplorando gli aspetti fisiologici e successivamente quelli molecolari, per arrivare alla ricerca dei geni responsabili del fenomeno.

Al di là dell'indubbio interesse delle acquisizioni raggiunte, bisogna prendere atto che so-

no rimaste largamente carenti le conoscenze sugli aspetti più applicativi del processo di fitoestrazione, ovvero quelli che avevano portato ad intravedere applicazioni della *phytoremediation*. Pertanto la bonifica di suoli inquinati da metalli pesanti attraverso la coltivazione di piante superiori al momento non è praticabile. Probabilmente sarà necessario ancora un decennio per la messa a punto della tecnologia, intesa non solo come individuazione della specie vegetale più adatta a svolgere il processo di fitoestrazione dei contaminanti, ma come protocollo di intervento da applicare con successo nelle condizioni di intervento più diverse.

Ciò che sappiamo è che il fitorisanamento di suoli moderatamente inquinati da metalli pesanti è possibile anche non facendo ricorso alle specie iperaccumulatrici. Tuttavia l'eccessiva durata degli ipotetici interventi di fitorisanamento – calcolata in base alle prestazioni delle piante e la quantità di metallo/i da asportare dalla matrice inquinata – costituisce il principale fattore limitante. Si tratta quindi di migliorare l'efficienza del processo sia migliorando l'efficienza delle piante e sia mettendo a punto le più opportune modalità di gestione agronomica del processo di fitorisanamento.

Il possibile impiego di specie agrarie va esteso alla fitostabilizzazione. Questa prospettiva, sembra essere quella naturale delle specie agrarie e dalle possibilità applicative decisamente più vicine. L'insediamento e il mantenimento di coperture vegetali in aree inquinate, oltre agli aspetti estetico-paesaggistici, offre dei vantaggi funzionali legati quali: (i) la prevenzione da fenomeni erosivi causa di diffusione di contaminanti, e (ii) la definizione di un migliore bilancio idrico con limitazione della migrazione dei contaminanti verso le acque profonde. Anche in questo contesto sono necessarie opportune pratiche agronomiche per la gestione dell'intervento. Del resto spesso i suoli contaminati sono caratterizzati da un ridotto tenore in sostanza organica, scarsa disponibilità di nutrienti e condizioni anomale di pH (Ye et al., 2002; Chiu et al., 2006).

In conclusione è utile riassumere le linee di ricerca dalle quali nei prossimi anni si attendono decisivi avanzamenti per rendere il fitorisanamento una vera e propria tecnica di intervento per la bonifica a basso costo di suoli inquinati (McGrath, 2006):

- definizione di pratiche agronomiche in grado di migliorare l'efficienza del processo di fitoestrazione anche modificando la biodisponibilità dei metalli pesanti;
- utilizzo di ormoni o altre sostanze in grado di modificare il metabolismo vegetale in modo da intervenire sull'efficienza di traslocazione dei metalli dalle radici all'apparato aereo;
- studio di simbiosi batteriche o fungine in grado di stimolare l'assimilazione dei metalli;
- ibridazione tra specie iperaccumulatrici e specie tolleranti;
- creazione di piante transgeniche caratterizzate da elevatissima efficienza e produzione di biomassa.

Lo sviluppo della ricerca sarà certamente in grado di migliorare le conoscenze sul processo e sulla sua gestione; tuttavia, come è stato illustrato, si attendono avanzamenti decisivi attraverso l'incremento della sperimentazione *in situ*.

Da questo punto di vista sarebbe auspicabile una stretta collaborazione tra enti di ricerca, università, agenzie di tutela ambientale e amministratori allo scopo di incentivare o quantomeno di rendere più agevole l'accesso alle aree inquinate sotto tutela allo scopo di sviluppare adeguatamente le ricerche.

Bibliografia

- Adriano D.C. 2001. Trace elements in terrestrial environments biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals. 2nd edition, Springer.
- Andersen J.N. 2000. Management of contaminated sites and Land in Central and Eastern Europe. Danish Environmental Protection Agency.
- Anderson C.W.N., Brooks R.R., Chiarucci A., LaCoste C.J., Leblanc M., Robinson B.H., Simack R., Stewart R.B. 1999. Phytomining for nickel, thalium and gold. *J. Geochem. Explor.*, 67:407-415.
- APAT 2005. Annuario dei dati ambientali.
- Baker A.J.M., Brooks R.R. 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metalli elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Bio-recovery*, 1:81-126.
- Baker A.J.M., McGrath S.P., Sidoli C.M.D., Reeves R.D. 1994. The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Resour. Conserv. Recycle*, 11:41-49.
- Blaylock M.J., Huang J.W. 2000. Phytoextraction of toxic metals. In: Raskin I., Ensley B. (eds.): *Phytoremedia-*

- tion of metals, 53-70. John Wiley & Sons, New York.
- Boyd R.S. 1998. Hyperaccumulation as a plant defensive strategy. In: Brooks R.R. (ed.): Plants that hyperaccumulate metals, 181-201. CAB International, Wallingford, UK.
- Brooks R.R. 1977. Copper and cobalt uptake by *Haumanniastrum species*. Plant Soil, 48:541-544.
- Brooks R.R. 1998. Phytoarchaeology and hyperaccumulators. In: Brooks R.R. (ed.): Plants that hyperaccumulate metals, 153-180. CAB International, Wallingford, UK.
- Brown S.L., Chaney R.L., Angle J.S., Baker A.J.M. 1995a. Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and metal tolerant *Silene vulgaris* grown on sludge-amended soils. Environ. Sci. Technol., 29:1581-1585.
- C.E.C. 1986. Council Directive 86/278/EEC. On the protection of the environment and in particular of the soil when sewage sludge is used. Official Journal European Community L181 (Annex A), 6-12.
- Chaney R.L., Li Y.M., Brown S.L., Homer F.A., Malik M., Angle J.S., Baker A.J.M., Reeves R.D., Chin M. 2000. Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress. In: Terry N., Bañuelos G.S. (eds.): Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. Proceedings 4th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. CRC Press, Boca Raton, 129-158.
- Chiu K.K., Ye Z.H., Wong M.H. 2006. Growth of *Vetiveria zizanioides* and *Phragmites australis* on Pb/Zn and Cu mine tailings amended with manure compost and sewage sludge: a greenhouse study. Bioresour. Technol., 97:158-170.
- Clemente R., Walker D.J., Pilar Bernal M. 2005. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): the effect of soil amendments. Environ. Pollut., 138:46-58.
- Clemente R., Almela C., Pilar Bernal M. 2006. A remediation strategy based on active phytoremediation followed by natural attenuation in a soil contaminated by pyrite waste. Environ. Pollut., 143:397-406.
- Dickinson N.M., Pulford I.D. 2005. Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail. Environ. Int., 31:609-613.
- Dushenkov S. 2003. Trends in phytoremediation of radionuclides. Plant Soil, 249:167-175.
- E.C., European Commission 2002. Towards a Thematic Strategy for Soil protection. COM(2002)179final. Brussels, Belgium: European Commission.
- Ernst W. 1974. Schwermetallvegetation der Erde. Fischer Verlag, Stuttgart.
- Ernst W.H.O., Knolle F., Kratz S., Schnug E. 2004. Aspects of ecotoxicology of heavy metals in the Harz region – a guided excursion. Landbauforsch Völknerode, 54:53-71.
- Ernst W.H.O. 1995. Decontamination or consolidation of metal-contaminated soils by biological means. In: Förstner U., Salomons W., Meder P. (eds.): Heavy metals: problems and solutions, 141-149. Springer, Berlin.
- Escarré J., Lefèbvre C., Gruber W., Leblanc M., Lepart J., Rivière Y., Delay B. 2000. Zinc and cadmium hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens* from metaliferous and nonmetalliferous sites in the Mediterranean area: implications for phytoextraction. New Phytol., 145:429-437.
- Felix H. 1997. Field trials for *in situ* decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal-accumulating plants. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, 160:525-529.
- French C.J., Dickinson N.M., Putwain P.D. 2006. Woody biomass phytoremediation of contaminated brown-field land. Environ. Pollut., 141:387-395.
- Grimalt J.O., Ferrer M., Macpherson E. 1999. The mine tailing accident in Aznalcóllar. Sci. Tot. Environ., 242:3-11.
- Hammer D., Keller C. 2003. Phytoextraction of Cd and Zn with *Thlaspi caerulescens* in field trials, Soil Use Manage., 19:144-149.
- Hamon R.E., McLaughlin M.J. 1999. Use of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* for bioavailable contaminant stripping. In: Wenzel W.W., Adriano D.C., Alloway B., Doner H.E., Keller C., Lepp N. W., Mench M., Naidu R. and Pierzynski G.M. (eds.): Proceedings 5th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, 908-909. Vienna, Austria.
- Jaffrè T., Brooks R.R., Lee J., Reeves R.D. 1976. *Sebertia acuminata*: A hyperaccumulator of nickel from New Caledonia. Science, 193:579-580.
- Kayser A., Wenger K., Keller A., Attinger W., Felix H.R., Gupta S.K., Schulin R. 2000. Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd and Cu from calcareous soil: the use of NTA and sulfur amendments. Environ. Sci. Technol., 34:1778-1783.
- Keller C., Hammer D., Kayser A., Richner W., Brodbeck M., Sennhauser M. 2003. Root development and heavy metal phytoextraction efficiency: comparison of different plant species in the field. Plant Soil, 249:67-81.
- Keller C., Hammer D. 2005. Alternatives for phytoextraction: biomass plants versus hyperaccumulators. Geophys. Res. Abstr., Vol. 7, 03285, 2005.
- Lai H.Y., Chen Z.S. 2004. Effects of EDTA on solubility of cadmium, zinc, and lead and their uptake by rainbow pink and vetiver grass. Chemosphere, 55:421-430.
- Laureysens I., De Temmerman L., Hastir T., Van Gysel M., Ceulemans R. 2005. Clonal variation in heavy metal accumulation and biomass production in a poplar coppice culture. II. Vertical distribution and phytoextraction potential. Environ. Pollut., 133:541-551.
- Ma L.Q., Komar K.M., Tu C., Zhang W., Kennelley E.D. 2001. A fern that hyperaccumulates arsenic. Nature, 409:579.
- Madejón P., Murillo J.M., Marañón T., Cabrera F., Soriano M.A. 2003. Trace element and nutrient in sunflower plants two years after the Aznalcóllar mine spill. Sci. Tot. Environ., 307:239-257.

- Malaisse F., Gregoire J., Morrison R.S., Reeves R.D. 1979. Copper and cobalt in vegetation of Fungurume, Shaba Province, Zaire. *Oikos*, 33:472-478.
- Marchiol L., Fellet G., Zerbi G., Perosa D. 2005. Tecniche di fitorisanamento *in situ* nel sito nazionale "Laguna di Grado e Marano". Atti del seminario "Aspetti procedurali ed innovazione (bio)tecnologica nella gestione e bonifica dei siti contaminati". ECOMONDO 2005, 359-367. Maggioli Editore.
- McGrath S.P., Sidoli C.M.D., Baker A.J.M., Reeves R.D. 1993. The potential for the use of metal-accumulating plants for the *in situ* decontamination of metal-polluted soils. In: Eijsackers H.J.P., Hamers T. (eds.): *Integrated Soil and Sediment Research: a Basis for Proper Protection*, 673-676. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- McGrath S.P., Zhao F.J. 2003. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 14:277-282.
- McGrath S.P. 1998. Phytoextraction for soil remediation. In: Brooks R.R. (ed.): *Plants that hyperaccumulate metals*, 261-287. CAB International, Wallingford, UK.
- McGrath S.P., Dunham S.J., Correl R.L. 2000. Potential for phytoextraction of zinc and cadmium from soils using hyperaccumulator plants. In: Terry N., Bañuelos G. (eds.): *Phytoremediation of contaminated soil and water*, 109-128. CRC Press, Boca Raton.
- McGrath S.P., Lombi E., Gray C.W., Caille N., Dunham S.J., Zhao F.J. 2006. Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*. *Environ. Pollut.*, 141:115-125.
- McLaughlin M. J., Henderson R. 1999. Effect of zinc and copper on cadmium uptake by *Thlaspi caerulescens* and *Cardaminopsis halleri*. In: Wenzel W.W., Adriano D.C., Alloway B., Doner H.E., Keller C., Lepp N.W., Mench M., Naidu R., Pierzynski G.M. (eds.): *Proceedings 5th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements*, 886-887. Vienna, Austria.
- Macnair M.R. 2002. Within and between population genetic variation for zinc accumulation in *Arabidopsis halleri*. *New Phytol.*, 155:59-66.
- Meers E., Lamsal S., Vervaeke P., Hopgood M., Lust N., Tack F.M.G. 2005. Availability of heavy metals for uptake by *Salix viminalis* on a moderately contaminated dredged sediment disposal site. *Environ. Pollut.*, 137:354-364.
- Meerts P., Van Isacker N. 1997. Heavy metal tolerance and accumulation in metallicolous and non-metallicolous populations of *Thlaspi caerulescens* from continental Europe. *Plant Ecol.*, 133:221-231.
- Mertens J., Vervaeke P., De Schrijver A., Luysaert S. 2004. Metal uptake by young trees from dredged brackish sediment: limitations and possibilities for phytoextraction and phytostabilisation. *Sci. Tot. Environ.*, 326:209-215.
- Mulligan C.N., Yong R.N. 2004. Natural attenuation of contaminated soils. *Environ. Int.*, 30:587-601.
- Murillo J.M., Marañón T., Cabrera F., López R. 1999. Accumulation of heavy metals in sunflower and sorghum plants affected by Guadiamar spill. *Sci. Tot. Environ.*, 242:281-292.
- Pilon-Smits E. 2005. Phytoremediation. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 56:15-39.
- Psaras G.K., Manetas Y. 2001. Nickel localization in seeds of the metal hyperaccumulator *Thlaspi pindicum* Hausskn. *Ann. Bot.*, 88:513-516.
- Quartacci M.F., Argilla A., Baker A.J.M., Navari-Izzo F. 2006. Phytoextraction of heavy metals from multiply contaminated soil by Indian mustard. *Chemosphere*, 63:918-925.
- Reeves R.D., Brooks R.R. 1983a. Hyperaccumulation of lead and zinc by two metallophytes from a mining area in Central Europe. *Environ. Pollut.*, 31:277-287.
- Reeves R.D., Brooks R.R. 1983b. European species of *Thlaspi* L. as indicators of nickel and zinc. *J. Geochem. Expl.*, 18:275-283.
- Reeves R.D., Baker A.J.M., Brooks R.R. 1995. Abnormal accumulation of trace elements by plants. *Mining Environ. Manag.*, 3:4-8.
- Reeves R.D., Baker A.J.M., Borhidi A., Berazain R. 1999. Nickel hyperaccumulation in the serpentine flora of Cuba. *Ann. Bot.*, 83:29-38.
- Reeves R.D., Schwartz C., Morel J.L., Edmondson J. 2001. Distribution and metal-accumulating behaviour of *Thlaspi caerulescens* and associated metallophytes in France. *Int. J. Phytorem.*, 3:145-172.
- Renault S., Sailerova E., Fedikow M.A.F. 2001. Phytoremediation and revegetation of mine tailings and biore production: progress report on plant growth in amended tailings and metal accumulation in seedlings planted at Central Manitoba (Au) minesite (NTS 52L13). Report of Activities, Manitoba Industry, Trade and Mines, Manitoba Geological Survey, 138-149.
- Roote D.S. 2003. Technology Status Report, TS 03-01. GWRTAC, Ground Water Remediation Technologies Analysis Center. Pittsburg, PA.
- Rosenfeld I., Beath O.A. 1964. Selenium geobotany, biochemistry, toxicity and nutrition. Academic Press, New York.
- Salt D.E., Smith R.D., Raskin I. 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 49:643-668.
- Sas-Nowosielska A., Kucharski A.R., Malkowski E., Pogrzeba M., Kuperberg J.M., Krynski K. 2004. Phytoextraction crop disposal: an unsolved problem. *Env. Pollut.*, 128:373-379.
- Schwartz C. 1997. Phytoextraction des métaux pollués par la plante hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens*. ENSAIA thesis, Nancy, France.
- Shan X., Wang H., Zhang S., Zhou H., Zheng Y., Yu H., Wen B. 2003. Accumulation and uptake of light rare earth elements in a hyperaccumulator *Dicropteris dichotoma*. *Plant Sci.*, 165:1343-1353.
- Shen Z.G., Zhao F.J., McGrath S.P. 1997. Uptake and transport of zinc in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and the non-hyperaccumulator *Thlaspi ochroleucum*. *Plant Cell Environ.*, 20:898-906.

- Stoltz E., Greger M. 2002. Cottongrass effects on trace elements in submersed mine tailings. *J. Environ. Qual.*, 31:1477-1483.
- Vervaeke P., Luyssaert S., Mertens J., Meers E., Tack F.M.G., Lust N. 2003. Phytoremediation prospects of willow stands on contaminated sediment: a field trial. *Environ. Pollut.*, 126:275-282.
- Walker D.J, Pilar Bernal M. 2004. The effects of copper and lead on growth of *Thlaspi caerulescens* J. and C. Presl.: implications for phytoremediation of contaminated soils. *Water Air Soil Pollut.*, 151:361-372.
- Whiting S.N., Reeves R.D., Richards D., Johnson M.S., Cooke J.A., Malaisse F., Paton A., Smith J.A.C., Angle J.S., Chaney R.L., Ginocchio R., Jaffré T., Johns R., McIntyre T., Purvis O.W., Salt D.E., Schat H., Zhao F.J., Baker A.J.M. 2004. Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. *Restor. Ecol.*, 12:106-116.
- Ye Z.H., Shu W.S., Zhang Z.Q., Lan C.Y., Wong M.H. 2002. Evaluation of major constraints to revegetation of lead/zinc mine tailings using bioassay techniques. *Chemosphere*, 47:1103-1111.
- Zhao F.J., Lombi E., McGrath S.P. 2003. Assessing the potential for zinc and cadmium phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil*, 249:37-43.