

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA
Dottorato di ricerca in Biotecnologie
Ciclo XXVII

Fitorisanamento e Valutazione del Rischio Ambientale:
un nuovo approccio

Coordinatore:
Chiar.mo Prof. Nelson Marmiroli

Tutor:
Chiar.mo Prof. Elena Maestri

Dottorando: Valeria Giovannelli

SOMMARIO

1. L'ANALISI DEL RISCHIO	4
1.1 Introduzione	4
1.2 L'analisi del rischio	5
1.3 Le fasi della Valutazione del Rischio Ambientale	9
1.3.1 I metodi di VRA	16
1.4 La Valutazione del Rischio Ambientale applicata ai prodotti chimici	18
1.5 Parametri di valutazione	21
1.6 L'Analisi di Rischio nella normativa delle bonifiche	22
1.7 Analisi del rischio applicata alla definizione di bonifica sostenibile	24
1.7.1 Bonifica sostenibile	27
1.8 Siti contaminati: la normativa italiana	28
1.8.1 Decreto legislativo 152/06	28
1.8.2 Sintesi delle principali normative italiane nel campo delle bonifiche	32
2. IL FITORISANAMENTO	35
2.1 Introduzione	35
2.2 Metodi di fitorisanamento	35
2.3 Limiti nell'applicabilità di un processo di fitorisanamento	49
2.4 Selezione e valutazione di un progetto di fitorisanamento	50
2.5 Progettazione di un metodo di fitorisanamento	54
3. LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO AMBIENTALE APPLICATA AI FITORISANAMENTO: PHYTERA	57
3.1 Introduzione	57
3.2 Operating Model for Environmental Risk Assessment (OMERA)	58
3.3 Phytotechnology Environmental Risk Assessment (PhyTERA)	60
3.3.1 Identificazione dei rischi potenziali	61
3.3.2 Sviluppo del Modello Concettuale	64
3.3.3 Sviluppo del questionario elettronico	67
3.3.4 Uso del questionario	78
4. APPLICAZIONE DEL QUESTIONARIO A CASI STUDIO	81
4.1 Introduzione	81
4.2 Scenari di rischio simulati	81
4.2.1 Caso 1: Tree worst scenario	81
4.2.2 Caso 2: Grass best scenario	82
4.3 Casi studio reali	84
4.3.1 Caso A_Massacci	84
4.3.2 Caso studio J_White	91
4.4 Considerazioni sui casi studio reali	95
5. CONCLUSIONI	98
BIBLIOGRAFIA	101
Bibliografia consultata per lo sviluppo del modello concettuale e del questionario.	107

Pubblicazione.....	113
Phytoremediation and Environmental Risk Assessment: a new approach	113
ABSTRACT	113
RINGRAZIAMENTI	115
ALLEGATI.....	116
ALLEGATI al capitolo 3	117
Allegato 3.1 : Risposte al questionario di indagine	118
Allegato 3.2 : Tabelle contenenti le domande del questionario elettronico, relativi codici e note.	122
Allegato 3.3: <i>Form</i> dell'applicazione sviluppata in Access.....	143
Allegati al capitolo 4	145
Allegato 4.1: Rapporto Caso 1: Tree worst scenario	146
Allegato 4.2: Rapporto Caso 2: Grass best scenario	159
Allegato 4.3: Rapporto Caso A_Massacci	162
Allegato 4.4: Rapporto Caso J_White	168

1. L'ANALISI DEL RISCHIO

1.1 Introduzione

Gli ultimi decenni hanno visto una considerevole attività nel campo dell'analisi del rischio, in particolare lo studio dei diversi approcci è stato portato avanti da parte di organizzazioni ed istituzioni internazionali come l'Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico (OCSE), l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), l'European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO), mentre nell'Unione Europea sia il Consiglio sia la Commissione hanno portato avanti una politica di salvaguardia della salute umana, animale e dell'ambiente richiedendo, anche in base all'approccio precauzionale¹, un'analisi dei rischi connessi ad una serie di prodotti (sostanze chimiche, alimenti, mangimi) o processi (industrie chimico/farmaceutiche, nucleare, trasporti, sicurezza industriale, sicurezza sanitaria e alla conservazione delle risorse naturali).

Storicamente l'analisi del rischio, quando applicata alla salute umana, ha da sempre suscitato un forte interesse, ma già a partire dagli anni settanta l'attenzione nei confronti delle implicazioni ecologiche dell'inquinamento ambientale su larga scala è gradualmente cresciuta. Si tiene finalmente in considerazione che la deforestazione, l'agricoltura intensiva, il consumo energetico, l'uso e consumo di prodotti chimici, che vanno ad impattare sull'integrità ecologica del nostro ambiente e sulla biodiversità, hanno forti ripercussioni anche sulla salute e il benessere umano. Ma lo sviluppo di metodologie di analisi del rischio e la loro armonizzazione e standardizzazione a livello internazionale applicate a processi che vanno ad impattare sull'ambiente sono una sfida ancora aperta.

A livello mondiale, soprattutto nei paesi industrializzati, gran parte delle decisioni riguardanti scelte che includono l'applicazione di nozioni scientifiche e tecnologiche è subordinata ad un'analisi dei rischi preventiva che stabilisce le basi tecnico-scientifiche delle scelte stesse. In particolare, nella Comunità Europea l'adozione dell'analisi del rischio come strumento propedeutico alle decisioni è stata prima raccomandata e poi adottata formalmente, attraverso le diverse normative europee, in moltissimi campi quali il nucleare², la sicurezza

¹ Principio di precauzione: « Al fine di proteggere l'ambiente, un approccio cautelativo dovrebbe essere ampiamente utilizzato dagli Stati in funzione delle proprie capacità. In caso di rischio di danno grave o irreversibile, l'assenza di una piena certezza scientifica non deve costituire un motivo per differire l'adozione di misure adeguate ed effettive, anche in rapporto ai costi, dirette a prevenire il degrado ambientale » Principio 15 della Dichiarazione di Rio, 1992.

² Direttiva 96/29/Euratom del Consiglio del 13 maggio 1996 che stabilisce le norme fondamentali di sicurezza relative alla protezione sanitaria della popolazione e dei lavoratori contro i pericoli derivanti dalle radiazioni ionizzanti. Pubblicata in: Gazzetta ufficiale n. L 159 del 29/06/1996 pag. 0001.

dei composti chimici³, il farmaceutico⁴, la pianificazione territoriale⁵, la gestione dei rifiuti speciali⁶ e delle acque⁷ e, per quanto riguarda l'oggetto di questa tesi, la sicurezza alimentare⁸ e le biotecnologie⁹.

1.2 L'analisi del rischio

Attualmente l'Analisi di Rischio (AdR) è lo strumento più avanzato di supporto alle decisioni nella gestione dei siti contaminati e consente di valutare i rischi per la salute umana e l'ambiente connessi alla presenza di inquinanti nelle matrici ambientali. Un processo di analisi del rischio strutturato ha diverse caratteristiche che contribuiscono a guidare il processo decisionale. E' infatti un processo iterativo ed interattivo dove le nuove informazioni - scientifiche, economiche e sociali - possono essere incorporate in qualsiasi momento del processo ed andare a modificarne i risultati. Questa caratteristica è fondamentale nella gestione e protezione delle risorse naturali e dell'uso del suolo. Tutto il processo di AdR permette di caratterizzare e valutare gli effetti ecologici in funzione delle variazioni di esposizione a fattori di stress, permettendo di prendere in considerazione le diverse alternative di gestione per ridurre i fattori di stress e raggiungere un risultato stabilito (*protection goal*). Una corretta AdR permette inoltre di evidenziare fasce di incertezza. L'incertezza gioca un ruolo fondamentale in tutto il processo di analisi del rischio; infatti l'incertezza scientifica, intesa come mancanza di informazioni o di risultati conclusivi, genera incertezza nei soggetti coinvolti. Il gioco di parole permette di evidenziare la forte interconnessione presente tra le tre componenti dell'analisi del rischio: valutazione, gestione

³ Regolamento (CE) n. 1907/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio del 18 dicembre 2006 concernente la registrazione, la valutazione, l'autorizzazione e la restrizione delle sostanze chimiche (REACH), che istituisce un'agenzia europea per le sostanze chimiche, che modifica la Direttiva 1999/45/CE e che abroga il Regolamento (CEE) n. 793/93 del Consiglio e il Regolamento (CE) n. 1488/94 della Commissione, nonché la Direttiva 76/769/CEE del Consiglio e le Direttive della Commissione 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE e 2000/21/CE (Testo rilevante ai fini del SEE)..

⁴ Direttiva 2001/83/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 6 novembre 2001 recante un codice comunitario relativo ai medicinali per uso umano.

⁵ Direttiva 97/11/CE del Consiglio del 3 marzo 1997 che modifica la Direttiva 85/337/CEE concernente la valutazione dell'impatto ambientale di determinati progetti pubblici e privati. Pubblicata in: Gazzetta ufficiale n. L 73 del 14.3.1997, pagg. 5-15.

⁶ Direttiva 2002/95/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 27 gennaio 2003, sulla restrizione dell'uso di determinate sostanze pericolose nelle apparecchiature elettriche ed elettroniche. Pubblicata in: Gazzetta ufficiale n. L 37 del 13.2.2003, pagg. 19-23.

⁷ Direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 23 ottobre 2000, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque. Pubblicata in: Gazzetta ufficiale n. L 327 del 22.12.2000, pagg. 1-73.

⁸ Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 28 gennaio 2002, che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare. Pubblicata in: Gazzetta ufficiale n. L 31 dell'1.2.2002, pagg. 1-24.

⁹ Direttiva 2001/18/CE.

e comunicazione del rischio. I risultati delle tre componenti andranno ad influenzare i decisori nella scelta delle azioni da compiere in modo da identificare le aree di ricerca che è opportuno implementare per ridurre i potenziali rischi connessi.

Il rischio viene definito come la combinazione dell'importanza (magnitudo) della conseguenza (effetto negativo) di un pericolo¹⁰, quando si verifica, e la probabilità che tale conseguenza avvenga. Il rischio è in definitiva una combinazione dell'entità e della probabilità delle conseguenze determinate da un pericolo (rischio potenziale).

Gestione del rischio

La gestione del rischio tiene conto dei risultati della valutazione del rischio ambientale (VRA), inclusi i potenziali rischi identificati, nonché dei risultati delle attività di monitoraggio degli stessi. Ha come obiettivi l'identificazione di quali, dei rischi evidenziati in fase di valutazione, possano essere considerati accettabili e la messa in atto di misure per limitare la probabilità che i rischi identificati e le loro conseguenze si verifichino.

La gestione del rischio è considerata un processo decisionale che, tenendo conto degli aspetti ambientali, politici, sociali, economici, compara, sviluppa e mette in atto una serie di iniziative a carattere istituzionale, apposite normative o linee guida, in risposta ai risultati della VRA (Van Leeuwen e Hermens, 1995). Tuttavia, negli ultimi anni si tende ad includere nella gestione del rischio anche soluzioni tecnico/scientifiche utili a controllare e ridurre i rischi accertati entro limiti considerati accettabili.

In fase di gestione del rischio si deve tenere presente che tutte le fasi dell'analisi del rischio hanno un margine di incertezza ed è quindi necessario adottare un approccio precauzionale e condurre le attività di gestione caso per caso.

Nella gestione del rischio possono essere identificate quattro aree distinte ma non indipendenti tra loro (Klinke e Renn, 2002; Australian Government, 2009):

- attività di monitoraggio, che ha lo scopo di accertare i rischi identificati in fase di VRA e le misure di gestione da mettere in atto per ridurli o minimizzarli;
- fase di decisione, in cui in base alle misure di gestione prese il decisore rilascia o meno un'autorizzazione;

¹⁰ Pericolo: è definito come la proprietà intrinseca (caratteristica negativa) di una sostanza, di un organismo o di una situazione fisica, che, in particolari circostanze, è in grado di provocare danni o effetti negativi sulla salute umana, animale e/o sull'ambiente.

- gestione generale, che comprende tutte le iniziative di natura legislativa, politica e scientifica derivanti da esperienze pregresse e indipendenti da quella specifica che si sta analizzando;
- controllo di qualità e revisione, area che include le attività di monitoraggio ambientale e i suoi risultati, finalizzati alla verifica che le misure e azioni messe in atto siano efficaci.

Comunicazione del rischio

Mentre la gestione del rischio è prerogativa di decisori e istituzioni scientifiche, la comunicazione del rischio riguarda anche i cittadini e tutti i soggetti che possono essere potenzialmente coinvolti o interessati dai rischi. Può essere descritta come il flusso di informazioni tra personale scientifico, decisori, imprese e popolazione per garantire un'adeguata conoscenza dei rischi e delle misure da adottare per assicurare la protezione dell'ambiente.

Coinvolgere e informare il pubblico dei potenziali rischi e delle misure di gestione prese in relazione ad un processo, all'utilizzo di un prodotto chimico, al rilascio di un organismo geneticamente modificato, all'immissione in commercio di un nuovo alimento ecc., è una prassi acquisita da tempo in molti paesi, come Stati Uniti e Australia, e sono atti obbligatori all'interno dell'Unione Europea a partire dal giugno 1998, anno della Convenzione di Aarhus. Le Parti firmatarie della Convenzione riconoscono il diritto di accesso alle informazioni che riguardano ambiente; partecipazione del pubblico al processo decisionale; accesso alla giustizia in materia ambientale. In particolare, la Convenzione sancisce che le autorità pubbliche, in risposta alla richiesta di informazioni, debbano renderle disponibili senza pregiudizio alcuno e nella forma richiesta. L'Unione Europea ha ratificato la Convenzione emanando la Direttiva 2003/4/CE, recepita dall'Italia con il D.Lgs. 19 agosto 2005, n. 195. La comunicazione del rischio è fondamentale nel rispondere ai cittadini e influenzarne la percezione del rischio. La percezione dei rischi (e benefici) è molto diversa a seconda dell'individuo coinvolto e del processo che genera il rischio e cambia nel tempo a seconda delle nuove informazioni a disposizione. La percezione del rischio varia in base ad una serie di parametri, dai recettori del rischio (uomo, animale ambiente in generale) alla caratteristica dell'effetto (immediato o differito nel tempo) e alla tipologia dell'effetto stesso. In alcuni casi gli effetti negativi sono direttamente ricollegabili ad un'azione, mentre in altri casi l'impatto di tali effetti non è immediatamente identificabile e ovvio. Per un processo di risanamento di un sito inquinato la percezione del rischio è molto bassa, infatti la

componente relativa ai benefici connessi al ripristino ambientale risulta molto più alta di quella relativa al rischio connesso al procedimento di ripristino.

Valutazione del Rischio

Negli Stati Uniti la pratica di valutazione del rischio in ambito ambientale è presente a partire dagli anni settanta, anche se non come processo formalmente riconosciuto. Le prime valutazioni condotte dall'Agenzia statunitense per la protezione dell'ambiente (Environmental Protection Agency, EPA) riguardarono lo sviluppo di procedure e orientamenti per la valutazione dei rischi sanitari e degli impatti economici di sospetti agenti cancerogeni, e descrivevano un quadro generale del processo da seguire per analizzare i rischi di pesticidi cancerogeni (EPA, 2005), ma solo nel 1983 il National Research Council pubblicò il *Red book* (National Research Council, 1983), nel quale si definiva per la prima volta un *framework* specifico per la valutazione del rischio sanitario delle sostanze tossiche (*Health Risk Assessment*, HRA). In seguito l'EPA stabilì che era possibile mantenere la struttura proposta per l'HRA, adattandola alle esigenze specifiche dell'ERA (*Environmental Risk Assessment*). Il primo documento EPA sulla strutturazione della valutazione dei rischi dei composti tossici è del 1989, poi seguito dalle linee guida per la realizzazione dell'ERA (EPA, 1992), applicabili anche a fattori di stress differenti dai composti chimici; successivo è un ulteriore aggiornamento (EPA, 1998) in cui viene enfatizzata l'importanza di sviluppare l'ERA attraverso una pianificazione condivisa tra valutatori e gestori del rischio, così come tutti i possibili portatori di interesse (Cormier e Suter II, 2008). Le linee guida dell'EPA, riviste ed adattate in paesi diversi ed in specifici contesti, possono considerarsi tra i principali strumenti di riferimento a livello internazionale per la valutazione dei rischi ambientali (Hope, 2006; Dale et al., 2008; Wolt et al., 2010). Una valutazione del rischio deve essere un processo sistematico, strutturato e ripetibile; può essere qualitativa, quantitativa o semiquantitativa; è intesa come strumento di supporto alle decisioni ed ha lo scopo di trasformare dati e risultati scientifici in informazioni sui rischi, in modo da consentire ai gestori del rischio di prendere decisioni in materia ambientale. La Valutazione del Rischio Ambientale riguarda non solo l'ambiente in senso stretto, ma anche la salute umana e animale; prevede la valutazione del danno non solo a individui e popolazioni (umane o animali) all'interno di una singola specie, ma prende anche in considerazione i potenziali impatti negativi sulle interazioni intra- ed interspecifiche nel contesto delle comunità biologiche e degli ecosistemi e sull'ambiente fisico. Dati e informazioni da tenere in

considerazione nel corso di una valutazione del rischio possono essere ricavati da studi di botanica, agronomia, genetica delle popolazioni, ecologia, ma anche geologia, biochimica e sui cicli biogeochimici. La valutazione del rischio ambientale è un processo che valuta la probabilità che si verifichino o si stiano verificando effetti ecologici negativi a seguito di esposizione ad uno o più fattori di stress e fornisce una base per il confronto, la classificazione e la priorità dei rischi. I risultati possono essere utilizzati anche in termini di analisi costi/benefici e costi/efficacia e offrono un'interpretazione supplementare degli effetti delle opzioni di gestione alternative. Le metodologie sviluppate in questo contesto sono finalizzate alla trasformazione di un processo di tipo complesso, che studia reti di interazioni dinamiche e che richiede l'impiego di risorse significative, in un pratico strumento di supporto alle decisioni (Hayes et al., 2004; Australian Government, 2005;).

1.3 Le fasi della Valutazione del Rischio Ambientale

Il panorama scientifico e normativo definisce i metodi di valutazione del rischio e fornisce le definizioni dei vari termini utilizzati è molto ampio; nell'ambito di questo documento e del mio lavoro si è fatto riferimento alle definizioni e ai metodi forniti dalla normativa che regola gli Organismi Geneticamente Modificati (OGM) e relative Linee Guida, in particolare a la *Scientific Opinion*, del gruppo di lavoro sugli OGM dell'Autorità per la Sicurezza Alimentare, sulla valutazione del rischio ambientale di piante geneticamente modificate. Il documento fornisce linee guida per condurre la VRA sul rilascio deliberato nell'ambiente e/o l'immissione in commercio di alimenti e mangimi geneticamente modificati (Regolamento 1829/2003/CE) o di OGM (Direttiva 2001/18/CE) (EFSA , 2010). Come per altre applicazioni della VRA, anche questa prende origine (ripercorrendoli) da molti dei concetti sviluppati per la VRA applicata al rischio da prodotti chimici. I principi e i passaggi fondamentali sono quindi da considerarsi generali e applicabili anche ad altri processi che vanno ad impattare sull'ambiente, sulla salute umana ed animale.

Una corretta VRA dovrebbe avere come fondamento il principio di precauzione, essere condotta caso per caso e con un approccio passo per passo (*step by step*). L'obiettivo di una VRA è l'identificazione e valutazione dei potenziali effetti negativi diretti, indiretti, immediati o differiti nel tempo (in questo caso sono considerati anche gli effetti cumulativi) attraverso 6 fasi fondamentali (figura 1.1).

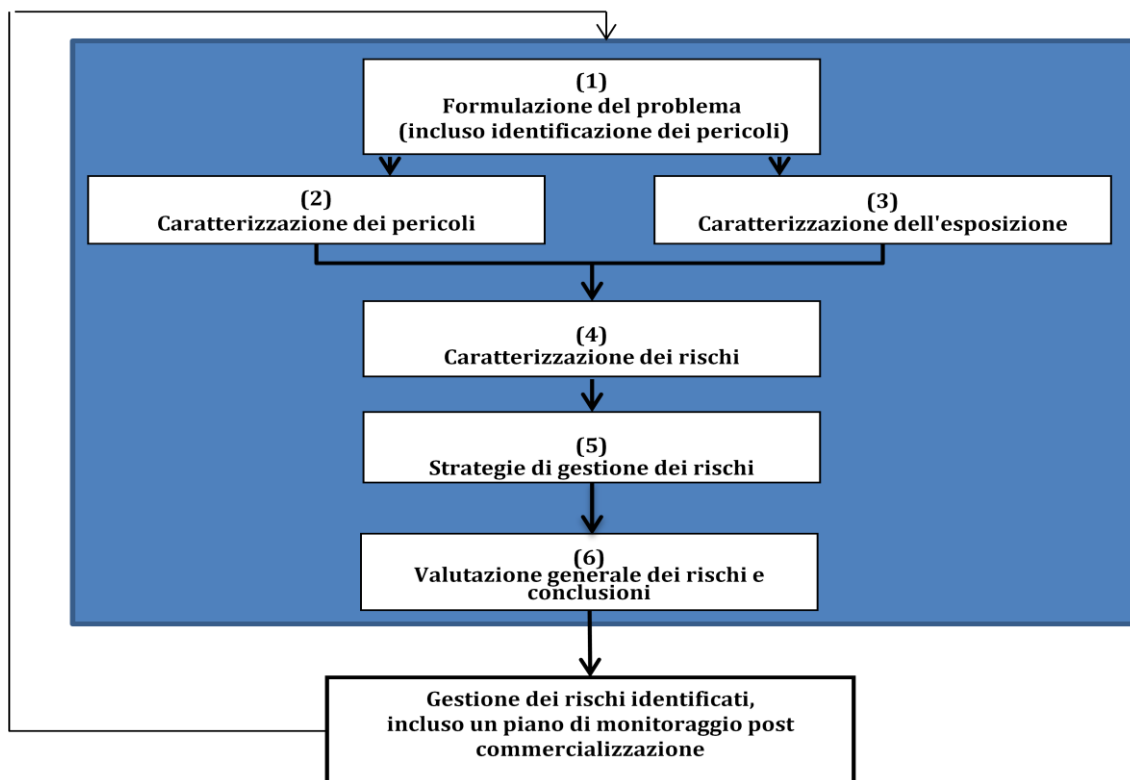


Figura 1.1 - Le fasi della valutazione del rischio degli OGM elencate nella Direttiva 2001/18/CE aggiornate in base alle indicazioni delle linee guida EFSA.

Ogni passaggio è strettamente relazionato e relazionabile al precedente e al successivo e non tutti i passaggi sono consequenziali, ma vanno portati avanti in parallelo.

Fase 1: Formulazione del problema. Include l'identificazione del pericolo. In questa fase il valutatore deve porsi una serie di interrogativi che lo porteranno ad identificare i pericoli, ossia tutte le caratteristiche intrinseche pericolose dell'oggetto della VRA. Per raggiungere lo scopo possono essere utilizzati, singolarmente o contemporaneamente, uno o più metodi. Tra questi possiamo citare:

- metodi comparativi che includono la raccolta di dati storici, di esperienze precedenti e lo sviluppo di liste di controllo. Le liste di controllo sono utilizzate comunemente quando la situazione nella quale devono essere identificati i rischi potenziali è simile a situazioni che sono già state sistematicamente affrontate;
- metodi strutturati che conducono ad una serie di domande "What if". Un esempio di questo tipo di approccio è l'analisi HAZOP (Hazards and Operability Analysis) che è ampiamente utilizzata e riconosciuta dall'industria chimica per l'analisi dei rischi di processo. L'analisi HAZOP è il processo di identificazione sistematica di ogni possibile

deviazione dall'obiettivo voluto, di ogni possibile causa anormale e di ogni conseguenza pericolosa che si può verificare in un impianto chimico;

- tecniche di ragionamento induttivo quali *event tree* e *fault tree* sono approcci di scenario, per l'identificazione di un pericolo (rischio potenziale), che prevedono l'esame di tutte le possibilità, anche se alcune opzioni possono essere sia sovrastimate che ignorate. L'analisi *event tree* descrive l'ampiezza e la sequenza degli effetti negativi che possono determinarsi a partire da un evento iniziale. L'evento iniziale può essere una modesta irregolarità che in seguito ad una serie di eventi a catena successivi conduce ad una conseguenza negativa importante. Nell'analisi *fault tree* si parte dalla potenziale conseguenza negativa per risalirla e stabilire le diverse modalità o la sequenza degli eventi che l'hanno determinata;
- *brainstorming*, tecnica diffusa di *decision-making* che può essere formale o informale ed è applicata a problemi specifici. Deve essere utilizzato sistematicamente e coinvolgere un certo numero di esperti con diverse conoscenze e competenze. Fornisce i migliori risultati se i due processi - l'impostazione dei criteri (contesto) e la presa di decisioni (processo) - sono separati, e se i decisori rappresentano un ampio spettro di interessi e competenze.

Nel caso di un processo di fitorisanamento la formulazione del problema riguarderà non solo le caratteristiche del contaminante, ma anche della pianta utilizzata, dal punto di vista botanico-agronomico, e dell'ambiente in cui avviene il fitorisanamento, incluse le informazioni idrogeologiche e sull'ecosistema. L'identificazione delle vie di esposizione o dei fattori di diffusione attraverso i quali il processo di fitorisanamento può andare ad impattare l'ambiente fa sempre parte di questo primo passaggio (Hill e Sendashonga C., 2003).

Altro aspetto fondamentale di questa fase è l'identificazione di quegli aspetti ambientali che devono essere protetti; nel caso di un fitorisanamento tra questi possono essere elencati la biodiversità del suolo e la sua funzionalità, l'agrobiodiversità, le catene trofiche. Nella caratterizzazione del punto zero (*baseline*) di un processo di fitorisanamento, si deve ricordare che la presenza del contaminante è un fattore di stress importante che ha già agito su molti aspetti ambientali, andando a modificarne lo stato "normale". Contemporaneamente la presenza del contaminante produrrà cambiamenti anche nella pianta utilizzata, andandone a modificare alcune caratteristiche. Le informazioni da prendere in considerazione in questo passaggio possono provenire sia dalla letteratura scientifica sull'argomento, sia dai risultati di ricerche sul campo, ma si deve anche tenere conto

dell'opinione di esperti sulla varie discipline. Nella valutazione del rischio fondamentale infatti è la multidisciplinarietà.

Questo primo passaggio può essere comparato negli obiettivi e finalità al 1 livello (*Scoping*) della VRA applicata al rischio chimico i cui obiettivi e i percorsi essenziali sono descritti nel documento EPA (Ohio-EPA, 2008).

Tre sono i prodotti che deve fornire la formulazione del problema: i parametri di valutazione, che rappresentino adeguatamente gli obiettivi di protezione (*protection goals*) e gestione (*endpoints*) rispetto agli ecosistemi e alle matrici ambientali interessate; un modello concettuale che definisca le relazioni che intercorrono tra i fattori di stress e descriva i fattori di diffusione insieme alle vie di esposizione con le quali tali fattori possono impattare i potenziali recettori presenti; un piano di analisi. Alcuni degli obiettivi di protezione sono elencati nella tabella 1.1.

Il coinvolgimento dei gestori del rischio e delle altre parti interessate può essere importante durante la fase finale di selezione dei parametri di valutazione, di revisione dei modelli concettuali e di adeguamento del piano di analisi, in quanto la partecipazione di altri soggetti è utile ad approvare ed affinare i risultati dei valutatori piuttosto che a costituire un vero e proprio supporto tecnico (Storkey et al., 2008).

Tabella 1 - Esempi di obiettivi di protezione ambientale e loro base legale in Unione europea (modificata da Efsa, 2010)

Obiettivi di protezione	Aree di protezione	Base legale	Scopo
Conservazione della biodiversità	Conservazione di specie protette, di valore culturale (includere le endemiche) o appartenenti alle Liste Rosse	Direttiva 2004/35/CE (a)	Responsabilità ambientale
		Direttiva 92/43/CEE (b)	Conservazione degli habitat naturali e della fauna e flora selvatica
		Direttiva 2009/147/CE (c)	Conservazione degli uccelli selvatici
		Regolamento 338/97 (d)	
		Piano strategico per la biodiversità (e)	Protezione delle specie selvatiche di fauna e flora in pericolo
		Strategia per la biodiversità (f)	Conservazione della biodiversità
	Habitat protetti; paesaggi	Piano strategico di biodiversità per la tutela delle risorse naturali (g)	Conservazione della biodiversità
		Convenzione di Berna (h)	Conservazione delle risorse naturali
		Convenzione sulla biodiversità (i)	Conservazione della fauna e flora selvatica e degli habitat naturali Conservazione della diversità biologica

Obiettivi di protezione	Aree di protezione	Base legale	Scopo
Funzioni ecologiche	Suolo Sistemi di produzione, protezione delle piante	Direttiva 2004/35/CE Strategia tematica per la protezione del suolo (l) Direttiva Acque 2000/60/CE (m) Regolamento 1107/2009 (n) Direttiva 2009/128/CE (o) Strategia della biodiversità (g) Piano strategico di biodiversità per la tutela delle risorse naturali (g)	Responsabilità ambientale Preservazione delle funzioni del suolo Protezione delle acque Commercio di prodotti fitosanitari Uso sostenibile di prodotti fitosanitari Uso sostenibile della biodiversità Uso sostenibile delle risorse naturali

Legenda: (a) Directive 2004/35/CE of the European Parliament and of the Council of 21 April 2004 on environmental liability with regard to the prevention and remedying of environmental damage; (b) Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora; (c) Council Directive 2009/147/EC of 30 November 2009 on the conservation of wild birds; (d) Council Regulation (EC) No 338/97 of 9 December 1996 on the protection of species of wild fauna and flora by regulating trade therein; (e) Commission Communication of 22 May 2006 "Halting the loss of biodiversity by 2010 - and beyond - Sustaining ecosystem services for human well-being" COM(2006) 216; (f) Communication from the Commission to the Council and the European Parliament of 4 February 1998 on a European Community biodiversity strategy COM(1998) 42; (g) Commission Communication of 27 March 2001 to the Council and the European Parliament: Biodiversity Action Plan for the Conservation of Natural Resources (Volume II) COM(2001) 162; (h) Council Decision 82/72/EEC of 3 December 1981 concerning the conclusion of the Convention on the conservation of European wildlife and natural habitats (Bern Convention); (i) Council Decision 93/626/EEC of 25 October 1993 concerning the conclusion of the Convention on Biological Diversity; (l) Commission Communication of 22 September 2006 entitled "Thematic strategy for soil protection" COM(2006) 231; (m) Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy; (n) Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC; (o) Directive 2009/128/EC of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides.

Fase 2: Caratterizzazione del pericolo (rischio potenziale). E' la valutazione qualitativa e/o quantitativa dell'entità del danno ambientale, o effetto negativo, associato (conseguenza) al pericolo identificato nella prima fase. La descrizione qualitativa prevede l'utilizzo di categorie che vanno da "alto" a "trascurabile" per collocare il pericolo su una scala di severità di magnitudo (Liu e Agresti, 2005). L'entità delle conseguenze dovrebbe essere valutata tenendo in considerazione anche la scala spaziale e temporale del processo di valutazione, con particolare evidenza per il momento in cui le conseguenze cominciano a manifestarsi. Inoltre la caratterizzazione della natura di un rischio potenziale deve riuscire ad evidenziare la sua importanza in relazione agli altri rischi individuati. Nel caso di una VRA applicata ad un fitorisanamento occorre discriminare quegli effetti/conseguenze dovuti alla presenza del contaminante da quelli connessi al fitorisanamento.

Fase 3: Caratterizzazione dell'esposizione. Ha lo scopo di valutare la probabilità che l'effetto negativo identificato si verifichi. La probabilità finale è definita da tre fattori in particolare: la presenza dei recettori (uomo, animali e altre componenti ambientali) potenzialmente interessati dal pericolo (rischio potenziale); la suscettibilità del singolo recettore al relativo rischio potenziale; le caratteristiche dell'esposizione in termini di durata e intensità. In questa fase del processo è importante considerare le vie di esposizione e i fattori di diffusione identificati nella fase 1. Si devono, in seguito, quantificare i livelli di esposizione determinati dalle singole vie di esposizione o i fattori di diffusione identificati. Anche in questo caso non tutti i rischi potenziali identificati e caratterizzati nel passaggio precedente possono essere valutati in maniera quantitativa e anche qui sarà possibile utilizzare una descrizione per categorie ordinate che vanno da "alto" a "trascurabile".

Fase 4: Caratterizzazione del rischio. Il secondo e il terzo passaggio generalmente vengono condotti in parallelo. I risultati possono essere inseriti all'interno di una matrice a doppio ingresso per una caratterizzazione dei rischi associati a ciascun effetto negativo individuato che è appunto il quarto passo della valutazione del rischio (figura 1.2).

Classi di rischio 	Conseguenze			
	IMPORTANTI	MODERATE	RIDOTTE	TRASCURABILI
Probabilità				
IMPORTANTE	Elevato	Elevato	Medio/Basso	Trascurabile
MODERATA	Elevato	Medio	Basso	Trascurabile
RIDOTTA	Elevato/medio	Medio/basso	Basso	Trascurabile
TRASCURABILE	Elevato/medio/ basso	Medio/basso	Basso	Trascurabile

Figura 1.2. Matrice a due entrate. La classificazione del rischio è basata sulla combinazione della probabilità che esso si verifichi e dell'entità delle conseguenze. La matrice è a doppio ingresso: su un asse sono elencate le classi relative alla probabilità che l'impatto si verifichi, mentre sull'altro ingresso vengono elencate le classi che descrivono l'entità delle possibili conseguenze dovute all'effetto negativo. In assenza di dati analitici più circostanziati, le classi di probabilità proposte, sono: Importante, Moderata, Ridotta, Trascurabile. Sulla base di queste 4 classi, vengono individuate 6 classi di rischio: Elevato, Elevato/medio, Medio, Medio/basso, Basso, Trascurabile.)

Il rischio è determinato dalla combinazione della magnitudo delle conseguenze di un pericolo (rischio potenziale), ossia un effetto negativo, e della probabilità che questo si realizzi. La caratterizzazione del rischio implica, quindi, la comprensione della natura delle

situazioni di rischio determinate dal rischio potenziale, le loro conseguenze e le modalità di accadimento dei danni o degli effetti negativi. Sulla base delle conclusioni raggiunte nei punti precedenti, la valutazione del rischio connesso ad un effetto negativo dovrebbe essere condotta per ognuno dei rischi potenziali (pericoli) identificati nella fase 1. In alcuni casi un pericolo, a seconda dei recettori che può raggiungere, delle vie di esposizione e dei fattori di diffusione presenti, può generare più di un effetto negativo, ma anche in questo caso il rischio deve essere valutato per ciascuno degli effetti identificati. L'incertezza relativa a ciascun rischio valutato deve essere evidenziata ed analizzata.

Fase 5: Strategie di gestione dei rischi. Tali strategie hanno lo scopo di ridurre i rischi, identificati nelle fasi precedenti, ad un livello di accettabilità. Le misure di gestione del rischio qui considerate sono da distinguere da quelle descritte nel paragrafo precedente, infatti possono essere condotte in fase sia *ex ante* sia *post*. Infatti in genere tale fase non viene riconosciuta all'interno del processo di valutazione del rischio ma come parte integrante del processo di analisi; viene qui riportata perché parte dei 6 passaggi descritti all'interno delle linee guida EFSA. Uno degli scopi della valutazione del rischio è la successiva pianificazione nell'applicazione di misure idonee a eliminare o ridurre il rischio complessivo. Nella descrizione di ciascuna delle misure applicabili si devono riportare la descrizione delle tecniche e della strategia adottata e i parametri considerati per determinare la riduzione del rischio precedentemente stimato.

Fase 6: Valutazione generale del rischio e conclusioni. Deve essere condotta tenendo conto dei risultati delle fasi precedenti, includendo informazioni sul livello di incertezza e le misure di gestione proposte. Tale riassunto di tutte le informazioni raccolte e le osservazioni registrate devono fornire sicure indicazioni per guidare il decisore, o comunque l'utilizzatore, verso una serie di iniziative volte al monitoraggio caso-specifico dei potenziali effetti identificati e dell'efficienza delle misure di gestione proposte, e verso la messa a punto di piani di sorveglianza generale per monitorare il verificarsi di effetti indiretti, a lungo termine o cumulativi.

Quanto descritto finora ripercorre i passaggi proposti dall'EFSA in una VRA applicata al rilascio di PSGM (Piante Superiori Geneticamente Modificate). Si è scelta questa tipologia perché oggetto della tesi è la valutazione del rischio di un processo di fitorisanamento nella quale si analizzeranno l'efficacia e i rischi connessi all'immissione in ambiente di una pianta destinata ad assorbire un contaminante, piuttosto che i rischi connessi alla presenza del contaminante stesso; bisogna considerare, comunque, che i metodi di VRA applicata alle

PSGM prendono origine dai metodi sviluppati per il rischio chimico. Inoltre, nel corso dello sviluppo del metodo di VRA proposto nel lavoro di Dottorato i metodi e gli approcci di VRA applicati al rischio chimico sono stati comunque studiati, analizzati e tenuti in considerazione. Infatti, molti dei percorsi di rischio e le informazioni richieste sono stati individuati prendendo spunto dai metodi per il rischio chimico e studiandoli.

1.3.1 I metodi di VRA

Esistono tre categorie principali di metodi di valutazione del rischio che possono essere utilizzate per determinare il livello di rischio: qualitativa, semiquantitativa e quantitativa (Sorlini et al., 2003). L'approccio generalmente utilizzato è quello di tipo qualitativo, anche se il recente sviluppo tecnologico, l'applicazione delle normative per condurre in maniera standardizzata ed armonizzata l'AdR ed una sempre maggiore conoscenza degli equilibri ecologici, permettono in alcuni casi anche un approccio semiquantitativo e quantitativo. La scelta di applicare un'analisi quantitativa o qualitativa dipende dallo scopo dell'applicazione e da tipo, quantità e qualità dei dati disponibili, e quindi dal grado di incertezza.

Valutazione qualitativa. Non prevede modelli matematici e si basa sull'identificazione complessiva e sulla descrizione delle caratteristiche nocive di una sostanza, di un organismo o di una situazione fisica che possono portare al verificarsi di rischi. La gamma dei possibili eventi può essere rappresentata con categorie di rischio attraverso la classificazione della probabilità e dell'entità delle conseguenze, al fine di facilitare la loro comparazione e l'identificazione delle priorità. Questo tipo di valutazione è utilizzata quando il livello dei potenziali rischi non giustifica il tempo e le risorse necessarie a condurre un'analisi di tipo numerico, quando i dati numerici sono inadeguati per un'analisi quantitativa, o nel caso sia necessario condurre uno screening iniziale per decidere quali rischi necessitano di ulteriore attenzione e quali sono trascurabili, prima di procedere con un'analisi più dettagliata. In questo caso i risultati, nell'identificazione dei rischi, si incrementano grazie al lavoro di gruppo che prevede la partecipazione di esperti in settori diversi.

Valutazione semiquantitativa. Prevede la sistematica identificazione, analisi e rappresentazione dei rischi potenziali per mezzo di descrizioni sia qualitative sia quantitative della frequenza e dell'entità delle conseguenze per l'uomo e/o l'ambiente. L'importanza dei risultati è valutata comparando i valori ottenuti con quelli riportati in specifici esempi, con standard o con risultati provenienti da altri casi studiati precedentemente. Un'analisi semiquantitativa assegna numeri a descrizioni o a classificazioni di tipo qualitativo (basate su giudizi come "elevato", "medio" e "basso") relative alla probabilità e all'entità di ogni

potenziale rischio. Le informazioni possono essere elaborate utilizzando metodi aritmetici, ma è importante non interpretare quantitativamente i risultati di un'analisi semiquantitativa.

Valutazione quantitativa. E' finalizzata a produrre una rappresentazione numerica della frequenza e della magnitudo di uno specifico livello di esposizione e dei conseguenti eventuali effetti negativi. Prevede l'applicazione di modelli matematici, usa dati quantitativi ed esprime il rischio in termini numerici. Se i numeri sono rappresentati da valori puntuali (solitamente valore medio, valore più probabile o valore che cattura lo scenario peggiore che ci si potrebbe attendere), si parla di modello quantitativo "deterministico". Il limite insito in questo approccio sta proprio nell'applicazione di valori numerici, che spesso sono il prodotto di stime relative alla frequenza ed all'entità del livello di esposizione; il risultato finale sarà un valore con un ampio intervallo di confidenza che tende a ridurre l'utilità. Inoltre, trattandosi di dati relativi a variabili di un sistema biologico complesso, è spesso impossibile ottenere dati sufficienti e affidabili che permettano di supportare una stima di rischio di tipo quantitativo. La valutazione tende quindi a conformarsi a un approccio conservativo adottato dal valutatore del rischio, che spesso rimanda a valori soglia stabiliti dalla normativa di riferimento. La qualità e la validità del risultato finale dipendono dalla disponibilità di dati, dall'accuratezza e dalla completezza dei valori numerici e dai metodi utilizzati per derivare i dati (sperimentazione, modelli, estrapolazione ecc.). Per superare questi limiti negli ultimi anni negli studi di valutazione quantitativa del rischio, applicata alla sicurezza chimica o alimentare, si fa ricorso all'approccio "probabilistico" (stocastico). Nell'approccio probabilistico, i singoli valori nelle diverse fasi della valutazione modello vengono sostituiti da distribuzioni di probabilità o curve che descrivono gli intervalli di oscillazione dei valori che i parametri oggetto di analisi possono assumere di volta in volta, e incorporano sia la variabilità del sistema in sé (proprietà essenziale della natura e risultato di processi casuali e non riducibili) sia l'incertezza (conoscenza scarsa del fenomeno o dei parametri, riducibile con la ricerca) sui parametri scelti. L'incertezza, che va distinta dall'ignoranza (mancanza di conoscenza di fattori), è la condizione per la quale esistono e sono già identificati i fattori che condizionano il rischio, ma non è possibile descrivere in modo preciso sia la natura degli effetti sfavorevoli sia la loro probabilità.

L'incertezza nella valutazione del rischio ambientale. Come si è detto, un'importante limitazione dei modelli di valutazione applicati ad un sistema ambientale reale è che, in alcuni casi, sono talmente semplificati da trascurare importanti aspetti. In sintesi, le

principali limitazioni sono dovute alla difficoltà nel rappresentare e tener conto numericamente delle proprietà di un mezzo eterogeneo, delle variabilità temporali dei fenomeni simulati, della presenza di sorgenti di contaminazioni multiple e delle irregolarità legate alla geometria del sito e alla sorgente di contaminazione.

1.4 La Valutazione del Rischio Ambientale applicata ai prodotti chimici

Se si vanno a guardare gli obiettivi ed i percorsi suggeriti per la valutazione del rischio ambientale applicata ai contaminanti chimici (pesticidi, idrocarburi ecc.) su varie matrici ambientali, si possono evidenziare molteplici punti in comune. Un documento EPA del 2003 è stato rivisto quest'anno (Ohio EPA, 2008) e presenta il processo di VRA come un *tiered process* in cui sono previsti 4 livelli di analisi (figura 1.3). Il metodo prevede livelli di analisi sempre più approfonditi, per ciascuno dei quali è stata sviluppata una serie di approcci e strumenti appositi. Un approccio a più livelli permette di ottimizzare l'uso delle risorse a disposizione, evitando indagini e analisi eccessivamente approfondite laddove non ne venga prima dimostrata la necessità. All'interno di ciascun livello si riconoscono le fasi descritte nel paragrafo precedente, anche se non esiste una corrispondenza unica e completa tra le fasi delle linee guida EFSA e i livelli di seguito descritti.

Livello 1: Scoping: Il primo livello (EPA, 2001), consiste nello stabilire se in un determinato sito esiste una importante risorsa ecologica e i potenziali recettori (definiti in base al modello EFSA nella fase 1), e se esiste la possibilità che venga raggiunta da uno o più agenti ecologici di stress; sempre a questo livello vengono definiti i contaminanti di interesse ecologico (COI, *Contaminants Of Interest*).

Questo livello prevede che vengano formulati i problemi e caratterizzati gli effetti ecologici, e nello specifico:

- identificazione di comparti e componenti ambientali potenzialmente interessati agli effetti del/dei contaminante/i, anche potenziali;
- definizione delle traiettorie ambientali dei contaminanti, che nel metodo proposto in questo lavoro vengono chiamati fattori di diffusione;
- identificazione delle vie di esposizione e selezione di un *endpoint* generico;
- valutazione dell'incertezza.

Se in questa fase viene verificato il fatto che il sito che si sta analizzando è un luogo non importante dal punto di vista ecologico, ossia non presenta le caratteristiche di una risorsa ecologica, e che non è presente alcun fattore di stress, allora non c'è necessità di una VRA. L'operazione termina al livello 1.

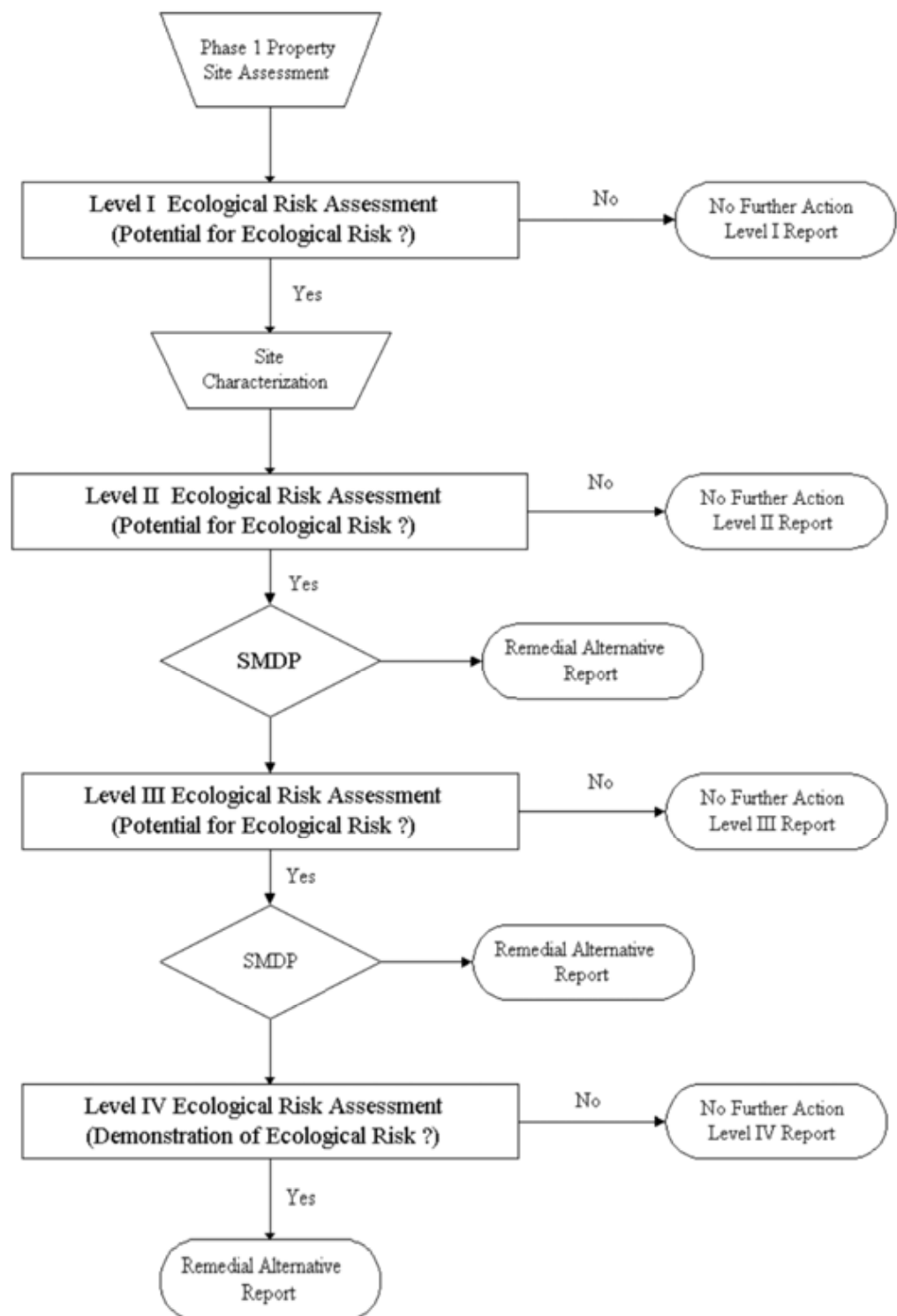


Figura 1.3 – Diagramma di flusso di una Valutazione del Rischio Ambientale proposto dall'Agencia per la Protezione dell'Ambiente dell'Ohio (USA). Il diagramma individua i diversi i livelli di approfondimento, all'interno di una valutazione dei rischi. Con la sigla: SMDP: Scientific/Management Decision Point, vengono evidenziati i nodi di ciascun livello in cui deve essere presa una decisione. (Ohio EPA, 2008).

Livello 2: Screening: Il secondo livello è detto anche SLERA (*Screening Level Ecological Risk Assessments*) e consiste nel comparare misure di concentrazione di contaminanti nei diversi comparti ambientali (acqua, sedimenti, suolo) con i limiti e/o i valori di riferimento dettati

dalla normativa. Se le misure sono inferiori ai limiti l'operazione termina a questo livello, altrimenti, anche se solo uno dei limiti di cui sopra viene superato, occorre procedere. E' a questo livello che vengono caratterizzati i COI. La fase di *screening* serve a:

- identificare e caratterizzare i potenziali pericoli derivanti dal rilascio nell'ambiente di sostanze pericolose (fase 1 delle linee guida EFSA) anche mediante la raccolta di dati sito-specifici, in modo da contestualizzare i pericoli e gli eventuali rischi connessi;
- valutare l'impatto ecologico di alternative percorribili per una eventuale bonifica (fase 2, 3, 4 delle linee guida EFSA);
- stabilire obiettivi di bonifica nell'azione scelta per proteggere la qualità delle risorse naturali a rischio (EPA, 1994).

Per evitare di definire come *no risk* quel che in realtà è un'insufficienza di dati o dati poco accurati dovuti a limiti dettati dalla sensibilità analitica degli strumenti utilizzati, si dovrà provvedere, anche in questo caso, ad applicare il principio di precauzione. Il livello di *screening* deve comunque produrre un'analisi di rischio, completa di analisi di incertezza.

Sempre a questo livello verrà impostato un modello concettuale del sito, con le traiettorie ambientali dei contaminanti ed i probabili recettori ecologicamente importanti, definendo anche degli appropriati endpoints ecologici. Vengono elencati i composti chimici presenti nel sito, così come indicato nel Regolamento REACH (Regolamento (CE) n. 1907/2006 concernente la registrazione, valutazione, autorizzazione e restrizione delle sostanze chimiche), e caratterizzate le sostanze chimiche in base al loro indice di biodegradabilità. Tenendo in considerazione i COI definiti nel livello precedente, viene redatta la lista dei contaminanti di potenziale interesse ecologico (COPEC, *Contaminants Of Potential Ecological Concern*). In caso di rilevamento di rischi, si presentano due alternative: la rimozione dei contaminanti o la bonifica. Se la bonifica non è possibile occorre passare al livello successivo.

Livello 3: Baseline: L'obiettivo è la stima dei rischi potenziali di natura chimica e non chimica in un determinato sito (fase 1 e 2 del metodo descritto nelle linee guida EFSA). In questo livello vengono definite le basi per una riduzione dei rischi ecologici (fase 4 del metodo descritto nelle linee guida EFSA) e le ipotetiche azioni di bonifica sito-specifiche. Inoltre si ha anche il coinvolgimento dei soggetti portatori d'interessi, che verranno associati nell'azione di VRA e nei processi decisionali (Conferenza dei Servizi). Per il raggiungimento degli obiettivi è fondamentale il completamento delle fasi precedenti.

Le fasi previste sono finalizzate al completamento della formulazione del problema e prevedono:

- un'ulteriore identificazione degli *endpoints* della VRA e il collegamento tra questi e gli interessi gestionali;
- l'elaborazione del Modello Concettuale del sito che descrive le potenziali relazioni tra gli *endpoint* ecologici e i COPEC identificati nel livello precedente;
- la formulazione di una o più ipotesi di rischio.

A questo livello viene condotta un'analisi dell'incertezza delle assunzioni fatte attraverso un'analisi di sensibilità dei parametri adottati. Come illustrato in fig. 1.3, al termine di questo livello il valutatore decide se la VRA si ferma, per mancanza di rischi significativi, oppure se bisogna procedere alla bonifica del sito o ad una gestione dei rischi, o anche se è necessario raccogliere ulteriori informazioni e tener conto di altri parametri e procedere con il livello successivo.

Livello 4: Field baseline assessment. A questo livello vengono verificate le ipotesi e il modello concettuale sulla base di osservazioni e misure sul campo. Vengono inoltre quantificati i danni ai potenziali recettori dei COPEC. Le acquisizioni del livello precedente vengono accolte e perfezionate, oppure rifiutate attraverso la raccolta di dati e informazioni a carattere sperimentale.

I due metodi hanno diversi punti in comune, in particolare la caratterizzazione dei pericoli nelle prime fasi, la definizione di un modello concettuale, l'identificazione di obiettivi di protezione e di gestione. I punti di divergenza dipendono dall'oggetto della valutazione; nel primo esempio si tratta infatti di valutare i rischi connessi ad un organismo vivente (la pianta) in grado di riprodursi e di modificare alcune delle sue caratteristiche a seconda dei cambiamenti che avvengono nell'ambiente ricevente, nel secondo caso si tratta di una sostanza con delle caratteristiche precise e dei percorsi di migrazione nelle diverse matrici ambientali ben definiti e specifici dovuti alle caratteristiche chimiche.

In generale una valutazione dei rischi dovrebbe essere aggiornata periodicamente alla luce delle esperienze avute, del progresso tecnologico, dello sviluppo scientifico e dei risultati ottenuti dalle attività di monitoraggio.

1.5 Parametri di valutazione

La selezione dei parametri di valutazione (*assessment endpoints*) è essenziale per collegare le caratteristiche ambientali con i fattori di stress e gli obiettivi di gestione. Questo avviene in genere durante lo sviluppo del modello concettuale e i parametri vanno specificati nel piano di analisi. Tali parametri esplicitano i valori ambientali da proteggere e sono operativamente definiti da un'entità ecologica e dalle sue caratteristiche che possono essere

impattate dai fattori di stress. I parametri di valutazione, per essere funzionali alla valutazione, devono rappresentare adeguatamente l'ambiente e gli obiettivi di gestione e devono avere attributi misurabili che siano sensibili ai fattori di stress. Un buon parametro di valutazione può essere identificato a ogni livello ecologico (per esempio individuo, popolazione, comunità, ecosistema, paesaggio) e deve preferenzialmente avere le seguenti caratteristiche:

- rilevanza ecologica, ossia deve riflettere caratteristiche importanti del sistema ed avere correlazioni con altre entità ecologiche;
- sensibilità ai fattori di stress, che può non essere nota in prima istanza ma tendenzialmente può dipendere dalle caratteristiche del ciclo vitale e dal potenziale livello di esposizione al fattore di stress;
- rispondenza agli obiettivi di gestione, che devono rappresentare valori ambientali oggetto di gestione e possibilmente riconosciuti dalla popolazione (per es. specie protette, specie commercialmente importanti, funzioni che supportano la produzione alimentare, valori estetici ecc.).

I parametri di valutazione non possono essere troppo ampi o vaghi, per esempio, l'integrità ecologica è un obiettivo di gestione spesso citato, ma non può essere un parametro di valutazione. D'altra parte dei parametri di valutazione troppo ristretti potrebbero non supportare una gestione efficace dei rischi, per esempio se un parametro di valutazione è una specie minacciata la valutazione potrebbe concentrarsi esclusivamente sulla tutela dell'habitat della specie minacciata, ma trascurare altre caratteristiche altrettanto importanti dell'ecosistema. I parametri di valutazione chiaramente definiti sono in grado di fornire la direzione e i confini della valutazione del rischio, possono ridurre al minimo gli errori di comunicazione e possono diminuire l'incertezza dei risultati.

1.6 L'Analisi di Rischio nella normativa delle bonifiche

In Europa, ma anche nel resto del mondo, in particolare nei Paesi industrializzati ed a tecnologia avanzata, le politiche ambientali sono orientate al rispetto dello sviluppo sostenibile¹¹, privilegiando il risparmio del territorio attraverso il recupero e riuso dei siti industriali esistenti (*brownfields*), prima di occupare nuove aree (*greenfields*). Anche per

¹¹ Nel 1987 i lavori della commissione ONU sull'ambiente e lo sviluppo (World Commission on Environment and Development, WCED) presieduta da Gro Harlem Brundtland definiscono come sostenibile uno "sviluppo in grado di soddisfare le necessità del presente senza compromettere la possibilità per le future generazioni di soddisfare le proprie necessità" .

questo motivo il D.Lgs. 152 del 3 aprile 2006, a differenza della normativa precedente, valorizza lo strumento dell'analisi di rischio per la definizione degli obiettivi di bonifica. Unica eccezione possibile è prevista nell'art. 249 per un'area di ridotte dimensioni, come indicato in modo più approfondito nel paragrafo 1.8 dedicato ad una veloce panoramica della normativa italiana.

Tuttavia, mentre per la valutazione del rischio sanitario sono disponibili metodologie da applicare corredate da specifici software, per la determinazione del rischio ambientale non è ancora presente, nel panorama delle norme nazionali, alcuna direttiva metodologica (ARPAT, 2010). Numerosi sono gli sforzi a livello normativo e nel campo scientifico per sviluppare metodi e procedure che portino ad una standardizzazione e armonizzazione della AdR e in particolar modo della VRA.

I risultati dell'AdR devono portare all'identificazione degli interventi di bonifica e di messa in sicurezza in cui vengono privilegiate quelle tecniche di bonifica che portino ad una gestione e riduzione dei rischi connessi al sito e all'inquinante presente ed evitino ogni rischio aggiuntivo a quello esistente di inquinamento dell'aria, delle acque sotterranee e superficiali, del suolo e sottosuolo, nonché ogni inconveniente derivante da rumori e odori. L'AdR dovrebbe permettere di individuare gli interventi di ripristino ambientale che tengano conto della futura destinazione d'uso e delle caratteristiche morfologiche e paesaggistiche dell'area e che portino a una riduzione del volume di rifiuti prodotti e della loro pericolosità. Anche le misure di gestione del rischio devono tenere conto delle caratteristiche specifiche del sito e dell'ambiente da questo influenzato, evitando ogni possibile peggioramento dell'ambiente e del paesaggio dovuto alle opere da realizzare. Quanto scritto richiama il concetto di bonifica sostenibile. L'ambito specifico della bonifica dei siti contaminati è probabilmente uno dei più ostici alla rielaborazione in chiave sostenibile e molti sono, anche a livello internazionale, i tentativi per trovare una definizione di bonifica sostenibile e definire metodi e procedure per il raggiungimento dell'obiettivo.

Se da un lato le attività di recupero dei siti contaminati sono ritenute "benefiche" per la protezione della salute umana ed il recupero del valore ecologico di un'area e quindi la percezione del rischio negli *stakeholders* è molto bassa, tali attività comportano necessariamente degli impatti di tipo ambientale, economico e sociale, negativi o positivi, che devono essere pesati per una scelta ottimale degli interventi. Una bonifica che preveda misure di intervento fortemente impattanti sull'ecosistema suolo (trattamento del suolo *ex situ*) può portare effetti negativi sul suolo stesso maggiori di quelli dovuti alla presenza del

contaminante: in questo caso infatti il delicato equilibrio del sistema suolo, già fortemente stressato dalla presenza del contaminante, viene completamente perso.

Altri potenziali impatti ambientali negativi dovuti ad attività di bonifica potrebbero essere quelli derivanti dalle attività di smaltimento dei rifiuti, a causa delle quali il contaminante potrebbe essere di nuovo rilasciato nell'ambiente, nella stessa forma o in una forma più biodisponibile, andando ad impattare su altre matrici ecologiche e recettori ambientali. Altri impatti da considerare possono derivare dall'utilizzo di risorse non rinnovabili, la produzione di gas serra, dalla produzione di polveri, rumori ecc.

Ancora oggi le scelte dei processi di bonifica evidenziano una sostanziale arretratezza nelle possibilità tecnologiche, ancora spesso limitate a scavo e smaltimento per i terreni e *pump & treat* per le acque. Tali scelte sono inoltre influenzate dalla difficoltà dei soggetti coinvolti di inserire i concetti, parametri ed indicatori di sostenibilità nel momento in cui viene disegnato, e applicato, un processo di bonifica.

1.7 Analisi del rischio applicata alla definizione di bonifica sostenibile

Il termine stesso "bonifica" è rassicurante e, come abbiamo detto nei paragrafi precedenti, diminuisce la percezione del rischio nei diversi soggetti coinvolti. Tuttavia, come ogni attività umana che interviene sull'ambiente, anche una bonifica non è esente da rischi. E' necessario quindi inserire dei parametri ed indicatori di sostenibilità nel corso dell'analisi dei rischi applicata al processo di bonifica sin dalle prime fasi decisionali.

Le definizioni principali di bonifica sostenibile vengono elaborate soprattutto da gruppi o organizzazioni nati negli ultimi anni proprio sul tema specifico. Diverse proposte di strumenti e metodi, dal settore sia pubblico sia privato, sono state sviluppate in questi ultimi anni per promuovere una valutazione delle bonifiche con obiettivi di sostenibilità (tabella 1.2).

Tabella 1.2 - Linee guida relative alla sostenibilità

Titolo	Descrizione
California EPA, Department of Toxic Substances Control (2009)	Linee guida sviluppate per i diversi portatori di interesse. Introducono i concetti di sostenibilità e <i>Life Cycle Assessment</i> e suggeriscono come integrare questi concetti nella fase progettuale di una qualsiasi bonifica. In particolare hanno sviluppato il metodo <i>Green Remediation Evaluation Matrix</i> (GREM)
SURF UK (2010)	E' tra i primi documenti che definiscono un <i>framework</i> per valutare la sostenibilità ambientale di bonifiche di suoli e <i>groundwater</i> , utilizzando inoltre l'approccio sito-specifico
US Army Corps of Engineers (2010)	E' un documento che fornisce una <i>road map</i> per incorporare i principi di un risanamento sostenibile ai siti <i>formerly used defense sites</i> (FUDS)

Titolo	Descrizione
US EPA (2008, 2010)	In aggiunta al <i>Brownfields program</i> , l'Agenzia per la protezione dell'ambiente statunitense ha definito un programma di risanamento sostenibile focalizzato sulla componente ambientale. Il programma è supportato dalla pubblicazione di numerose Linee Guida sull'argomento
NYSDEC (2010)	Questo documento presenta un approccio olistico per migliorare la sostenibilità dei progetti di risanamento. Può essere applicato a tutte le fasi di una valutazione sia di nuovi siti che di siti esistenti, ma non specifica i criteri per valutarne l'efficacia
NICOLE (2010)	E' una <i>road map</i> che descrive come incorporare i principi di sostenibilità in un progetto di risanamento. E' dedicata a tutti i potenziali soggetti coinvolti e finalizzata ad assicurare un approccio collaborativo a livello dei decisori. Può essere utilizzata in diverse tipologie di progetti indipendentemente dalla grandezza dell'area di bonifica
Illinois EPA (2008, 2009)	Al momento l'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente dell'Illinois sta riformulando il suo programma per rendere i progetti di bonifica sul suo territorio più sostenibili. L'Agenzia ha redatto una semplice matrice per guidare i proprietari dei siti nella scelta di pratiche sostenibili applicabili in fase di valutazione, progettazione e risanamento. Ha inoltre elencato le azioni da seguire e i livelli di difficoltà e fattibilità assegnati ad ogni singola azione
ASTM International	<i>Standard Guide for Greener and More Sustainable Cleanups</i> Lo scopo della guida è fornire strumenti per supportare la scelta di una bonifica sostenibile integrando tutti i fattori (economici, sociali e ambientali) e allo stesso tempo rispettare le richieste normative
Interstate Technology & Regulatory Council (ITRC)	Il <i>Technical Regulatory Document</i> presenta la descrizione di gruppi di lavoro, strumenti e tecnologie sviluppati per il risanamento sostenibile. Include inoltre altri argomenti come le potenziali difficoltà e la prospettiva di altri soggetti interessati, come la popolazione abitante nelle vicinanze del sito
Sustainable Remediation Forum documents	Promuovono l'utilizzo di pratiche sostenibili nelle varie fasi di un processo di risanamento, dalla fase di investigazione a quella di risanamento vero e proprio, includendo la fase di monitoraggio ambientale, e hanno l'obiettivo di bilanciare l'importanza di vari aspetti e attori coinvolti nel processo: l'aspetto economico, di conservazione degli habitat e delle risorse naturali insieme all'aumento della qualità della vita nelle comunità vicine al sito

Note: la tabella presenta una panoramica delle linee guida relative allo studio, analisi e promozione della sostenibilità ambientale di una bonifica

Verso la fine del 2006 negli USA viene costituito il Sustainable Remediation Forum US (SURF US), il primo forum sulla bonifica sostenibile, che viene definita come quella che "utilizza una o più tecnologie in combinazione tale che il beneficio complessivo nei confronti della salute umana e dell'ambiente sia reso massimo attraverso un uso accorto di risorse limitate" (SURF US, 2009). In seguito numerosi SURF sono stati costituiti in ambito europeo (Regno Unito, Italia ecc.), seguiti dalla formazione di network tesi ad identificare i parametri per analizzare e valutare il grado di sostenibilità di un intervento di bonifica. SURF UK, il primo forum costituitosi a livello europeo, definisce sostenibile una bonifica quando "il beneficio dell'azione di bonifica sia superiore all'impatto dell'azione stessa e la soluzione ottimale di bonifica venga selezionata attraverso un percorso decisionale equilibrato" (CL:AIRE, 2011).

Quanto richiesto deve essere dimostrato attraverso l'individuazione di indicatori ambientali, sociali ed economici. A livello nazionale, il tema delle bonifiche e della necessaria spinta verso una maggiore sostenibilità è sicuramente attuale, sia per il problematico aspetto del consumo del territorio, sia per l'elevato numero di siti e il necessario rilancio dell'economia. In questo panorama il SURF Italy si è attivato con un gruppo di lavoro (RECONnet, Rete nazionale sulla gestione e la bonifica dei siti contaminati), con lo scopo di contribuire all'inserimento dell'Italia nel contesto di discussione internazionale. La definizione di bonifica sostenibile, sviluppata ad inizio 2013 in ambito SURF Italy, sintetizza i concetti sopra esposti: "Il processo di gestione e bonifica di un sito contaminato, finalizzato ad identificare la migliore soluzione, che massimizzi i benefici della sua esecuzione dal punto di vista ambientale, economico e sociale, tramite un processo decisionale condiviso con i portatori di interesse". In questo modo è introdotta la fase di comunicazione del rischio, non presente negli approcci precedenti. Come in altri campi si possono notare delle differenze tra approccio statunitense ed europeo nel rispondere ai concetti espressi dalla commissione Brundtland. Mentre nel contesto USA si predilige l'aspetto ambientale e di salvaguardia delle risorse, l'approccio europeo ha un taglio più olistico in cui si tengono in considerazione i diversi aspetti, ambientali, sociali ed economici, cercando la salvaguardia della salute umana e dell'ambiente attraverso un percorso che miri all'uso ottimale delle risorse e al massimo vantaggio del territorio nel quale si opera. Nella dichiarazione congiunta NICOLE (Network for Industrially Contaminated Land in Europe)-Common Forum una bonifica sostenibile si sviluppa a partire dalla gestione del rischio dei contaminanti (NICOLE e Common Forum, 2013). E' in questo forum che i concetti di sostenibilità vengono integrati con quelli di gestione del rischio e vengono analizzati i rischi ambientali, sociali ed economici delle soluzioni progettuali pianificate. E' quindi auspicabile che sia i parametri e gli indicatori, sia i pericoli, così come definiti nei paragrafi precedenti, vengano integrati con un approccio olistico ed iterativo, come indicato nelle linee guida ASTM (American Society for Testing and Materials) *Standard Guide for Greener Cleanups*, all'interno del processo di bonifica. Come detto nel paragrafo precedente la difficoltà principale per chi deve applicare tali principi è la mancanza di approcci metodologici chiari. I metodi utilizzati fino a qualche anno fa erano strumenti convenzionali per valutare l'efficienza di un processo, ma non erano stati sviluppati con l'obiettivo esplicito di valutare la sostenibilità degli interventi di bonifica, tuttavia possono essere un valido supporto nel caratterizzare specifici aspetti della sostenibilità (SURF US, 2009). In risposta a questa mancanza, è stata sviluppata, da parte dei

diversi SURF, una serie di metodi con l'obiettivo di fornire a tutti i potenziali soggetti interessati (pubblico e decisori) da un processo di risanamento uno strumento coerente e logico che li accompagni lungo tutto il processo. I metodi proposti sono sempre del tipo *tiered* e, misurando costi e benefici delle diverse tecnologie di bonifica, permettono di verificare se i benefici totali superano i costi e se, per le tecnologie grazie alle quali i benefici superano i costi, si riesce a raggiungere il massimo beneficio netto (SURF UK, 2010); inoltre, queste valutazioni tengono conto delle prescrizioni delle normative vigenti. Tra i vari metodi e linee guida sviluppati quello proposto da SURF US prevede un processo diviso in nove passaggi nel quale vengono presi in considerazione e documentati sia il *Life Cycle Assessment* (LCA, valutazione del ciclo di vita) sia la *footprint analysis* (Favara et al., 2011). Nel metodo suggerito, le fasi progettuali e di analisi del processo di risanamento non sono entità separate, ma strettamente interconnesse tra loro all'interno di un sistema più ampio, quello dell'analisi dei rischi, in cui le loro interazioni cambiano man mano che il processo di analisi procede (Holland, 2011). Oltre ai parametri indicati precedentemente, altri concetti da tenere in considerazione sono i livelli di scala e di tempo (una bonifica che va ad intervenire su una piccola area e che avviene in tempi brevi avrà potenziali impatti negativi minori di una bonifica che agisce su una vasta area e che quindi richiede tempi maggiori) e la concentrazione iniziale del contaminante, nonché il suo tempo di dimezzamento.

1.7.1 Bonifica sostenibile

L'ambito specifico della bonifica dei siti contaminati è probabilmente uno dei più ostici alla rielaborazione in chiave sostenibile, questo per l'elevato tasso di complessità che ne caratterizza le istruttorie, per il livello tecnico della materia e i limiti dettati dalla ricerca scientifica. L'utilizzo di tecnologie verdi nella strategia di bonifica consente di avvicinarsi maggiormente agli obiettivi di sostenibilità rispetto ad altre tecnologie di bonifica, minimizzando i potenziali effetti negativi, massimizzando quelli positivi, ottenendo un beneficio ambientale netto. Nel recente panorama di applicazioni e di tecnologie verdi i progetti di risanamento sono focalizzati sulla riduzione di impatti sul territorio e sulle acque, mentre altri potenziali effetti negativi indiretti o differiti nel tempo, come l'emissione di gas serra, l'uso di risorse naturali, effetti socio-economici sulla popolazione locale, non sono presi nella giusta considerazione all'interno del processo decisionale e in alcuni casi non sono considerati affatto. Alcuni esempi di pratiche verdi da applicare per aumentare la sostenibilità di una bonifica sono:

- l'utilizzo di fonti di energia rinnovabili (per esempio, l'energia solare o tecnologie ibride per alimentare il sistema di pompaggio e il sistema di trattamento delle acque sotterranee). L'utilizzo di carbone attivo granulare in alcune pratiche di risanamento può richiedere attività minerarie associate a rischi elevati per la salute umana e causa di un'elevata degradazione ambientale;
- la riduzione delle emissioni in atmosfera (quali gas serra emessi *on site* e *off site*, emissioni di inquinanti da parte dei mezzi di trasporto ecc.). Il livello di emissioni di gas serra (ad esempio quelle generate dal consumo di carburante dei mezzi utilizzati sul sito) può contribuire significativamente al cambiamento climatico globale; il riciclo e riutilizzo dei prodotti (ad esempio, il riutilizzo dei rifiuti solidi inerti come materiali da costruzione o la creazione di energia da gas metano, l'utilizzo ridotto al minimo di materiali nuovi, l'utilizzo di prodotti certificati, come il legno);
- l'ottimizzazione nell'utilizzo dell'acqua e nell'impatto sulle risorse idriche (ad esempio, il controllo del deflusso delle acque piovane, il riciclo dell'acqua trattata, il controllo dei processi di erosione del suolo e dei sedimenti);
- la riduzione dell'impatto sul territorio e sui servizi ecosistemici (minimizzando l'area interessata alla bonifica, limitando soprattutto le attività di disturbo ecologico su habitat, associazioni vegetali mature od endemiche, substrato idrogeologico e suolo, individuando potenziali habitat di interesse, ossia *endpoints* e *protection goals*);
- l'utilizzo di esperti provenienti da diverse discipline (ASTM, 2013; SURF Italy, 2014).

1.8 Siti contaminati: la normativa italiana

1.8.1 Decreto legislativo 152/06

Con il termine sito contaminato si definiscono quelle aree nelle quali, in seguito ad attività umane pregresse o in corso, è stata accertata un'alterazione delle caratteristiche qualitative delle matrici ambientali (suolo, sottosuolo e acque sotterranee), tale da rappresentare un rischio per la salute umana e l'ambiente. La legislazione nazionale in materia di bonifica dei siti contaminati, introdotta con il D.M. 471/99, è stata profondamente modificata dal Testo Unico dell'Ambiente, D.Lgs. 152/06 e successive modifiche. Il decreto è diviso in sei parti:

- Parte I – Disposizioni comuni
- Parte II – Procedure per la valutazione ambientale strategica (VAS), per la valutazione di impatto ambientale (VIA) e per l'autorizzazione ambientale integrata (IPPC)

- Parte III – Norme in materia della difesa del suolo e della desertificazione, di tutela delle acque dall'inquinamento e di gestione delle risorse idriche
- Parte IV – Norme in materia di gestione dei rifiuti e di bonifica dei siti inquinati
- Parte V – Norme in materia di tutela dell'area e delle riduzioni di emissioni in atmosfera
- Parte VI – Tutela risarcitoria contro i danni all'ambiente

In particolare, il Titolo V della Parte IV "Bonifica di siti contaminati", disciplina gli interventi di bonifica e ripristino ambientale dei siti contaminati. Nel Titolo V vengono definite le procedure e i criteri per la messa in atto delle operazioni finalizzate all'eliminazione delle sorgenti dell'inquinamento e alla riduzione delle concentrazioni di sostanze inquinanti.

Il D.Lgs 152/06 introduce una serie di innovazioni sia concettuali sia metodologiche rispetto alla normativa precedente in materia di siti contaminati. Il decreto introduce anche il principio di danno ambientale, ossia chi inquina paga; inoltre stabilisce che la Regione approvi ed autorizzi il progetto di bonifica sentita la Conferenza dei Servizi. In particolare i criteri decisionali, precedentemente basati esclusivamente sui limiti tabellari normativi, sono definiti in seguito ad un'analisi del rischio, in cui i limiti tabellari e gli obiettivi di bonifica vengono calcolati con un approccio sito-specifico. Di conseguenza sono modificate le definizioni di sito contaminato, sito potenzialmente contaminato, sito non contaminato, bonifica, omessa bonifica e sono introdotte nuove definizioni collegate al nuovo sistema procedurale amministrativo (tabella 1.3). Tra queste definizioni ci sono quelle relative alle concentrazioni soglia per le quali sono necessari diversi livelli di intervento.

Tabella 1.3 Siti contaminati: definizioni in base al D.Lgs.152/06

Soggetto	Definizione
Concentrazioni soglia di contaminazione (CSC)	Livelli di contaminazione che costituiscono valori al di sopra dei quali è necessaria la caratterizzazione del sito e l'AdR sito specifica (Allegato 1, Titolo V, Parte IV del D.Lgs. 152/2006)
Concentrazioni soglia di rischio (CSR)	Livelli di contaminazione da determinare caso per caso con l'applicazione della procedura di AdR sito specifica (Allegato 1, Titolo V, Parte IV del D.Lgs. 152/2006)
Sito potenzialmente contaminato	Sito nel quale uno o più valori di concentrazione delle sostanze inquinanti rilevati nelle matrici ambientali risultino superiori ai valori di CSC. Sono richieste operazioni di caratterizzazione e di AdR sanitario e ambientale sito-specifica, che permettano di determinare lo stato o meno di contaminazione sulla base delle concentrazioni soglia di rischio
Sito contaminato	Sito nel quale la concentrazione di inquinante è superiore al CSR
Sito non contaminato	Sito nel quale la concentrazione di inquinante è inferiore a CSC o CSR
Messa in sicurezza d'emergenza (MISE)	Interventi immediati o a breve termine in condizioni di emergenza
Messa in sicurezza operativa (MISO)	Interventi atti a garantire adeguati livelli di sicurezza per l'uomo

	e per l'ambiente in siti in esercizio in attesa di MISE o bonifica (alla cessazione delle attività)
Messa in sicurezza permanente (MISP)	Interventi atti ad isolare fonti inquinanti (richiedono monitoraggi e limitazioni d'uso)
Bonifica	Insieme degli interventi atti ad eliminare le fonti di inquinamento e le sostanze inquinanti o a ridurre le concentrazioni delle stesse presenti nel suolo, nel sottosuolo e nelle acque sotterranee ad un livello uguale o inferiore ai valori delle CSR

Note: La tabella riassume alcune delle definizioni presenti nel D. Lgs 152/06

L'articolo 242 del D.Lgs. 152/06 definisce la procedura con cui una bonifica deve essere messa in atto. Le procedure semplificate si applicano alle aree di dimensioni inferiori ai 1000 mq. In figura 1.4 sono rappresentati i diversi passaggi di un iter di autorizzazione di una bonifica:

- **Verifica e realizzazione di interventi di emergenza:** entro 24 h dall'evento o dalla verifica di un probabile evento già presente vengono prese misure di messa in sicurezza e comunicazione;
- **Redazione e svolgimento del piano di caratterizzazione:** vengono condotte indagini preliminari per verificare i livelli delle concentrazioni soglia di contaminazione (CSC). Se le CSC non sono superate avviene il ripristino dell'area e autocertificazione entro 48 h dalla comunicazione ed eventuali controlli entro 15 gg; nel caso in cui le CSC sono superate devono essere comunicate le misure di prevenzione e redatto il piano di caratterizzazione (30 gg), entro 60 gg la Regione autorizza, con la Conferenza dei Servizi, il piano di caratterizzazione. Entro 6 mesi dall'approvazione del piano deve essere trasmessa l'**analisi dei rischi** (da approvare entro 60 gg) finalizzata alla definizione degli obiettivi di bonifica in base ai potenziali impatti identificati. Nel caso in cui l'AdR evidenzi il superamento delle concentrazioni soglia di rischio (CSR), entro 6 mesi dall'approvazione dell'AdR deve essere presentato un **progetto operativo di bonifica** in cui vengono definite le varie fasi di bonifica in termini sia spaziali, sia temporali. Tale progetto deve essere approvato entro 60 giorni e i termini possono essere sospesi una sola volta. Con il provvedimento di approvazione sono stabiliti anche i tempi di esecuzione ed è fissata l'entità delle garanzie finanziarie (fino al 50% dei costi stimati) a favore della Regione.

Terminato l'iter di approvazione, si dà l'avvio agli interventi stabiliti nel piano operativo in base ai risultati e gli obiettivi identificati nel corso dell'AdR. Completati gli interventi, previa indagine, avviene il rilascio della certificazione di avvenuta bonifica.



Figura 1.4 La procedura di bonifica nei sistemi terrestri, secondo la normativa (fonte: Federchimica).

Esclusioni dal D.Lgs. 152/06

Il Titolo V della Parte VI del D.Lgs. 152/2006 è stato strutturato come una norma d'emergenza atta a definire "le procedure, i criteri e le modalità per lo svolgimento delle operazioni necessarie per l'eliminazione delle sorgenti dell'inquinamento e per la riduzione delle concentrazioni di sostanze inquinanti, in armonia con i principi e le norme comunitarie, con particolare riferimento al principio 'chi inquina paga' (art. 239, comma 1)". Le disposizioni previste non si applicano:

- all'abbandono di rifiuti (disciplinato dal Titolo IV);
- agli interventi di bonifica disciplinati da leggi speciali e/o regionali;
- all'inquinamento "diffuso", definito come "la contaminazione o le alterazioni chimiche, fisiche o biologiche delle matrici ambientali determinate da fonti diffuse e non imputabili ad una singola origine". Gli interventi per le aree caratterizzate da inquinamento diffuso sono disciplinati dalle Regioni con appositi piani (fatte salve le competenze per i Siti di Interesse Nazionale). L'esclusione relativa all'inquinamento diffuso è importante soprattutto per le aree urbanizzate o interessate da un passato industriale, dove la contaminazione è tale che non può essere gestita o eliminata

seguendo il sistema tecnico-amministrativo di carattere emergenziale con cui è stato strutturato il Titolo V.

1.8.2 Sintesi delle principali normative italiane nel campo delle bonifiche

- **Legge 22 dicembre 2011 (“Salva Italia”)**. Ha reintrodotta la possibilità, già presente nel D.M. 471/99, di articolare per fasi temporali e/o spaziali la progettazione di una bonifica particolarmente complessa a causa della natura della contaminazione, degli interventi, delle dotazioni impiantistiche necessarie o dell'estensione dell'area interessata. Sono state, inoltre, introdotte semplificazioni per l'esecuzione di interventi di manutenzione ordinaria e straordinaria e di messa in sicurezza di impianti industriali in siti oggetto di bonifica.
- **Legge 24 marzo 2012, n. 28**. Affronta la tematica delle modalità di gestione di materiali di riporto ai fini della bonifica, in base all'attribuzione ai rifiuti di bonifica della classe di pericolosità H14 (ecotossicità). Lo stesso provvedimento ha stabilito che le integrazioni e le modifiche degli allegati alle norme in materia di gestione dei rifiuti e di bonifica dei siti siano adottate con decreto del Ministro dell'ambiente e della tutela del territorio e del mare, di concerto con il Ministro della salute e con il Ministro dello sviluppo economico, previo parere dell'ISPRA (Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale), sentita la Conferenza Unificata.
- **Legge 4 aprile 2012, n. 35**. Introduce all'art. 24 la possibilità di adottare tecnologie innovative di bonifica di dimostrata efficienza ed efficacia, a costi sopportabili, resi disponibili a seguito dello sviluppo tecnico-scientifico del settore. Vengono inoltre semplificate alcune procedure amministrative relative alla realizzazione degli interventi di bonifica nei siti in esercizio. Interviene anche nella regolamentazione delle attività di reindustrializzazione dei SIN (Siti di Interesse Nazionale), infatti il riutilizzo delle aree può essere concesso purché siano stati attivati i necessari interventi di messa in sicurezza operativa e a condizione che le attività previste non pregiudichino i futuri interventi di bonifica, necessari a dismissione del sito.
- **Legge n. 27 del 24 marzo 2012**. In particolare l'art. 48 riguarda l'ambito dei dragaggi sia nei siti oggetto di bonifica di interesse nazionale che negli altri siti. In particolare vengono introdotte numerose semplificazioni amministrative e vengono fornite indicazioni in merito alle modalità di gestione e riutilizzo dei materiali in modo che non pongano rischi per l'uomo e per l'ambiente.

- **Legge 7 agosto 2012.** Introduce importanti innovazioni in tema di disciplina degli interventi di bonifica dei siti produttivi e/o oggetto di riqualificazione industriale (art. 27); siti militari (art. 35), siti e infrastrutture energetiche (art. 36), SIN (art. 36bis). In particolare l'art. 27 riprende le disposizioni già introdotte dall'art. 252bis del D.Lgs. 152/06 in merito alla riconversione e riqualificazione industriale individuate su istanza delle Regioni. L'art. 35 determina i criteri di individuazione delle Concentrazioni Soglia di Contaminazione applicabili ai siti militari mediante un decreto interministeriale, in considerazione delle specifiche tipologie di contaminanti riscontrabili in tali siti e non comprese nell'allegato 5 al D.Lgs. 152/06. La legge introduce inoltre semplificazioni per gli interventi da mettere in atto in siti di deposito, lavorazione e punti vendita di carburanti. Infine, l'art. 36bis introduce importanti modifiche nei criteri di individuazione dei siti di interesse nazionale, definendo quali caratteristiche prioritarie l'insistenza, attuale o in passato, di attività di raffinerie, di impianti chimici integrati o di acciaierie e la presenza di attività produttive ed estrattive di amianto e rimandando ad una successiva valutazione la sussistenza di tali requisiti per i 57 SIN individuati.
- **Legge n. 98 del 9 agosto 2013.** Sostituisce integralmente l'art. 243 del D.Lgs. 152/06 in materia di gestione delle acque di falda emunte e razionalizza la disciplina dell'utilizzo delle terre e rocce da scavo. In particolare, in materia di acque di falda, introduce il principio di eliminazione o isolamento delle fonti di contaminazione dirette e indirette per prevenire l'inquinamento delle acque sotterranee, prevede il trattamento presso gli impianti industriali esistenti, consente la reimmissione, previo trattamento, delle acque sotterranee nello stesso acquifero da cui sono emunte. Per quanto riguarda la gestione delle terre e rocce da scavo, disciplina l'utilizzo solo di quelle che provengono da attività o opere soggette a VIA o AIA (Autorizzazione Integrale Ambientale). Inoltre regola l'utilizzo delle terre e rocce da scavo per i piccoli cantieri e per le opere non sottoposte a VIA (Valutazione d'Impatto Ambientale) o AIA (Autorizzazione Integrata Ambientale).
- **Legge n. 9 del 21 febbraio 2014.** La finalità della norma è quella di consentire la stipula, tra le parti interessate, di accordi di programma con uno o più proprietari di aree contaminate e altri soggetti interessati ad attuare progetti integrati di messa in sicurezza o bonifica, e di riconversione industriale e sviluppo economico produttivo nei SIN.
- **Decreto legge n. 91 del 24 giugno 2014.** All'interno dell'articolo è prevista una procedura semplificata per le operazioni di bonifica o di messa in sicurezza qualora

l'operatore sia interessato a effettuare interventi di bonifica del suolo con riduzione della contaminazione alle CSC.

2. IL FITORISANAMENTO

2.1 Introduzione

La problematica dello sfruttamento delle risorse terrestri è diventata negli ultimi anni sempre più pressante. L'aumento demografico e le insorgenti necessità dei paesi in via di sviluppo porteranno, nell'immediato futuro, ad un ulteriore utilizzo di tali risorse accompagnato da un aumento dei livelli di inquinamento, non solo atmosferico, ma anche, e soprattutto, del suolo e delle risorse idriche. L'aumento demografico implica l'aumento del consumo di suolo per la costruzione di nuovi centri urbani o l'allargamento di quelli esistenti, l'aumento di superficie coltivata per la produzione di alimenti, senza tralasciare la cementificazione di aree sempre più vaste per la costruzione di industrie e infrastrutture. La perdita di suolo "libero" porta ad una serie di impatti sull'ambiente che vanno oltre il suolo stesso, ma agiscono anche su altre matrici ambientali. L'impermeabilizzazione del suolo porta ad una diminuzione delle risorse idriche, alla riduzione delle caratteristiche di resilienza degli ecosistemi e al conseguente impatto sulle comunità a diversi livelli. Suolo e acqua sono le componenti principali, insieme al Sole, della vita sulla Terra, e la loro alterazione porta ad una diminuzione della capacità del sistema Terra di sostenere la vita umana ed animale e vegetale. Per questo motivo è necessario, da una parte, diminuire le pressioni sul sistema, e quindi diminuire i livelli di inquinamento, e dall'altra mettere in atto strategie di recupero delle matrici ambientali compromesse.

2.2 Metodi di fitorisanamento

Il recupero di suoli, sedimenti, acque inquinate è l'attuale sfida da vincere. La bonifica di un sito inquinato prevede l'utilizzo di tecniche, come scavo, trattamenti chimici *in situ* o *ex situ*, barriere permeabili reattive, trattamenti termici *in situ* ed *ex situ*, *pump and treat*, *air stripping*; alcune di queste tecniche, se da una parte eliminano l'agente inquinante, dall'altra azzerano quasi del tutto le caratteristiche chimico-fisiche e biologiche della matrice bonificata, con effetti ambientali più gravi di quelli connessi con la presenza del contaminante.

Negli ultimi 40 anni è stata avviata una serie di iniziative politiche e di ricerca finalizzate ad identificare metodi di bonifica con una maggiore sostenibilità ambientale. Gli studi sull'utilizzo delle piante per recuperare l'equilibrio chimico-fisico e biologico di vari comparti ambientali nascono appunto da questa esigenza. Il fitorisanamento è una tecnologia emergente che utilizza specie vegetali per degradare, estrarre, contenere od immobilizzare

inquinanti presenti nei diversi comparti ambientali, e rientra in quelle attività ritenute *sustainable* e percepite come una conveniente alternativa, dal punto di vista ambientale e socio-economico, ad altri metodi di risanamento usati. La maggior parte delle tecniche di fitorisanamento applica e sfrutta le informazioni e le conoscenze che si hanno in agricoltura, silvicoltura e orticoltura delle piante sottoposte a stress biotici ed abiotici; ulteriori informazioni provengono da studi sull'accumulo di sostanze tossiche nei tessuti e nei processi metabolici e molecolari coinvolti (Schnoor e Zehnder, 2003).

Il fitorisanamento prende spunto dai naturali processi, che avvengono nelle piante, - come l'assorbimento di acqua e nutrienti, la traspirazione, i processi metabolici, il rilascio di essudati nel suolo - che vengono messi in atto dalle specie vegetali per sopravvivere in ambienti ostili: siccità, eccesso di acqua, presenza di sostanze tossiche. Alcuni contaminanti, simili nella loro forma chimica o nel comportamento a nutrienti fondamentali della pianta, possono essere assorbiti al loro posto ed entrare nel metabolismo vegetale. Il cadmio ad esempio può essere facilmente assimilato grazie alla sua somiglianza con il calcio e lo zinco, che rientrano tra i nutrienti fondamentali della pianta (Pierzynsky et al., 1994). I sali di arsenico possono essere assorbiti grazie alla loro similitudine con i fosfati, il selenio per la sua somiglianza con lo zolfo, anche se non ha le stesse funzioni fisiologiche (Brooks et al., 1998). Per essere assorbito da una pianta il contaminante deve essere in soluzione, in acqua o nel suolo, infatti viene assorbito a livello radicale attraverso le bande di Caspary, fino all'endoderma dove può essere legato o metabolizzato. Questi composti chimici, o i loro metaboliti, possono raggiungere lo xilema, essere trasportati e quindi volatilizzati; o essere trasportati nei diversi tessuti per essere accumulati o ulteriormente metabolizzati (Paterson et al., 1990; Shimp et al., 1993). L'assorbimento e la traslocazione dei composti chimici all'interno dei tessuti vegetali dipende dalla loro idrofobicità, solubilità, polarità e peso molecolare (Bell et al., 1992). Alcuni studi hanno evidenziato che il trasporto fino ai germogli avviene più frequentemente e facilmente per i composti non ionizzati, mediamente polarizzati e moderatamente idrofobici (Briggs et al., 1982). Composti con spiccate caratteristiche idrofobiche difficilmente vengono trasportati all'interno della pianta, ma rimangono legati a livello dei tessuti radicali (Schnoor, 1997). Composti organici con alto grado di solubilità, ma basso grado di assorbimento, non saranno assorbiti dalle radici e quindi non verranno trasportati all'interno della pianta (Schnoor et al., 1995).

Il fitorisanamento è un processo *in continuum*, iterativo, e comprende a sua volta una serie di processi che intervengono in tempi e modalità diverse nel corso del fitorisanamento. I

diversi metodi di fitorisanamento sono differenziati tenendo conto dei meccanismi con cui la pianta reagisce alla presenza del contaminante, eliminandolo dalla matrice ambientale. Deve essere comunque chiaro che i singoli metodi si sovrappongono, in proporzioni, tempi e modalità diverse, ma anche simultaneamente nel caso il sito sia contaminato da diversi composti (EPA, 2001). La definizione delle diverse tipologie risulta utile per chiarire e capire i differenti processi che avvengono all'interno della pianta, cosa accade al contaminante, come questo interagisce con la pianta stessa in modo da ottimizzare il processo di fitorisanamento (tabella 2.1).

Tabella 2.1 - I processi di fitorisanamento differenziati per scopo.

Scopo	Definizione	Metodo
Degradazione	Utilizzato soprattutto con contaminanti organici, prevede la degradazione del contaminante a livello della parte sia ipogea sia epigea della pianta. In alcuni casi si applica anche ai contaminanti inorganici	<u>Rizodegradazione</u> : biodegradazione del contaminante nella parte radicale, da parte degli essudati radicali e della microflora della rizosfera e del suolo
		<u>Fitodegradazione</u> : assorbimento e metabolizzazione del contaminante all'interno della pianta (radici, fusto e/o foglie)
Accumulo	Utilizzato per contenimento o rimozione dei contaminati organici o metalli	<u>Fitoestrazione</u> : assorbimento del contaminante e accumulo nelle parti aeree della pianta
		<u>Rizofiltrazione</u> : assorbimento e accumulo del contaminante nelle radici
Dissipazione	Utilizzato per rimuovere contaminanti organici e/o inorganici, con successiva emissione in atmosfera	<u>Fitovolatilizzazione</u> : assorbimento del contaminante e volatilizzazione
Immobilizzazione	Utilizzato per il contenimento di contaminanti organici e/o inorganici. Il contenimento fisico di un composto chimico avviene in genere a livello del suolo	<u>Controllo idraulico</u> : prevede l'installazione di una copertura vegetale per favorire il controllo del flusso delle acque di falda grazie all'assorbimento da parte delle piante <i>in situ</i> di grossi volumi di acqua. Viene applicato nel trattamento di acque di falda e di superficie e del suolo
		<u>Fitostabilizzazione</u> : si immobilizza il contaminante nel suolo, impedendo la migrazione dello stesso ad altre matrici ambientali

Note: La tabella riassume i metodi di fitorisanamento raggruppati secondo il destino del contaminante.

Non tutti i processi di fitorisanamento possono essere applicati a tutti i contaminanti o matrici, allo stesso tempo molto dipende dalla pianta scelta. Coperture vegetali, zone di

vegetazione tampone e corridoi ripariali sono applicazioni che combinano diversi di questi metodi. Nel corso di un fitorisanamento è necessario assicurarsi che non avvenga il trasferimento del contaminante ad altre matrici ambientali. Il fitorisanamento è potenzialmente applicabile a numerosi contaminanti, inclusi alcuni dei più significativi e importanti, come gli idrocarburi del petrolio, solventi clorurati, pentaclorofenolo (PCP), metalli, radionuclidi e idrocarburi policiclici aromatici (IPA).

Rizodegradazione

La rizodegradazione sfrutta la biodegradazione che avviene naturalmente nel suolo grazie agli essudati radicali, alle popolazioni componenti la microflora della rizosfera e alle interazioni simbiotiche a livello radicale (figura 2.1).

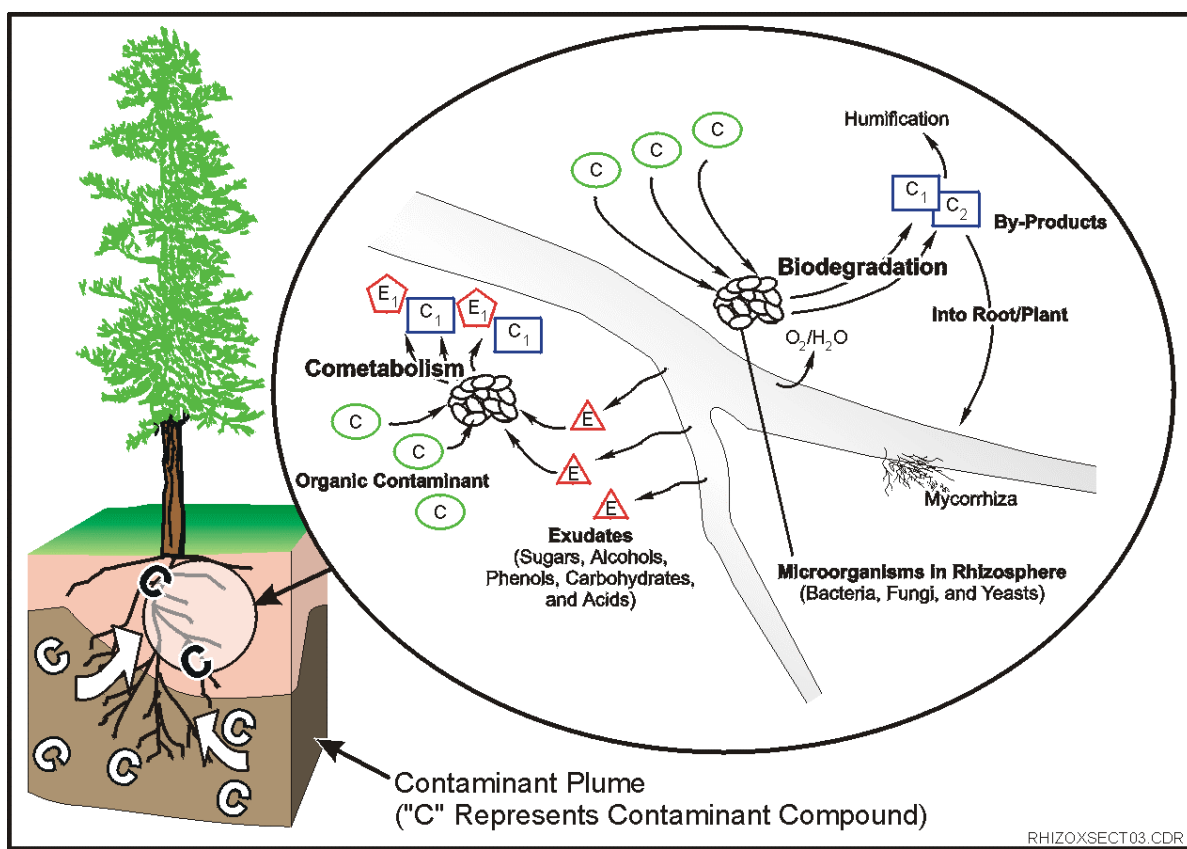


Figura 2.1 Schema di rizodegradazione (ITRC, 2001).

Il processo porta alla degradazione, o trasformazione in composti meno pericolosi (detossificazione), di contaminanti organici, come ad esempio idrocarburi policiclici aromatici (IPA), pesticidi, solventi clorurati, bifenil policlorurati (PCB) e surfactanti (Aprill e Sims, 1990; Jordahl et al., 1997; Schwab, 1998; Schwab et al., 1998; Ferro et al., 1999).

I composti organici possono essere trasformati da batteri, funghi o attinomiceti presenti nel suolo in prodotti secondari o essere completamente mineralizzati in prodotti inorganici. La presenza di radici porta in genere ad un aumento nelle popolazioni della microflora del suolo, in particolare nelle aree vicine alle radici (rizosfera), e all'aumento di micorrize. Tutto questo ha come risultato finale l'aumento dell'efficacia dei processi di mineralizzazione o detossificazione dei composti chimici presenti nel suolo (Hsu e Bartha, 1979; Hoagland et al., 1994). Gli essudati radicali stimolano la crescita e portano ad una diversificazione della composizione della microflora del suolo, inoltre possono indurre un cambiamento nelle caratteristiche chimico-fisiche del suolo stesso (ad esempio il pH, il contenuto di acqua, i livelli di aerazione, la struttura e la temperatura) e di conseguenza cambiamenti nella capacità di metabolizzazione e trasporto di composti inorganici (Muralidharan et al., 1993).

Molte delle caratteristiche della rizodegradazione - ossia la possibilità di degradare il contaminante *in situ*, la potenziale completa mineralizzazione dei contaminanti organici, la metabolizzazione e trasporto degli inorganici - comportano una serie di vantaggi, tra i quali che il contaminante non viene accumulato nella pianta e che la probabilità di un trasferimento del composto nella pianta o nell'atmosfera è bassa. Tali aspetti rendono questo metodo molto appetibile. Tuttavia i suoi limiti, dettati dalla struttura, superficie e profondità di sviluppo dell'apparato radicale e dai tempi di crescita della radice stessa, insieme alle condizioni iniziali del suolo (come alti livelli di umidità, un'eccessiva compattezza o la presenza di strati argillosi, un'alta concentrazione del contaminante), possono rendere meno efficace la rizodegradazione. La stimolazione degli organismi della rizosfera non sempre porta ad un aumento della degradazione del contaminante, infatti l'accrescimento delle popolazioni totali non sempre corrisponde a quello delle popolazioni di microflora in grado di degradare il contaminante; inoltre la componente organica del suolo dovuta alla presenza di vegetazione potrebbe essere una fonte di carbonio più appetibile del contaminante ed influenzare i tempi di degradazione dello stesso (Molina et al., 1995).

Tuttavia uno *screening* iniziale degli essudati radicali, che potenzialmente portano alla degradazione del contaminante (Fletcher e Hedge, 1995) e l'inoculo dei semi con batteri degradatori (Pfender, 1996) possono aumentare l'efficienza di una rizodegradazione.

Tra le specie adatte all'utilizzo in una rizodegradazione possiamo elencare *Morus rubra* L., *Malus fusca* (Raf) C.K. Schneid, *Maclura pomifera* (Raf.)C.K.Schneid, che producono, negli essudati radicali, alti composti fenolici a livelli di concentrazione tali da promuovere la crescita di batteri degradatori (Fletcher e Hedge, 1995). Altri studi hanno evidenziato che

alcuni essudati radicali contengono composti che inducono il cometabolismo di PCB (Gilbert e Crowley, 1997). Studi su suolo rizosferico di ibridi di pioppo (*Populus x canadensis* (*P. deltoides x nigra*) Moench) hanno mostrato popolazioni di eterotrofi, pseudomonas, degradatori di BTX, degradatori di atrazina (Jordahl et al., 1997).

Fitodegradazione

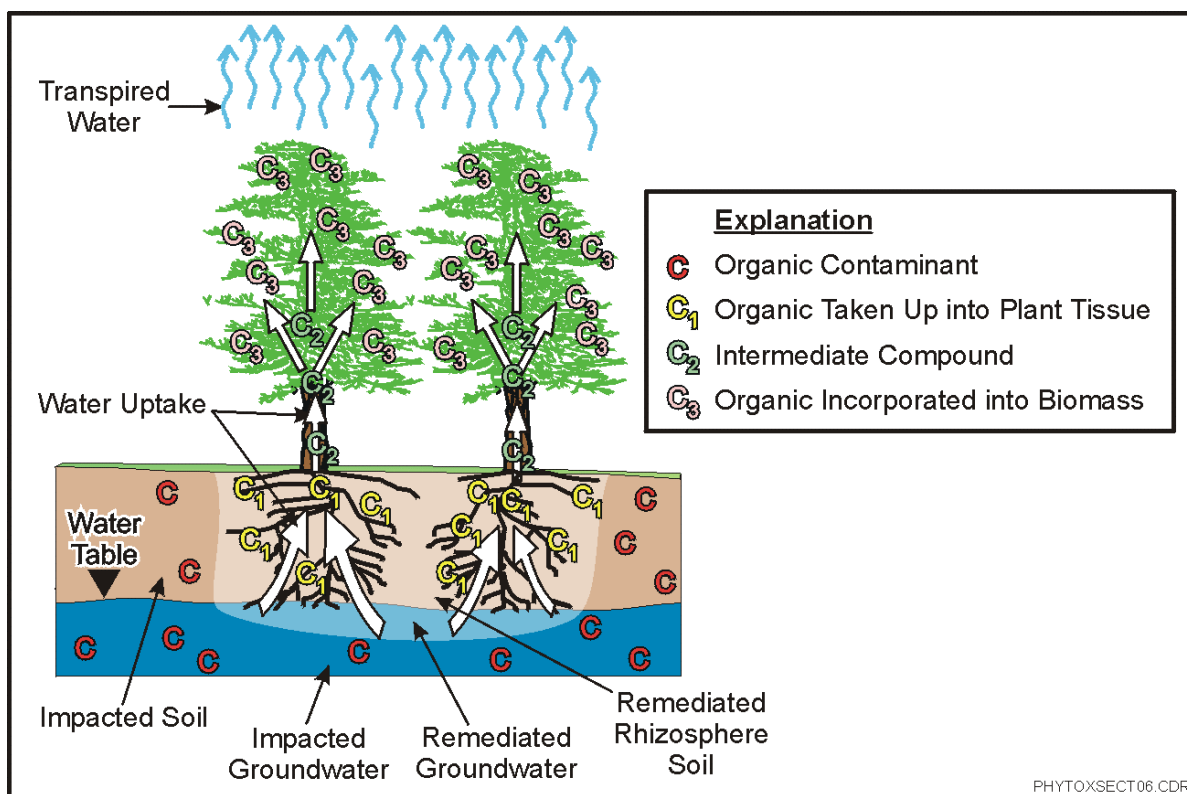


Figura 2.2 Schema di fitodegradazione di composti organici (ITRC, 2001).

La fitodegradazione (figura 2.2) può essere utilizzata per composti organici, solventi clorurati, insetticidi, erbicidi e fertilizzanti inorganici. Consiste nell'assorbimento, metabolizzazione e degradazione dei contaminanti all'interno della pianta, ma anche a livello di suolo, sedimenti, fanghi, acque sotterranee o di superficie grazie agli enzimi prodotti e rilasciati dalla pianta a livello radicale. In genere la fitodegradazione non è associata alle popolazioni microbiche della rizosfera, né dipende da queste, tuttavia avviene grazie agli enzimi vegetali rilasciati a livello della rizosfera, che includono dealogenasi, nitroreduccasi, perossidasi, laccasi e nitrilasi (Schnoor et al., 1995) e sono associati con la trasformazione di cloruri, munizioni e fenoli. Il tricloroetilene (TCE) viene degradato all'interno delle piante di pioppo, il carbonio viene utilizzato per la produzione di biomassa, mentre il cloruro viene espulso attraverso le radici (Gordon et al., 1997; Newman et al.,

1997); anche la degradazione di atrazina e quella di fertilizzanti nelle falde acquifere sono state confermate in ibridi di pioppo (*Populus deltoides x nigra* DN34, Imperial Carolina); (Licht e Schnoor, 1993; Burken e Schnoor, 1997). Affinché una fitodegradazione avvenga e sia efficace devono essere soddisfatti due principi fondamentali: il contaminante deve avere un moderato valore di $\log K_{ow}^{12}$ per essere assorbito dalla pianta e, una volta assorbito e metabolizzato, non deve essere rilasciato nell'atmosfera attraverso i meccanismi di traspirazione.

Fitoestrazione

La fitoestrazione consiste nell'assorbimento radicale del contaminante e nel suo successivo accumulo anche nelle parti epigee della pianta, come illustrato in figura 2.3.

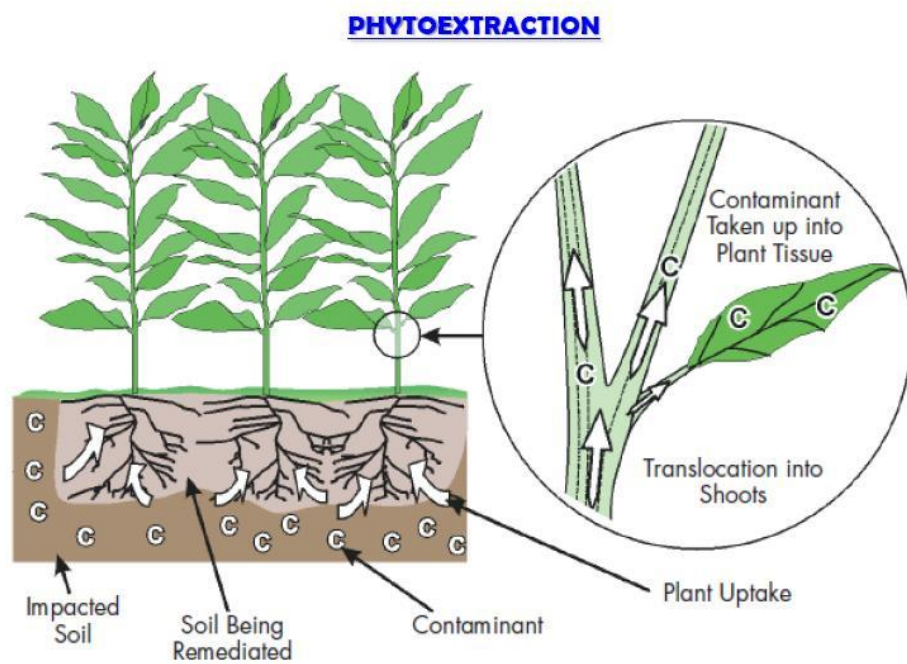


Figura 2.3 - Schema della fitoestrazione (ITRC, 2001).

In genere, un processo di fitoestrazione prevede la raccolta del materiale vegetale e l'eliminazione della biomassa, inclusa la parte radicale, a fine processo. La fitoestrazione avviene anch'essa grazie all'assorbimento radicale e anche questa tecnica ha limiti dettati dallo sviluppo dell'apparato radicale. La fitoestrazione può applicarsi nel caso in cui il contaminante sia un metallo (Ag, Cd, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn) o un metalloide (As e Se),

¹² **Octanol-Water Partition Coefficient (K_{ow}):** è un coefficiente che rappresenta il rapporto di solubilità di una sostanza in ottanolo (un solvente non polare) e la sua solubilità in acqua (solvente polare). $\log K_{ow}$ è usato generalmente come indicatore relativo alla tendenza di un composto organico a essere assorbito dal suolo (EPA, 2009).

un radionuclide (^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{234}U , ^{238}U) e alcuni non metalli (es. B) (Cornish et al., 1995; Kumar et al., 1995; Salt et al., 1995). La fitoestrazione non è considerata per contaminanti organici o fertilizzanti, questi infatti, in genere, una volta assimilati dalla pianta vengono metabolizzati, modificati e in alcuni casi volatilizzati, impedendone l'accumulo nei tessuti vegetali. La matrice ambientale in cui viene più utilizzata la fitoestrazione è il suolo, ma può essere utilizzata anche per la decontaminazione di sedimenti e fanghi.

La fitoestrazione, unita ad un processo di rizofiltrazione, è in genere utilizzata per il risanamento delle acque inquinate da metalli solubili. Negli ultimi anni si è cercato di studiare dei metodi per il recupero del metallo estratto con un ritorno economico, ma ciò richiede ulteriori conoscenze rispetto alla fitoestrazione classica (Brooks, 1998).

La scelta di una pianta adatta ad un processo di fitoestrazione parte dalla selezione di quelle piante che si è visto essere degli accumulatori naturali di metalli. Lo studio delle caratteristiche fisiologiche di queste piante e la caratterizzazione dei processi metabolici e molecolari che ne sono alla base hanno dato utili informazioni nella selezione di altre specie vegetali da utilizzare in una fitoestrazione; infatti lo spettro delle specie iperaccumulatrici naturali è stato un fattore estremamente limitante nell'utilizzo di queste piante nei diversi ambienti, poiché si tratta di specie rare e presenti in genere solo in aree ristrette del pianeta (EPA, 2000). Grazie a studi e ricerche di laboratorio, in serra e su piccola scala, sono state identificate alcune famiglie che rispondono ai requisiti necessari: *Brassicaceae*, *Euphorbiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae* e *Scrophulariaceae* (Baker, 1995; Baker et al., 1995).

Tuttavia, si è visto che non sempre la tolleranza ad un metallo presuppone la tolleranza anche ad altri metalli; quindi, per superare i limiti insiti in un processo di risanamento, ulteriori ricerche sono state finalizzate allo sviluppo di specie o linee vegetali iperaccumulatrici utilizzando sia i tradizionali metodi di incrocio e selezione, sia metodi genetico-molecolari e di proteomica (Marmioli Marta et al, 2011a; Marmioli Marta et al, 2011b; Visioli et al, 2010; Visioli e Marmioli, 2012) Altri ambiti di ricerca riguardano la messa a punto di metodi colturali come: la fertilizzazione, l'utilizzo di promotori della crescita per aumentare la produzione di biomassa, l'aggiunta di agenti chelanti per l'aumento della solubilità dei metalli e il loro assorbimento. Tuttavia l'utilizzo di chelanti, con la conseguente maggiore solubilità del metallo, può avere degli impatti negativi sulle falde acquifere e sullo sviluppo della pianta. Studi per identificare i tessuti vegetali in cui il metallo viene accumulato hanno evidenziato che questo avviene soprattutto a livello delle radici e nelle foglie, con una minore concentrazione nei germogli e lungo il fusto; alcune eccezioni

avvengono nel caso dello zinco, che si ritrova in concentrazioni maggiori nei germogli (Brooks, 1998). L'accumulo in parti della pianta, e il potenziale utilizzo di chelanti, sono fattori da tenere in considerazione nel corso di una valutazione del rischio applicata ad una fitoestrazione. In genere i risultati della VRA portano all'identificazione di potenziali rischi connessi ad una possibile nuova immissione del contaminante nell'ambiente; conseguentemente viene richiesta la raccolta non solo della parte epigea della pianta, ma anche delle radici, nonché di tutti i residui colturali anche in fasi intermedie del processo, cioè delle foglie nel periodo autunnale nel caso di alberi decidui; inoltre si effettua il monitoraggio delle falde acquifere presenti nelle vicinanze.

Rizofiltrazione

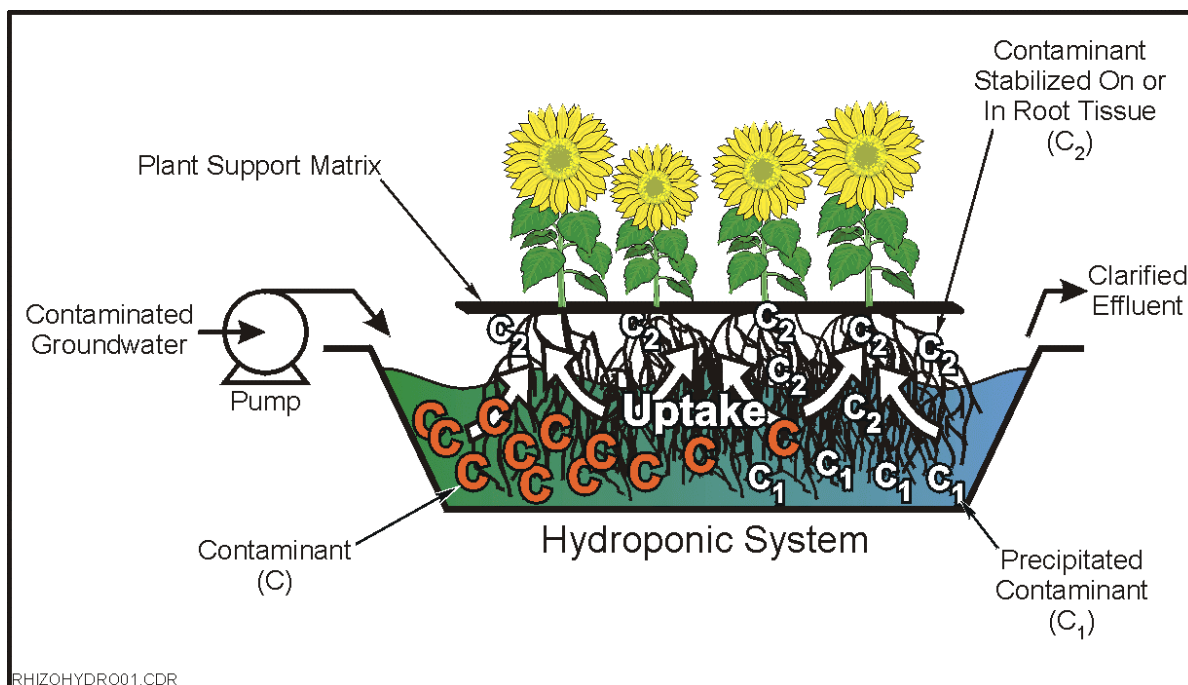


Figura 2.4 Schema di rizofiltrazione di composti inorganici (ITRC, 2001).

La rizofiltrazione sfrutta la capacità delle radici di assorbire, precipitare e/o accumulare i contaminanti, in soluzione acquosa nell'area circostante le radici e nelle radici stesse, grazie a processi biotici ed abiotici (figura 2.4). La rizosfera e gli essudati radicali creano infatti l'ambiente adatto per permettere tali processi. I successivi assorbimento, concentrazione e traslocazione all'interno delle parti vegetali epigee potrebbero avvenire a seconda del tipo di contaminante presente. La rizofiltrazione è applicata soprattutto nel caso di inquinamento da metalli come piombo, cadmio, cromo, rame e nichel. Uno recente studio del Dipartimento dell'energia degli Stati Uniti ha riportato risultati interessanti anche per siti

contaminati da radionuclidi (EPA,2000). La rizofiltrazione si applica soprattutto nel risanamento delle acque, siano esse di superficie, di falda o reflue. La rizofiltrazione e la fitoestrazione sono processi simili, ambedue portano all'accumulo del contaminante, ma nella rizofiltrazione questo è in genere limitato nelle radici o nella porzione della pianta immediatamente sopra la superficie dell'acqua. Alla fine del processo di rizofiltrazione è necessario rimuovere l'apparato radicale dall'ambiente per evitare una nuova dispersione del contaminante. Anche nell'applicazione di questa tecnica è necessario avere una chiara idea dei meccanismi fisiologici e molecolari che sono alla base, nonché delle condizioni dell'ambiente da decontaminare, inclusi il pH, la portata d'acqua, la concentrazione del contaminante. Anche le caratteristiche chimiche della falda o delle acque di superficie devono essere valutate per determinare interazioni ed eventuali interferenze con il processo dovute ad altri composti presenti. Come per altri metodi, i limiti di questa tecnica sono dettati dall'estensione e dalla profondità che possono raggiungere le radici, infatti, affinché il processo sia efficiente, l'acqua deve essere a contatto con le radici. Diversi sistemi ed accorgimenti sono stati appositamente sviluppati con lo scopo di massimizzare la superficie di contatto. Nel caso di acque di falda, queste possono essere estratte e pompate in un sistema idroponico (trattamento *ex situ*); nel caso questo non sia possibile e un trattamento *in situ* sia l'unica alternativa, allora è necessario mettere in atto un meccanismo che favorisca la circolazione dell'acqua, in ambedue i casi un pretrattamento del corpo idrico potrebbe rendersi necessario. A causa delle difficoltà nello sviluppo di tecniche ingegneristiche che permettano il pompaggio o il circolo dell'acqua le applicazioni della rizofiltrazione sono ancora ad uno stadio di studi pilota (EPA, 2000). Le piante utilizzate nei processi di rizofiltrazione possono anche essere terrestri, ma usate come colture idroponiche; queste piante sono caratterizzate da un'alta produzione di biomassa ed hanno un sistema radicale molto sviluppato, con una velocità di crescita maggiore rispetto alle piante acquatiche (Dushenkov et al., 1995). Come metodo di messa a dimora è stata proposta la semina piuttosto che la piantumazione, per la minore quantità di luce e nutrienti richieste nelle prime fasi di sviluppo (Salt et al., 1997).

Fitovolatilizzazione

Il processo di fitovolatilizzazione consiste nell'assorbimento del contaminante nella pianta con successivo rilascio nell'atmosfera nella forma originaria (figura 2.5), nel caso si tratti di un contaminante volatile, o sotto forma di un suo metabolita secondario. Perché il processo

sia efficiente le reazioni metaboliche che avvengono nella pianta dovrebbero alterare la forma del contaminante in modo che il prodotto di degradazione o il contaminante stesso nella sua forma volatile, risultino meno tossici. In molti casi questo è stato dimostrato, soprattutto nel caso di inquinamento di suoli da mercurio o da selenio (Adler, 1996).

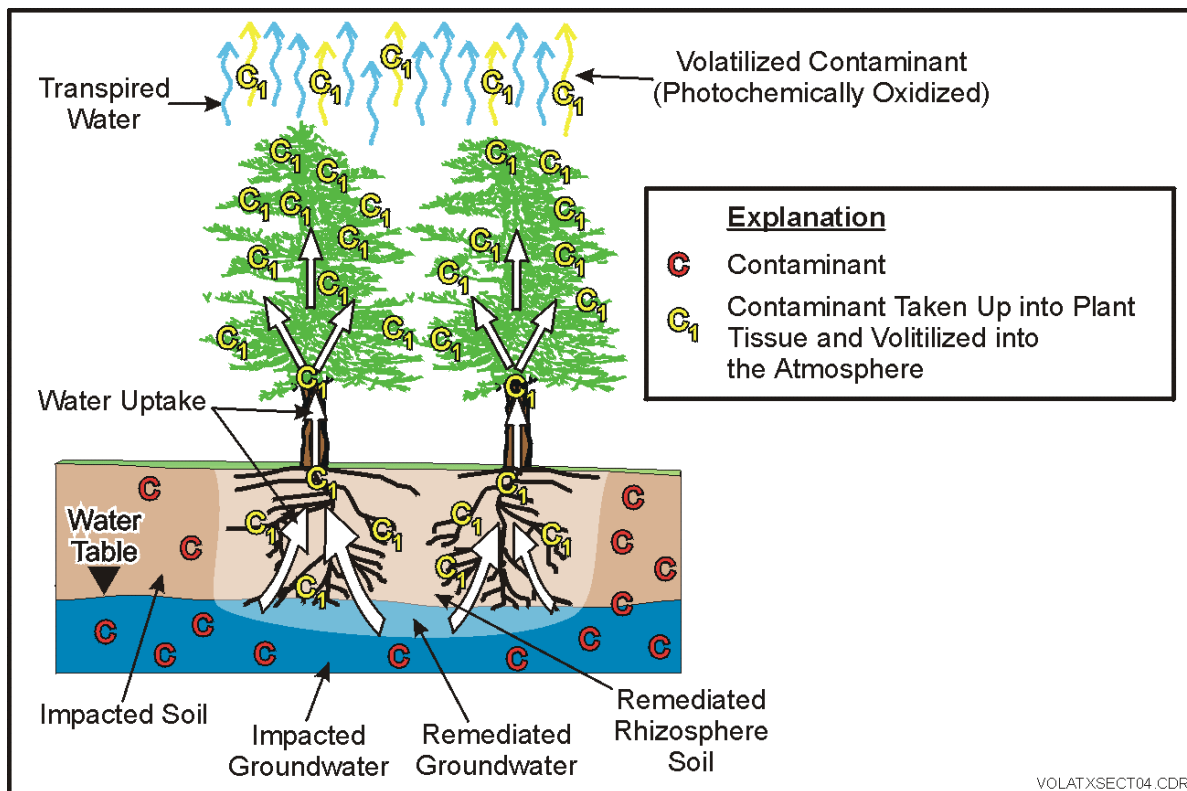


Figura 2.5 Esempio di fitovolatilizzazione (ITRC, 2001).

Questa tecnica porta ad una veloce rimozione del pericolo dalla matrice inquinata, ma comporta una serie di rischi potenziali tali che ne è richiesta, in fase di progettazione, l'attenta analisi dei rischi connessi. In genere la fitovolatilizzazione viene applicata nel caso di contaminanti inorganici solubili, presenti in falde acquifere, suolo, sedimenti e fanghi, ma è stata applicata anche nella rimozione di alcuni composti organici, come solventi clorurati, inclusi TCE, TCA e tetracloruro di carbonio (Narayanan et al., 1995; Newman et al., 1997a; Newman et al., 1997b), anche se in questi casi era supportata da altre tecniche di fitorisanamento. E' anche vero che la fitovolatilizzazione avviene con diverse proporzioni in diversi processi di fitorisanamento come effetto secondario.

Controllo idraulico

Il controllo idraulico consiste nell'influenzare il movimento di acque di falda o presenti nel suolo, sfruttando la capacità all'assorbimento e consumo di grossi volumi di acqua delle

piante messe a dimora, con lo scopo di contenere o controllare il movimento dei contaminanti grazie anche all'aumento dell'evaporazione e traspirazione nelle piante utilizzate. Riduce o previene l'infiltrazione e la percolazione di materiale inquinato.

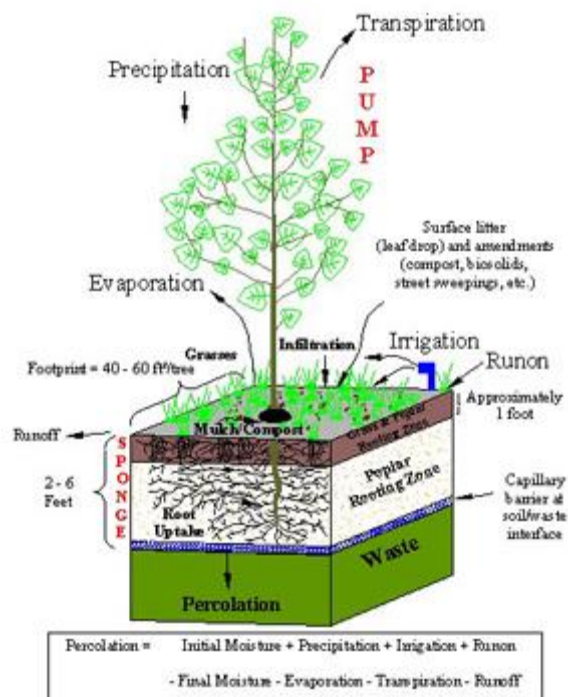


Figura 2.6 Schema di controllo idraulico (ecolotree.com)

Il controllo idraulico è attualmente un ambito di ricerca in cui l'U.S. EPA sta concentrando i suoi sforzi. È stato proposto originariamente per trattare siti contaminati in regioni aride o semiaride, ma al momento se ne sta valutando l'applicazione in tutte le aree geografiche, anche se la valutazione deve essere condotta caso per caso; comunque deve essere evitato nel caso sia possibile la produzione di gas, come nel trattamento di rifiuti solidi urbani (EPA, 2000). Il suo utilizzo è previsto nel caso di inquinanti organici ed inorganici solubili e presenti a concentrazioni non fitotossiche. Ad esempio alberi di pioppo sono stati usati come barriera per impedire il movimento di gasolio e diesel verso falde acquifere presenti nei siti contaminati (Nelson, 1996). Ibridi di pioppo sono stati utilizzati in sette siti statunitensi per contenere e trattare acque superficiali inquinate da metalli pesanti, fertilizzanti e pesticidi (Gatliff, 1994). Il controllo passivo è stato studiato in Francia utilizzando una varietà di alberi non decidui nativi della zona (Woodward, 1996).

L'efficienza del controllo idraulico dipende dai livelli di precipitazioni atmosferiche, dalla temperatura e dal vento: questi infatti sono fattori che vanno ad influenzare il tasso di traspirazione vegetale. Logicamente l'efficienza di questa tecnica dipende anche dalla specie utilizzata e da alcune sue caratteristiche che includono: l'età, la massa, la grandezza, la

superficie fogliare e lo stato fenologico di crescita. Nel caso di alberi decidui l'efficienza diminuisce durante la stagione autunno-invernale, quando diminuiscono la traspirazione e la velocità di assorbimento dell'acqua. Una corretta gestione colturale del sito in termini di investimento e tecniche di piantumazione può migliorarne l'efficienza. Anche le caratteristiche chimiche del suolo possono influenzare l'efficacia del controllo idraulico. In ogni caso è sempre difficile calcolare il tasso di traspirazione di una specie e quindi, anche nel caso del controllo idraulico, è necessaria una valutazione caso-specifica.

Fitostabilizzazione

La fitostabilizzazione prevede l'utilizzo della vegetazione per contenere i contaminanti presenti in suolo, sedimenti o fanghi, grazie alle modificazioni chimico-fisiche e biologiche indotte dall'attività della microflora presente (figura 2.7).

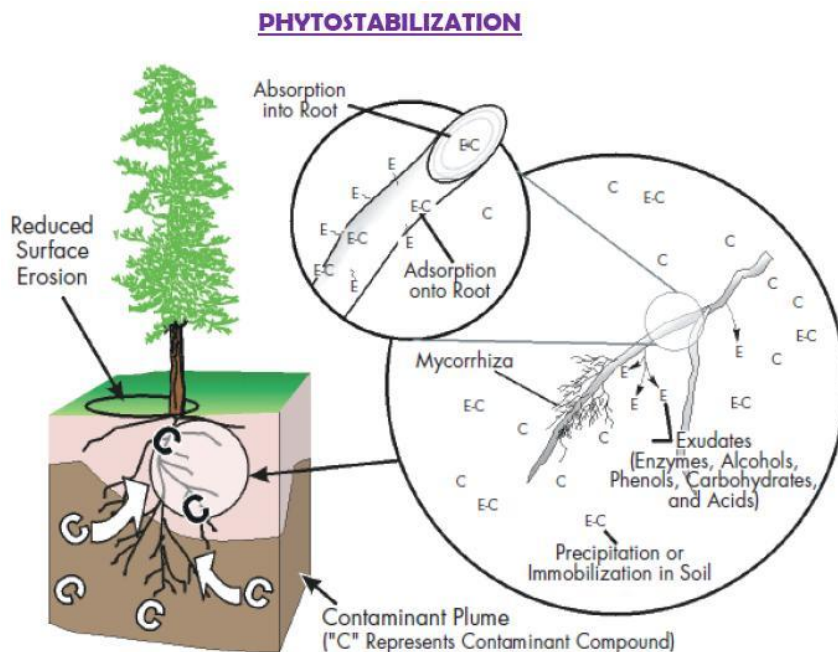


Figura 2.7 Schema di fitostabilizzazione. (ITRC, 2001)

Diversi sono i meccanismi e livelli con cui, grazie a questa tecnica, viene limitata la dispersione del contaminante. Oltre all'assorbimento e accumulo nell'apparato radicale del contaminante, si utilizza anche la capacità delle molecole umiche di legare diversi composti chimici riducendone la biodisponibilità. La presenza di una copertura vegetale limita l'erosione del suolo da parte di vento e acqua, impedendo il deflusso o la dispersione di polveri contenenti il contaminante e riducendo la generazione di percolati. In alcuni casi specifici si è notato che la presenza di vegetazione porta alla conversione dei metalli da una

forma solubile ad un stato ossidativo meno solubile (Salt et al., 1995). Da diversi anni la fitostabilizzazione viene applicata per la decontaminazione da metalli, come piombo, cromo e mercurio (EPA, 1997); ultimamente si sta studiando l'applicazione di questa tecnica a composti organici, con buoni risultati. Alcuni composti organici, o loro prodotti metabolici, possono essere accumulati all'interno della pianta, come la lignina. Questa forma di fitostabilizzazione viene chiamata anche fitolignificazione (Cunningham et al., 1995). Una fitostabilizzazione efficace richiede la comprensione dei meccanismi chimico-fisici e biologici che avvengono a livello delle radici, nonché gli effetti sulla biodisponibilità del contaminante, in seguito all'uso di fertilizzanti e/o ammendanti del suolo; per questo motivo l'utilizzo di questa tecnica è indicato per suoli con forte tessitura e ad alto contenuto di sostanza organica. Le piante efficaci nella fitostabilizzazione appartengono soprattutto alla famiglia delle *Brassicaceae* (*Brassica juncea* (L.) Czern) (Raskin et al., 1994). Altre famiglie di piante erbacee sono state utilizzate per ridurre la percolazione di metalli (Salt et al., 1995), come ad esempio *Agrostis tenuis* Sibth. (sinonimo di *Agrostis capillaris* L.) cv Goginan per la stabilizzazione di piombo e i rifiuti di miniere di zinco; *Agrostis tenuis* Sibth. (sinonimo di *Agrostis capillaris* L.) cv Parys per i residui di miniere di rame. In alcuni casi sono stati testati alcuni ibridi di pioppo per la loro tolleranza ai metalli (Pierzynski et al., 1994). Alcuni alberi possono assimilare alte concentrazioni di metalli a livello delle radici e, anche se le fasi di raccolta e rimozione del materiale sono difficili e in alcuni casi impraticabili, i rischi per la salute umana e per l'ambiente sono sicuramente inferiori rispetto alla situazione iniziale; ulteriori misure di gestione dei siti in fase di post-raccolta, che rendano il contaminante non disponibile ad un rilascio nell'ambiente, possono ulteriormente ridurre i rischi. La fitostabilizzazione presenta alcuni svantaggi come, la necessità di mantenere *in situ* la vegetazione per un lungo periodo di tempo, il continuo monitoraggio per verificare che la crescita segua determinati parametri di efficienza e soprattutto che il contaminante rimanga all'interno della parte ipogea della pianta per evitare impatti sulle catene trofiche); tuttavia quando confrontata con altre tecniche di fitorisanamento presenta indubbi vantaggi. Infatti i costi di gestione e smaltimento del sito sono bassi se paragonati ad altre tecniche e la copertura vegetale facilita e velocizza il recupero del sito dal punto di vista ecologico.

In conclusione, quando si applica una tecnica di fitorisanamento è necessaria la conoscenza approfondita sia dei meccanismi fisiologici e biochimici della pianta interessati, sia delle caratteristiche chimiche del contaminante e del suo comportamento all'interno della matrice inquinata, sia delle caratteristiche chimico-fisiche della matrice inquinata

stessa. La selezione sulla specie più adatta può essere fatta attraverso lo studio in serra o in colture idroponiche. Inoltre, come si è detto, il fitorisanamento non è una tecnologia in cui tutti i risultati di una prova possono essere applicati ad un'altra, ogni applicazione, quindi, deve essere analizzata e studiata caso per caso.

2.3 Limiti nell'applicabilità di un processo di fitorisanamento

Le metodiche di fitorisanamento vengono percepite dai diversi soggetti interessati come tecnologie poco costose e più pulite, e anche per questo motivo sono continui gli sforzi nel campo della ricerca di base e applicativa che puntano alla risoluzione di alcuni dei limiti insiti in queste tecniche, limiti di seguito elencati.

Sistema radicale: la necessità che il contaminante venga a contatto con le radici è una limitazione primaria per l'applicabilità del fitorisanamento. E' necessario che le radici riescano a raggiungere il contaminante o che la matrice ambientale contaminata venga in contatto con le radici. Questo può essere favorito con l'applicazione di specifiche pratiche tecniche e colturali. L'aratura profonda del terreno permette di portare suolo profondo in superficie, tecnica utile nel caso di piante con uno sviluppo radicale vicino all'orizzonte del suolo, come ad esempio piante erbacee. L'irrigazione della coltura, erbacea od arborea, con acque contaminate di falda o di superficie, è un'altra opzione. Tuttavia alcune di queste pratiche possono facilitare la dispersione aerea del contaminante.

Velocità di crescita: a causa della scarsa velocità di crescita delle piante, nella maggior parte dei casi i tempi di bonifica con fitorisanamento risultano più lunghi se paragonati ai metodi tradizionali. Le tradizionali pratiche di scavo ed eliminazione richiedono da settimane a mesi per raggiungere lo scopo, mentre un processo di fitoestrazione o degradazione può richiedere anni. Nella scelta di quale metodo è più adatto si deve valutare il livello di rischio in atto al momento e, nel caso sia un rischio alto e immediato per la salute umana o l'ambiente, sarà da preferire una tecnica tradizionale.

Concentrazione e destino del contaminante: alte concentrazioni di contaminante possono inibire la crescita vegetale e quindi limitare l'applicabilità della tecnica di fitorimediazione. Per superare i limiti dettati da questa azione fitotossica, si può applicare un approccio a più fasi in cui all'inizio vengono applicate le tradizionali tecniche *ex situ* per diminuire il livelli di contaminante, per poi intervenire con un fitorisanamento *in situ*, a lungo termine e meno costoso, per decontaminare un maggiore volume di materiale, ma con una concentrazione minore di inquinante. Il trasferimento del contaminante o dei suoi metaboliti nell'atmosfera o altre matrici ambientali crea non poche preoccupazioni e dubbi. La traspirazione del TCE

nell'atmosfera è stata dimostrata e misurata (Newman et al., 1997b), ma poche informazioni sono presenti per altre sostanze chimiche, come ad esempio il cloruro di vinile.

Effetti dovuti al materiale vegetale contaminato: il destino dei contaminanti accumulati nella biomassa vegetale è fonte di dubbi e preoccupazioni. Ad esempio, girasoli utilizzati per estrarre cesio (Cs) e stronzio (Sr) da alcune acque di superficie sono stati smaltiti come rifiuti radioattivi (Adler, 1996). Le preoccupazioni maggiori, comunque, sono relative all'accumulo di metalli, perché la maggior parte delle piante utilizzate per il fitorisanamento non accumula livelli significativi di contaminanti organici (EPA, 2000). Come conseguenza, mentre piante metallo-accumulatrici devono essere raccolte, smaltite o riciclate seguendo le regole normative apposite, la maggior parte delle piante utilizzate per il risanamento non richiede specifici trattamenti o criteri per lo smaltimento. Tuttavia azioni preventive devono essere applicate per limitare il contatto delle piante con altre matrici ambientali e catene trofiche. Come si è scritto più volte, la scelta e applicazione di una tecnica di fitorisanamento deve essere analizzata e valutata caso per caso tenendo conto delle numerose variabili che intervengono a influenzare il risultato finale. Diversi fattori chiave devono essere presi in considerazione nel momento in cui si valutano la possibilità e la potenziale efficacia dell'applicazione di un fitorisanamento su di un sito contaminato ed essi includono la pianta, il contaminante e l'ambiente ricevente (EPA, 2000).

2.4 Selezione e valutazione di un progetto di fitorisanamento

La selezione e valutazione di un progetto di fitorisanamento richiedono la conoscenza delle condizioni generali del sito, includendo la conoscenza del tipo e quantità del contaminante/i presente/i, se il contaminante può muoversi verso altre matrici ambientali (percolazione), un'analisi dei rischi per la salute umana, animale e per l'ambiente, valutazioni socio-economiche e la comunicazione del rischio a tutti i soggetti interessati. L'analisi del rischio sarà condotta con uno dei metodi descritti nel capitolo dedicato all'argomento.

Definizione degli obiettivi

E' necessario stabilire gli obiettivi del progetto: controllo e contenimento, rimozione (per accumulo nella pianta) o degradazione del contaminante; in base agli obiettivi verrà selezionata la specie vegetale più adatta. Inoltre, a seconda dell'obiettivo, dovrà essere messa in atto una serie di misure di gestione e monitoraggio del sito da applicare nel corso delle diverse fasi del progetto. Se la riduzione della mobilità del contaminante è fra le priorità, sarà necessario focalizzare le attività nella riduzione degli effetti delle piogge e/o l'assorbimento nelle acque presenti nel suolo, tenendo in considerazione i meccanismi di

evapotraspirazione delle piante *in situ* e le proprietà di solubilità e biodisponibilità del contaminante. Queste attività potranno essere supportate da modelli che descrivono il potenziale movimento e trasporto del contaminante, dei pennacchi di migrazione e stabilità delle acque sotterranee; una volta sviluppati i modelli, potranno essere applicate tecniche di fitostabilizzazione e/o controllo idraulico, utilizzando coperture vegetali e barriere idrauliche. La necessità di rimuovere il contaminante dal sito prevede, invece, l'uso delle tecniche di fitoestrazione e/o volatilizzazione; in questo caso sarà necessario studiare equazioni che descrivono il flusso o il tasso di estrazione per valutarne l'efficienza. La degradazione del contaminante può essere ottenuta usando tecniche che prevedono la rizodegradazione e/o la fitodegradazione. Queste applicazioni sono di solito combinate con il contenimento e utilizzano la copertura vegetale, servendosi di alberi per suoli contaminati in profondità o per il risanamento di acque del sottosuolo.

E' in questa fase iniziale che devono essere stabiliti i limiti di concentrazione del contaminante che si vogliono raggiungere, o meglio che sono indicati dalla normativa.

Caratterizzazione e descrizione del sito

La descrizione del sito comprende mappe dettagliate di questo e delle aree circostanti, inclusi i confini, la vegetazione locale, la presenza di insediamenti umani, corpi idrici, infrastrutture di viabilità e di potenziali ostacoli strutturali alla realizzazione del progetto di bonifica. Altre informazioni importanti riguardano la storia dell'uso del sito e di altri tentativi di bonifica. E' fondamentale una caratterizzazione del sito con la descrizione degli aspetti geologici ed idrografici, perché la presenza di ostacoli fisici alla penetrazione delle radici nel terreno (come formazioni rocciose, strati compatti di argilla ecc.) può essere un forte limite alla messa in atto della bonifica e al raggiungimento degli obiettivi. La descrizione idrografica include la caratterizzazione dell'acidità e salinità delle acque insieme alla presenza di composti chimici diversi dai COI (Contaminant of Interest), che non pongono rischi ambientali o per la salute umana ma sono fattori limitanti per la crescita vegetale. In alcuni casi la caratterizzazione idrografica, che descrive la presenza di risorse idriche nel suolo utilizzabili dalla pianta e la loro fluttuazione, permette di stabilire la necessità o meno di impianti di irrigazione per assicurare il corretto afflusso di acqua alle piante. Come descritto precedentemente, nel caso in cui l'obiettivo sia il risanamento di una falda acquifera sotterranea, la profondità della falda è un altro limite all'efficienza della bonifica e sarà necessario mettere in atto soluzioni ingegneristiche o agronomiche per superare il problema.

Caratterizzazione del suolo

Le condizioni iniziali del suolo possono avere un forte impatto sui risultati del fitorisanamento. In genere i suoli contaminati sono quelli industriali, con una bassa o inesistente fertilità; inoltre sono compatti e impermeabili e rappresentano un forte limite alla penetrazione delle radici. In questi casi è necessaria una preparazione del suolo, con arature, sovesci, fertilizzazione e l'aggiunta di ammendanti per sostenere la crescita delle piante messe a dimora. Anche i livelli di salinità e acidità devono essere valutati. Alti contenuti di cloruri, valori di pH estremi (terreno troppo acido o troppo alcalino), elevati contenuti di sodio, la presenza di erbicidi residui da usi precedenti, sono condizioni che possono sfavorire l'utilizzo del fitorisanamento come tecnica di bonifica da applicare perché limitano la selezione della pianta da utilizzare a poche specie in grado di superare queste condizioni ambientali. Oltre alla caratterizzazione chimico-fisica del suolo è necessaria anche un'analisi delle comunità microbiche presenti, ma questa può essere condotta in una fase successiva.

Condizioni climatiche

Sono necessarie tutte le informazioni relative alle condizioni climatiche, inclusi temperatura, tasso di umidità, precipitazioni, vento (velocità e direzione prevalente), altitudine e probabilità di eventi estremi (temporali, esondazioni o lunghi periodi di siccità). Questi dati possono essere ricavati da stazioni meteo vicine già esistenti. Le caratteristiche climatiche andranno ad influenzare il disegno del piano di risanamento, inclusa la selezione della specie vegetale, le opzioni colturali (irrigazione, trattamento del terreno) e la gestione dei residui colturali. Inoltre i cambiamenti climatici e stagionali influenzano il rendimento della tecnica applicata (ITRC, 2009).

Vegetazione esistente

Un'indagine sulle comunità vegetali presenti e le loro interazioni con il/i contaminante/i presenti è fondamentale per stabilire per determinare le specie potenzialmente utilizzabili per raggiungere gli obiettivi di bonifica e i metodi più adatti per le operazioni di messa a dimora, mantenimento e monitoraggio. Una caratterizzazione degli *habitat* e nicchie ecologiche presenti, nonché la presenza di specie endemiche, contribuiranno alla scelta della strategia da seguire. La caratterizzazione degli *habitat* presenti porterà all'identificazione di potenziali recettori ecologici potenzialmente impattati.

Selezione della specie vegetale

Le specie vegetali utilizzabili in un progetto di fitorimediazione devono avere tre caratteristiche: produrre grandi quantità di biomassa, crescere velocemente ed essere tolleranti al contaminante presente (Sherameti e Varma, 2011). La scelta della pianta dipende molto dagli obiettivi del progetto, dai COI presenti e dalle caratteristiche del sito considerate nei punti precedenti. Solo negli ultimi anni sono stati sviluppati protocolli per la scelta della specie, nei quali vengono utilizzate delle liste precompilate. Le liste presenti, in genere divise a seconda del contaminante, si basano sui risultati di test di laboratorio, in serra o su colture idroponiche e studi pilota, e solo in alcuni casi sui risultati di prove applicative. Per alcuni contaminanti molto comuni come TCE o MTBE non esistono evidenze scientifiche che specie vegetali posseggano vie metaboliche specifiche, quindi la scelta sarà basata sulle caratteristiche agronomiche e botaniche, individuando la specie più adatta a crescere sul sito di interesse. Una volta individuata la specie, è necessario tenere in considerazione che cultivars o varietà differenti della stessa specie possono rispondere in maniera diversa alle condizioni presenti nel sito, incluse quelle climatiche o la concentrazione del contaminante (Erickson et al., 2000). In alcuni casi la vegetazione nativa del sito può contribuire al successo del progetto (Olson et al., 2001). Nella selezione della specie da introdurre particolare attenzione deve essere posta quando la scelta cade su specie non originarie del luogo. L'introduzione di specie aliene comporta una serie di rischi ambientali potenziali che in alcuni casi possono risultare più alti rispetto a quelli rappresentati dalla presenza del contaminante. Deve essere evitata l'introduzione di specie aliene con caratteristiche di invasività, infestanti o con proprietà tossiche o allergeniche per la popolazione umana, ma anche per la fauna presente nell'ambiente ricevente. Una specie aliena con caratteristiche invasive, introdotta nel sito da bonificare, può diffondersi nell'ambiente ed entrare in competizione con le specie locali andandone ad occupare le nicchie ecologiche con effetti indiretti su tutti gli equilibri ecologici esistenti, incluse le reti trofiche (EPA, 2001).

Una specie non originaria può essere accettabile nei casi in cui piante della stessa specie siano già state introdotte e siano ormai naturalizzate nell'ecosistema ricevente; o quando le piante introdotte non siano in grado di propagarsi nell'ambiente (ossia per sterilità, dipendenza dalle cure colturali per sopravvivere). In alcuni casi sono state utilizzate piante geneticamente modificate, per il cui rilascio nell'ambiente devono essere seguite le prescrizioni della normativa di riferimento (EPA, 2000).

Caratterizzazione del contaminante

La localizzazione, diffusione e concentrazione dei COI (*Contaminant of Interest*) deve essere determinata, insieme alla caratterizzazione di suolo, sedimenti, acque ed emissioni presenti nel sito. Questa fase, che include la scelta dei metodi di analisi e dei protocolli di campionamento, richiede il coinvolgimento di diversi attori, come i proprietari del sito, le istituzioni e i gestori della bonifica. Come descritto nei paragrafi precedenti, concentrazioni troppo alte dei contaminanti possono inficiare il risultato del risanamento, in questi casi è necessario fare un passo indietro ed applicare metodi tradizionali per abbassare la concentrazione iniziale.

In alcuni casi le caratteristiche di distribuzione e crescita della vegetazione esistente possono dare indicazioni utili sulla concentrazione e diffusione del contaminante; un'analisi dei tessuti vegetali delle piante *in loco* è il primo metodo che può essere utilizzato per uno *screening* iniziale e per abbassare i costi. Il campionamento dei vapori di traspirazione o di sezioni di tronco può essere utilizzato per individuare contaminanti solubili nei diversi tessuti vegetali, come ad esempio TCE o MTBE (Newman et al., 1999; Schumacher et al., 2004; Arnold et al., 2007). Queste tecniche sono relativamente a basso costo e richiedono meno tempo rispetto ai metodi di campionamento e analisi tradizionali (ITRC, 2009).

Valutazione dell'esposizione

Per una valutazione dell'esposizione degli ecosistemi coinvolti nel processo in relazione alle piante messe a dimora per il fitorisanamento, i fattori che devono essere considerati includono l'accessibilità del contaminante agli organismi che interagiscono con la pianta *in sito*, il che comporta la comprensione della forma in cui il contaminante viene accumulato o degradato nella pianta. Alcuni studi, condotti con piante transgeniche, hanno dimostrato che il metil-mercurio, altamente tossico, può essere assorbito e trasformato in mercurio elementare meno tossico, che successivamente viene volatilizzato (Meagher e Rugh, 1996). Il processo di volatilizzazione di alcuni prodotti altamente tossici nel suolo viene visto solo come uno spostamento del problema da una matrice ambientale all'altra, tuttavia è da considerare che la tossicità del contaminante è stata diminuita dopo il passaggio nella pianta.

2.5 Progettazione di un metodo di fitorisanamento

Lo sviluppo e la gestione di un sistema di fitorisanamento richiedono la partecipazione di differenti esperti nelle discipline che vanno a coprire i diversi aspetti da tenere in considerazione. Tali esperti sono necessari a comprendere le implicazioni tecniche relative

alle condizioni del sito, ai meccanismi alla base del sistema scelto, al disegno sperimentale ai parametri (ambientali, socio-economici) da valutare.

Le diverse fasi, valutazione, selezione del metodo, disegno sperimentale, applicazione, installazione, mantenimento e monitoraggio, conclusione, permettono di seguire e caratterizzare un processo in continua evoluzione ed iterativo, richiedendo collaborazione ed *expertise* in diversi campi (tabella 2.2)

Ogni fase del progetto dipende dai risultati della precedente ed è quindi necessaria la continua interazione dei diversi esperti. Inoltre, in ogni fase, la comunicazione con tutti i soggetti interessati (comunità vicino al sito, operatori sul sito, politici) deve essere continua.

Tab. 2.2 - Discipline ed esperienze necessarie per la predisposizione di un progetto di fitorisanamento

Disciplina	Ruolo
Manager del progetto	Coordinare attività ed informazioni richieste. Valutare gli obiettivi della bonifica in tutte le fasi
Esperto del suolo/Agronomo	Valutare la capacità del suolo contaminante di permettere la crescita della pianta da utilizzare. Sviluppare un piano colturale da applicare nel corso del fitorisanamento
Geologo	Analizzare e modellizzare le caratteristiche idrogeologiche del sito, incluso il <i>run-off</i> dovuto ai sistemi di irrigazione. Condurre un'analisi di previsione sulla probabilità di movimento dei contaminanti nel sito
Biologo vegetale/Botanico	Valutare una serie di piante potenzialmente utilizzabili, tenendo in considerazione i risultati relativi alla caratterizzazione del suolo, delle acque di falda, alle condizioni climatiche e alla capacità della specie di agire sul contaminante presente. Preparare un piano colturale
Scienze ambientali	Condurre o analizzare i risultati di studi in serra effettuati su suolo e acqua provenienti dal sito per assicurare che le piante individuate riescano a sopravvivere alle condizioni <i>in situ</i> ed assicurare l'efficienza di risanamento
Valutazione del rischio e tossicologia	Definire le vie di esposizione ai rischi e i potenziali scenari di rischio. Condurre un'analisi del rischio ecologico e per la salute umana, comparando il fitorisanamento con altre tecniche di bonifica. Condurre test di tossicità
Normativa	Conoscere le richieste della normativa, i requisiti relativi alle analisi di campionamento, analisi e qualità dei dati, le indicazioni legislative relative alle operazioni di gestione e monitoraggio del sito e allo smaltimento dei rifiuti
Ingegneria ambientale	Valutare l'applicazione di tecniche ingegneristiche al sistema fitotecnologico messo in atto (movimentazione terra, costruzioni, materiali usati, irrigazione, sicurezza)
Economia ambientale	Analisi dei costi/benefici del sistema messo in atto, anche in confronto con altre tecniche di bonifica

Note: La tabella descrive le discipline scientifiche e le esperienze necessarie al momento della formazione di un gruppo di lavoro finalizzato alla predisposizione di un progetto di fitorisanamento (modificato da ITRC, 2009).

Le fitotecnologie applicate al risanamento ambientale hanno ricevuto particolare attenzione, anche perché percepite come tecniche *environmental friendly* rispetto ad altre. L'importanza data al fattore rappresentato dalla sostenibilità ambientale delle fitotecnologie nasce dalla comprensione che i processi ecologici e la salute degli ecosistemi hanno forte impatto sulla salute umana.

3. LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO AMBIENTALE APPLICATA AI FITORISANAMENTO: PHYTERA

3.1 Introduzione

Come discusso nei capitoli precedenti le attuali politiche ambientali spingono verso l'utilizzo di tecniche e metodi di bonifica più sostenibili e richiedono una valutazione di sostenibilità ambientale delle tecniche da applicare ad un sito, che accompagni l'analisi dei rischi. Le tecniche di fitorimediazione sembrano essere i migliori candidati per rispondere a queste esigenze di maggiore sostenibilità. Tuttavia i metodi di Analisi e Valutazione del Rischio discussi nei capitoli precedenti sono focalizzati sull'identificazione dei potenziali impatti connessi al contaminante e mancano di protocolli specifici per valutare i potenziali impatti connessi all'utilizzo di piante.

Nel caso delle tecniche di fitorisanamento è, infatti, necessario valutare anche i livelli di esposizione ecologici connessi alla pianta stessa (ITRC, 2009), che sono caso specifici e dipendono dal metodo utilizzato, dalla specie vegetale messa a dimora e dalla trasformazione fisico-chimica del contaminante (EPA, 2008). La stabilità e biodisponibilità del contaminante dipendono anche dalle caratteristiche del suolo e del sito, incluse quelle idrogeologiche e climatiche. Alcune pratiche agronomiche, come l'aggiunta di chelanti o ammendanti nel suolo, per migliorare l'efficienza del fitorisanamento, possono aumentare la biodisponibilità del contaminante con effetti negativi sulla fauna presente, nel sito o nelle vicinanze, anche nel caso che questa non sia consumatore diretto della pianta (ITRC, 2009); esiste inoltre la possibilità che il contaminante entri nelle vie di traspirazione della pianta per essere volatilizzato ed andare ad impattare altri recettori.

Questi ed altri meccanismi danno origine a differenti vie di esposizione o fattori di diffusione attraverso i quali il contaminante, mediante la pianta, può entrare in contatto con diversi recettori. È quindi necessaria una valutazione del rischio, in cui la fonte del rischio è la pianta *in situ*, che vada ad analizzare gli specifici fattori di diffusione dipendenti e i recettori coinvolti.

Per rispondere a queste necessità, la statunitense EPA ha sviluppato un albero decisionale che tiene in considerazione alcuni di questi parametri (EPA, 1999). Successivamente (EPA, 2007) l'Agenzia ha evidenziato che valutare la potenziale esposizione della fauna selvatica può rassicurare sia i decisori sia l'opinione pubblica. Tuttavia queste valutazioni possono essere utilizzate su specie target o indicatrici e sono focalizzate e limitate alla stima dei livelli di contaminante in pianta.

Nel panorama delle ricerche sull'argomento sono presenti anche software per la valutazione dei rischi connessi ad un sito contaminato, ma anche questi portano all'identificazione dei rischi connessi al contaminante e non all'utilizzo della pianta.

Tra i vari software presenti si porta, come esempio per tutti, il software ROME (Reasonable Maximum Exposure ver. 2.1), predisposto da APAT, ora ISPRA (Istituto Superiore per la Ricerca e Protezione Ambientale). ROME è stato ideato come strumento di supporto alle decisioni per la valutazione e gestione del rischio dei siti contaminati e guida alla costruzione del Modello Concettuale del sito. Prevede la considerazione degli scenari di esposizione per l'uso residenziale/verde e industriale/commerciale del suolo e dei rischi, anche associati alla contaminazione del suolo, per le acque sotterranee e superficiali. Il software utilizza un database chimico/fisico e tossicologico per 118 sostanze e valori di default per i parametri ambientali e di esposizione aggiornabili. ROME ver. 2.1 adotta una procedura derivata dallo Standard ASTM RBCA (Risk-Based Corrective Actions). La procedura prevede due livelli di analisi. Al primo avviene il confronto con i limiti tabellari della normativa, che nel nostro caso corrispondono ai valori limite del DM 471/99 (Concentrazioni Soglia di Contaminazione del D.Lgs. 152/06) e valori di *screening risk-based*. Il secondo livello prevede l'analisi di rischio sito specifica e stima degli obiettivi di bonifica (Concentrazioni Soglia di Rischio del D.Lgs.152/06).

Anche gli approcci descritti per la definizione di un Modello Concettuale sono stati sviluppati partendo dal contaminante come fonte di rischio.

Il metodo di VRA presentato in questo capitolo può considerarsi una risposta ad alcune delle richieste espresse, ma non ancora soddisfatte, da diversi organi di valutazione e relative allo sviluppo di metodi per l'analisi di sostenibilità e la VRA connessi all'utilizzo di piante per il risanamento ambientale. Il metodo consiste in un Modello Concettuale e un questionario elettronico abbinato. La fonte di rischio analizzata è il processo di fitorisanamento, nel quale sono identificati i fattori di diffusione e potenziali recettori, insieme alle relazioni tra questi; il questionario elettronico permette di caratterizzare le vie di rischio e la redazione di rapporti in cui sono riassunte tutte le informazioni inserite e gli effetti negativi identificati consentendo una valutazione del rischio complessivo.

3.2 Operating Model for Environmental Risk Assessment (OMERA)

Il metodo parte dallo sviluppo e adattamento di un modello operativo di valutazione del rischio ambientale applicato al rilascio di Piante Geneticamente Modificate: OMER (Operating Model for Environmental Risk Assessment). La metodologia è stata realizzata nel

2003 da un gruppo multidisciplinare di esperti (Sorlini et al., 2003) e ulteriormente sviluppata nel corso di un progetto Life+ Biodiversità recentemente conclusosi (Lener, et al., 2013). OMERA parte dall'analisi delle metodologie di VRA in essere applicate al rischio ambientale chimico (ERMA, 1999; ERMA, 2000), e lavora sul presupposto che perché si verifichi un effetto ambientale è necessaria la presenza di quattro componenti e dalle loro interconnessioni:

Fonte – Fattori di Diffusione – Vie di Migrazione – Recettori

In assenza anche di una sola delle componenti il rischio non si verifica. In ogni caso è necessario valutare se, in tempi futuri, si possano determinare condizioni e relazioni diverse in grado di ripristinare le componenti mancanti dello schema illustrato. La **fonte** è il luogo o la situazione in cui una sostanza o un organismo è rilasciato o messo in condizione di esprimere la sua capacità intrinseca di provocare danni o effetti negativi sulla salute umana e/o sulle componenti ambientali; i **fattori di diffusione** sono legati alle caratteristiche biologiche della pianta (polline, seme ecc.), le **vie di migrazione** rappresentano le caratteristiche chimico-fisiche ed ecologiche dell'ambiente ricevente e i **recettori** possono essere uomini, animali e diverse componenti ambientali potenzialmente bersaglio del rischio. Le relazioni tra le diverse componenti sono riassunte in un diagramma di flusso, o Modello Concettuale (figura 3.1). Il diagramma interviene a supporto del processo di analisi di rischio che comprende: l'identificazione dei rischi potenziali, la valutazione dei rischi e la definizione degli interventi da realizzare per la gestione del rischio. Le tecniche di gestione del rischio si possono applicare, almeno teoricamente, ad ognuna delle tre componenti descritte al fine di ridurre l'entità e/o la probabilità del rischio, sebbene la praticabilità e l'efficienza degli interventi dipendano strettamente dalle particolari circostanze e dalle caratteristiche del rischio potenziale.

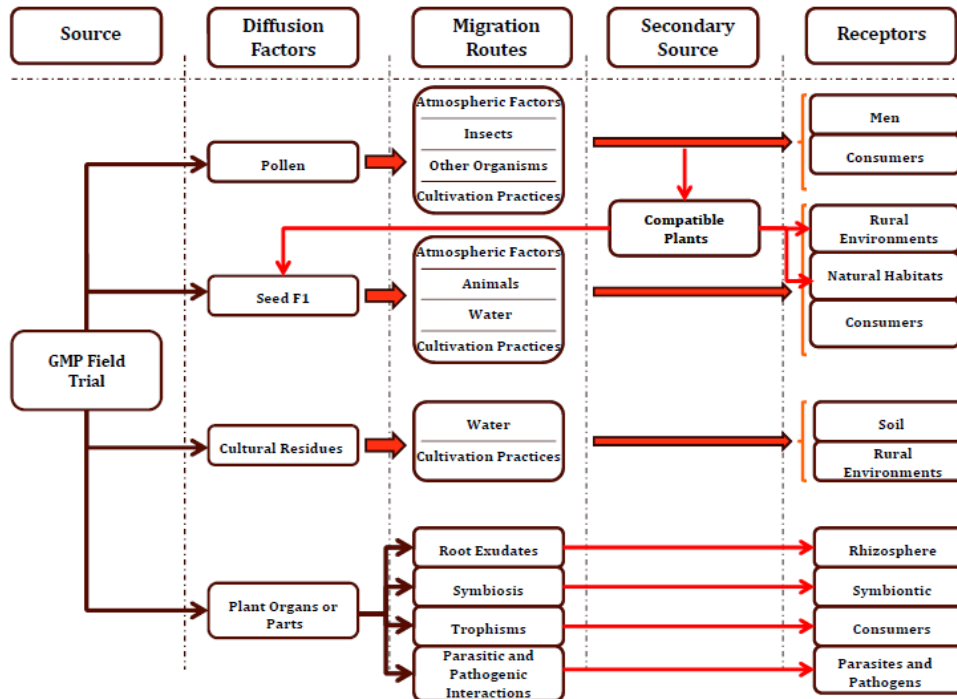


Figura 3.1 - OMERA, Modello Concettuale per sostenere una valutazione del rischio ambientale connesso al rilascio sperimentale di una Pianta Geneticamente Modificata nell'ambiente. Il Modello mostra le componenti di rischio e le loro interazioni (Lener et al., 2013)

Il metodo OMERA include anche un questionario elettronico guidato da un sistema di gestione dati relazionale (Microsoft Office Access) ed è stato pubblicato sul sito della Biosafety Clearing House del Ministero dell'Ambiente (www.bch.minambiente.it). Il questionario elettronico è composto da gruppi di domande formulate specificatamente per ogni casella del Modello Concettuale, le quali permettono di seguire il diagramma di flusso dalla fonte attraverso tutte le sue componenti fino alla identificazione dei relativi effetti negativi. Il completamento del questionario permette l'identificazione dei recettori potenzialmente interessati e i potenziali effetti connessi. Tutte le informazioni raccolte nel corso della compilazione del questionario sono riportate in un rapporto finale. L'applicazione di OMERA permette di percorrere le differenti fasi di VRA indicate dal Gruppo di lavoro EFSA (v. cap. 1) in maniera standardizzata e di raccogliere in un unico rapporto le informazioni fondamentali per condurre una VRA (Lener et al., 2013).

3.3 Phytotechnology Environmental Risk Assessment (PhytERA)

Partendo dall'analisi del Modello Concettuale di OMERA e relativo questionario, lo sviluppo di Phytoremediation Environmental Risk Assessment (PhytERA) è stato portato avanti con due percorsi paralleli finalizzati alla raccolta di dati ed informazioni da utilizzare per la

definizione dello specifico Modello Concettuale e da considerare nella redazione del questionario elettronico abbinato.

Il lavoro è stato programmato e finalizzato a fornire delle risposte ai quesiti che emergono durante le varie fasi dell'analisi dei rischi. I punti chiave sono stati sviluppati in diverse fasi:

- identificazione dei rischi potenziali;
- sviluppo del Modello Concettuale;
- sviluppo del questionario elettronico

3.3.1 Identificazione dei rischi potenziali

La fase di identificazione dei rischi potenziali è stata un processo iterativo e continuo, ha previsto la raccolta ed analisi della bibliografia esistente sull'argomento e la consultazione di gruppi di lavoro ed esperti internazionali nel campo del fitorimediazione.

La parte di consultazione è stata portata avanti sia attraverso interviste di persona, sia con la partecipazione a convegni e seminari, e in particolare i convegni della International Phytotechnology Society, società scientifica che raccoglie tutti gli attori coinvolti nello studio e applicazioni di tecnologie che utilizzano piante per affrontare e risolvere problemi ambientali (phytosociety.org). delle tecnologie del fitorisanamento. I risultati di questa tesi di dottorato sono stati presentati al Convegno del 2014 (Marmioli et al, 2014).

La parte di consultazione ha anche previsto l'invio di un questionario di indagine (figura 3.2) in cui sono state richieste informazioni sulle ricerche in atto. Il questionario di indagine ha due obiettivi principali: da una parte capire la tipologia di studi e applicazioni in atto nel campo del fitorisanamento e dall'altra individuare i lavori da utilizzare nella fase di validazione di PhytERA.

Il questionario è composto da quattro colonne: nella prima sono elencate le domande, nella seconda devono essere inserite le risposte, nella terza alcune note di spiegazione e nell'ultima l'intervistato può inserire dei commenti. Le domande sono raggruppate in tre parti. Le prime sono relative a informazioni sul contatto, il resto è diviso in due gruppi. Il gruppo *Main features* ha lo scopo di inquadrare la ricerca e/o applicazione in atto; alcune delle domande servono per caratterizzare quella che poi diventerà la fonte di rischio: tipo di matrice contaminata, il contaminante e la pianta utilizzata, il sito di bonifica. Informazioni relative a siti pubblici o privati sono utili anche per ipotizzare il tipo di gestione del sito prima dell'intervento di ripristino. Il terzo gruppo di informazioni richieste, *Other features*, richiede tre informazioni fondamentali nel processo di valutazione dei rischi: la vicinanza di recettori sensibili e chiave (presenza nelle vicinanze di Aree protette, Siti di Interesse Comunitario),

l'ambiente in cui avviene il risanamento, la raccolta/immagazzinamento del materiale vegetale. La presenza di potenziali recettori, importanti per la tutela della biodiversità, insieme alla definizione del *local environment*, permette di iniziare il processo di identificazione degli obiettivi di protezione (*protection goals*). Infatti, se il sito è in un'area urbana gli obiettivi di protezione saranno identificati all'interno della popolazione residente nelle vicinanze; nel caso sia una zona rurale, tra gli obiettivi di protezione sarà necessario inserire l'agrobiodiversità e prodotti da agricoltura e allevamento protetti da norme apposite come DOP, IGP, STG¹³. Infine, la domanda relativa alla raccolta e stoccaggio permette di individuare quelle applicazioni in cui la parte di dismissione e gestione di residui colturali deve essere presa in considerazione nella fase di valutazione e gestione del rischio.

Il questionario di indagine è stato inviato a gruppi di lavoro ed esperti distribuiti in tutto il mondo, all'indagine hanno risposto 14 gruppi di ricerca provenienti da: Norvegia, Spagna, Polonia, Repubblica Ceca, Germania, 2 Italia Slovenia, India, Nepal, Nuova Zelanda, Australia e 2 dagli Stati Uniti; le risposte fornite sono presentate nell'allegato 3.1.

Dall'indagine è risultato che i contaminanti più studiati sono i metalli, ma è interessante notare che alcune ricerche hanno come oggetto lo studio della capacità di piante arboree, arbustive e rampicanti di catturare inquinanti dell'aria sulla superficie e nella cera fogliare. In particolare gli studi condotti in Polonia su alberi presenti nei parchi e giardini urbani avevano lo scopo di individuare quali specie possono essere utilizzate come filtri biologici per ridurre il particolato inquinante urbano (Zanowski, et al., 2011; Zanowski e Gawroński, 2011; Popok et al., 2013). Per quanto riguarda la matrice ambientale, la maggior parte degli studi è focalizzata sul suolo, mentre la tecnologia più utilizzata è la fitoestrazione, in tre casi congiuntamente alla rizodegradazione; le piante messe a dimora sono sia erbacee sia arboree. Nel caso in cui la tecnica considerata sia una fitostabilizzazione o il controllo idraulico, le matrici ambientali sono acque di scarico o di falda, utilizzando specie arboree. È interessante notare che l'utilizzo di piante aliene o native non è discriminante, così come il sito, pubblico o privato; tuttavia la maggior parte delle ricerche è stata condotta in ambienti naturali o rurali. Per quanto riguarda la raccolta e lo stoccaggio del materiale vegetale, quasi tutti gli intervistati hanno dato risposta positiva, anche se in realtà, nella maggior parte dei casi, le piante raccolte non erano il totale, ma solo la quantità necessaria per effettuare le analisi utili al raggiungimento degli obiettivi della ricerca.

¹³ DOP: Denominazione di Origine Protetta. IGP: Indicazione Geografica Protetta. STG: Specialità Tradizionale garantita

Questions	Answers*	Explanatory notes	Notes from the user**
Name of principal investigator and Institution/Company			
Country			
Contact person (if different from above)			
MAIN FEATURES			
Experiment features	<i>In situ, ex situ</i> , greenhouse or growth chamber, other		
Location of the site		Country, region, area, town, ecc.	
The site is located in a	Public or private area, other		
Type of matrix	Soil, groundwater, sediments, other		
Type of contaminant		Indicate the main contaminant/s	
Plant identity		Indicate common and scientific names of the plants (including cultivar, hybrid or clone)	
Plant provenance		Is the plant used native or alien in respect of the receiving environment?	
Main phytotechnology applied		Indicate phytovolatilisation, phytoextraction, rhizoremediation, ecc.	
Status of research progress		Specify if the research activity is on going or it is terminated, and the duration	
Plant establishment		Indicate the date/period in which the plants were established	
Density and area		Indicate approximately total area treated and density of the plants per m ²	
OTHER FEATURES			
Nearby sensitive receptors		Is the emission site nearby a Protected Area, Sites of Community Importance, Special Protected Area, National Park, other?	
Local environment	Urban, industrial, rural, natural area		
Are the plants harvested, collected, ecc?			

Figura 3.2 - Questionario di indagine per la raccolta di informazioni sulle attività nel campo del fitorisanamento. La colonna answer* è predisposta per raccogliere le informazioni fornite dall'intervistato; in alcune domande l'intervistato deve inserire una scelta tra le alternative proposte. La colonna note from the user** è stata predisposta per raccogliere eventuali note e suggerimenti.

L'analisi della bibliografia, condotta in parallelo all'indagine, ha incluso sia i metodi di analisi e valutazione del rischio applicata in diversi ambiti, e riassunta nel capitolo sull'analisi dei

rischi, sia ricerche che avevano come oggetto le applicazioni di metodi di fitorimediazione su diverse matrici ambientali inquinate da differenti composti chimici e utilizzavano diverse specie vegetali, insieme a ricerche di base su destino del contaminante e/o trasformazione di questo all'interno della matrice ambientale o in parti della pianta. Tali informazioni sono sostanziali nel momento in cui si vuole condurre una VRA e mettere a punto misure di mitigazione e/o gestione del rischio connessi.

3.3.2 Sviluppo del Modello Concettuale

L'analisi della letteratura e i risultati dell'indagine preliminare hanno portato all'identificazione e valutazione di una serie di pericoli (rischi potenziali) (si veda nota 10, par. 1.2) che sono stati organizzati in categorie. Inoltre, sono stati individuati diversi recettori potenziali in base alle ipotesi di ambiente ricevente ricavate dall'indagine preliminare. Per ognuno dei rischi potenziali si è cercato di individuare i Fattori di Diffusione, sia sul breve che sul lungo periodo, che possano eventualmente permettere al rischio potenziale di interagire con gli specifici bersagli (recettori) individuati.

Il ragionamento e le ipotesi fatte, i rischi insieme ai fattori di diffusione e i recettori identificati sono rappresentati schematicamente nel Modello Concettuale nelle figure 3.3 e 3.4.

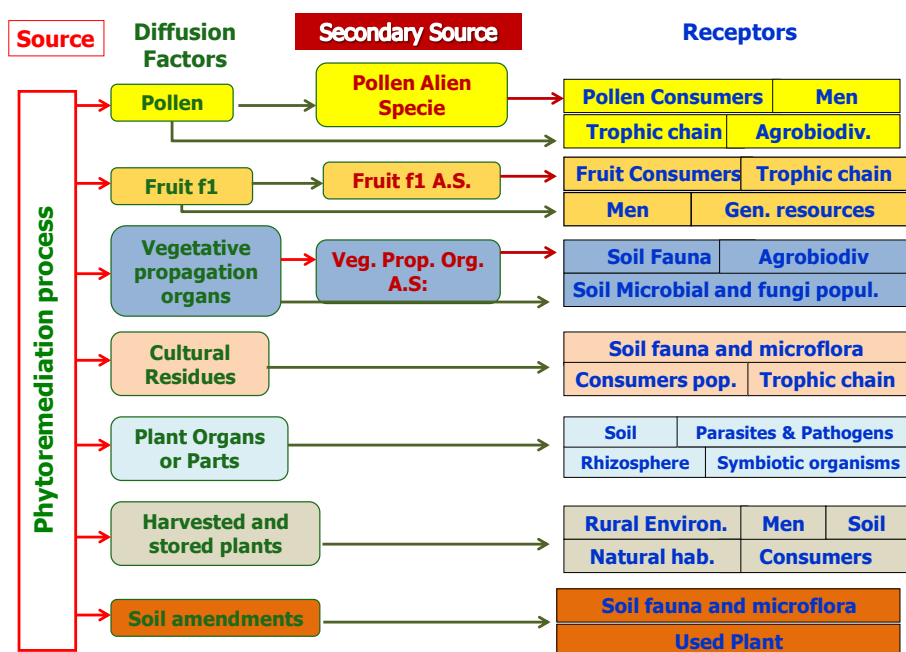


Fig. 3.3 - Modello Concettuale di PhytERA. Il Modello, rappresentato come diagramma di flusso, identifica le componenti utili ad una VRA (Fonte, Fattori di Diffusione, Fonte Secondaria di rischio e Recettori) e descrive le relazioni tra queste. Non tutti i recettori identificati, in PhytERA, sono riportati in figura; ma un elenco dettagliato è presente in Allegato 3.2 .

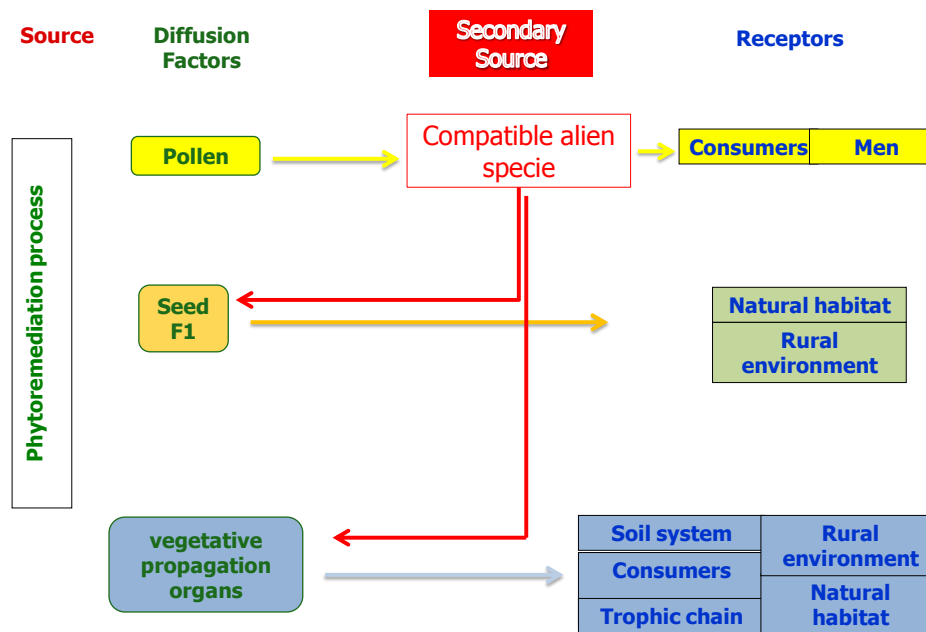


Fig. 3.4 - Particolare del Modello Concettuale di PhytERA relativo ai percorsi di rischio identificati per una potenziale Fonte Secondaria. Anche in questo caso non tutti i recettori identificati sono riportati in figura; un elenco dettagliato è presente in Allegato 3.2.

Per sviluppare il modello di PhytERA si è partiti da quello sviluppato per OMERA, apportando modifiche grafiche che corrispondono a differenze concettuali legate alle differenze tra i due processi che si stanno analizzando.

La fonte di rischio è il processo di fitorisanamento; la casella relativa alla fonte include la pianta, il contaminante, la matrice ambientale inquinata ed il sito. Una pianta utilizzata per un fitorisanamento, e che quindi ha potenzialmente accumulato il contaminante all'interno dei tessuti, può essere una fonte di rischio lei stessa e, tramite le interazioni che ogni pianta ha con l'ambiente circostante, raggiungere potenziali recettori che il contaminante, ad esempio presente nel suolo, non è in grado di raggiungere. Per questo motivo molti dei fattori di diffusione identificati nel Modello Concettuale sono legati alle caratteristiche della pianta e simili a quelli identificati per le Piante Geneticamente Modificate. I fattori di diffusione relativi al materiale vegetale raccolto e immagazzinato (*Harvested and stored plants*) e all'ipotesi di utilizzo di ammendanti nel suolo (*Soil amendments*) sono fondamentali nella VRA che si ha intenzione di condurre e rappresentano una delle differenze tra i due Modelli. Per quanto riguarda i recettori, questi sono molto simili a quelli del Modello OMERA, ma cambiano le relazioni con i fattori di diffusione, evidenziate al momento della selezione delle domande poste nel questionario elettronico.

Anche in PhytERA è prevista una Fonte Secondaria di rischio legata all'utilizzo di una specie aliena rispetto all'ambiente ricevente. Per la fonte secondaria sono stati previsti i fattori di diffusione polline, seme, organi di propagazione vegetativa e i residui colturali, quest'ultimi solo nel caso contengano organi di propagazione vegetativa. Mentre i pericoli caratterizzati per la fonte primaria di rischio sono legati alla presenza del contaminante nei diversi tessuti vegetali, e i relativi effetti potenziali sono connessi al contatto tra il contaminante e i recettori, i pericoli caratterizzati per la fonte secondaria (Allegato 3.2) dipendono dalle caratteristiche botaniche di invasività e capacità di diffusione nell'ambiente circostante della specie, che possono portare ad effetti indiretti su biodiversità, agrobiodiversità, reti trofiche, suolo e uomo.

Una volta stabilito che un rischio potenziale, attraverso un fattore di diffusione, può raggiungere un recettore determinando un impatto, la possibilità che questo evento si realizzi concretamente dipende da molteplici fattori quali: le condizioni di rilascio, la presenza di barriere fisiche o biologiche che possono impedire la diffusione, le caratteristiche geografiche, morfologiche e climatiche del territorio, la capacità di sopravvivenza della pianta insieme alle caratteristiche chimiche del contaminante. Vengono anche considerate quelle pratiche di gestione del sito che possono ridurre l'efficienza dei fattori di diffusione, ad esempio l'emasculazione dei fiori, la raccolta dei frutti o dei residui colturali.

Il Modello Concettuale sviluppato è uno strumento utile per la formulazione del problema, in grado di rappresentare in modo grafico le relazioni ipotizzate tra le fonti di rischi potenziali, i percorsi di migrazione e i bersagli, portando a un'oggettiva se non automatica identificazione degli impatti ambientali. Per garantire che la valutazione del rischio prenda in considerazione tutti i potenziali effetti, il Modello Concettuale deve essere flessibile e in grado di integrare tutte le informazioni disponibili dalla letteratura e dalle precedenti esperienze. Il livello di dettaglio richiesto è determinato dalla complessità della specifica valutazione del rischio. L'incertezza che può determinarsi durante lo sviluppo del Modello Concettuale ha origine dalla carenza di informazioni, dall'errore nell'identificazione dei rischi potenziali o dalla non corretta valutazione degli effetti diretti e indiretti. È importante rivedere e revisionare il Modello Concettuale in modo iterativo per assicurare che il quadro delle ipotesi di fondo sia corretto. L'estensione del Modello potrebbe anche ridursi con l'aumentare delle informazioni durante il processo di valutazione del rischio con la conseguente eliminazione di alcune ipotesi.

3.3.3 Sviluppo del questionario elettronico

Per ogni singola casella del diagramma le informazioni da richiedere sono state suddivise in modo da permettere la caratterizzazione dei soggetti di ogni casella; altre domande sono state sviluppate per comprendere se e quali, dei vari percorsi teorici che causano impatti (vie di rischio), vengano attivati nel caso specifico in esame e quale potrebbe essere il peso del percorso nel contesto analizzato.

Le domande redatte per una completa caratterizzazione del Modello Concettuale sono 289 (Allegato 3.2); la possibilità di aprire o mantenere chiuse delle vie di rischio fa sì che non esista una relazione lineare tra loro e che per ogni caso si segua un percorso diverso. È stata sviluppata un'applicazione *ad hoc* in Access (Microsoft® Windows® 2003) che permette di attivare automaticamente ogni potenziale percorso a seconda delle informazioni inserite e delle risposte date. La scelta di utilizzare Access è motivata dal fatto che è un software diffuso e presente in pacchetti Microsoft Office e quindi facilmente reperibile.

Le domande previste sono di tre tipi; il primo richiede una risposta descrittiva e permette di caratterizzare l'oggetto di ogni passaggio del Modello Concettuale (il processo di fiorisanamento, il polline, il seme, ecc.), grazie a un testo alfa-numerico inserito dall'utilizzatore. Il secondo tipo comprende domande multiple che in genere richiedono risposte del tipo sì/no/non so e che permettono di aprire o meno una via di rischio specifica; in base al principio di precauzione, una risposta "non so", che indica mancata conoscenza o mancanza di dati, porta sempre all'apertura della relativa via di rischio. Alcune delle domande multiple elencano una breve lista di opzioni tra le quali l'utilizzatore può selezionarne una, ma non può inserire alcun testo. Quest'ultimo tipo di domande è stato inserito da una parte per facilitare la compilazione del questionario, dall'altra per identificare quelle informazioni particolarmente utili per condurre la valutazione del rischio. Ad esempio nella fase di caratterizzazione della pianta la domanda relativa alla forma biologica prevede la scelta tra *tree* o *other*; nel caso l'utilizzatore indichi che la pianta utilizzata è un albero, nel corso del questionario verrà attivata una serie di domande che rimarrebbero silenti nel caso dell'altra scelta. L'attivazione o meno di determinate vie di rischio è possibile grazie al terzo tipo di domande, quelle di controllo, che permettono di considerare contemporaneamente le risposte fornite a due o più domande. Questo tipo di domande non compare all'utilizzatore, ma viene fatto girare direttamente dal sistema.

In figura 3.5 è rappresentato il pannello principale del questionario. Nella colonna **Database** il primo gruppo di pulsanti riguarda le *form* per la gestione del questionario, in particolare:

Questions apre la *form* che gestisce le domande, incluse quelle a risposta multipla e di controllo, relazionandole a *subjects*, *groups* e *subgroups*; **Subjects** è la *form* che gestisce i diversi oggetti, che sono la fonte e i fattori di diffusione; **Groups** è la *form* che gestisce i diversi gruppi, che sono i fattori di diffusione e i corrispondenti recettori; **Subgroups**: è la *form* che gestisce i sottogruppi che indicano se la domanda è di tipo descrittivo o se è un effetto identificato. In Allegato 3.3 sono presenti le *form* descritte.

Il secondo gruppo della colonna permette di fare un'analisi di eventuali errori presenti nel sistema. La colonna **Database** descritta è stata utilizzata al momento della preparazione del questionario e non compare nella schermata di eventuali utilizzatori.

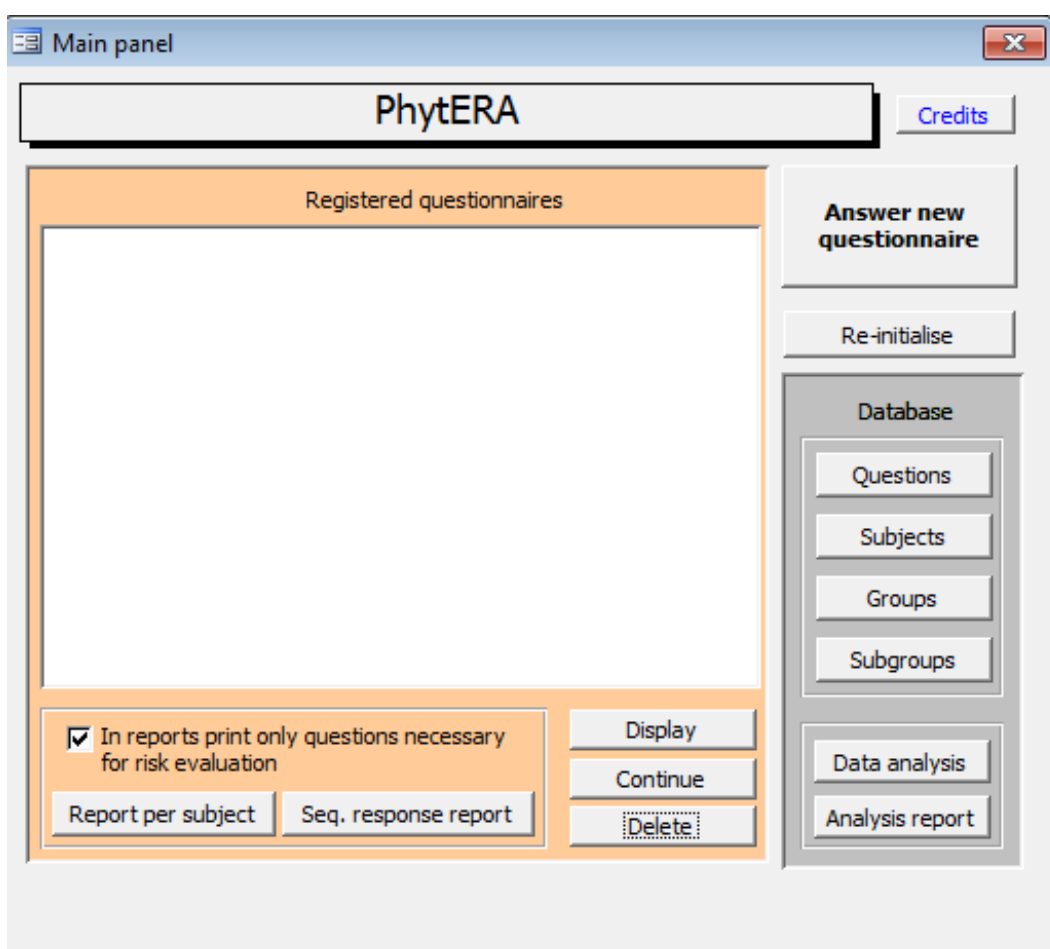


Fig. 3.5 - Pannello principale del questionario elettronico PhytERA. Il pannello principale permette l'inserimento delle informazioni per il funzionamento dell'applicazione e l'individuazione di errori (colonna Database), la registrazione di un nuovo questionario (Answer new questionnaire) e la visualizzazione dei rapporti ottenuti in seguito alla compilazione (Report per subject, se. response report). E' possibile interrompere la compilazione del questionario e visualizzare le risposte fornite (Display), la compilazione può essere ripresa cliccando sul tasto Continue, i questionari già registrati possono essere eliminati con il tasto Delete.

I dati dell'applicazione incluse, le domande redatte e codificate e le risposte che verranno inserite, sono registrate in tabelle in relazione secondo lo schema in fig. 3.6. Nel rettangolo

rosso sono raggruppate le tabelle in cui vengono registrati i dati delle risposte, nel rettangolo blu le tabelle contenenti i metadati descrittivi dei quesiti e del percorso di somministrazione del questionario.

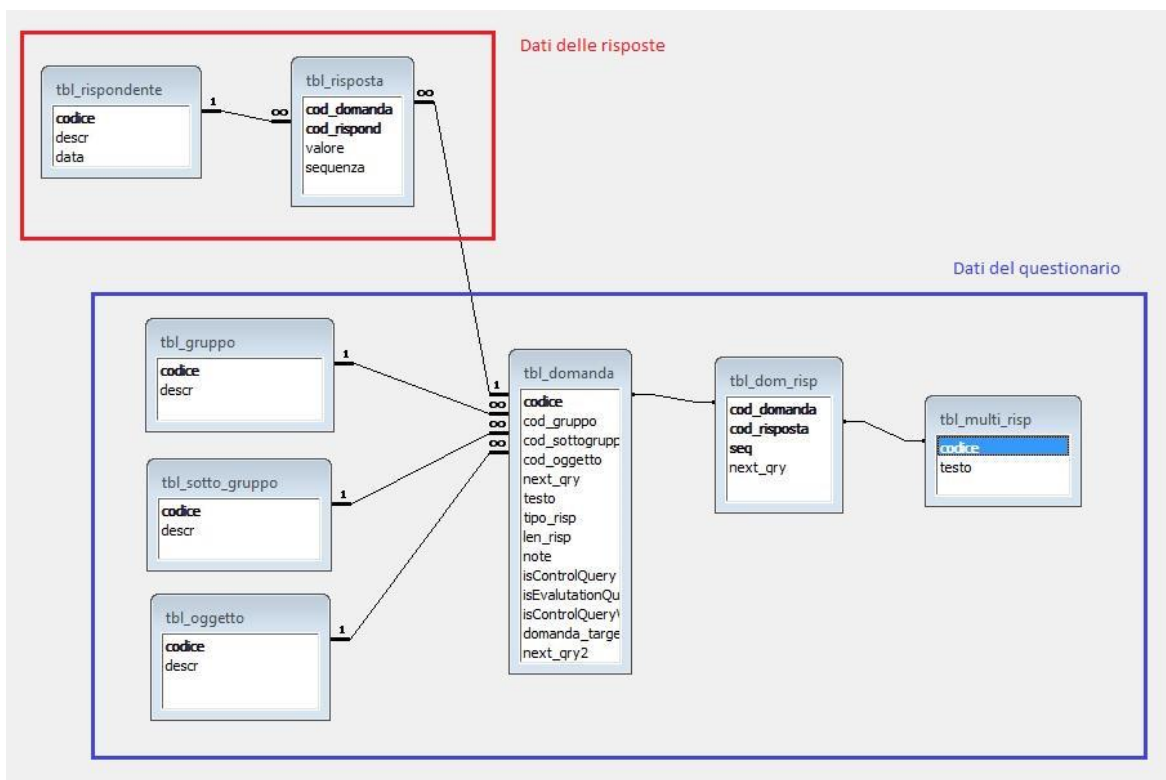


Fig. 3.6 - Schema delle relazioni tra le tabelle del *database*. Sono rappresentate le relazioni tra le varie tabelle che compongono il database gestito dall'applicazione sviluppata in Access. Nel riquadro rosso le tabelle in cui vengono registrate le risposte, nel riquadro blu le *form* contenenti le tabelle che permettono di seguire i percorsi di rischio.

Cliccando sul comando **Answer new questionnaire**, figura 3.7, compare la prima schermata, in cui l'utente inserisce un codice identificativo a piacere e la descrizione del processo di fitorisanamento che si sta andando ad analizzare. A questo punto può iniziare la compilazione del questionario. Tutte le domande inserite saranno registrate sotto il codice e descrizione inseriti nel primo passaggio; la compilazione del questionario può essere sospesa e ripresa in un secondo momento semplicemente evidenziando il codice del questionario e cliccando sul comando **Continue** presente nel pannello principale. Man mano che le domande sono inserite è possibile visualizzarle e verificarle cliccando sul tasto **Display**.

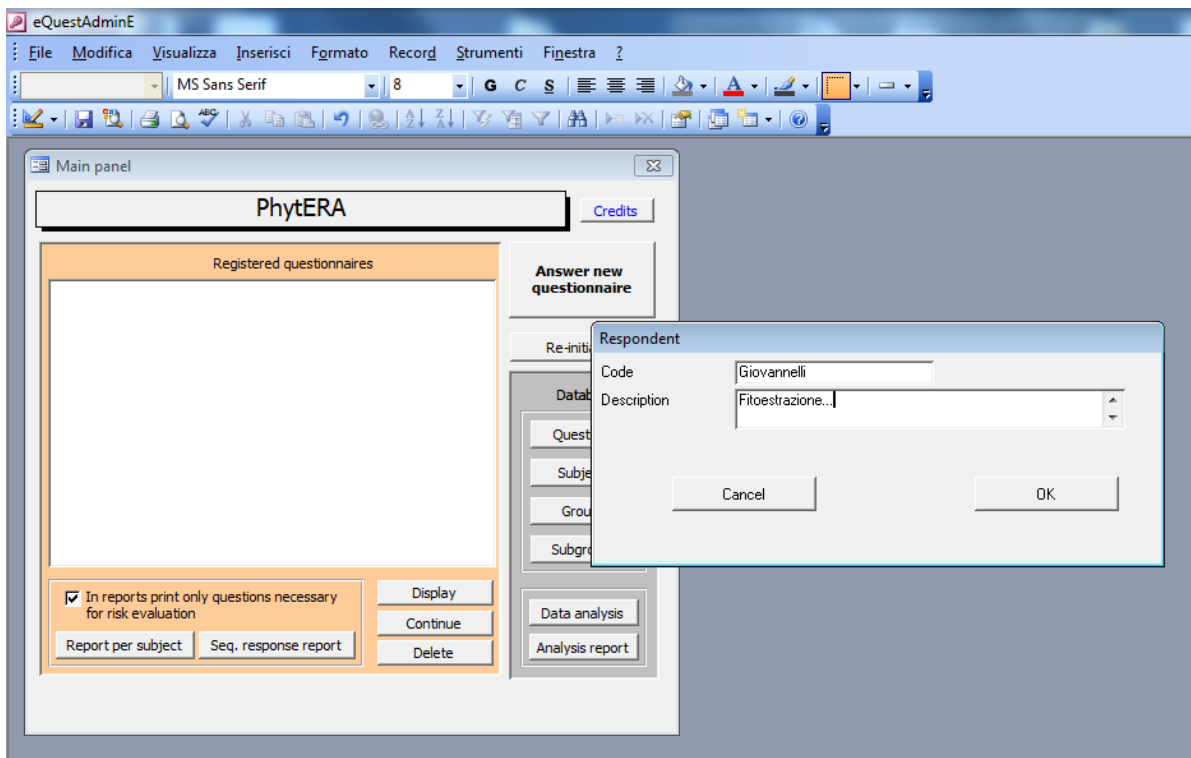


Fig. 3.7 - Schermata per l'inserimento del codice utilizzatore e descrizione del questionario. Per ogni nuovo questionario, viene richiesto all'utente di assegnare un codice e una breve descrizione. Il codice e la descrizione identificano il questionario compilato in maniera univoca, permettono la visualizzazione del questionario e dei relativi rapporti.

Dopo la prima domanda, che richiede una breve descrizione dello scopo della ricerca, inizia il questionario vero e proprio (figura 3.8). Nella parte superiore della schermata di ogni domanda sono riassunte le informazioni che posizionano la domanda all'interno del Modello Concettuale. In figura 3.8 è riportato l'esempio di una domanda di tipo multiplo in cui: **Subject** indica che siamo a livello della fonte; **Group** indica che le informazioni richieste sono relative alla pianta utilizzata; **Subgroup** specifica che la domanda è di tipo descrittivo; **Respondent code** ricorda chi sta rispondendo al questionario e permetterà di riprendere la compilazione del questionario o la visione del rapporto finale relativo alle domande inserite; **Question** riporta il testo della domanda; **Code** riporta il codice della domanda.

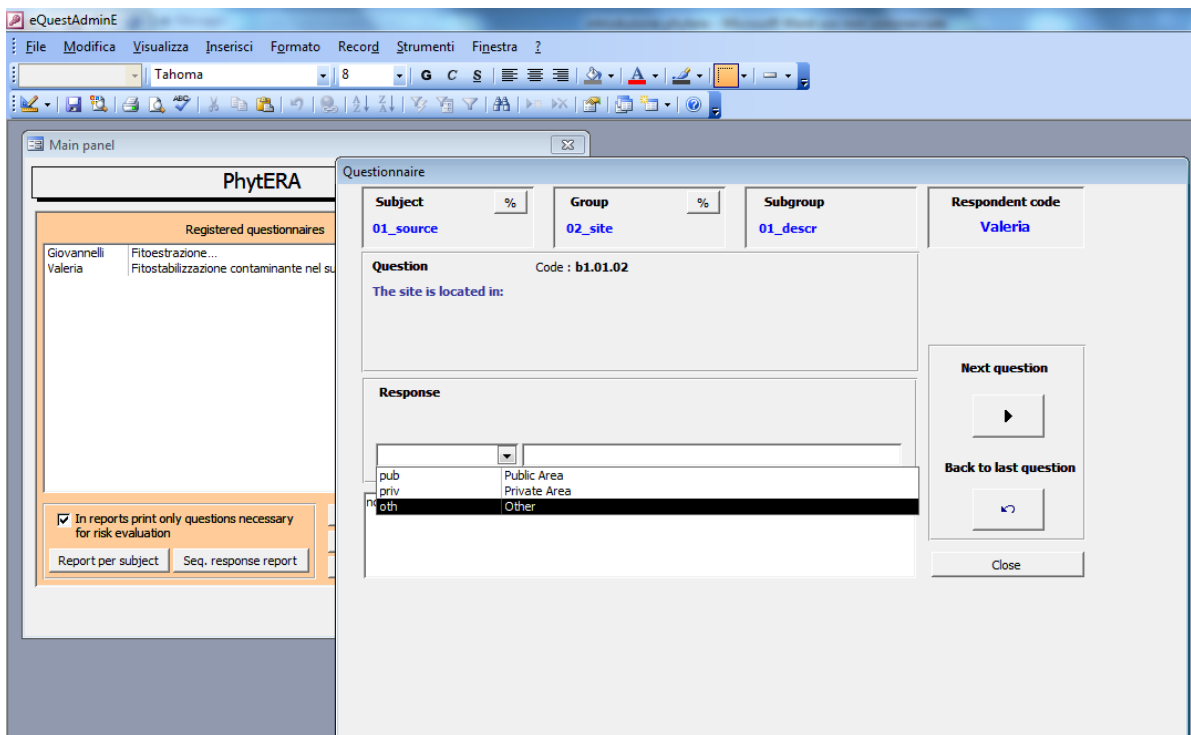


Fig. 3.8 - La schermata rappresenta un esempio di come appaiono le domande presenti nel questionario. In figura è rappresentata la domanda b1.01.02, che fa parte della serie di domande poste per la caratterizzazione del sito in cui avviene il fitorisanamento. Nella schermata di ogni domanda compaiono tutte le informazioni utili a collocare la domanda in oggetto all'interno del Modello Concettuale. In questo caso specifico la domanda appartiene al *Subject* relativo alla fonte, il *Group* è relativo al caratterizzazione del sito e la domanda è una domanda di tipo descrittivo (*Subgroup*).

Ogni domanda ha un codice univoco che la identifica all'interno del database e del Modello Concettuale (figura. 3.9).

Codice - x1.0n.0m			
X1		.0n	.0m: Ordine della domanda
a	Source	purpose	.01 Pollen
a1		matrix	.02 Pollen AS
b1.01		site	.03 Fruit
b1.02		contaminant	.04 Fruit AS
b1.03		phytotech.	.05 Veg.prop.org
b1.04		plant	.06 Veg.prop.org_AS
c1.	Diffusion factors		.07 Cultural residues
d1.	Receptors		.08 Harv_stor
e1.	Effects		.09 Plant organ part

Fig. 3.9 - Codici delle domande. Ad ogni domanda è stato assegnato un codice univoco di identificazione che ne permette la collocazione all'interno del questionario elettronico e del Modello Concettuale. I codici assegnati sono serviti per la definizione dei percorsi di rischio. La prima parte del codice indica a quale Subject appartiene la domanda (X) e che si sta valutando un fitorisanamento del suolo (X1), la seconda parte del codice indica il Group di appartenenza (.0n), l'ultima parte del codice è relativa all'ordine della domanda(0m).

Il codice è un codice parlante, **x1.0n.0m**, dove **x** può essere sostituito dalle lettere **a, b, c, d, e**, a seconda che la domanda sia relativa alla fonte (**a/b**), ad un fattore di diffusione (**c**), ad un recettore (**d**) o ad un effetto (**e**). Il numero **1** indica che si sta applicando il processo alla matrice suolo; infatti PhytERA è stato sviluppato per essere applicato al suolo, ma prevede la possibilità di inserire ulteriori domande specifiche per altre matrici ambientali. La lettera **n** indica lo specifico fattore di diffusione: **.01** è il polline, **.02** il polline di specie aliene, **.03** il frutto, **.04** il frutto di specie aliene, **.05** gli organi di propagazione vegetativa, **.06** gli organi di propagazione vegetativa di specie aliene, **.07** i residui colturali, **.08** il materiale raccolto e immagazzinato, **.09** organi e parti della pianta, **.10** l'utilizzo di ammendanti o promotori della crescita. La lettera **m** indica l'ordine della domanda. Ad esempio la domanda c1.01.02 è la seconda domanda del fattore di diffusione polline; o ancora il codice e1.03.01 indica il primo effetto potenziale identificato per il fattore di diffusione frutto.

Le domande sono divise e codificate in modo tale da permettere di procedere in maniera consequenziale nel processo di identificazione dei potenziali effetti. Il primo gruppo di domande permette la caratterizzazione della Fonte, il processo di fitorisanamento. Vengono prese in considerazione le quattro componenti della fonte: la pianta, il contaminante, il sito e il metodo di risanamento. Di conseguenza le domande chiedono informazioni sullo scopo del processo, la matrice inquinata, la localizzazione del sito e le sue caratteristiche climatiche, morfologiche e idrogeologiche. Informazioni sulla natura del contaminante e la capacità della pianta di traslocarlo nei tessuti vegetali sono richieste sempre a livello della fonte. La caratterizzazione della pianta include informazioni botaniche e fenologiche: nome e forma biologica, caratteristiche dell'apparato radicale e del frutto, e soprattutto se la specie è aliena rispetto all'ambiente in cui avviene il fitorisanamento. Anche la presenza/assenza di potenziali tossine o allergeni viene presa in considerazione.

Una volta terminata la caratterizzazione della fonte inizia la serie di domande a risposta chiusa (sì, no, non so) che permettono di attivare o bloccare il passaggio al livello successivo del Modello Concettuale: i Fattori di Diffusione. Ogni fattore di diffusione ha infatti una domanda chiave che ne permette o meno l'apertura, una volta attivato il questionario va avanti seguendo la via di rischio aperta fino ai recettori. Verificata e caratterizzata la presenza di potenziali recettori il questionario procede all'identificazione dei relativi effetti per poi tornare indietro a livello della fonte e formulare la domanda apri/chiedi relativa al successivo fattore di diffusione.

Per ognuno dei fattori di diffusione sono state identificate una serie di domande che ne permettono la caratterizzazione, ad esempio vengono richieste informazioni su potenziali nuove proteine o altre sostanze, presenti nei tessuti vegetali e legate al processo di risanamento in atto; nel caso di utilizzo di ammendanti, viene richiesto se questi aumentano la biodisponibilità del contaminante. Accertata la presenza di tali sostanze, o l'aumento della biodisponibilità del contaminante, il fattore di diffusione è attivato. Per ogni fattore di diffusione attivato vengono identificate e descritte vie di esposizione che includono fattori ambientali, atmosferici, insetti, o altri animali, che agiscono sul fattore di diffusione e potrebbero favorire la dispersione del contaminante in altre matrici ambientali e farlo agire su specifici recettori. Anche le pratiche di gestione del sito finalizzate alla riduzione della dispersione vengono richieste a questo livello; queste informazioni sono utili al momento di caratterizzazione dell'esposizione. Il livello successivo prevede la richiesta di informazioni per verificare la presenza o assenza di recettori specifici. La presenza di recettori nel sito o a distanze raggiungibili dai fattori di diffusione porta all'individuazione dei relativi effetti potenziali. Gli effetti identificati sono potenziali e l'utilizzatore del questionario ha a disposizione un campo all'interno del questionario dove poter confutare le ipotesi o confermarle. Anche questo tipo di informazioni verranno registrate nel rapporto finale. In tabella 3.1 è presentato il numero totale di effetti identificati, e potenzialmente attivabili da PhytERA, raggruppati per ogni Fattore di Diffusione presente nel Modello Concettuale.

Tabella 3.1 Effetti potenziali identificati in PhytERA

Fattore di Diffusione	effetti
pollen	6
pollen_as	7
fruit	4
fruit_as	11
veg_prop_org	8
veg_prop_org_as	10
cult_res	9
harv_stor	11
plant_org_part	13
soil_amend	8

Note: La tabella elenca il numero totale di effetti identificati, all'interno del questionario, per ogni Fattore di Diffusione presente nel Modello Concettuale.

Come si può notare nelle figure 3.3 e 3.4 il Modello Concettuale prevede anche una Fonte Secondaria di rischio. Come evidenziato nei paragrafi precedenti, l'utilizzo di specie aliene

crea non pochi dubbi e perplessità, e deve essere attentamente valutato. Per questa ragione il recettore piante aliene compatibili (*Compatible alien specie*) è considerato anche come fonte di rischio, suddivisa in due macrogruppi: piante coltivate e piante selvatiche ognuna delle quali porta ad effetti specifici. La Fonte Secondaria è prevista nel caso del polline, del seme e degli organi di propagazione vegetativa. I residui vegetali non raccolti, contenenti organi di propagazione vegetativa, attivano il fattore di diffusione legato a questi ultimi.

Le figure 3.10, 3.11, 3.12 rappresentano alcuni esempi di come, a seconda delle risposte date, possono essere aperte le vie di rischio, arrivando all'identificazione del relativo effetto potenziale.

Il diagramma di flusso rappresentato in figura 3.10 mostra come, a partire dalla fonte, venga attivato o meno il fattore di diffusione legato al frutto/seme e vengano raggiunti i relativi potenziali effetti. Nel caso in cui la pianta in sito non produca frutti durante il periodo di rilascio la via di rischio rimane chiusa e il sistema passa all'attivazione del fattore di diffusione successivo (residui colturali). Nel caso vengano prodotti frutti/semi si arriva al fattore di diffusione (c1.03.01). Nel caso il frutto venga prodotto, ma non contenga sostanze pericolose, legate al processo di fitorisanamento, per eventuali consumatori la via viene ugualmente chiusa. Nel caso invece queste siano presenti la domanda successiva è relativa ad eventuali misure di precauzione prese per evitare il contatto del frutto/seme con i potenziali recettori, come ad esempio la raccolta del frutto prima della maturazione (c1.03.03). Se la misura di gestione è messa in atto la via viene chiusa, altrimenti rimane aperta. La raccolta del frutto raccolto quando è maturo (c1.03.04) può portare alla chiusura della via di rischio nel caso questo sia indeiscente (c1.03.02). In caso di frutti deiscenti la via di rischio prosegue con la valutazione dei potenziali recettori. I potenziali effetti identificati dipendono dall'uso del frutto, se è utilizzato generalmente nell'alimentazione umana o animale (d1.03.01, 02), come ad esempio pannocchie di mais, e se animali possono entrare nel campo e consumare i frutti (d1.03.03). Il diagramma riporta anche alcuni esempi su come agiscono le domande di controllo. Nei casi in cui la via di rischio legata al frutto/seme venga chiusa, la domanda di controllo c1.03.ctr1 chiede al sistema di verificare la risposta data alla domanda b1.04.09, posta nel corso della caratterizzazione della fonte e in cui si richiedeva se la pianta utilizzata apparteneva ad una specie aliena. Una risposta affermativa apre direttamente la via di rischio legata all'uso di specie aliene, rappresentata nella fig. 3.11. Ugualmente nel caso i frutti/semi non vengano raccolti il sistema va a verificare se questi siano indeiscenti o deiscenti, e nel caso di un seme deiscente la via rimane aperta

perché, considerato che la maturazione dei frutti avviene gradualmente nel corso del tempo, non può essere assicurata l'assenza di dispersione del seme.

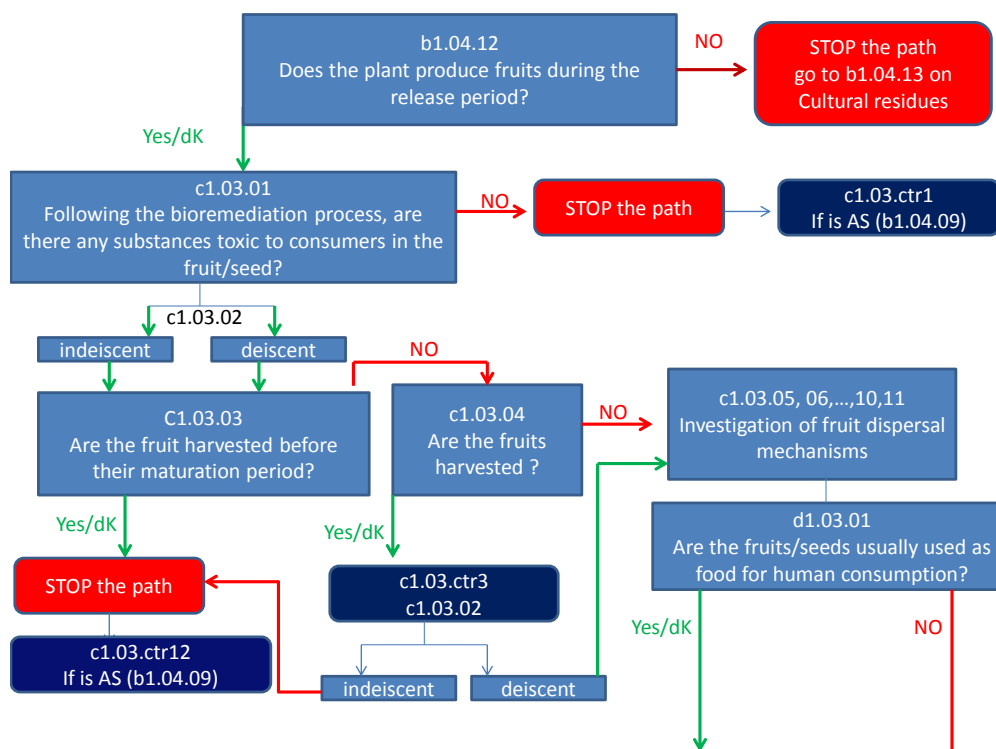


Figura 3.10 - Percorso di rischio del frutto/seme. Il diagramma di flusso rappresenta le modalità con cui può essere attivato il percorso di rischio relativo al fattore di diffusione del frutto/seme. A seconda delle risposte inserite il percorso può essere interrotto o proseguito fino all'identificazione degli effetti.

Il diagramma di flusso in fig. 3.11 prosegue il percorso di rischio iniziato nella figura precedente e descrive le potenziali vie con cui il frutto/seme di una specie aliena può raggiungere i recettori e determinare degli effetti sull'ambiente. Una volta verificato che la specie utilizzata è aliena rispetto all'ambiente ricevente, i nodi principali sono rappresentati dalla possibilità che il seme prodotto sia o meno vitale (c1.04.01). Un seme non vitale non rappresenta un rischio per l'ambiente perché non può dare origine a nuove piante. Nel caso il seme sia vitale vengono richieste informazioni su alcune sue caratteristiche biologiche, come dormienza, periodo di maturazione ecc. (c1.04.02, 03, 04, ... 09) che possono influenzarne la capacità di dispersione e germinazione; infine viene richiesto se esistono fattori ambientali che possano facilitarne la dispersione stessa (c1.04.10). In caso di risposta affermativa vengono attivati i recettori potenzialmente presenti nei pressi del campo chiedendo di verificare la presenza di specie coltivate sessualmente compatibili (d1.04.01) e se l'ambiente limitrofo al sito permette la crescita e riproduzione della pianta utilizzata nel fitorisanamento (d1.04.02). Risposte positive portano all'identificazione dei relativi effetti

potenziali. Come scritto precedentemente, simili percorsi di rischio, legati alle specie aliene, sono stati specificatamente sviluppati anche per i fattori di diffusione polline, seme, organi di propagazione vegetativa e residui colturali, nel caso questi contengano organi di propagazione vegetativa e non vengano raccolti.

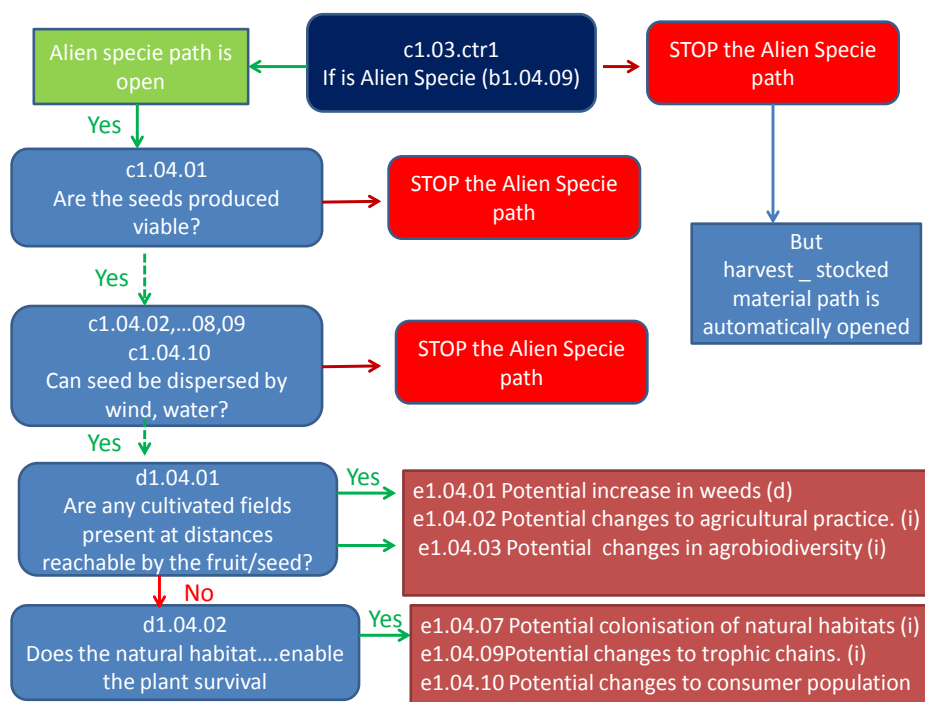


Fig. 3.11 Percorso di rischio del frutto/seme di specie aliene. Il diagramma di flusso rappresenta le modalità con cui il percorso di rischio relativo al fattore di diffusione del frutto/seme di specie aliene a seconda delle risposte inserite. il percorso può essere interrotto o preseguito fino all'identificazione dei relativi effetti.

Il percorso di rischio di figura 3.12 viene attivato nel caso in cui le piante vengano raccolte, in caso contrario, prima di chiudere la via di rischio, il sistema, attraverso una domanda di controllo (b1.04.ctr1), va a verificare se è avvenuta la raccolta dei residui colturali nel corso del fitorimedio. La raccolta dei residui colturali da una parte chiude la via di rischio legata a questi ultimi, dall'altra apre la via di rischio illustrata in figura. La possibilità di valutare i residui colturali raccolti è molto importante, soprattutto nel caso in cui la pianta messa a dimora sia un albero, infatti i residui colturali derivanti da azioni di potatura o dalle foglie e altri parti cadute sono fonte di rischio per eventuali consumatori o detritivori o la popolazione umana. Nel caso i residui colturali o le piante in campo siano stati raccolti, il sistema apre la via di rischio. La via di rischio va a valutare se il contaminante è stato accumulato nei tessuti vegetali, in tal caso va a verificare se il materiale raccolto viene immagazzinato in un luogo isolato in modo che il contaminante non venga rilasciato di nuovo nell'ambiente. In caso contrario il sistema porta ad una lista di effetti.

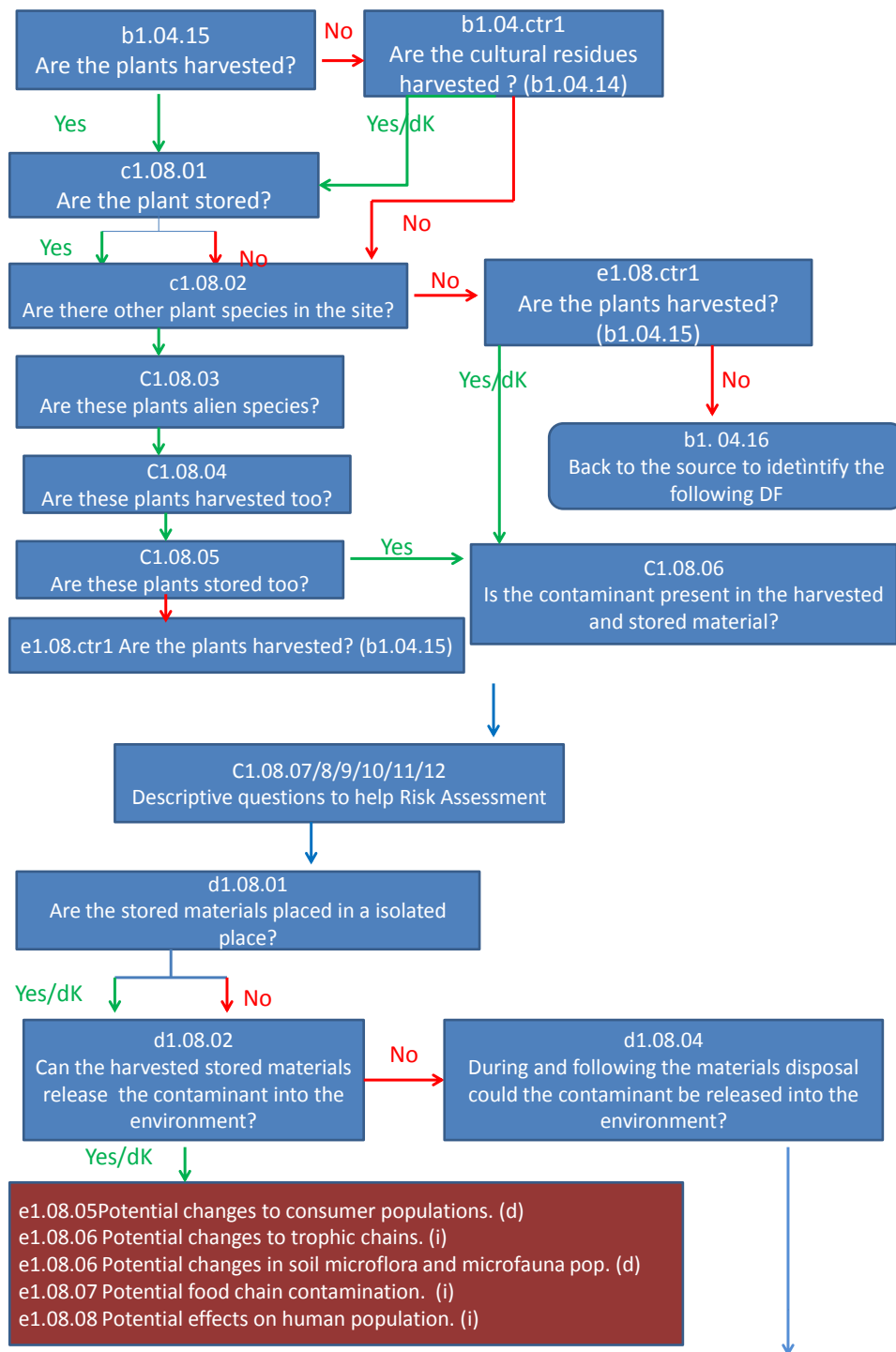


Fig. 3.12 -Percorso di rischio del materiale raccolto e stoccato. Il diagramma di flusso rappresenta il potenziale percorso di rischio legato al fattore di diffusione materiale raccolto e stoccato. Il percorso può essere interrotto o proseguire fino all'identificazione dei relativi effetti. In particolare il percorso descritto è relativo all'identificazione dei potenziali effetti connessi al material stoccato, il percorso può ulteriormente proseguire in caso di risposta affermativa alla domanda d1.08.04, fino all'identificazione di effetti legati alla dispersione di contaminante nel corso delle operazioni di raccolta e stoccaggio.

Nel caso del percorso di rischio rappresentato in figura 3.10, non vengono fatte domande specifiche per caratterizzare i potenziali recettori (d1.08.01,02), infatti il recettore è l'ambiente stesso e quindi sicuramente presente e raggiungibile. La domanda chiave è quindi

se il contaminante può essere di nuovo rilasciato nell'ambiente. Il percorso di rischio prevede anche la verifica della presenza o meno di altre piante nel sito, oltre a quella utilizzata per la bonifica. Anche queste vengono valutate all'interno dello stesso percorso.

3.3.4 *Uso del questionario*

L'utilizzatore del questionario, valutatore o ricercatore, viene messo in grado, rispondendo alle domande, di seguire le singole vie di rischio iniziando dalla fonte, considerando i singoli fattori di diffusione, le relative vie di migrazione e recettori, arrivando ad identificare gli specifici effetti correlati alla via di rischio percorsa. Essendo impostato con la logica della domanda chiusa con la possibilità di dare due sole (sì, no) o al massimo tre (sì, no, non so) risposte, ogni passaggio comporta automaticamente l'esclusione dei percorsi che non interessano il caso in esame. In questo modo il lavoro di identificazione dei rischi può essere più agevole e spedito, senza perdere in precisione. Al termine della compilazione del questionario l'utilizzatore ottiene una lista di effetti direttamente relazionabili al fattore di diffusione che li ha provocati e allo specifico recettore. L'utilizzatore potrà quindi, se richiesto, adottare misure di gestione del rischio specifiche volte a interrompere o ridurre la portata della via di rischio, abbassando così la probabilità che l'effetto identificato si realizzi. L'applicazione in Access consente di interrompere la compilazione del questionario e riprenderla in un secondo momento dallo stesso punto. Una volta terminato il questionario è possibile stampare il rapporto contenente tutte le informazioni inserite e la lista dei potenziali effetti identificati. Il rapporto può essere richiesto in due formati differenti. Nel formato 1 (*sequence response report*), le domande sono ordinate secondo il codice di sequenza. Nel rapporto sono indicati il nome del compilatore del questionario, le singole risposte, i codici assegnati ad ogni risposta, a quale casella del Modello Concettuale appartengono e soprattutto il percorso seguito. In figura 3.13 è riportata la parte iniziale di rapporto secondo il formato 1.

Nel formato 2 (*report per subject*), le domande sono raggruppate in base al *subject* (source, pollen, fruit/seed, vegetative propagation organ, cultural residues, harvested & stored material, soil amendments) rispettando la gerarchia *Subject – Group – Subgroup*. La gerarchia di appartenenza delle domande è definita dalla struttura del codice assegnato alla domanda, per esempio la domanda b1.01.01 appartiene al *Subject* source, *Group* site characterisation, *Subgroup* descrizione. La fig. 3.14 riporta un pagina di esempio estratta dal rapporto. In questo formato tutte le risposte alle domande relative ad uno specifico soggetto, come per esempio il seme, si presentano raccolte assieme e suddivise poi per

gruppo, ovvero per fattore di diffusione o recettore. In questo caso il gruppo recettore è ulteriormente separato in due sottogruppi: quello descrittivo relativo ai recettori veri e propri e il sottogruppo *effects* in cui vengono elencati i potenziali effetti identificati. Attraverso questa presentazione è possibile visualizzare i potenziali effetti per singolo recettore ed inoltre risalire al fattore di diffusione che li ha causati. Poter ripercorrere il percorso a ritroso e avere tutte le informazioni suddivise permette al valutatore di individuare i nodi o passaggi (dalla source ai fattori di diffusione, dai fattori di diffusione ai recettori e/o dai recettori agli effetti) in cui poter applicare misure di mitigazione o gestione dei rischi. Ulteriori esempi di rapporti sono riportati nel capitolo relativo all'applicazione del questionario.

Respondent: caso 1

sequenza	descr	cod_domanda	tbl_domanda.testo	
1	matrix_characterisation	a	Purpose of the trial	Phytostabilisation of hydrocarbon in soil
2	matrix_characterisation	a1	Type of matrix.	Soil
3	site_characterisation	b1.01.01	Plants establishment.	April 2005, september 2013
4	site_characterisation	b1.01.02	The site is located in:	Private Area
5	site_characterisation	b1.01.03	Local environment:	Industrial
6	site_characterisation	b1.01.04	Area size of the whole site	20

Fig. 3.13 - Esempio di rapporto redatto secondo il formato 1. La figura riporta un estratto del rapporto sequence report. Le risposte sono elencate in base all'ordine di risposta data, il rapporto contiene i testi delle domande, le risposte fornite e i relativi codici che ne permettono la collocazione all'interno del questionario e del Modello Concettuale.

Respondent: caso 1

source

matrix_characterisation

description

1	a	Purpose of the trial	Phytostabilisation of hydrocarbon in soil
2	a1	Type of matrix	Soil

site_characterisation

description

3	b1.01.01	Plants establishment	April 2005, September 2013
4	b1.01.02	The site is located in:	Private area
5	b1.01.03	Local environment:	Industrial
6	b1.01.04	Area size of the whole site	20

Fig. 3.14 - Esempio di rapporto redatto secondo il formato 2. La figura riporta un estratto del rapporto report per subject. Le risposte sono elencate in base all'ordine di risposta data e raggruppate in base al subject, group e subgroup di appartenenza. Il rapporto contiene i testi delle domande, le risposte fornite e i relativi codici che ne permettono la collocazione all'interno del questionario e del Modello Concettuale.

Una volta completata la redazione delle domande, queste sono state caricate sul sistema e sono state compilate le *form* necessarie per far lavorare il questionario. La funzionalità del questionario è stata testata in tre fasi, in maniera man mano più specifica ed approfondita. Nella prima fase, il sistema è stato testato inserendo risposte casuali in modo da attivare percorsi diversi, l'inserimento di risposte casuali è stato ripetuto più volte e da persone diverse in modo da non replicare percorsi già verificati. Il test è stato condotto per verificare che i percorsi stabiliti dai codici venissero seguiti dal sistema, che non si creassero dei *loop* che non permettessero di arrivare all'identificazione degli effetti o alla stesura dei rapporti. Il risultato della prova ha portato all'individuazione di problemi a livello di programmazione che sono stati risolti e che hanno permesso il passaggio alla applicazione a csi studiofase di test successiva.

4. APPLICAZIONE DEL QUESTIONARIO A CASI STUDIO

4.1 Introduzione

Il questionario sviluppato e corretto degli errori di programmazione è stato applicato a casi studio simulati e reali¹⁴.

La simulazione di scenari è stata condotta per verificare la capacità dell'applicazione in Access di seguire il Modello Concettuale e di discriminare situazioni diverse di rischio. La simulazione di uno scenario ad alto rischio e di uno scenario a basso rischio doveva portare a liste di effetti significativamente differenti, l'inserimento delle risposte è stato quindi focalizzato sulla scelta delle risposte alle domande multiple che permettevano l'attivazione o meno di un percorso di rischio, mentre le risposte a domande di tipo descrittivo sono state finalizzate ad aumentare o diminuire il rischio, sacrificando in alcuni casi il rigore scientifico.

La fase successiva ha previsto l'applicazione del questionario a due casi studio reali forniti da due ricercatori esperti selezionati tra coloro che avevano risposto al questionario di cui al paragrafo 3.3.

4.2 Scenari di rischio simulati

4.2.1 Caso 1: *Tree worst scenario*

Il primo caso studio è relativo alla simulazione dello scenario ad alto rischio, il rapporto è riportato in appendice (Allegato 4.1).

Viene simulata una fitostabilizzazione del toluene in un sito privato, industriale, utilizzando un'arborea, il pioppo. Nel corso della caratterizzazione della fonte sono state inserite risposte che possono portare ad un aumento del rischio finale. La localizzazione in un sito privato può comportare una maggiore difficoltà nel mettere in atto misure di gestione del rischio; la vocazione industriale del sito fa pensare ad una contaminazione maggiore e più grave, rispetto ad un'area naturale, dove si presuppone una contaminazione dovuta ad un evento puntuale e limitato nel tempo. Inoltre, il sito viene descritto come pianeggiante e ventilato, con una bassa percentuale di umidità, tutte caratteristiche morfologiche e climatiche che possono aumentare la probabilità che il polline o i semi prodotti vengano dispersi.

Le risposte b1.03.07 e 08 (vedi Allegato 4.1) relative, rispettivamente, alla capacità della pianta di traslocare il contaminante dal suolo alle radici (CTR¹⁵ *value*) e dalle radici alle parti

¹⁴ Il materiale bibliografico consultato non è riportato all'interno del testo, ma inserito nella sezione Bibliografia.

¹⁵ CTR: capacity of translocation of the contaminant from soil to roots.

aeree della pianta (CTI¹⁶ *value*), permettono di collocare il contaminante nelle radici; queste informazioni dovranno essere tenute in considerazione in fase di dismissione del campo e portare all'eliminazione di tutte le radici per evitare un futuro rilascio del contaminante.

Le informazioni fornite su radici, frutto e possibilità che la pianta sia allergenica, nella parte finale della *Plant_characterisation* del rapporto (allegato 4.1), sono utili alla caratterizzazione dei potenziali rischi. Un apparato radicale esteso, se da una parte rende più efficace il risanamento, dall'altra presuppone una superficie maggiore di interazione con il suolo aumentando il numero dei potenziali recettori interessati; le informazioni sul frutto permetteranno di identificare potenziali effetti sui consumatori. La potenziale presenza di allergeni nel polline, nel frutto o in altre parti della pianta può facilitare l'individuazione di ulteriori potenziali recettori del Fattore di Diffusione *pollen*.

Il pioppo è una pianta con un areale di distribuzione naturale molto esteso e coltivata a livello mondiale, quindi può essere considerata naturalizzata in molti ambienti (OECD, 2000), è stato però necessario definirla aliena per verificare i potenziali percorsi legati alla Fonte Secondaria e per far sì che le relative sezioni del questionario venissero attivate correttamente. Le domande da b1.04.10 a b1.04.18 permettono di aprire le vie di rischio dei singoli fattori di diffusione: in questo caso tutti i percorsi sono stati aperti e seguiti fino all'identificazione degli effetti potenziali.

4.2.2 Caso 2: *Grass best scenario*

Il secondo caso è relativo alla simulazione dello scenario a basso rischio e il rapporto è riportato in appendice (Allegato 4.2). Il caso simula la fitodegradazione di idrocarburi di petrolio, in un sito posto in un'area pubblica, a carattere industriale, e la pianta utilizzata è un'erbacea endemica della zona. Tutti i potenziali percorsi di rischio rimangono chiusi, perché non vengono attivati i fattori di diffusione o perché vengono messe in atto misure di gestione.

Nel corso della fase di test sono stati simulati ulteriori casi che hanno permesso di accertare la capacità del sistema a discriminare diverse situazioni di rischio. I rapporti di questi ultimi casi non sono allegati. In figura 4.1 viene mostrato il numero degli effetti identificati per il caso 1 e per altri 2 casi simulati dei quali non è stato allegato il rapporto.

¹⁶ CTI: capacity of contaminant translocation from roots to aerial parts.

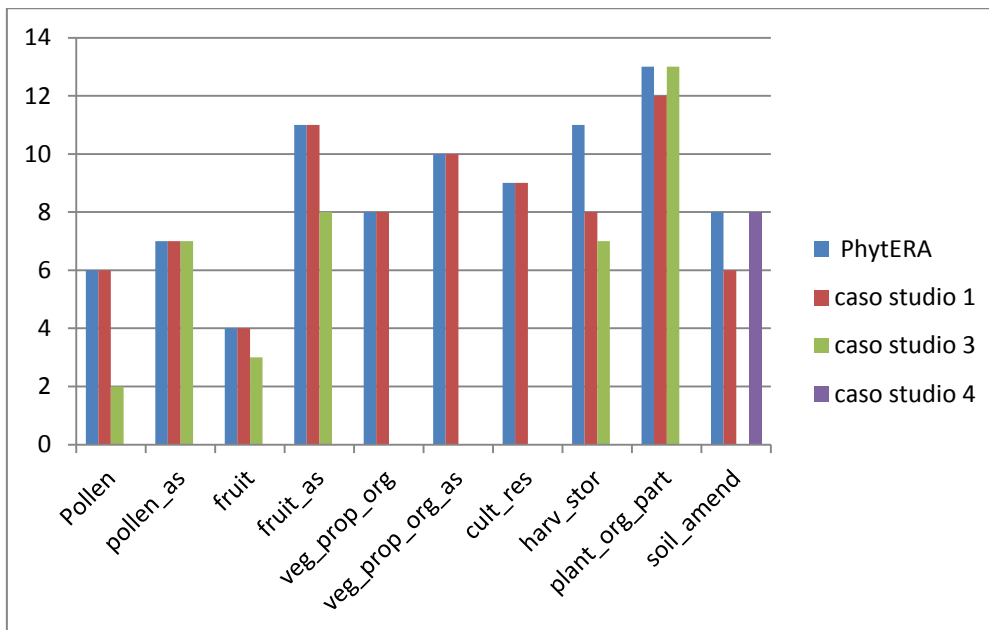


Figura 4.1: Il grafico riporta il numero di effetti identificati nei casi simulati, divisi per fattore di diffusione, confrontato con il numero di effetti previsti dal questionario elettronico. I casi 1, 3 e 4 sono descritti nel testo; il caso 2 non viene riportato perché non ha portato all'identificazione di alcun rischio. La colonna PhytERA è relativa al numero totale di effetti identificati nel questionario per ogni Fattore di Diffusione (vedi anche Tabella 3.1).

Il caso 1 è quello relativo al *Tree worst scenario* e in quasi tutti i fattori di diffusione identifica lo stesso numero di effetti, il caso 2 (*Grass best scenario*) non viene riportato in figura 4.1 perché non sono stati identificati effetti. Nel caso 3, la pianta utilizzata è un albero deciduo, il contaminante è un metallo, il metodo una fitoestrazione, il sito è in un'area pubblica con alte caratteristiche di naturalità; le risposte fornite alle domande multiple sono state per la maggior parte "non so", mentre le altre risposte sono state date in modo da mantenere un livello di rischio elevato ed aprire il maggior numero di vie di rischio; infine, molti dei fattori di diffusione presentano un alto numero di effetti. Nel caso 4, si è cercato di aprire il minor numero di vie di rischio possibili fornendo il maggior numero di risposte "no" e andando a rappresentare un scenario a basso rischio, ma comunque diverso da quello rappresentato dal caso 2; in figura 4.1 sono stati identificati rischi solo per un fattore di diffusione. I risultati delle quattro simulazioni hanno confermato che i codici inseriti permettono di seguire i vari percorsi possibili e che le domande di controllo consentono di verificare e tenere in considerazione diverse risposte simultaneamente. Inoltre gli effetti identificati nei quattro casi mostrano che il sistema permette di identificare numero e tipologie di effetti diversi per diversi casi studio.

4.3 Casi studio reali

La fase di prova successiva ha previsto l'applicazione del questionario a due casi studio reali. Il caso studio A_Massacci è relativo al risanamento di suolo, con cloni di pioppo, di un sito inquinato da lindano, in un'area privata posta all'interno di un Sito di Interesse Nazionale (SIN). Gli studi non sono ancora terminati. Il caso J_White è relativo ad una sperimentazione in un sito di ricerca pubblico all'interno di un'azienda agricola di ricerca americana. Le piante utilizzate sono cultivar di ortive, in particolare zucca e zucchini, la matrice ambientale è il suolo, il contaminante è il p,p,DDE (2,2-diclorodifenildicloroetilene).

Ai risultati dei casi studio è stata applicata la Matrice a due entrate, presentata nel paragrafo 1.3 (figura 4.2) per assegnare una classe di rischio agli effetti identificati nei due casi studio in base alle informazioni raccolte nel questionario. La classificazione proposta, di tipo qualitativo, dovrebbe essere frutto non solo delle informazioni del questionario, ma di una consultazione di esperti in varie discipline, per questo motivo potrebbe essere, in alcuni casi, non del tutto condivisibile.

Classi di rischio ↙	Conseguenze			
	IMPORTANTI	MODERATE	RIDOTTE	TRASCURABILI
PROBABILITÀ				
IMPORTANTE	Elevato	Elevato	Medio/Basso	Trascurabile
MODERATA	Elevato	Medio	Basso	Trascurabile
RIDOTTA	Elevato/medio	Medio/basso	Basso	Trascurabile
TRASCURABILE	Elevato/medio/basso	Medio/basso	Basso	Trascurabile

Figura 4.2: La matrice è a doppio ingresso: su un asse sono elencate le classi relative alla probabilità che l'effetto si verifichi, mentre sull'altro ingresso vengono elencate le classi che descrivono l'entità delle possibili conseguenze dovute all'effetto negativo. In assenza di dati analitici più circostanziati, le classi di probabilità proposte sono: Importante, Moderata, Ridotta, Trascurabile. Sulla base di queste 4 classi, vengono individuate 6 classi di rischio: Elevato, Elevato/medio, Medio, Medio/basso, Basso, Trascurabile.

4.3.1 Caso A_Massacci

Il sito sperimentale è all'interno di un'area che comprende il bacino del fiume Sacco, a cavallo tra le provincie di Roma e Frosinone della regione Lazio, ed è inserita tra i siti di bonifica di interesse nazionale (SIN). L'area della Valle del Sacco è stata per lunghi anni sede di un'importante attività industriale per la produzione di sostanze chimiche, esplosivi, carrozze ferroviarie, motori di lancio. Nel 2005 è stata messa in evidenza un'estesa

contaminazione del fiume e dei terreni limitrofi da sostanze chimiche provenienti da discariche di rifiuti tossici industriali. Un ulteriore biomonitoraggio ha dimostrato una contaminazione da esaclorocicloesano (HCH), un organo-cloruro utilizzato come insetticida in agricoltura e per trattamenti di pidocchi e scabbia. In seguito alle indagini di biomonitoraggio ed epidemiologiche nel territorio del bacino del fiume Sacco, è stato dichiarato lo stato di emergenza socio-economico-ambientale (Relazione ufficio commissariale Valle del Sacco, 2011).

I dati e le informazioni inserite nel questionario sono relativi al progetto, realizzato dall'Istituto di Biologia Agro-Ambientale e Forestale (IBAF) del CNR - Area della Ricerca di Roma in collaborazione con l'Ufficio commissariale del SIN, mirato alla verifica della possibilità di produrre bioenergia con effetti di disinquinamento del suolo contaminato da fitofarmaci organo-clorurati (con particolare riguardo agli isomeri dell'esaclorocicloesano). La sperimentazione è stata realizzata in due aree agricole ripariali individuate dall'Ufficio commissariale del SIN e interdette agli usi umani per effetto delle ordinanze commissariali. Il processo tecnologico di bonifica prevede l'uso di tre cloni di pioppo (figura 4.3), molto produttivi nella fase giovanile e adatti per coltivazione in turni brevi, in associazione con ammendanti chimici e biologici (batteri e funghi). Il questionario elettronico è stato compilato con la collaborazione del dott. Angelo Massacci, direttore dell'Istituto e responsabile della ricerca, e la consultazione di materiale bibliografico¹⁷. Il rapporto relativo ai risultati del questionario è in Allegato 4.3.

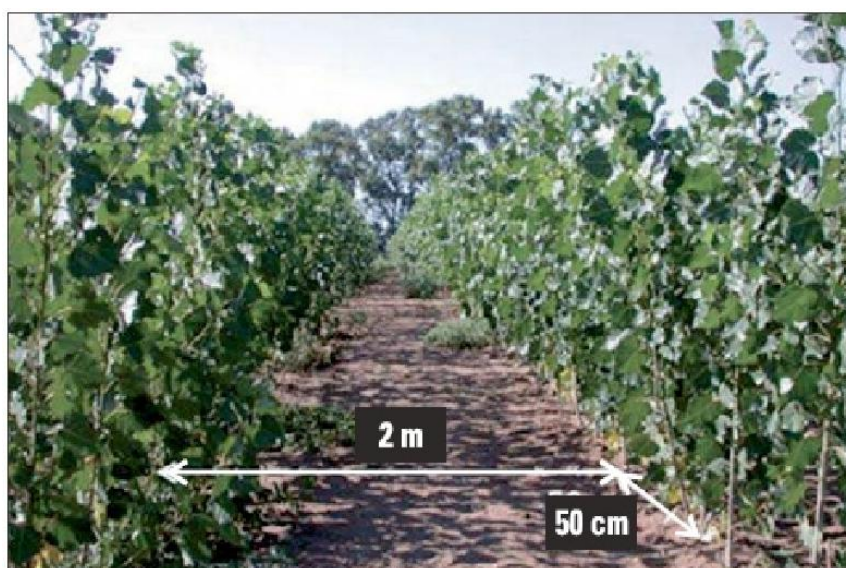


Figura 4.3: Esempio di impianto di pioppo con rotazione a turno breve a ciclo breve nella Valle del Sacco ad Anagni (Bianconi et al., 2012).

Risultati

I tre cloni di pioppo utilizzati nella sperimentazione, ossia *Populus generosa x nigra* clone Monviso, *Populus x canadensis* clone AF2 e *Populus x euramericana* clone I-214, rispettivamente uno femmina e due maschi, sono stati piantati nel 2008 e monitorati per i 5 anni successivi. La giovane età dell'impianto (i cloni diventano sessualmente differenziati dopo 7 anni) e il sistema colturale messo in atto per aumentare la produzione di biomassa (*short rotation coppice*) hanno impedito la produzione di fiori e, conseguentemente, di frutti. I Fattori di Diffusione del polline e del frutto e la Fonte Secondaria non sono stati quindi attivati. Gli effetti identificati sono relativi agli organi di propagazione vegetativa, organi e parti della pianta e ammendanti del suolo. In figura 4.4 sono rappresentati i percorsi attivati.

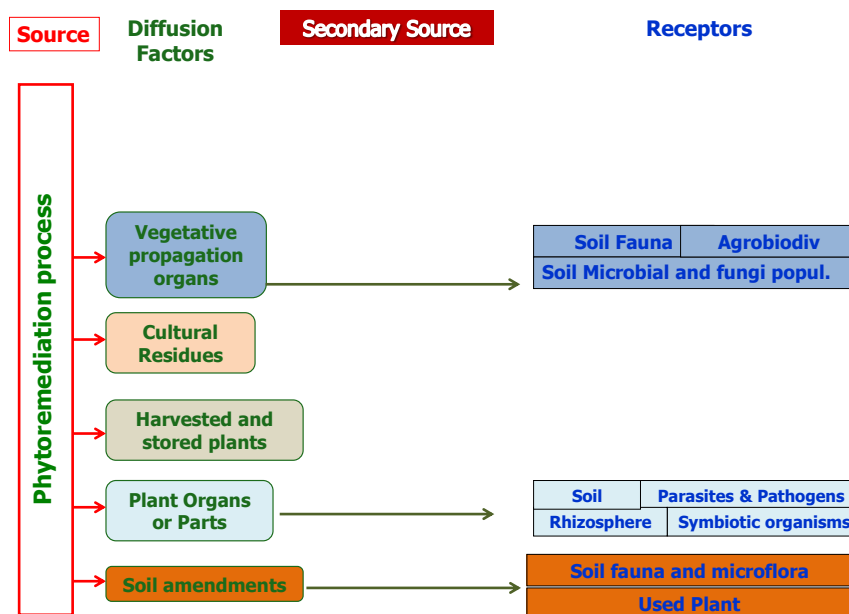


Figura 4.4: La figura riporta percorsi di rischio del Modello Concettuale sviluppato per PhytERA, attivati in seguito all'applicazione del questionario al caso studio A_Massacci.

Organi di propagazione vegetativa

Il fattore di diffusione viene attivato dalla mancanza di informazioni relative alla potenziale presenza del contaminante all'interno degli organi di propagazione vegetativa e dalla mancanza di misure, come la raccolta, volte a ridurre il contatto con i potenziali recettori.

Poiché il contaminante presente nei tessuti vegetali potrebbe raggiungere organismi o microorganismi che non era in grado di raggiungere quando era presente nel suolo, i potenziali recettori identificati appartengono alla fauna e microfauna del suolo, in quanto potenziali consumatori e/o decompositori. In tabella 4.1 sono elencati gli effetti identificati per questo fattore di diffusione.

Gli effetti identificati sono da ricondurre al fatto che il consumo degli organi vegetali, in cui potenzialmente è stato accumulato il contaminante, può determinare dei cambiamenti nelle comunità biotiche del suolo, a livello inter- e/o intraspecifico. Successivamente i cambiamenti delle comunità biotiche del suolo possono produrre effetti sia sulla fertilità del suolo che sulla biodiversità e agrobiodiversità. Tuttavia bisogna tener conto che il suolo oggetto della sperimentazione è già sottoposto ad uno stress derivante dalla contaminazione e quindi i potenziali cambiamenti che potranno essere osservati e valutati non sono quelli che potrebbero determinarsi in una situazione di partenza non disturbata (contaminata).

Tabella 4.1: Effetti identificati per il Fattore di Diffusione organi di propagazione vegetativa

Codice	Effetto	Note
e1.05.01	Potential changes in soil microflora and microfauna populations (d)	To be monitored
e1.05.02	Potential changes to edaphic fauna biodiversity (d)	To be monitored
e1.05.03	Potential changes to soil fertility (i)	To be monitored
e1.05.04	Potential changes to agricultural practice (i)	To be monitored
e1.05.05	Potential changes to agrobiodiversity (i)	To be monitored
e1.05.06	Potential changes to biodiversity (i)	To be monitored

Note: La tabella riporta l'elenco degli effetti identificati, per il Fattore di Diffusione organi di propagazione vegetativa, in seguito all'applicazione del questionario al caso studio A_Massacci.

Utilizzando la matrice in figura 4.2, agli effetti identificati è stata assegnata una classe di rischio bassa. Trattandosi di un sito contaminato, in cui la composizione biotica del suolo è già sottoposta a stress, e tenendo conto delle informazioni raccolte attraverso il questionario, le conseguenze possono essere ritenute ridotte e la probabilità che avvengano cambiamenti è moderata. Anche la classe di rischio degli effetti indiretti connessi ai cambiamenti della microflora, microfauna e fauna del suolo, e della fertilità del suolo è bassa, così come la classe di rischio assegnata all'effetto relativo ai cambiamenti nelle pratiche agricole. Infatti il sito di sperimentazione è situato in una zona che rimarrà interdetta alla produzione agricola, diversa dalla produzione di biomassa, per molti anni.

Residui colturali

Il percorso di rischio legato ai residui colturali viene attivato a livello della fonte, ma successivamente bloccato a livello del fattore di diffusione. Tuttavia è interessante mostrare come le informazioni inserite hanno portato al risultato (figura 4.5). I residui colturali non

sono stati raccolti, pertanto il percorso di rischio è attivo; il sistema inoltre verifica se la pianta in campo è un albero, nel qual caso si controlla se è deciduo o meno (domande di controllo c1.07.ctr1 e c1.07ctr2). Le foglie cadute sono considerate un fattore di diffusione qualora abbiano accumulato il contaminante nei loro tessuti. Nel caso specifico il percorso viene chiuso perché non sono presenti sostanze pericolose legate al fitorisanamento, né si manifestano cambiamenti bromatologici. Nel percorso in esame i residui colturali non raccolti non contengono organi di propagazione vegetativa, questi sono stati già valutati all'interno del relativo fattore di diffusione.

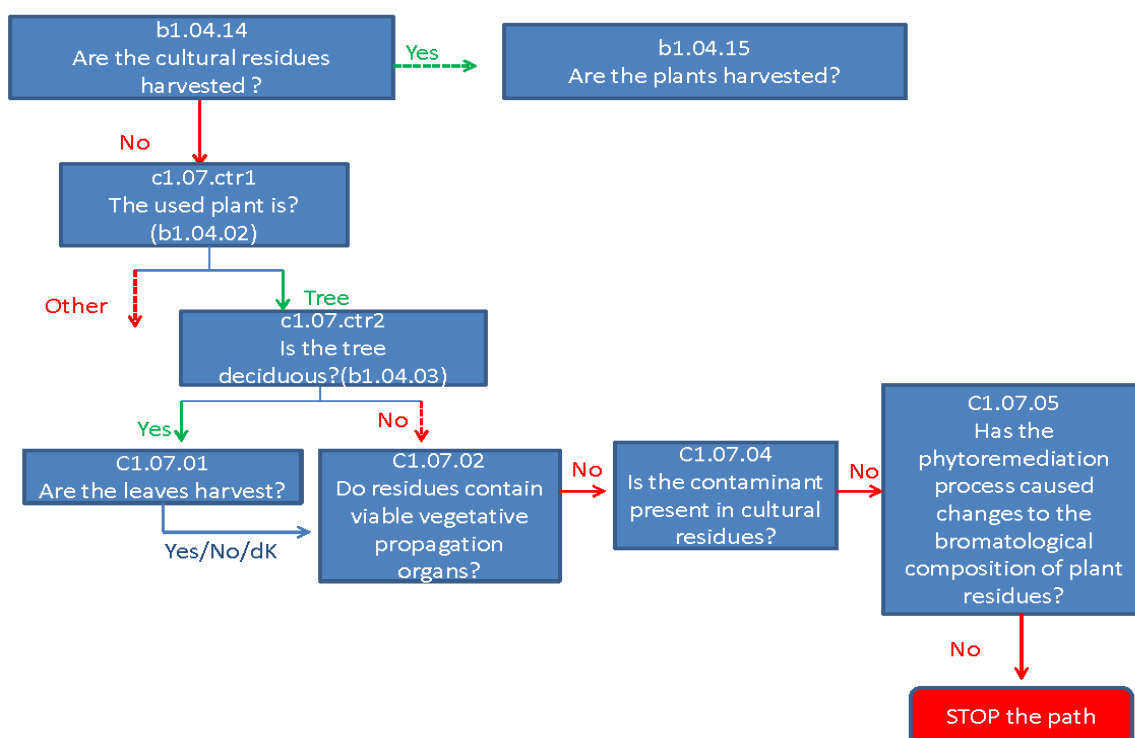


Figura 4.5: Viene descritto il percorso di rischio, legato al Fattore di Diffusione residui colturali, seguito dall'applicazione in Access nel caso A_Massacci. Tale percorso viene attivato a livello del fattore di diffusione, ma successivamente bloccato.

Organi o parti della pianta

Il percorso di rischio, legato a questo fattore di diffusione, intende valutare le potenziali interazioni della pianta con l'ambiente ricevente e verificare potenziali effetti sugli organismi che interagiscono con la pianta a diversi livelli, come consumatori, simbiotici, parassiti o patogeni. Gli effetti identificati sono elencati in tabella 4.2.

Tabella 4.2 Effetti identificati per il Fattore di Diffusione organi o parti della pianta

Codice	Effetto	Note
e1.09.01	Potential changes to consumer populations (d)	To be monitored
e1.09.02	Potential changes to trophic chains (i)	To be monitored
e1.09.09	Potential changes to rhizosphere abiotic component (d)	Should be investigated
e1.09.10	Potential changes in soil microflora and microfauna populations (d)	Should be investigated
e1.09.12	Potential changes to biodiversity (i)	To be monitored
e1.09.13	Potential changes to plant development due to contaminant concentration (i)	To be monitored

Note: La tabella riporta l'elenco degli effetti identificati, per il Fattore di Diffusione organi o parti della pianta, in seguito all'applicazione del questionario al caso studio A_Massacci.

Anche in questo caso è stata assegnata una classe di rischio agli effetti identificati.

Poiché la superficie di sperimentazione (4.400 mq circa) non è molto estesa, la pressione selettiva sulle popolazioni di consumatori è ridotta e la probabilità che si verifichino importanti effetti, diretti e indiretti, su queste popolazioni è bassa. Le conseguenze possono considerarsi basse perché gli effetti si verificherebbero su una piccola porzione delle popolazioni dei potenziali recettori, pertanto la classificazione del rischio è bassa.

Gli effetti identificati per i recettori presenti nel suolo, pur tenendo conto, come detto anche nei paragrafi precedenti, che siamo in una situazione in cui gli equilibri presenti sono disturbati, sono classificabili come medio/basso per l'alta probabilità che si verifichino, anche se le conseguenze possono essere considerate moderate. Per quanto riguarda il potenziale effetto sullo sviluppo della pianta questo è ritenuto trascurabile ai fini di un rischio ambientale, anche se importante ai fini del successo del processo di fitorisanamento.

Ammendanti del suolo

Uno degli obiettivi del progetto di ricerca era di verificare il funzionamento dell'associazione dei tre cloni di pioppo con batteri promotori della crescita appartenenti al genere *Arthrobacter*. Le specie appartenenti a questo genere sono aerobi obbligati del suolo e recenti ricerche hanno dimostrato che svolgono un importante ruolo nella metabolizzazione di contaminanti chimici presenti nel suolo, come il cromo esavalente e pesticidi (Westerberg, 2000; Meghraj et al., 2003). Oltre all'inoculo con *Arthrobacter*, il terreno è stato fertilizzato con compost di origine vegetale e fertilizzanti organici, ed è stato inoltre aggiunto un promotore della crescita radicale: Oxygen Release Compound (ORC Advanced®), un

prodotto, commercializzato dalla ditta Regensis¹⁸, a base di perossido di magnesio e in grado di stimolare la crescita dei microrganismi aerobici del suolo mediante il rilascio graduale di ossigeno (Bianconi et al., 2012).

Alcuni dei potenziali effetti identificati (tabella 4.3) rientravano nello scopo della ricerca e sono stati verificati e confermati. Gli effetti indiretti che coinvolgono potenziali cambiamenti nelle pratiche agricole e sulla biodiversità hanno una classe di rischio bassa, come detto nei paragrafi precedenti.

Tabella 4.3: Effetti identificati per il Fattore di Diffusione ammendanti del suolo

Codice	Effetto	Note
e1.10.01	Potential changes in soil microflora and microfauna populations (d)	The aerobic population may has been improved thanks to the plant growth bacteria inoculated. That was the scope of inocula
e1.10.02	Potential changes in soil fertility (i)	Yes, changes have been observed, but in a positive way. The ORC amendment stimulated the roots development, roots biomass and turnover, together with increase in humic acids content. Hence the contaminant uptake is increased
e1.10.03	Potential changes to the plant development (i)	Yes, the ORC amendment improve roots development and biomass production
e1.10.04	Potential changes to plant productivity (i)	Yes, but in a positive way. The plant productivity is improved
e1.10.05	Potential changes to agricultural practice (i)	To be assessed
e1.10.06	Potential changes to biodiversity (i)	To be monitored with focused studies

Note: La tabella riporta l'elenco degli effetti identificati, per il Fattore di Diffusione ammendanti del suolo, in seguito all'applicazione del questionario al caso studio A_Massacci.

Al momento le piante sono sotto la responsabilità della regione Lazio e i trattamenti colturali sono stati sospesi per mancanza di fondi, quindi il materiale vegetale non è stato raccolto (comunicazione personale del dott. Massacci). Tuttavia i 5 anni di sperimentazione hanno mostrato che i cloni di pioppo selezionati, grazie anche all'associazione con il prodotto ORC e all'inoculo di *Arthrobacter*, portano ad una diminuzione del HCH nel suolo e contemporaneamente ad una bassa concentrazione dello stesso nei tessuti vegetali, confermando la possibilità di utilizzare, per la produzione di biomassa suoli interdetti ad attività agricole per la produzione alimentare e mangimistica (De Angelis et al., 2012).

¹⁸ Regensis, Corporate Headquarters 1011 Calle Sombra San Clemente CA 92673.

4.3.2 Caso studio J_White

La sperimentazione è stata condotta presso la Lockwood Farm, un'azienda agricola della Stazione Sperimentale del Connecticut (CAES: The Connecticut Agricultural Experiment Station), con lo scopo di verificare l'efficacia di una fitoestrazione del p,p-DDE (2,2-diclorodifenildicloroetilene), un metabolita del DDT (*para*-diclorodifeniltricloroetano) e catalogato come inquinante organico persistente (POP: *Persistent Organic Pollutant*). In genere, la fitoestrazione non è considerata per contaminanti organici o fertilizzanti, tuttavia per alcuni composti organici più biodegradabili, come gli idrocarburi aromatici policiclici (PAHs) ed alcuni pesticidi (Alvey e Crowley, 1996; Burken e Schnoor, 1996), l'aumento di attività biologica dei microorganismi della rizosfera, mediante l'uso di ammendanti, può facilitare la biodegradazione del contaminante e la sua assimilazione nei tessuti vegetali. Gli studi del dott. White hanno confermato la possibilità di utilizzare piante ortive, assistite con inoculi di organismi del suolo (micorrize e batteri promotori della crescita), nella decontaminazione di un suolo agricolo con livelli misurabili di DDE. Il questionario elettronico è stato compilato utilizzando la bibliografia relativa alle sperimentazioni condotte con due varietà di *Cucurbita pepo* L. (Raven e Baby bear), zucchini e zucca (Figura 4.6). I risultati del questionario sono stati sottoposti al dott. J. White per la validazione.



Figura 4.6: *Cucurbita pepo* L- Raven
(fonte: <http://myfolia.com>)



Cucurbita pepo L. Baby bear
(fonte: <http://my.chicagobotanic.org>)

A differenza del caso studio A_Massacci, il sito è posto in un'area pubblica sperimentale, quindi informazioni per la caratterizzazione del sito, incluse quelle climatiche e la mappa del suolo, sono facilmente reperibili (ct.gov/caes/). Il rapporto relativo ai risultati del questionario è in Allegato 4.4.

Risultati

Le piante del genere *Cucurbita*, sebbene non native del Connecticut, possono essere considerate naturalizzate (OECD, 2012), quindi anche in questo caso studio la Fonte Secondaria e relativi fattori di diffusione non vengono attivati.

I residui colturali e le piante in sito non sviluppano organi di propagazione vegetativa, inoltre vengono raccolti, quindi anche questi fattori di diffusione rimangono chiusi.

Gli altri fattori di diffusione vengono attivati, ma in alcuni casi i percorsi di rischio sono comunque interrotti al livello successivo (figura 4.7).

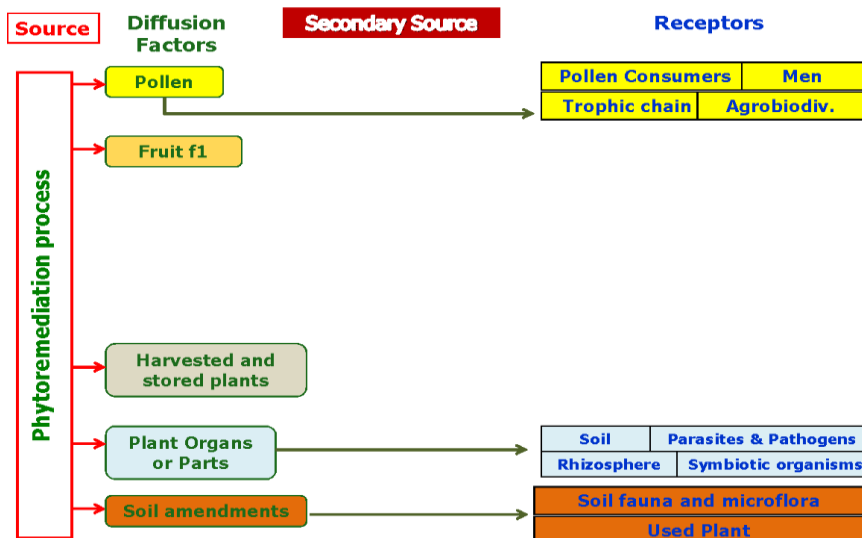


Figura 4.7: La figura riporta percorsi di rischio, del Modello Concettuale sviluppato per PhytERA, attivati in seguito all'applicazione del questionario al caso studio J_White.

Polline

Gli effetti identificati relativi a questo fattore di diffusione sono elencati in tabella 4.4.

Il polline prodotto non è stato analizzato per quanto riguarda la possibilità di accumulo del contaminante, tuttavia le caratteristiche del polline stesso, l'alta percentuale di autogamia della pianta, alcune pratiche colturali che vengono messe in atto nel corso della sperimentazione rendono improbabile la diffusione aerea. Inoltre le argomentazioni portate dal dott. White, che sottolineano la limitata superficie della prova, unite alle informazioni fornite nella caratterizzazione del sito, abbassano ulteriormente le probabilità che gli effetti identificati si verifichino e rendono le conseguenze connesse trascurabili, portando ad una classificazione dei rischi trascurabile.

Tabella 4.4: Effetti potenziali identificati per il Fattore di Diffusione polline

Codice	Effetto	Note
e1.01.02	Potential effects on human population (i)	No effects are foreseen because the experimental area is small, thus not a large amount of pollen can be dispersed. Furthermore the contaminant concentration in pollen has not been investigated. Furthermore concentration is low
e1.01.03	Potential changes to consumer populations (d)	See previous effect identified
e1.01.04	Potential changes to trophic chains (i)	See previous effect identified

e1.01.05	Potential effects on efficiency of pollination (d)	To be monitored during trial
e1.01.06	Potential changes to biodiversity (i)	To be monitored. But take into account the limited surface of the research area, 32 mq, thus important effects on biodiversity don't seem possible

Note: La tabella riporta l'elenco degli effetti identificati, per il Fattore di Diffusione polline, in seguito all'applicazione del questionario al caso studio J_White.

Frutti/ seme

Il Fattore del frutto/seme viene attivato, ma i frutti prodotti vengono raccolti a maturazione avvenuta per essere analizzati e quindi il Fattore di Diffusione viene chiuso a questo livello.

Materiale raccolto e stoccato

Il Fattore di Diffusione viene attivato perché i frutti e il materiale vegetale vengono raccolti a fine sperimentazione, tuttavia il materiale non viene immagazzinato, ma utilizzato per studi e analisi relativi alle finalità della ricerca, quindi il Fattore di Diffusione viene chiuso.

Organi e parti della pianta

A livello della caratterizzazione della fonte, i valori di CTR (capacità della pianta di traslocare il contaminante dal suolo alle radici) e CTI (capacità della pianta di traslocare dalle radici alle parti aeree della pianta) sono dichiarati alti, il contaminante viene assorbito e accumulato nelle radici e traslocato nelle parti aeree, frutti compresi. L'accumulo di composti organici, come il clordano, in colture alimentari è stato ipotizzato per differenti colture ortive e confermato negli zucchini (Mattina et al., 2000); ulteriori studi hanno confermato che gli zucchini (*Cucurbita pepo* L. Raven) accumulano il DDE, nelle radici e nelle parti aeree (White, 2001; White e Kottler, 2002). Le piante in sito sono edibili e, in base a quanto detto, hanno accumulato il contaminante nelle parti aeree, quindi i potenziali consumatori presenti nel sito sono tutti recettori. In fase di caratterizzazione del fattore di diffusione viene verificata la potenziale presenza di recettori, conseguentemente il sistema ha identificato i relativi effetti elencati in tabella 4.5. Tutti gli effetti identificati possono essere facilmente gestiti e monitorati. Inoltre, tenendo conto della superficie della prova e del fatto che il sito è recintato e controllato, gli effetti sui potenziali consumatori hanno una bassa probabilità di verificarsi, con conseguenze trascurabili, portando ad una classificazione dei rischi trascurabile.

Per quanto riguarda gli altri effetti identificati, la superficie limitata della prova, unita al fatto che il sito è in un'area sperimentale pubblica non destinata a produzioni di alimenti o mangimi, rende le conseguenze a questi connesse trascurabili. Incrociando nella matrice le

conseguenze trascurabili e una moderata probabilità che gli effetti si verifichino, si arriva ad una classificazione dei rischi trascurabile.

Tabella 4.5: Effetti potenziali identificati per il Fattore di Diffusione organi e parti della pianta

Codice	Effetto	Note
e1.09.01	Potential changes to consumer populations (d)	To be monitored during trial. Even if the surface of trial plots is so limited that related effects should be negligible
e1.09.02	Potential changes to trophic chains (i)	To be monitored during further trials
e1.09.03	Potential changes in soil microflora and microfauna populations (d)	To be monitored
e1.09.04	Potential changes to the plant development (i)	Changes in plant development have not been observed, and yet not investigated
e1.09.05	Potential changes to plant productivity (i)	No effects observed, and not yet investigated through specific experiments
e1.09.06	Potential changes to pathogen host range (d)	To be studied with specific experimental protocols
e1.09.07	Potential development of resistant pathogen populations (d)	To be studied with specific experimental protocols
e1.09.08	Potential development of new pathogens (i)	To be studied with specific experimental protocols
e1.09.09	Potential changes to rhizosphere abiotic component (d)	To be monitored
e1.09.10	Potential changes in soil microflora and microfauna populations (d)	To be monitored
e1.09.12	Potential changes to biodiversity (i)	To be monitored with specific ecological index
e1.09.13	Potential changes to plant development due to contaminant concentration (i)	Not identified during the research activities

Note: La tabella riporta l'elenco degli effetti identificati, per il Fattore di Diffusione organi o parti della pianta, in seguito all'applicazione del questionario al caso studio J_White.

Ammendanti del suolo

Come nel caso studio precedente sono stati utilizzati ammendanti del suolo per aumentare l'efficienza del fitorisanamento. I trattamenti con promotori della crescita, fungini e batterici, sono stati accompagnati con trattamenti con biosurfattanti per aumentare la biodisponibilità del contaminante (White et al., 2003).

Anche in questo caso gli effetti identificati sono stati commentati dal ricercatore. In alcuni casi (tabella 4.6), come per gli effetti e1.10.01., e1.10.03, e1.10.06, 07, 08, è stata riconosciuta la necessità di mettere in atto studi focalizzati al monitoraggio. In particolare, per l'effetto e1.10.08 sono state già programmate attività in tal senso.

Considerati i trattamenti effettuati e l'aumentata disponibilità del contaminante, la probabilità che questi effetti avvengano è alta, tuttavia le conseguenze possono essere considerate trascurabili, in base a quanto detto nei paragrafi precedenti (estensione della superficie, localizzazione del sito e destinazione d'uso). I rischi, anche in questo caso, sono trascurabili. Gli effetti connessi con lo sviluppo e la produttività della pianta, legati all'utilizzo di ammendanti e all'aumentata biodisponibilità del contaminante, hanno una probabilità importante, ma di nuovo con conseguenze trascurabili e quindi si tratta di una classe di rischio trascurabile. In particolare l'effetto e1.10.04, *Potential changes to plant productivity (i)*, è stato confermato anche dai risultati degli studi condotti in campo per il DDE (White et al, 2006b).

Gli effetti sulle pratiche agricole e la biodiversità ugualmente possono essere assegnati ad una classe di rischio bassa, poiché la limitata superficie della prova e la localizzazione del sito sperimentale abbassano il livello delle possibili conseguenze.

Tabella 4.6: Effetti potenziali identificati per il Fattore di Diffusione ammendanti del suolo.

Codice	Effetto	Note
e1.10.01	Potential changes in soil microflora and microfauna populations (d)	To be identified with specific research activities
e1.10.02	Potential changes in soil fertility (i)	Yes, but the changes in soil fertility were the objectives of the research activity
e1.10.03	Potential changes to the plant development (i)	Not investigated
e1.10.04	Potential changes to plant productivity (i)	In some cases the biosurfactant reduce the biomass
e1.10.05	Potential changes to agricultural practice (i)	The small surface wouldn't lead to changes in agricultural practice
e1.10.06	Potential changes to biodiversity (i)	It is possible, to be investigated
e1.10.07	Potential changes to plant development due to contaminant concentration (i)	To be investigated
e1.10.08	Potential increase in leachate (i)	To be investigated in future studies

Note: La tabella riporta l'elenco degli effetti identificati, per il Fattore di Diffusione ammendanti del suolo, in seguito all'applicazione del questionario al caso studio J_White.

4.4 Considerazioni sui casi studio reali

Gli effetti identificati nei due casi studio sono stati confrontati con gli effetti previsti da PhytERA (figura 4.8).

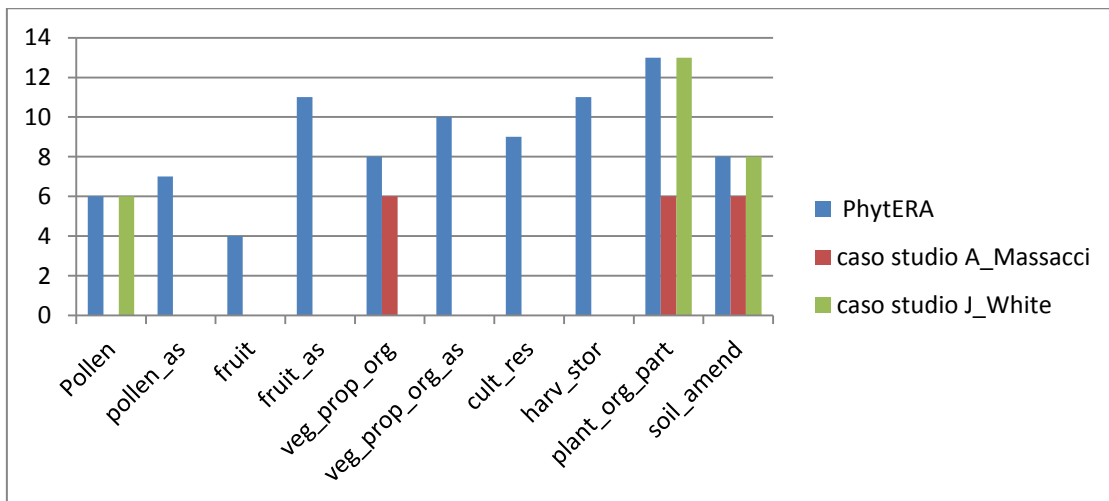


Figura 4.8: Il grafico riporta il numero di effetti identificati nei due casi studio reali, divisi per fattore di diffusione, confrontato con il numero di effetti previsti dal questionario elettronico. PhytERA è relativa al numero totale di effetti identificati nel questionario per ogni fattore di diffusione (vedi anche Tabella 3.1). Entrambi i casi studio hanno evidenziato il maggior numero di effetti per i Fattori di Diffusione organi e parti della pianta e ammendanti del suolo. Inoltre il caso studio J_White ha portato all'identificazione di un importante numero di effetti legati al polline, mentre per il caso studio A_Massacci sono stati identificati effetti legati agli organi di propagazione vegetativa.

Come illustrato nei paragrafi precedenti, non sono stati identificati effetti connessi alla Fonte Secondaria *Alien specie* e relativi Fattori di Diffusione (Pollen_AS, Fruit_AS, Veg. prop. org_AS). Contemporaneamente la maggior parte degli effetti è stata identificata, in ambedue i casi studio, per i Fattori di Diffusione organi e parti della pianta e ammendanti del suolo. I due casi studio si sono differenziati per l'identificazione degli effetti legati al polline e agli organi di propagazione vegetativa. Nel caso J_White tutti gli effetti legati al polline e previsti in PhytERA sono stati evidenziati in seguito alla compilazione del questionario, mentre nel caso A_Massacci la compilazione del questionario ha portato all'identificazione della maggior parte degli effetti previsti per il Fattore di Diffusione organi di propagazione vegetativa. Gli effetti identificati permettono di focalizzare l'attenzione del ricercatore su ulteriori sviluppi di ricerca, infatti per molti di questi effetti è stata indicata la necessità di attività di monitoraggio e studio.

Dal punto di vista del valutatore, vengono identificati dei punti importanti per mettere in atto o richiedere misure di gestione mirate ad interrompere i percorsi di rischio attivati, allo scopo di ridurre od eliminare i rischi. Nel caso studio A_Massacci, particolare attenzione dovrà essere posta al controllo di sviluppo di organi di propagazione vegetativa e al monitoraggio della biodiversità del suolo. Nel caso J_White particolari misure dovrebbero essere prese nel corso della fioritura e per il controllo dell'aumento del percolato. Tali considerazioni sono riportate per evidenziare i meccanismi alla base di una valutazione del

rischio ambientale,ma in realtà, come ripetuto più volte in questo capitolo, trattandosi di casi studio e con una superficie poco estesa, i rischi identificati non risultano importanti e le attività di gestione e monitoraggio possono essere limitate al periodo di tempo della durata della sperimentazione.

5. CONCLUSIONI

Le fitotecnologie applicate al risanamento ambientale rientrano a buon diritto nelle politiche di sviluppo sostenibile, ma non possono essere considerate la soluzione perfetta; infatti i benefici ecologici di un fitorisanamento, possono essere accompagnati da impatti ecologici (EPA, 2000). Come detto nel capitolo 1 (Analisi dei rischi) tutti i processi di bonifica vengono sottoposti ad un'analisi di sostenibilità, che include una valutazione dei rischi, tuttavia i metodi e i parametri presi in considerazione non sono finalizzati ad andare a valutare i potenziali effetti connessi con il metodo di fitorisanamento messo in atto.

Lo scopo del lavoro di dottorato è stato quello di fornire una metodologia di valutazione del rischio ambientale applicata a tecniche di fitorisanamento, destinato sia ai valutatori, e quindi in fase decisionale, sia ai ricercatori in fase di predisposizione dello studio, che permetta di individuare i potenziali effetti sull'ambiente. Il metodo proposto, inoltre, facilita la raccolta di informazioni e dati, relativi alle ricerche e applicazioni in atto, in maniera standardizzata, permettendo di confrontare risultati provenienti da situazioni e gruppi di lavoro diversi. Il metodo presentato intende essere uno strumento in grado di rispondere alle esigenze evidenziate, dalle analisi effettuate in precedenza e reperibili in letteratura, che individuavano potenziali "limiti" o "svantaggi" delle fitotecnologie richiamando l'attenzione su alcune fonti di rischio per l'uomo e l'ambiente (si veda ad esempio Marmioli e McCutcheon 2003, Angle e Linacre 2005). L'attualità di questo approccio è dimostrata dal fatto che sono stati recentemente iniziati studi a medio-breve termine per affrontare in maniera oggettiva simili considerazioni a partire da casi concreti (progetto GREENLAND <http://www.greenland-project.eu/>).

Tenendo in considerazione quanto scritto nei capitoli precedenti, ed in particolar modo quanto evidenziato da gruppi SURF, la filosofia ed il metodo di VRA sviluppato nel corso della mia ricerca, PhytERA, può essere utilizzato in fase *ex ante* per valutare la sostenibilità dell'intervento e identificarne i potenziali rischi connessi; in fase *post* rilascio per verificare le ipotesi fatte e individuare le azioni di monitoraggio e gestione dei rischi da attuare. Infatti la compilazione del questionario elettronico permette di identificare e caratterizzare i potenziali percorsi di rischio (fonte - fattore di diffusione - recettore) e di visualizzarli all'interno del Modello Concettuale.

Le informazioni richieste all'interno del questionario sono quelle richieste nel corso di un processo decisionale tipico di una valutazione di applicabilità di un processo di fitorisanamento e dati normalmente raccolti in fase di ricerca. In alcuni casi, le domande

possono sembrare poco specifiche, richiedendo meno informazioni e dati se comparate a risultati presentati all'interno di pubblicazioni, ma PhytERA è stato concepito in modo da deve uno strumento operativo. I test effettuati in collaborazione con esperti del settore hanno mostrato la facilità di uso dello strumento, e la sua efficacia nel suggerire potenziali nuove linee di ricerca.

Una valutazione del rischio ambientale comprende quattro passaggi: l'identificazione delle caratteristiche pericolose della fonte di rischio, la loro caratterizzazione, la valutazione dell'esposizione e infine la caratterizzazione del rischio. La simulazione di scenari di rischio e l'applicazione a due casi studio hanno permesso di verificare, che il metodo PhytERA permette di individuare i potenziali effetti connessi ad un processo di fitorisanamento e di definire i percorsi di rischio connessi ad ogni effetto identificato, ossia i primi due passaggi della VRA. Le informazioni inserite all'interno del questionario, raggruppate secondo il percorso di rischio seguito, insieme agli elenchi di effetti divisi per fattore di diffusione, permettono la valutazione dell'esposizione e la caratterizzazione del rischio portando ad una valutazione qualitativa dei rischi connessi agli effetti identificati e confermando la funzionalità dell'approccio di valutazione del rischio sviluppato. L'analisi dei risultati di PhytERA e l'assegnazioni delle classi di rischio agli effetti identificati dovrebbero essere condotte da un gruppo interdisciplinare di esperti (botanici, geologi, chimici, valutatori del rischio, *etc.*).

Qualsiasi processo che va potenzialmente ad interagire con l'uomo o l'ambiente dovrebbe prevedere un'Analisi di Rischio (AdR). L'AdR, intesa come strumento di supporto alle decisioni e di comunicazione, è il risultato di tre processi interdipendenti: valutazione, gestione e comunicazione del rischio. Come evidenziato con l'applicazione ai casi studio, PhytERA permette di condurre la valutazione, ma può anche diventare uno strumento da utilizzare per le altre due componenti. L'analisi dei rapporti finali, infatti, permette di evidenziare i percorsi di rischio attivati e quali di questi potrebbero essere interrotti, applicando misure di gestione del rischio, per evitare che il rischio avvenga o per ridurre le conseguenze. Inoltre, le informazioni raccolte nei rapporti e la redazione di elenchi di effetti possono facilitare la comunicazione dei rischi identificati e l'implementazione di azioni di monitoraggio ambientale.

L'Analisi dei Rischi è un processo complesso in cui le tre componenti interagiscono e si influenzano tra loro; il processo deve essere condotto in maniera iterativa e multidisciplinare ed essere in grado di evolversi in base alle nuove informazioni a disposizione, ai risultati della

ricerca di base e delle azioni di gestione messe in atto. Dai risultati ottenuti si può concludere che l'approccio di VRA sviluppato può contribuire a procedere in questa direzione.

PhytERA, è stato sviluppato per permettere la VRA di un fitorisanamento del suolo, tuttavia i principi di base e il Modello Concettuale possono essere applicati anche ad altre matrici ambientali, sarà però necessario redigere domande apposite che tengano conto delle specifiche caratteristiche della nuova matrice ambientale. Inoltre, l'applicazione di PhytERA ad un maggior numero di casi studio e le nuove informazioni provenienti dalla ricerca di base, permetteranno di evidenziare lacune o ridondanze nel questionario che porteranno a togliere, rieditare o aggiungere delle domande. Si intende a tale scopo rendere disponibile il modello a esperti del settore, inizialmente solo su richiesta personale, per stimolarne l'uso e l'applicazione a nuovi casi di studio.

La struttura del metodo facilita la modifica del modello concettuale e l'inserimento di nuove informazioni nel questionario senza perdere il lavoro già fatto. Tuttavia, la scelta di utilizzare un'applicazione in Access, dettata dalla necessità di avere un programma facilmente reperibile, limita le potenzialità di applicazione di PhytERA, sia per la qualità, sia per la quantità dei dati che possono essere inseriti, e non assicura il corretto funzionamento in tutti i sistemi operativi. Un futuro sviluppo potrebbe essere l'utilizzo di un'applicazione Web che permetta di lavorare online, di caricare direttamente il materiale bibliografico utilizzato per la compilazione del questionario (bibliografia, mappe del suolo e climatiche) o scaricare i rapporti di questionari già compilati (Camastra et al., 2014). La possibilità di accedere a PhytERA direttamente dal Web faciliterebbe inoltre la comunicazione e condivisioni dei risultati ottenuti, aumentandone l'efficienza.

BIBLIOGRAFIA

- Adler T., 1996.** Botanical Cleanup Crews. *Sci. News.* 150:42-43;
- Angle S.J., Linacre N.A. 2005.** Ecological risks of novel environmental crop technologies using phytoremediation as an example. EPT Discussion Paper 133, International Food Policy Research Institute [www.ifpri.org];
- Aprill, W. and R. C. Sims. 1990.** Evaluation of the Use of Prairie Grasses for Stimulating Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Treatment in Soils. *Chemosphere*, 20: 253–65;
- Arnold C. W., Parfitt D. G. and M. Kaltreider, 2007.** Phytovolatilization of Oxygenated Gasoline-Impacted Groundwater at an Underground Storage Tank Site via Conifers. *International Journal of Phytoremediation*, 9: 53–69;
- ARPAT, 2010.** Analisi di rischio ambientale, bonifica di siti contaminati ed ecotossicologia. Un viaggio tra scienza e normativa. ISBN: 978-88-96693-056 ©;
- ASTM, 2013.** Standard Guide for Greener Cleanups. *Book of Standards*, Volume: 11.05;
- Australian Government- Dept. Health and Ageing Office of the Gene Technology Regulator, 2009.** Risk Analysis Framework, 23;
- Baker A. J .M., S. P. McGrath, C. M.D. Sidoli and R. D. Reeves, 1995.** The Potential for Heavy Metal Decontamination. *Mining Environ. Manage.* 3(3):12-14;
- Baker A. J. M., 1995.** Metal Hyperaccumulation by Plants: Our Present Knowledge of the Ecophysiological Phenomenon. In *Interdisciplinary Plant Group (eds.), Will Plants Have a Role in Bioremediation?*, Proceedings/Abstracts of the Fourteenth Annual Symposium, 1995, Current Topics in Plant Biochemistry, Physiology, and Molecular Biology, April 19-22, 1995, University of Missouri-Columbia;
- Bell R. M., 1992.** Higher Plant Accumulation of Organic Pollutants from Soils. Risk Reduction Engineering Laboratory, Cincinnati, OH. EPA/600/R-92/138;
- Briggs, G. G., R. H. Bromilow and A. A. Evans. 1982.** Relationship between Lipophilicity and Root Uptake and Translocation of Non-Ionized Chemicals by Barley. *Pesticide Science* 13:495–504;
- Brooks R. R., 1998.** Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals: Their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining. CAB International, Oxon, UK. pp. 1-14, pp 289-312;
- Burken J. G. and J. L. Schnoor, 1997.** Uptake and Metabolism of Atrazine by Poplar Trees. *Environ. Sci. Technol.* 31:1399-1406;
- Camastra F., Ciaramella A., Giovannelli V., Lener M. et al. 2014a.** TÉRA: A Tool for the Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Plants. *Ecological Informatics* 01/2014;
- CL:AIRE, 2011.** Contaminated Land: Applications in Real Environments, London;

- Cormier Susan M. Æ and Suter II Glenn W., 2008.** A Framework for Fully Integrating Environmental Assessment. *Environmental Management*, 42:543–556;
- Cornish, J. E., W. C. Goldberg, R. S. Levine and J. R. Benemann, 1995.** Phytoremediation of Soils Contaminated with Toxic Elements and Radionuclides. pp. 55- 63. In R. E. Hinchee, J. L. Means, and D. R. Burris (eds.), *Bioremediation of Inorganics*. Battelle Press, Columbus, OH;
- Cunningham, S. D., W. R. Berti and J. W. Huang. 1995.** Phytoremediation of Contaminated Soils. *Trends Biotechnol.* 13:393-397;
- Dale V. H., G. R. Biddinger, M. C. Newman, J. T. Oris, G. W. Suter, T. Thompson, T. M. Armitage, J. L. Meyer, R. M. Allen-King, G. A. Burton, P. M. Chapman, L. L. Conquest, I. J. Fernandez, W. G. Landis, L. L. Master, W. J. Mitsch, T. C. Mueller, C. F. Rabeni, A. D. Rodewald, J. G. Sanders, I. L. van Heerden. 2008.** Enhancing the ecological risk assessment process. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 4:306-313;
- Dushenkov V., P. B. A. Nanda Kumar, H. Motto, and I. Raskin, 1995.** Rhizofiltration: the Use of Plants to Remove Heavy Metals from Aqueous Streams. *Environ. Sci. Technol.*, 29:1239-1245;
- EFSA, 2010.** Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal* 2010;8(11):1879. [111 pp.];
- EPA, 1992.** Guidelines for Exposure Assessment. U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, Washington, DC, EPA/600/Z-92/001;
- EPA, 1994.** Role of the Ecological Risk Assessment In the Baseline Risk Assessment, Final. OSWER Directive # 9285.7-17;
- EPA, 1998.** *Guidelines for Ecological Risk Assessment..* Risk Assessment Forum, Washington, DC, EPA/630/R095/002F;
- EPA, 1999.** Screening Level Ecological Risk Assessment Protocol, Appendix C. “Media-to-Receptor Bioconcentration Factors (BCFs)” and Appendix D. “Bioconcentration Factors (BCFs) for Wildlife Measurement Receptors.”;
- EPA, 2000** -Introduction to Phytoremediation. EPA/600/R-99/107/2000;
- EPA, 2001.** Ground water issue, EPA/540/s-01/500/2001;
- EPA, 2001.** The Role of Screening-Level Risk Assessments and Refining Contaminants of Concern in Baseline Ecological Risk Assessments. EPA 540/F-01/014;
- EPA, 2005.** Guidelines for Carcinogen Risk Assessment. EPA/630/P-03/001;
- EPA, 2007.** Ecological Revitalization and Attractive Nuisance Issues. EPA 542-F-06-003;
- EPA, 2009.** Toxicological Review of Nitrobenzene. Washington, DC. EPA-635-R-08-004F;
- Erickson L.E., P.A. Kulakow, and L.C. Davis, 2000.** Phytoremediation of petroleum contaminated soil; A Vadose zone science and technology solution. B.B. Looney and R.W. Falta, eds. Battelle Press, Columbus., Ohio, pp. 1234-1237;

ERMA, 1996. Preparing information on RISKS, COSTS AND BENEFITS for applications under the Hazardous Substances and New Organisms Act 1996, New Zealand. September 1999 July 2000. ER-TG-03-1 7/00;

ERMA, 1999. Environmental Risk Management Authority; Identifying risks for applications under the Hazardous Substances and New Organisms Act 1996, ER-TG-01-1 9/99, New Zealand;

Favara P.J., Krieger Todd M. , Boughton Bob, Fisher Angela S. Bhargava, Mohit , 2011. Guidance for performing footprint analyses and life-cycle assessments for the remediation industry. Remediation Journal 21(3):39 - 79;

Ferro, A. M., S. A. Rock, J. Kennedy and J. J. Herrick, 1999. Phytoremediation of Soils Contaminated with Wood Preservatives: Greenhouse and Field Evaluations. International Journal of Phytoremediation 1(3): 289–306;

Fletcher J. S. and R. S. Hegde, 1995. Release of Phenols by Perennial Plant Roots and Their Potential Importance in Bioremediation. Chemosphere. 31:3009-3016;

Gatliff E. G., 1994. Vegetative Remediation Process Offers Advantages over Traditional Pump-and-Treat Technologies. Remed. Summer. 4(3):343-352;

Gilbert E. S. and D. E. Crowley, 1997. Plant Compounds That Induce Polychlorinated Biphenyl Biodegradation by Arthrobacter Sp. Strain B1b. Applied Environ. Microbiology. 63(5):1933-1938;

Gordon, M. P., N. Choe, J. Duffy, G. Ekuan, P. Heilman, I. Muiznieks, L. Newman, M. Ruszaj, B. B. Shurtleff, S. Strand, and J. Wilmoth, 1997. Phytoremediation of Trichloroethylene with Hybrid Poplars. In E. L. Kruger, T. A. Anderson, and J. R. Coats (eds.), Phytoremediation of Soil and Water Contaminants, ACS Symposium Series No. 664. American Chemical Society, Washington, DC.;

Hayes KR, Gregg PC, Gupta V. V. S. R., Jessop R., Lonsdale W. M., Sindel B., Stanley J. and Williams C. K., 2004. Identifying hazards in complex ecological systems. Part3: Hierarchical Holographic Model for oilseed rape. Environmental Biosafety Research 3:109-128;

Hill R.A. and Sendashonga C., 2003. General principles for risk assessment of living modified organisms: lessons from chemical risk assessment. Environmental Biosafety Research, 2, 81–88;

Hill R.A., 2005. Conceptualizing risk assessment methodology for genetically modified organisms. Environmental Biosafety Research, 4, 67–70;

Hoagland R. E., R. M. Zablotowicz and M. A. Locke. 1994. Propanil Metabolism by Rhizosphere Microflora. In Bioremediation Through Rhizosphere Technology, T. A. Anderson and J. R. Coats, eds. ACS Symposium Series 563. Washington, D.C.: American Chemical Society;

Holland K., Lewis R.E., Tipton K., Karnis S., Dona C., Petrovskis E. Bull L.P., Taege D. and Hook C., 2011. Framework for Integrating Sustainability into Remediation Projects. Remediation Journal 21 (3): 7-38;

Hope BK, 2006. An examination of ecological risk assessment and management practices. Environ Int.,32(8):983-95;

- Hsu T. S. and R. Bartha, 1979.** Accelerated Mineralization of Two Organophosphate Insecticides in the Rhizosphere. *Applied Environmental Microbiology* 37: 36–41;
- ITRC, 2001.** Interstate Technology & Regulatory Council. Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance Document. Washington, D.C.;
- ITRC, 2009.** Interstate Technology & Regulatory Council. Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees, Revised. PHYTO-3. Washington, D.C.;
- Jordahl J. L., Foster L., Schnoor J. L. and Alvarez P. J. J., 1997.** Effect of Hybrid Poplar Trees on Microbial Populations Important to Hazardous Waste Bioremediation. *Environ. Toxicol. Chem.* 16(6):1318-1321;
- Klinke A. and Renn O., 2002.** A new approach to risk evaluation and management: risk-based, precautionary-based, and discourse-based strategies. *Risk Analysis* 22: 1071-1094;
- Kumar P. B. A. N., Dushenkov V., Motto H. and Raskin I., 1995.** Phytoextraction: The Use of Plants to Remove Heavy Metals from Soils. *Environmental Science and Technology* 29:1232–38.
- Lener M., Giovannelli V., Arpaia S., Baldacchino F., Benedetti A., Burgio G., Canfora L., Dinelli G., Manachini B., Marotti I., Masetti A., Sbrana C., Rastelli V., Staiano G., 2013.** Applying an Operating Model for the Environmental Risk Assessment in Italian Sites of Community Importance (SCI) of the European Commission Habitats Directive (92/43/EEC). *Bulletin of Insectology* 01/2013; 66(2);
- Licht, L. A. and Schnoor J. L., 1993.** Tree Buffers Protect Shallow Ground Water at Contaminated Sites. EPA Ground Water Currents, Office of Solid Waste and Emergency Response. EPA/542/N-93/011;
- Liu I and Agresti A., 2005.** The analysis of ordered categorical data: an overview and survey of recent developments. *Test* 14, 1-30;
- Marmiroli M., Pietrini F., Maestri E., Zacchini M., Marmiroli N. e Massacci Angelo, 2011a.** Growth, physiological and molecular traits in Salicaceae trees investigated for phytoremediation of heavy metals and organics. *Tree Physiology*;
- Marmiroli M., Visioli G., Maestri E., Marmiroli N., 2011b.** Correlating SNP Genotype with the Phenotypic Response to Exposure to Cadmium in *Populus spp.* *Environmental Science & Technology* 45, 4497–4505;
- Marmiroli N., McCutcheon S.C., 2003.** Making phytoremediation a successful technology. In: McCutcheon SC, and Schnoor JL (eds.) *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*. Wiley-Interscience, Inc., Hoboken, pp.75-107. ISBN 0-471-39435-1
- Meagher R. B., and C. Rugh, 1996.** Phytoremediation of Mercury Pollution Using a Modified Bacterial Mercuric-Ion Reductase Gene. Presented at the International Phytoremediation Conference, Arlington, Va;
- Molina M., Araujo R. and Bond J. R., 1995.** Abstract: Dynamics of Oil Degradation in Coastal Environments: Effects of Bioremediation Products and Some Environmental Parameters. *Symposium on Bioremediation of Hazardous Wastes: Research,*

Development, and Field Evaluations, August 10-12, 1995, Rye Brook, NY. EPA/600/R-95/076;

Muralidharan N., Davis L. C. and Erickson L. E., 1993. Monitoring the Fate of Toluene and Phenol in the Rhizosphere. Proceedings, 23rd Annual Biochemical Engineering Symposium, R. Harrison, ed. University of Oklahoma, Norman;

N. Marmiroli, E. Maestri, V. Giovannelli, 2014. Phytoremediation and environmental risk assessment: a new approach. Book of Abstracts « 11th International Phytotechnologies Conference » pp. 276 Heraklion, Crete, Greece, Sept. 30 - Oct. 3, 2014. ISBN 978-960-6865-81-7

Narayanan M., Davis L. C. and Erickson L. E., 1995. Fate of Volatile Chlorinated Organic Compounds in a Laboratory Chamber with Alfalfa Plants. Environ. Sci. Technol. 29:2437-2444;

National Research Council, 1983. Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. National academy Press, Washington D.C.;

Nelson S., 1996. Use of Trees for Hydraulic Control of Groundwater Plumes. In W. W. Kovalick and R. Olexey (eds.), Workshop on Phytoremediation of Organic Wastes, December 17-19, 1996, Ft. Worth, TX. A EPA unpublished meeting summary;

Newman L. A., Bod C., Choe N., Crampton R., Cortellucci R., Domroes D., Doty S., Duffy J., Ekuan G., Fogel D., Hashmonay R., Heilman P., Martin D., Muiznieks I. A., Newman T., Ruszaj M., Shang T., Shurtleff B., Stanley S., Strand S. E., Wang X., Wilmoth J., Yost M. and Gordon M. P., 1997a. Abstract: Phytoremediation of Trichloroethylene and Carbon Tetrachloride: Results from Bench to Field. Presentation 55. In 12th Annual Conference on Hazardous Waste Research - Abstracts Book, May 19-22, 1997, Kansas City, MO;

Newman L. A., Strand S. E., Choe N., Duffy J., Ekuan G., Ruszaj M., Shurtleff B. B., Wilmoth J., Heilman P. and Gordon M. P., 1997b. Uptake and Biotransformation of Trichloroethylene by Hybrid Poplars. Environ. Sci. Technol. 31:1062-1067;

Newman, L. A., M. P. Gordon, P. Heilman, D. L. Cannon, E. Lory, K. Miller, J. Osgood, and S. E. Strand. 1999. Phytoremediation of MTBE at a California Naval Site. Soil and Groundwater Cleanup Feb./Mar.: 42–45;

NICOLE and COMMON FORUM, 2013. Risk-Informed and Sustainable Remediation, Joint Position Statement; <http://www.nicole.org>;

OECD, 2000. Consensus Document on the biology of Populus L. (Poplar). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 16, ENV/JM/MONO(2000);

Ohio-EPA, 2008. Ecological Risk Assessment – Guidance document. State of Ohio, Environmental Protection Agency, Columbus, OH;

Olson P. E., Fletcher J.S. and Philp P.R., 2001. Natural attenuation/phytoremediation in the vadose zone of a former industrial sludge basin. Environ. Sci. Pollut. Res. 8:243-249;

Paterson S., Mackay D., Tam D. and Shiu W.Y. 1990. Uptake of organic chemicals by plants: a review of processes, correlations and models. Chemosphere 21, 297–331;

- Pfender W. F., 1996.** Bioremediation Bacteria to Protect Plants in Pentachlorophenol-contaminated Soil. *J. Environ. Qual.* 25:1256-1260;
- Pierzynski, G.M., Schnoor J.L., Banks M.K., Tracy J., Licht L. and Erickson L.E., 1994.** Mining and Its Environmental Impact. *Issues in Environmental Sciences and Technology*, Volume 1, Royal Society of Chemistry, Cambridge UK, pp. 49-69;
- Poppek R., Gawrońska H., Wrochna M., Gawroński S. W. & A. Sæbø, 2013.** Particulate Matter on Foliage of 13 Woody Species: Deposition on Surfaces and Phytostabilisation in Waxes a 3-Year Study. *International Journal of Phytoremediation*, 15:3, 245-256;
- Raskin, I., Nanda Kumar P. B. A., Dushenkov S., Blaylock M. J. and Salt D., 1994.** Abstract: Phytoremediation - Using Plants to Clean up Soils and Waters Contaminated with Toxic Metals. *Emerging Technologies in Hazardous Waste Management VI*, ACS Industrial & Engineering Chemistry Division Special Symposium, Volume I, September 19-21, 1994, Atlanta, GA;
- Salt D. E., Blaylock M., Nanda Kumar P. B. A., Dushenkov V., Ensley B. D., Chet I. and Raskin I., 1995.** Phytoremediation: A Novel Strategy for the Removal of Toxic Metals from the Environment Using Plants. *Biotechnol.* 13:468-474;
- Salt D. E., Pickering I. J., Prince R. C., Gleba D., Dushenkov S., Smith R. D. and Raskin I., 1997.** Metal Accumulation by Aquacultured Seedlings of Indian Mustard. *Environ. Sci. Technol.* 31(6):1636-1644;
- Schnoor J. L. and A. Zehnder eds. 2003,** *Phytoremediation: transformation and control of contaminants*, Wiley Interscience;
- Schnoor J. L., 1997.** *Phytoremediation: Ground-Water Remediation Technologies Analysis*. Center Technology Evaluation Report TE-98-01;
- Schnoor J. L., Licht L. A., McCutcheon S. C., Wolfe N. L. and Carriera L. H., 1995.** Phytoremediation of Organic and Nutrient Contaminants. *Environmental Science and Technology* 29: 318–23;
- Schumacher J. G., Struckhoff G. C. and Burken J. G., 2004.** Assessment of Subsurface Chlorinated Solvent Contamination Using Tree Cores at the Front Street Site and Former Dry Cleaning Facility at the Riverfront Superfund Site, New Haven, Missouri, 1999–2003. Scientific Investigations Report 2004-5049. U.S. Department of Interior, U.S. Geological Survey;
- Schwab A. P. 1998.** Phytoremediation of Soils Contaminated with PAHS and Other Petroleum Compounds. Presented at: Beneficial Effects of Vegetation in Contaminated Soils Workshop, Kansas State University, Manhattan,KS, January 7-9, 1998. Sponsored by Great Plains/Rocky Mountain Hazardous Substance Research Center;
- Schwab A. P., Al-Assi A. A. and Banks M. K., 1998.** Adsorption of Naphthalene onto Plant Roots. *J. Environ. Qual.* 27:220-224;
- Sherameti I. and Varma A. (eds) 2011.** *Detoxification of heavy Metals*, Soil biology 30, Springer-verlag Berlin Heiderlberg;

Shimp J.F., Tracy J.C., Davis L.C., Lee E., Huang W., Erickson L.E., Schnoor J.L., 1993. Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 23, 41–77;

Sorlini C., Buiatti M., Burgio G., Cellini F., Giovannelli V., Lener M., Massari G., Perrino P., Selva E., Spagnoletti A. et al. 2003. La valutazione del rischio ambientale dell'immissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio;

Storkey J, Bohan DA, et al. 2008. Providing the evidence base for environmental risk assessment of novel farm management practices. *Environmental Science and Policy* 11, 579-587;

SURF Italy, 2014. Sostenibilità nelle Bonifiche in Italia Libro Bianco 2014.

SURF UK, 2010. A Framework for Assessing the Sustainability of Soil and Groundwater. ISBN 978-1-905046-19-5 ©;

SuRF US, 2009. Integrating sustainable principles, practices, and metrics into remediation projects. *Remediation Journal*, 19(3), pp 5 - 114, editors P. Hadley and D. Ellis (Summer 2009);

Van Leeuwen C.J. and Hermens- Kluwer J.L.M., 1995. Risk Assessment of chemicals: an introduction, Academic Publishers;

Visioli G. e Marmioli N., 2012. Proteomics of Plant Hyperaccumulators. *Metal Toxicity in Plants: Perception, Signaling and Remediation* 2012, 165-18.;

Visioli G., Pirondini A., Malcevski A., Marmioli N., 2010. Comparison of Protein Variations in *Thlaspi Caerulescens* Populations from Metalliferous and Non-Metalliferous Soils. *International Journal of Phytoremediation* Volume 12, Issue 8;

WOLT J.D., KEESE P., RAYBOULD A., FITZPATRICK J.W. BURACHIK, M. GRAY, A. et al., 2010. Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants. *Transgenic Research*, 19, 425–436;

Woodward R. 1996. Summary of the Workshop on Phytoremediation of Organic Contaminants. Fort Worth, Tex;

Bibliografia consultata per lo sviluppo del modello concettuale e del questionario.

Adams A.A. , A. Raman , D.S. Hodgkins & H.I. Nicol, 2013. Accumulation of heavy metals by naturally colonising *Typha domingensis* (Poales: Typhaceae) in wasterock dump leachate storage ponds in a gold–copper mine in the central tablelands of New South Wales, Australia. *International Journal of Mining, Reclamation and Environment*, DOI:10.1080/17480930.2013.763496;

Adams A.A., Raman A., Hodgkins D.S. and Nicol H.I., 2013. Accumulation of heavy metals by naturally colonising *Typha domingensis* (Poales: Typhaceae) in waste-rock dump leachate storage ponds in a gold–copper mine in the central tablelands of New

South Wales, Australia. International Journal of Mining, Reclamation and Environment Volume 27, Issue 4, p. 294-307;

Alvey S. , Crowley D. E., 1996. Survival and Activity of an Atrazine-Mineralizing Bacterial Consortium in Rhizosphere. Soil Journal: Environmental Science & Technology , vol. 30, no. 5, pp. 1596-1603;

APAT, 2008a. Criteri metodologici per l'applicazione dell'analisi assoluta di rischio ai siti contaminati. Revisione 2. Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i Servizi Tecnici, Roma;

APAT, 2008b. Documento di Riferimento per la determinazione e la validazione dei parametri sito-specifici utilizzati nell'applicazione dell'Analisi di Rischio ai sensi del DLgs 152/06, Gruppo di Lavoro Analisi di Rischio. Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i Servizi Tecnici, Roma;

Basumatary B., R. Saikia, H.Chandra Das & S. Bordoloi 2013. Field Note: Phytoremediation of Petroleum Sludge Contaminated Field Using Sedge Species, *Cyperus Rotundus* (Linn.) and *Cyperus Brevifolius* (Rottb.) Hassk. International Journal of Phytoremediation, 15:9, 877-888;

Basumatary B., R. Saikia, S. Bordoloi, H.Chandra Das and H. Prasad Sarmac, 2012c. Assessment of potential plant species for phytoremediation of hydrocarboncontaminated areas of upper Assam India. *J Chem Technol Biotechnol*; 87: 1329–1334;

Basumatary B., S. Bordoloi, H. Prasad Sarma & H.Chandra Das, 2012a. A study on the physico-chemical properties and heavy metal content in crude oil contaminated soil of Duliajan Assam, India. International. Journal of Advanced Biological Research, VOL. 2(1) 2012:64-66;

Basumatary B., S. Bordoloi, H. Prasad Sarma, 2012b. Crude Oil-Contaminated Soil Phytoremediation by Using *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk. *Water Air Soil Pollut* (2012) 223:3373–3383;

Battke F., Ernst D. and Halbach S, 2005. Ascorbate promotes emission of mercury vapour from plants. *Plant, Cell and Environment* 28 , 1487–1495;

Battke F., K. Leopold, M. Maier, U. Schmidhalter¹ and M. Schuster, 2008. Palladium exposure of barley: uptake and effects. *Plant Biology* 10 272–276;

Battke F., Schramel P. and Ernst D., 2003. A Novel Method for In Vitro Culture of Plants: Cultivation of Barley in a Floating Hydroponic System. *Plant Molecular Biology Reporter* 21: 405-409, December 2003 International Society for Plant Molecular Biology. Printed in Canada;

Bianconi D., Paris, P., Massacci A., 2012. Prime esperienze di bonifica del suolo dal lindano: le potenzialità della short rotation coppice (SRC) per il recupero ambientale e la sostenibilità economica. Atti del convegno Bonifica, recupero ambientale e sviluppo del territorio: esperienze a confronto sul fitorimediaio. Supplemento alla rivista Micron (n.22 ott 2012) pp.65-74;

- Bishop K. H., Ying-Hua Lee, John Munthe and Etienne Dambrine, 1998.** Xylem sap as a pathway for total mercury and methylmercury transport from soils to tree canopy in the boreal forest. *Biogeochemistry* 40: 101–113, 1998;
- Brian D. Eitzer, William Iannucci-Berger and MaryJane Incorvia Mattina, 2003.** Volatilization of Weathered Chiral and Achiral Chlordane Residues from Soil; *Environ. Sci. Technol.* 37, 4887-4893;
- Burken, J.G. and Schnoor, J.L., 1996.** Phytoremediation: Plant Uptake of Atrazine and Role of Root Exudates. *J. Environ. Engr., ASCE*, 122(11), 958-963;
- Camastra F., Ciaramella A., Giovannelli V., Lener M. et al. 2015.** A fuzzy decision system for genetically modified plant environmental risk assessment using Mamdani inference. *Expert Systems with Applications* 02/2015; 42(3):1710-1716. DOI: 10.1016/j.eswa.2014.09.041;
- Chhikara S., Paulose B., White Jason and Dhanzher OP, 2010.** Understanding the Physiological and Molecular Mechanism of Persistent Organic Pollutant Uptake and Detoxification in Cucurbit Species (Zucchini and Squash). *Environ. Sci. Technol.*, 44, 7295–7301;
- Chhikara Sudesh , Bibin Paulose, Jason C. White, and Om Parkash Dhankher, 2010.** Understanding the Physiological and Molecular Mechanism of Persistent Organic Pollutant Uptake and Detoxification in Cucurbit Species(Zucchini and Squash). *Environ. Sci. Technol.* 44, 7295–7301;
- De Angelis P., Bianconi D., Massacci A, 2012.** Phytotreatment of industrial landfill leachate: a full-scale realization. *Phytotechnologies - 9th International Conference – Hasselt University 11-14 September 2012*;
- Dzierżanowski K, Gawroński SW, 2011a.** Use of trees for reducing particulate matter pollution in air. *Challenges of Modern Technology.* 1(2):69–73;
- Dzierżanowski K., R. Popek, H. Gawrońska, A. Sæbø, and S. W. Gawroński, 2011b.** Deposition of particulate matter of different size fractions on leaf surfaces and in waxes of urban forest species. *International Journal of Phytoremediation*, 13:1037–1046;
- Hladun K.R., Kaftanoglu O., Parker D.R., Tran K. D. and Trumble J.T., 2013.** Effects of selenium on development, survival, and accumulation in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry* **Volume 32, Issue 11**, pages 2584–2592;
- Isleyen M., Sevim P. and White Jason C., 2012.** Accumulation of weathered p,p0-DDTs in hybridized *Cucurbita pepo* cultivars. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 31, N°8, pp.1699-1704;
- Lindberga Steve E., Weijin Donga,b, Tilden Meyers, 2002.** Transpiration of gaseous elemental mercury through vegetation in a subtropical wetland in Florida. *Atmospheric Environment* 36-5207–5219;
- Maestri E., Marmiroli M., Visioli G., Marmiroli N. (2010)** Metal tolerance and hyperaccumulation: Costs and trade-offs between traits and environment. *Environmental and Experimental Botany* 68, 1–13

- Maestri E., Marmiroli N., 2011.** Transgenic Plants for Phytoremediation. International Journal of Phytoremediation Volume 13, Supplement 1, 2011 Special Issue: 6th International Phytotechnologies Conference St. Louis, MO, 2009;
- Malla R, Shakya M., Chapagain SK., Mori K. and Kazama F., 2012.** Examination of heavy metal in soil-sediment, water and plants of the Bagmati River in Nepal. Proceeding of the 10th International Symposium on Southeast Asian Water Environment, Nov. 8-10, 2012, Hanoi, Vietnam. Vol. 10, Part II, page no. 52;
- Marmiroli M., Gonnelli C., Maestri E., Gabbrielli R., Marmiroli N., 2004.** Localisation of nickel and mineral nutrients Ca, K, Fe, Mg with scanning electron microscopy microanalysis in tissues of the nickel-hyperaccumulator *Alyssum bertolonii* Desv. and the non-accumulator *Alyssum montanum* L.. Plant Biosystems, 138:231-243;
- Marmiroli M., Pietrini F., Maestri E., Zacchini M., Marmiroli N., Massacci A., 2011.** Growth, physiological and molecular traits in Salicaceae trees investigated for phytoremediation of heavy metals and organics. Tree Physiology;
- Mattina M.I, Iannucci-Berger W. and Dykas L., 2000.** Chlordane Uptake and Its Translocation in Food Crops. J. Agric. Food Chem. 2000, 48, 1909-1915;
- Mattina M.J. I., White J. C., Eitzer B. D., Iannucci-Berger W., 2002.** Cycling of weathered chlordane residues in the environment compositional and chiral profiles in contiguous soil, vegetation and air compartments. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 21, No. 2, pp. 281–288;
- Mattina M.J. I., Isleyen M., Eitzer B. D., Iannucci-Berger W. and White J. C., 2006.** Uptake by Cucurbitaceae of Soil-Borne Contaminants Depends upon Plant Genotype and Pollutant Properties. Environ. Sci. Technol., 40, 1814-1821;
- Megharaj M, Avudainayagam S, Naidu R., 2003.** Toxicity of hexavalent chromium and its reduction by bacteria isolated from soil contaminated with tannery waste. Curr Microbiol., 47:51–54;
- Moreno-Jiménez E., Estebana E., Carpena-Ruiz R. O., Lobob M. C. and Peñalosa J. M., 2012.** Phytostabilisation with Mediterranean shrubs and liming improved soil quality in a pot experiment with a pyrite mine soil. Journal of Hazardous Materials 201– 202, 52–59;
- Moreno-Jiménez E., S. Vázquez, R. O. Carpena-Ruiz, E. Estebana, J. M. Peñalosa, 2011.** Using Mediterranean shrubs for the phytoremediation of a soil impacted by pyritic wastes in Southern Spain: A field experiment. Journal of Environmental Management 92 (2011) 1584-1590;
- OECD, 2012.** Consensus Document on the Biology of Cucurbita L. (squashes, pumpkins, zucchini and gourds). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 53. ENV/JM/MONO(2012)31;
- Quinn Colin F., Prins Christine N., Freeman John L., Gross Amanda M., Hantzis Laura J. et al., 2011.** Selenium accumulation in flowers and its effects on pollination. New Phytologist (2011) doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03832.x;

- Sæbø A., R. Popek, B. Nawrot, H.M. Hanslin, H. Gawronska, S.W. Gawronski, in press.** Plant species differences in particulate matter accumulation on leaf surfaces;
- Silva AS, Araújo SB, Souza DC, Silva FA, 2012.** Study of the Cu, Mn, Pb and Zn dynamics in soil, plants and bee pollen from the region of Teresina (PI), Brazil. *An Acad Bras Cienc.* , 84(4):881-9. Epub 2012 Oct 4;
- Ufficio commissariale Valle del Sacco, 2011.** Sito di Interesse Nazionale del Bacino del fiume Sacco - Relazione di Attività. Ufficio Commissariale del SIN.
- Ulrich K., Ulrich A. and Ewald D., 2008.** Diversity of endophytic bacterial communities in poplar grown under field conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 63, Issue 2, pages 169–180;
- Van Dillewijn P., El Couselo Josè, Corredoira Elena, Delgado Antonio, Wittich Rolf Michael, Ballester Antonio and Ramos Juan L., 2008.** Bioremediation of 2,4,6-Trinitrotoluene by Bacterial Nitroreductase Expressing Transgenic Aspen. *Environ. Sci. Technol.* 42, 7405–7410;
- Villeneuve D.L., Garcia-Reyero N., 2011.** Predictive ecotoxicology in the 21st century. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30 (1): 1-8.
- Wang Xiaoping, White Jason C., Gent Martin P. N Iannucci-Berger, William, Eitzer Brian D. and Mattina Incorvia MaryJane, 2004.** Phytoextraction of Weathered *p,p'*-DDE by Zucchini (*Cucurbita pepo*) and Cucumber (*Cucumis sativus*) Under Different Cultivation Conditions. *International Journal of Phytoremediation*, 6(4):363–385 (2004);
- Westerberg K, Elvang , AM, Stackebrandt E and Jansson JK, 2000.** *Arthrobacter chlorophenicus* sp. nov., a new species capable of degrading high concentrations of 4-chlorophenol. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50: 2083–2092;
- White Jason C., Peters Richard and Kelsey Jason W., 2007.** Surfactants Differentially Impact *p,p'*-DDE Accumulation by Plant and Earthworm Species. *Environ. Sci. Technol.*, 41 (8), pp 2922–2929;
- White Jason C., 2000.** Phytoremediation of Weathered *p,p'*-DDE Residues in Soil International. *Journal of Phytoremediation: Vol. 2, No. 2*, pp. 133–144;
- White Jason C., 2001.** Plant-facilitated mobilization and translocation of weathered 2,2-bis(*p*-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene (*p,p'*-DDE) from an agricultural soil. *Environ Toxicol Chem.*,20(9):2047-52.
- White Jason C., 2002.** Differential bioavailability of field-weathered *p, p0* -DDE to plants of the *Cucurbita* and *Cucumis* genera. *Chemosphere* 49, 143e152
- White Jason C., 2009.** Optimizing Planting Density for *p,p*_-DDE Phytoextraction by *Cucurbita pepo* L.. *Environmental Engineering Science* Volume 26, Number 2;
- White Jason C., 2010.** Inheritance of *p,p'*-DDE Phytoextraction Ability in Hybridized *Cucurbita pepo* cultivars *Environ. Sci. Technol.* 2010, 44, 5165–5169;

White Jason C., Mattina MaryJane I. , Leeb Wen-Yee, Eitzerb Brian D., Iannucci-Berger William, 2003. Role of organic acids in enhancing the desorption and uptake of weathered p,p0 -DDE by *Cucurbita pepo*. *Environmental Pollution* 124: 71–80;

White Jason C., Parrish Zakia D., Gent Martin P. N., Iannucci-Berger William, Eitzer Brian D., Isleyen Mehmet, and Mattina MaryJane Incorvia, 2006b. Soil Amendments, Plant Age, and Intercropping Impact p,p9-DDE Bioavailability to *Cucurbita pepo*. *J. Environ. Qual.* 35:992– 1000;

White Jason C., Parrish Zakia D., Isleyen Mehmet, Gent Martin P. N., William Iannucci-Berger, Eitzer Brian D. and Mattina Maryjane Incorvia, 2005. Influence of nutrient amendments on the phytoextraction of weathered 2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene by cucurbits. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Volume 24, Issue 4, pages 987–994;

White Jason C., Ross Daniel W., Gent Martin P.N., Eitzer Brian D., Mattina MaryJane I., 2006a. Effect of mycorrhizal fungi on the phytoextraction of weathered p,p-DDE by *Cucurbita pepo*, *Journal of Hazardous Materials*: B137, 1750–1757;

White Jason C., Wang Xiaoping,. Gent Martin P. N, Iannucci - Berger William, Eitzer Brian D., Schultes Neil P., Arienzo Michele and Mattina MaryJane I.; 2003. Subspecies-Level Variation in the Phytoextraction of Weathered p,pç-DDE by *Cucurbita pepo*. *Environ. Sci. Technol.* 37, 4368-4373;

White Jason C., Zakia T., Parrisha D., Isleyen M., Gent Martin P.N., Iannucci-Berger William, Eitzerb Brian D., Incorvia Mattina MaryJane, 2005. Uptake of weathered p,p'-DDE by plant species effective at accumulating soil elements. *Microchemical Journal* 81: 148–155;

White JC and Kottler BD, 2002. Citrate-mediated increase in the uptake of weathered 2,2-bis(p-chlorophenyl) 1,1-dichloroethylene residues by plants. *Environ Toxicol Chem.* 21(3):550-6;

YANG, J., WANG, Z.-R., YANG, D.-L., YANG, Q., YAN, J. & HE, M.-F., 2009. Ecological risk assessment of genetically modified crops based on cellular automata modeling. *Biotechnology Advances*, 27, 1132–1136;

Publicazione

Phytoremediation and Environmental Risk Assessment: a new approach

Nelson Marmioli¹, Elena Maestri¹, Valeria Giovannelli²

¹ Dept. of Life Sciences, University of Parma, Italy

² Dept. of Nature Protection, Italian National Institute for the Environmental Protection and Research, Italy

Corresponding author email: elena.maestri@unipr.it

ABSTRACT

Phytotechnologies applied to environmental remediation are considered green technologies. Nevertheless, despite the wide range of their potential applications and clear advantages, few research activities have been focused on their potential impacts. EPA has listed some of the possible adverse effects and highlighted the need of a Risk assessment applied to phytoremediation processes. Taking into account that phytoremediation is a continuum of different processes, the Environmental Risk Assessment (ERA) procedure applied to phytoremediation should be carried out on a case by case basis, meaning that its results would depend on the plants, the potential receiving environment(s) and the contaminant. At the same time the whole assessment has to be science based; it requires a complex procedure that needs to be transformed into an operational and standardized tool. In this paper we propose a methodology that aims to answer to these requirements. It has been developed starting from an Operating Model for the Environmental Risk Assessment (OMERA) applied to the environmental release of Genetically Modified Plants (Matteo Lener, Valeria Giovannelli, et al.: Applying an operating model for the environmental risk assessment in Italian Sites of Community Importance (SCI) of the European Commission Habitats Directive (92/43/EEC), " *Bulletin of Insectology*" 66 (2) 2013; pp. 257-267). It is mainly addressed to scientists, companies, regulators, environmentalists, also aiming to provide the stakeholders with a scientifically correct source of information. The ERA structure moves from the assumption that the occurrence of a risk is strictly related to the presence of four components: a) source b) diffusion factors c) migration routes d) receptors. Source is the site where the organism is released and/or enabled to express its harmful characteristics; diffusion factors are linked to biological characteristics of the plant; migration routes are linked to chemical, physical, biological characteristics of the receiving environment; receptors include humans, animals and ecosystems. The ERA structure comprises two main components: a conceptual model represented as a flowchart and an electronic Questionnaire (eQ) driven by a relational database (Microsoft Office Access). The eQ includes two kinds of question sets: the first is descriptive and allows the characterization of the topic to be analysed in each step; the second type is a so called on/off question, asking for a yes/no/don't know answer that can open or close specific paths of risk definition. According to a precautionary approach, when a "don't know" answer is given, highlighting a lack of knowledge, the system automatically selects the path that represents the worst-case scenarios. The on/off questions allow the user to follow the flow chart as a decision tree starting from the source, through all the components of the conceptual model, and leading to the identification of potentially affected receptors (if any) and related risks impacts (if any).

Principles and structure of OMERa have been modified to be adapted to phytoremediation. For example, the source characterization includes the contaminant, the phytotechnology applied and the potential use of amendments. In case of phytoremediation, the use of alien species is considered as a secondary source of risks and specifically analyzed. The resulting

eQ is composed by almost 300 questions, which are not all activated on a case by case basis. Once the eQ is compiled the system will produce a report containing all the information and data inserted and a list of the identified potential effects. The OMERA methodology will be applied to different risk scenarios to be validated. It is useful to stress that the proposed model can be applied both *ex ante* and *ex post* release: in the *ex ante* phase to identify potential effects, in the *ex post* release phase to select Risk Management (RM) procedures, to set up monitoring activities, and to verify the success of the RM procedures applied. Phytoremediation is a technology that meets requirements for a sustainable development, but as every human activity is not risk free; furthermore as for other issues it would be really useful and constructive to have the possibility to analyze and to collect research data and results in a standard way. The application of the OMERA method can be considered a tool for collecting and elaborating data in a standardized way, and would help the harmonization of the Environmental Risk Assessments performed by different actors.

Book of Abstracts « 11th International Phytotechnologies Conference » Heraklion, Crete, Greece, Sept. 30 - Oct. 3, 2014. ISBN 978-960-6865-81-7

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il Professore **Nelson Marmioli** per la disponibilità e i suggerimenti dati nel corso del lavoro di ricerca.

Un sentito ringraziamento alla Professoressa **Elena Maestri** per tutte quelle occasioni in cui i suoi consigli mi hanno indirizzato verso la soluzione dei problemi incontrati nel corso del lavoro del mio dottorato.

ALLEGATI

ALLEGATI al capitolo 3

Allegato 3.1

Risposte al questionario di indagine relativa alle attività nel campo del fitorisanamento.

Contact person	Dr. Arne Sæbø	Eduardo Moreno Jiménez	Prof.Sabitry Choudhury Bordoloi	Paula Pongrac
Affiliation	Bioforsk Norwegian Institute for Agricultural and Environmental Research- Fr. A. Dahlsvei 20, NO-1430 Ås, NORWAY	Department of Agricultural and Food Chemistry, Faculty of Sciences, Universidad Autónoma de Madrid. 28049-Madrid, SPAIN	Institute of Advanced Study in Science and Technology Paschim Boragaon, Guwahati-781035, INDIA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteti Kongresni trg 12 1000 Ljubljana, SLOVENIA
Experiment features	greenhouse or growth chamber	<i>in situ</i> , greenhouse	<i>in situ</i>	<i>in situ</i>
The site is located in	public and private areas	Seville, Spain, public area	Town, public area	Slovenia, Koroska, Mezica, private area
Type of matrix	Plant leaves in urban plantings	Soil	Soil	Soil
Type of contaminant	Air pollution: PM10, PM2.5, PM0.2 and metals	Arsenic, Zinc, Cadmium, Copper	Total Petroleum Hydrocarbon	Cd, Pb, Zn
Plant identity		<i>Retama sphaerocarpa</i> , <i>Myrtus comunnis</i> , <i>Tamarix gallica</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Cyperus rotundus</i> (L) and <i>C.brevifolius</i> (Rottb.)	white mustard; red cabagge; cabagge
Main phytotechnology applied	Not relevant	Phytostabilization	Phytoextraction, rhizoremediation	Phytoextraction
Nearby sensitive receptors	We used areas near roads	Protected Area, National Park	No	
Local environment	urban, rural	rural, natural area	industrial	rural
Are the plants harvested, collected, etc?	We harvested tree leaves for analysis of PM, PAH and metals	Harvested, some plants still left	Not harvested, For analysis selected plants were uprooted.	Yes, analysed

Contact person	Dr. Rabin Malla	Dr. Dieter Ernst	Prof. Paolo De Angelis
Affiliation	Center of Research for environment Energy and Water (CREEW) Baluwatar, Kathmandu-4, G.P.O. Box 25563, NEPAL	Institute of Biochemical Plant Pathology, Helmholtz Zentrum München GERMANY	DIBAF, Università della Tuscia Viterbo, ITALY
Experiment features	<i>ex situ</i>	<i>in situ</i> , greenhouse, growth chamber	<i>in situ</i>
The site is located in a	public area	public area	private area
Type of matrix	River soil-sediments	Hydro culture, agar culture, soil	Industrial leachate
Type of contaminant	Heavy metal	HgCl ₂ , Cd(NO ₃) ₂ ; PtCl ₄	Cd, As, Zn, Cu, DMF
Plant identity	Jimson weed or Datura, Rough Cocklebur, Cobbler's Peg, Mugwort, Whitetop Weed, Knotweed, Castor oil plant, Spiny Amaranth	Barley, Hordeum vulgare cv. Barke and cv. Scarlett	Prunus laurocerasus, Nerium oleander, Viburnum tinus
Main phytotechnology applied	Phytoextraction, rhizoremediation	Hydroculture phytoextraction	Evapotranspiration of industrial leachate using evergreen shrubs; Phytohydraulics, Phytosequestration, Phytodegradation
Nearby sensitive receptors	Urban/Community and built-up area		NO
Local environment	Urban		Industrial
Are the plants harvested, collected, etc?	The surveyed plants were collected and analysed for heavy metal content	root and leaf material was harvested and analyzed	Plant and soil samples are collected on annual basis and analysed for monitoring purposes; an harvesting of aboveground part will be done, probably, after 4-5 years.

Contact person	S. W. Gawronski	Brett Robinson	Jason C. White William Berger	Lou Licht _ Ecolotree
Affiliation	Warsaw University of Life Sciences ul. Nowoursynowska 166, 02787 Warsaw, POLAND	Department of Agricultural Sciences, Lincoln University Lincoln, NEW ZEALAND	The Connecticut Agricultural Experiment Station, 123 Huntington St. Box 1106, New Haven, Connecticut	ECOLOOTREE INC. 3017 Valley View Lane, North Liberty, Iowa 52317
Experiment features	<i>in situ</i> , greenhouse or growth chamber	<i>in situ</i>	<i>in situ</i> , green house	<i>in situ</i>
The site is located in a	public: parks and greenery surrounding street	private area	Public area	Private area
Type of matrix	Leaves, young tweegs and soil	Soil	Groundwater	Waste water from food processing
Type of contaminant	PM, heavy metals, PAHs, NOx, ozone, some time benzen	Arsenic / dieldrin	Chlordane/DDE/heavy metals	waste water
Plant identity	List of the species in attached publication	Salix matsudana alba ('Tangoio') HortResearch, New Zealand	Zucchini, Cucumber Pumpkin, Tomato, Spinach, Lettuce, Broccoli, Corn, White Lupin, Carrot	Poplar or willow species
Main phytotechnology applied	Air and soil phytoextraction	Phytostabilisation	Phytoextraction	
Nearby sensitive receptors			No	
Local environment	especially surrounding of busy streets and freeways	rural	urban, rural	industrial
Are the plants harvested, collected, etc?	harvested are leaves for evaluation of plant efficiency in air pollutant uptake and small roots for mycorrhiza identification	No	Yes	

Contact person	Angelo Massacci	Tomas Vanek	Allan Adams
Affiliation	Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Biologia agro-ambientale e forestale Porano, ITALY	Institute of Experimental Botany ASCR, Rozvojová 313, 165 02 Praha 6 - Lysolaje, Česká republika	Soil Research Group, Charles Sturt University, Orange, NSW, Australia
Experiment features	<i>in situ</i>	<i>in situ</i>	Mine waste-rock dump leachate storage ponds, Glasshouse pot trials
The site is located in a	private area	agriculture land	Active gold and copper mine site
Type of matrix	Soil	Soil	Creek water, mine waste-rock dump leachate, wetland soil/sediment
Type of contaminant	Lindane	toxic metals	Ca, Cu, Mg, Mg, Na, S, Zn
Plant identity	<i>Populus generosa</i> × <i>nigra</i> “Monviso” , <i>Populus</i> – <i>canadensis</i> “AF2”, <i>Populus</i> × <i>euramericana</i> clone I-214	<i>Sorghum Adams</i> , <i>Canabis sativa</i> , <i>Carthamnus tinctorius</i> , <i>Malva verticillata</i> L., <i>Melilotus alba</i> L., <i>Arrhenatherum elatius</i> L., <i>Festuca arundinacea</i> L., <i>Agrostis gigantea</i> L., - <i>Phalaris arundinacea</i> L.; <i>Rumex patientia</i> × <i>Rumex tianshanicus</i> , <i>Helianthus tuberosus</i> L., <i>Silphium perfoliatum</i> L., <i>Miscanthus giganteus</i> L, <i>Populus japonica</i> , <i>Salix</i>	Carex, River club sedge, Common reed, Jointed twig rush, Cumbunji, Typha, Bullrush
Main phytotechnology applied	Phytoextraction /rhizodegradation	Phytoextraction and phytostabilization	Phytostabilisation
Nearby sensitive receptors	No	no special area	
Local environment	rural	rural	natural, rural area
Are the plants harvested, collected, etc?	No	yes	

Note: La tabella riporta le informazioni raccolte nel corso dell'indagine relativa alle attività in atto nel campo del fitorisanamento. Le informazioni sono utili ad individuare sia i potenziali utenti finali di PhytERA, sia alcuni dei dati necessari per sviluppare la metodologia di valutazione del rischio ambientale oggetto della ricerca di dottorato.

Allegato 3.2 : Tabelle contenenti le domande del questionario elettronico, relativi codici e note.

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
a	01_matrix	01_descr	01_source	a1	Purpose of the trial	
a1	01_matrix	01_descr	01_source	b1.01.01	Type of matrix.	
b1.01.01	02_site	01_descr	01_source	b1.01.02	Plants establishment.	Indicate the date/period in which the plants were established on site.
b1.01.02	02_site	01_descr	01_source	b1.01.03	The site is located in:	
b1.01.03	02_site	01_descr	01_source	b1.01.04	Local environment:	
b1.01.04	02_site	01_descr	01_source	b1.01.05	Area size of the whole site	In mq
b1.01.05	02_site	01_descr	01_source	b1.01.06	Size of area cultivated for remediation.	In mq
b1.01.06	02_site	01_descr	01_source	b1.01.07	Information on hydrography of the interested area.	Please indicate if maps, related to the hydrographic network, can be provided.
b1.01.07	02_site	01_descr	01_source	b1.01.08	Describe the morphology and climatic characteristics of the site.	Please provide climatic data such as rainfall, direction and speed of prevailing wind, especially during flowering season. Morphology of the area around the release site is important.
b1.01.08	02_site	01_descr	01_source	b1.02.01	Soil type and features.	Define soil permeability, nappe depth, chemical and physical properties of soil.
b1.02.01	03_contam	01_descr	01_source	b1.02.02	Is the contaminant an organic compound?	
b1.02.02	03_contam	01_descr	01_source	b1.02.03	Is the contaminant an inorganic compound or element?	
b1.02.03	03_contam	01_descr	01_source	b1.02.04	Is the contaminant a metal?	
b1.02.04	03_contam	01_descr	01_source	b1.03.01	Indicate the main contaminant/s	
b1.03.01	04_phyto	01_descr	01_source	b1.03.02	Is the phytotechnology applied phytodegradation/phytotransformation?	Contaminant uptake and its breakdown within plant tissue.

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
b1.03.02	04_phyto	01_descr	01_source	b1.03.03	Is the phytotechnology applied phytoextraction?	Contaminant uptake, accumulation and/or degradation, into plant tissues, for removal.
b1.03.03	04_phyto	01_descr	01_source	b1.03.04	Is the phytotechnology applied phytostabilisation?	The use of vegetation to contain soil contaminants in situ.
b1.03.04	04_phyto	01_descr	01_source	b1.03.05	Is the phytotechnology applied phytovolatilisation?	Contaminant uptake and volatilization via plant transpiration.
b1.03.05	04_phyto	01_descr	01_source	b1.03.06	Is the phytotechnology applied rhizodegradation?	Enhancement of biodegradation in the root zone by microorganisms.
b1.03.06	04_phyto	01_descr	01_source	b1.03.07	Is the phytotechnology applied rhizofiltration?	Contaminant absorption in roots for containment or removal.
b1.03.07	04_phyto	01_descr	01_source	b1.03.08	Is the plant's CTR value (capacity of translocation of the contaminant from soil to roots) high?	If this value is high, the roots shall be extirpated and soil monitored
b1.03.08	04_phyto	01_descr	01_source	b1.04.01	Is the plant's CTI value (capacity of contaminant translocation from roots to aerial parts) high?	If a positive answer is given to this and previous question pollen and leaves may be contaminated in case the contaminant is a metal.
b1.04.01	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.02	Plant identity.	Indicate common and scientific names of the plants (including cultivar, hybrid or clone).
b1.04.02	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.03	The used plant is	
b1.04.03	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.04	Is the tree deciduous?	
b1.04.04	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.05	Root apparatus.	
b1.04.05	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.06	Fruit type.	Kernel, silique, achene, berry, drupe, pepo, schizocarp, etc.
b1.04.06	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.07	Brief description of phenological characteristic.	Phenology refers to recurring plant life cycle stages, especially their timing and relationships with weather and climate.(modified from USA National Phenology Network).

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
b1.04.07	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.08	Does the plant contain or produce toxins, antinutrients and/or allergens?	This information helps the assessment of potential risks.
b1.04.08	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.09	Indicate any toxins, antinutrients and/or allergens present in the plant.	This information helps the assessment of potential risks.
b1.04.09	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.10	Is the plant used alien with respect to the receiving environment?	This information helps the assessment of potential risks.
b1.04.10	05_plant	01_descr	01_source	c1.01.01	Does the plant produce flowers during the release period?	Aspect to be monitored during trial.
b1.04.11	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.12	Specify reasons why the plant does not produce flowers.	
b1.04.12	05_plant	01_descr	01_source	c1.03.01	Does the plant produce fruits during the release period?	
b1.04.13	05_plant	01_descr	01_source	c1.05.01	Does the plant develop vegetative propagation organs?	
b1.04.14	05_plant	01_descr	01_source	c1.07.ctr1	Are the cultural residues harvested ?	The question refers to cultural residues produced during and at the end of the phytoremediation process
b1.04.15	05_plant	01_descr	01_source	c1.08.01	Are the plants harvested?	
b1.04.16	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.17	During the phytoremediation process, is the contaminant accumulated in the above ground or below ground parts of the used plant?	This information helps the assessment of potential risks.
b1.04.17	05_plant	01_descr	01_source	c1.09.01	Has the remediation process caused changes to the bromatological composition in the above ground or below ground parts of the used plant ?	This information helps the assessment of potential risks.
b1.04.18	05_plant	01_descr	01_source	c1.10.01	Before and during the phytoremediation process are soil amendments used?	
b1.04.ctr1	05_plant	01_descr	01_source	c1.08.02	verification of b1.04.14	
b1.04.ctr2	05_plant	01_descr	01_source	b1.04.18	verification of b1.04.16	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
c1.01.01	01_pollDf	01_descr	02_pollen	c1.01.02	Are any new proteins, or other substances, produced or accumulated in the pollen in relation to the phytotechnology process?	Aspect to be monitored during trial.
c1.01.02	01_pollDf	01_descr	02_pollen	c1.01.03	Description of pollen characteristics.	Describe: size, weight and quantity produced per plant, pollen viability.
c1.01.03	01_pollDf	01_descr	02_pollen	c1.01.04	Indicate autogamy and allogamy percentages.	If the plant has high autogamy percentage the risk is lower.
c1.01.04	01_pollDf	01_descr	02_pollen	c1.01.05	Can pollen be dispersed by cultivation practices, wind, insects or other organisms?	
c1.01.05	01_pollDf	01_descr	02_pollen	c1.01.06	Factors influencing pollen dispersal.	Indicate any factors in the field favouring pollen dispersal, e.g. humidity rate, extreme weather condition, presence of water channels or beehives.
c1.01.06	01_pollDf	01_descr	02_pollen	c1.01.07	Work and treatments during flowering phase.	Describe cultivation practices which might favour pollen dispersal.
c1.03.01	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.02	Following the phytoremediation process, are there any substances toxic to consumers in the fruit/seed?	
c1.03.02	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.03	Fruit type.	
c1.03.03	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.04	Are the fruits harvested before their maturation period?	
c1.03.04	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.05	Are the fruits harvested ?	
c1.03.05	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.06	Can fruits/seeds be dispersed by wind, water, water channel or runoff?	Fruits/seeds can be dispersed by water, thus the presence of water channels and runoff would improve the risk of seed dispersal.
c1.03.06	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.07	Can fruits/seeds be dispersed by animals?	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
c1.03.07	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.08	Are any fruits/seeds-dispersing animal present in the site?	
c1.03.08	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.09	Which?	
c1.03.09	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.10	Could any cultivation practices be responsible for fruits/seeds dispersing?	
c1.03.10	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.11	Describe cultivation practices which might favour fruits/seeds dispersal.	Any practice performed after seeds appear on the plant must be taken into consideration.
c1.03.11	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	d1.03.01	Precautionary measures adopted to reduce fruits/seeds dispersal.	Indicate the type and efficacy of measures adopted (e.g. physical barriers).
c1.03.ctr1	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.04.01	verification of b1.04.09	
c1.03.ctr2	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.04.01	verification of b1.04.09	
c1.03.ctr3	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.05	verification of c1.03.02	
c1.03.ctr4	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.04.01	verification of b1.04.09	
c1.03.ctr5	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.ctr6	verification of c1.03.05	
c1.03.ctr6	01_fruitDf	01_descr	04_fruit	c1.03.ctr7	verification of c1.03.06	
c1.04.01	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.02	Are the fruits/seeds produced in the field viable?	
c1.04.02	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.03	Maturation period.	Indicate time period in which fruits are ripe.
c1.04.03	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.04	Have fruits/seeds a dormancy period	A positive or a don't know answer raise the risk level
c1.04.04	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.05	Maximum duration of dormancy.	Give maximum estimated dormancy period in months

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
c1.04.05	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.06	Can the fruits/seeds survive under particular environmental conditions?	A positive or a don't know answer raise the risk level
c1.04.06	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.07	Duration of survival.	Give maximum survival duration under diverse possible environmental conditions.
c1.04.07	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.08	Does the crop produce seed bank?	A positive or a don't know answer raise the risk level
c1.04.08	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.09	Factors influencing seed germination.	
c1.04.09	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.10	Can fruits/seeds be dispersed by wind, water?	
c1.04.10	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.11	Are any fruit/seeds-dispersing animal (including insects) present?	In reference to release site.
c1.04.11	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.12	Could any cultivation practices be responsible for dispersing fruits/seeds?	Any practice effectuated after fruits/seeds appear on the plant must be taken into consideration.
c1.04.13	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.14	Are the fruits/seeds transported away from the field?	
c1.04.14	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	d1.04.01	Precautionary measures adopted to reduce fruits/seeds dispersal.	Indicate the type and efficacy of measures adopted (e.g. physical barriers).
c1.04.ctr1	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.ctr2	verification of c1.04.09	
c1.04.ctr2	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	c1.04.ctr3	verification of c1.04.10	
c1.04.ctr3	01_fruitAD	01_descr	05_fruit_as	d1.04.01	verification of c1.04.11	
c1.05.01	01_vegPROD	01_descr	06_veg_prop_org	c1.05.02	Description of vegetative propagation organs.	
c1.05.02	01_vegPROD	01_descr	06_veg_prop_org	c1.05.03	Following the bioremediation process, are there any substance toxic to consumers in the vegetative propagation organs?	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
c1.05.03	01_vegPrOD	01_descr	06_veg_prop_org	c1.05.04	Are there any bromatological changes in vegetative propagation organs due to phytoremediation process?	Due to contaminant's indirect effects on plant metabolism.
c1.05.04	01_vegPrOD	01_descr	06_veg_prop_org	c1.05.05	Are vegetative propagation organs harvested during the phytoremediation process?	
c1.05.05	01_vegPrOD	01_descr	06_veg_prop_org	d1.05.01	Are vegetative propagation organs harvested at the end of the phytoremediation process?	
c1.05.ctr1	01_vegPrOD	01_descr	06_veg_prop_org	c1.05.04	verification of c1.05.02	
c1.05.ctr2	01_vegPrOD	01_descr	06_veg_prop_org	d1.05.01	verification of c1.05.04	
c1.06.01	01_vegPOAD	01_descr	07_veg_prop_org_as	c1.06.02	Can vegetative propagation organs be dispersed naturally or by agronomic practices?	
c1.06.02	01_vegPOAD	01_descr	07_veg_prop_org_as	c1.06.03	Describe the natural methods (animal or water dispersal, etc.) most likely to be responsible for dispersal of vegetative propagation organs.	
c1.06.03	01_vegPOAD	01_descr	07_veg_prop_org_as	c1.06.04	Environmental conditions influencing dispersal of vegetative propagation organs.	
c1.06.04	01_vegPOAD	01_descr	07_veg_prop_org_as	c1.06.05	Describe the release site's morphology and climatic characteristics.	Highlight important weather events such as hail, floods, etc.
c1.06.05	01_vegPOAD	01_descr	07_veg_prop_org_as	c1.06.06	Indicate presence, at site, of organisms involved in dispersion of vegetative propagation organs .	
c1.06.06	01_vegPOAD	01_descr	07_veg_prop_org_as	c1.06.07	Factors influencing the emergence of new individuals from vegetative propagation organs.	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
c1.06.07	01_vegPOAD	01_descr	07_veg_prop_org_as	c1.06.08	Precautionary measures adopted.	The question refers to natural dispersal factors. Indicate type and efficacy
c1.06.08	01_vegPOAD	01_descr	07_veg_prop_org_as	c1.06.09	Describe the cultivation practices most responsible for dispersal of vegetative propagation organs.	
c1.06.09	01_vegPOAD	01_descr	07_veg_prop_org_as	d1.06.01	Precautionary measures adopted.	The question refers to agronomic practices. Indicate type and efficacy
c1.07.01	01_cultRDf	01_descr	08_cult_res	c1.07.02	Are the leaves harvest?	
c1.07.02	01_cultRDf	01_descr	08_cult_res	c1.07.03	Do residues contain viable vegetative propagation organs?	
c1.07.03	01_cultRDf	01_descr	08_cult_res	c1.07.04	Precautionary measures adopted to control sprouting.	Indicate type and efficacy of measures adopted.
c1.07.04	01_cultRDf	01_descr	08_cult_res	c1.07.05	Is the contaminant present in cultural residues?	This information helps the assessment of potential risks.
c1.07.05	01_cultRDf	01_descr	08_cult_res	d1.07.01	Has the remediation process caused changes to the bromatological composition of plant residues?	
c1.07.ctr1	01_cultRDf	01_descr	08_cult_res	c1.07.02	verification of b1.04.02	
c1.07.ctr2	01_cultRDf	01_descr	08_cult_res	c1.07.02	verification of b1.04.03	
c1.08.01	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.02	Are the plants stored?	
c1.08.02	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.03	Are there other plant species in the site?	
c1.08.03	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.04	Are these plants alien species?	
c1.08.04	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.05	Are these plants harvested too?	
c1.08.05	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	e1.08.01	Are these plants stored too?	
c1.08.06	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.07	Is the contaminant present in the harvested and stored material?	
c1.08.07	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.08	Parts of plant which are harvested.	This information helps the

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
						assessment of potential risks
c1.08.08	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.09	Harvest method.	This information helps the assessment of potential risks
c1.08.09	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.10	Quantity of harvested and transported seeds.	This information helps the assessment of potential risks
c1.08.10	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.11	Quantity of harvested and transported roots.	This information helps the assessment of potential risks
c1.08.11	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	c1.08.12	Quantity of harvested and transported plants.	This information helps the assessment of potential risks
c1.08.12	01_harvDf	01_descr	10_harv_stor	d1.08.01	Storage method.	This information helps the assessment of potential risks.
c1.09.01	01_pOPDf	01_descr	11_plant_org_part	c1.09.02	Which part?	
c1.09.02	01_pOPDf	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.02	Experimental data on modifications.	
c1.10.01	01_soilAmD	01_descr	12_soil_amend	c1.10.02	Description of cultivation method.	Please give information specially on the use of soil amendments.
c1.10.02	01_soilAmD	01_descr	12_soil_amend	c1.10.03	Have tillage management procedures been applied?	Tillage affects soil contaminant stability.
c1.10.03	01_soilAmD	01_descr	12_soil_amend	c1.10.04	Are soil amendments used to promote plant growth?	
c1.10.04	01_soilAmD	01_descr	12_soil_amend	c1.10.05	Which ones?	
c1.10.05	01_soilAmD	01_descr	12_soil_amend	c1.10.06	Are plant growth promoter bacteria used?	
c1.10.06	01_soilAmD	01_descr	12_soil_amend	c1.10.07	Which ones?	
c1.10.07	01_soilAmD	01_descr	12_soil_amend	c1.10.08	Are plant growth promoter mycorrhizal fungi used?	
c1.10.08	01_soilAmD	01_descr	12_soil_amend	c1.10.ctr1	Which ones?	
c1.10.ctr2	01_soilAmD	01_descr	12_soil_amend	d1.10.01	verification of c1.10.05	
d1.01.01	02_pollenR	01_descr	02_pollen	d1.01.02	Are workers protected from exposure to pollen?	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
d1.01.02	02_pollenR	01_descr	02_pollen	d1.01.03	Are there human settlements and activities within distances reachable by pollen?	
d1.01.03	02_pollenR	01_descr	02_pollen	d1.01.04	Are there any organisms which may ingest the pollen of the plant under study present within reachable distances?	
d1.01.04	02_pollenR	01_descr	02_pollen	d1.01.ctr1	Description of these organisms.	Indicate species, trophic level occupied and if it is a sensible species or not.
d1.01.05	02_pollenR	01_descr	02_pollen	d1.01.ctr1	Are there any pollinating insects populations at the release site?	e.g. hives
d1.01.ctr1	02_pollenR	01_descr	02_pollen	d1.01.ctr2	verification of b1.03.07	
d1.01.ctr2	02_pollenR	01_descr	02_pollen	e1.01.03	verification of b1.03.08	
d1.02.01	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.02	Are any sexually compatible cultivations nearby the field under study?	The question refers to cultivations sexually compatible with the plant species used for the phytoremediation process.
d1.02.02	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.03	Flowering overlap between the fields.	If more than 1 give overlap of flowering periods of each field.
d1.02.03	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.04	Fertilisation efficiency.	Experimental and/or literature data.
d1.02.04	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.05	Following fertilisation are viable seeds produced?	Experimental and/or literature data.
d1.02.05	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.06	Are there any sexually compatible wild species present within reachable distances from the plant pollen under study?	The question refers to species sexually compatible with for the phytoremediation process. Report maps if available.
d1.02.06	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.07	Is there more than one species?	
d1.02.07	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.08	Distances.	Experimental and/or literature data.

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
d1.02.08	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.09	List the species	
d1.02.09	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.10	Flowering overlap.	If more than 1 give overlap of flowering periods of each species.
d1.02.10	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	d1.02.11	Fertilisation efficiency.	
d1.02.11	01_pollAR	01_descr	03_pollen_as	b1.04.12	Following fertilisation with the plant pollen under study are viable seeds produced?	
d1.03.01	02_fruit_r	01_descr	04_fruit	d1.03.02	Are the fruits/seeds usually used as food for human consumption?	e.g . Corn cob
d1.03.02	02_fruit_r	01_descr	04_fruit	d1.03.03	Are the fruits/seeds usually used as feed (animal nutrition)?	
d1.03.03	02_fruit_r	01_descr	04_fruit	e1.03.02	Are there any organisms that usually feeds on the fruits/seeds nearby the field under study?	
d1.04.01	02_fruitAR	01_descr	05_fruit_as	d1.04.02	Are any cultivated fields present at distances reachable by fruits/seeds?	
d1.04.02	02_fruitAR	01_descr	05_fruit_as	d1.04.03	Does the natural habitat within distances reachable by the fruits/seeds enable the survival of the plant specie used in the phytoremediation process?	
d1.04.03	02_fruitAR	01_descr	05_fruit_as	b1.04.13	Are there any organisms that usually feeds on the fruits/seeds, nearby the field under study?	
d1.05.01	02_vegPOR	01_descr	06_veg_prop_org	d1.05.02	Are there potential consumers of vegetative propagation organs in soil microflora populations?	
d1.05.02	02_vegPOR	01_descr	06_veg_prop_org	e1.05.01	Are there potential consumers of vegetative propagation organs in edaphic fauna?	Edaphic fauna means soil micro and meso fauna.
d1.05.03	02_vegPOR	01_descr	06_veg_prop_org	d1.05.04	Can animals feed on vegetative propagation organs?	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
d1.05.04	02_vegPOR	01_descr	06_veg_prop_org	e1.05.07	Are there any organisms which might feed on vegetative propagation organs present in areas different by the research site?	The question take into account the potential dispersion of vegetative propagation organs outside the research site.
d1.05.ctr1	02_vegPOR	01_descr	06_veg_prop_org	d1.05.03	verification of d1.05.01	
d1.05.ctr2	02_vegPOR	01_descr	06_veg_prop_org	e1.05.07	verification of d1.05.03	
d1.06.01	02_vegPOAR	01_descr	07_veg_prop_org_as	d1.06.02	Are there any cultivated fields at distances potentially reachable by vegetative propagation organs?	
d1.06.02	02_vegPOAR	01_descr	07_veg_prop_org_as	d1.06.03	Does the natural habitat within distances reachable by vegetative propagation organs, enable the survival of the plant species used in the phytoremediation process?	
d1.06.03	02_vegPOAR	01_descr	07_veg_prop_org_as	e1.06.08	Are there any organisms that could feed on vegetative propagation organs, nearby the site?	
d1.07.01	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	d1.07.02	Can the presence of contaminant or bromatological changes in plant tissues affect fauna feeding on cultural residues?	
d1.07.02	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	e1.07.05	Precautionary measures adopted to avoid animal feeding.	
d1.07.03	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	d1.07.04	Can the presence of contaminant or the bromatological changes in cultural residues, affect edaphic fauna ?	Edaphic fauna is soil micro and meso fauna. The question refers specifically to edaphic fauna involved in cultural residues decomposition.
d1.07.04	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	d1.07.05	Precautionary measures adopted.	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
d1.07.05	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	d1.07.06	Can the presence of contaminant or the bromatological changes in cultural residues confer selective advantages to any soil organisms ?	
d1.07.06	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	d1.07.07	Please give experimental and/or literature data to confirm this assertion	
d1.07.07	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	d1.07.08	Could the contaminant contained in the residues be released in to the soil?	
d1.07.08	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	e1.07.07	Could the soil microflora be affected by the cultural residues composition changes?	
d1.07.09	02_cultRAR	01_descr	09_cult_res_as	e1.07.01	Is cultivation of sexually compatible plants, on the site, planned for a time when the emergence from vegetative propagation is still possible?	The question refers specifically to species sexually compatible with the plant used in the phytoremediation process.
d1.07.ctr1	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	b1.04.15	verification of c1.07.04	
d1.07.ctr2	02_cultRR	01_descr	08_cult_res	d1.07.09	verification of b1.04.09 verification of b1.04.09	
d1.08.01	02_harvSR	01_descr	10_harv_stor	d1.08.02	Are the stored materials placed in an isolated place?	Meaning that animals or men would not come in contact with it and isolated by the soil.
d1.08.02	02_harvSR	01_descr	10_harv_stor	d1.08.04	Can the harvested stored materials release the contaminant into the environment?	
d1.08.03	02_harvSR	01_descr	10_harv_stor	d1.08.04	Describe the harvested-stocked materials disposal?	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
d1.08.04	02_harvSR	01_descr	10_harv_stor	e1.08.10	During and following the materials disposal could the contaminant be released into the environment?	
d1.08.ctr1	02_harvSR	01_descr	10_harv_stor	b1.04.16	verification of c1.08.03	
d1.09.01	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.02	Can any organism feed on the plant?	
d1.09.02	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.03	Main plant consumers.	
d1.09.03	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.04	Can the presence of contaminant in plant tissues or bromatological changes affect consumers?	Consumers means fauna and entomofauna feeding on plant tissues
d1.09.04	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.05	Experimental data on absence of toxicity.	
d1.09.05	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.06	Following the phytoremediation process, are there any composition changes to lysates and/or root exudates?	
d1.09.06	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.07	Does the used plant have any symbiotic relationships at roots level?	
d1.09.07	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.08	Describe main symbiotic relationships.	Experimental and/or literature data.
d1.09.08	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.09	Could the contaminant cause changes to interactions between the used plant and symbiotic organisms?	
d1.09.09	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.10	Can the presence of contaminant in soil or in the plant be a selective advantage for any symbiotic organisms?	
d1.09.10	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.11	Can the plant be attacked by pathogens or parasites?	
d1.09.11	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.12	Description of main pathogens and parasites.	Experimental and/or literature data.
d1.09.12	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.13	Could the presence of contaminant in soil or in the plant cause changes to interactions between the plant and	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
					pathogens/parasites?	
d1.09.13	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	d1.09.14	Could the accumulation of contaminant in roots be an advantage to some rhizosphere organisms?	
d1.09.14	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	e1.09.09	Could the accumulation of contaminant in roots cause changes to interactions between the plant and rhizosphere organisms?	
d1.09.ctr1	02_pIOPR	01_descr	11_plant_org_part	b1.04.18	verification of d1.09.13	
d1.10.01	02_soilAmR	01_descr	12_soil_amend	d1.10.02	Could the growth promoter affects the soil populations of other organisms?	
d1.10.02	02_soilAmR	01_descr	12_soil_amend	d1.10.03	Are soil amendments used to stabilize or reduce bioavailability the contaminant?	This information helps the assessment of potential risks
d1.10.03	02_soilAmR	01_descr	12_soil_amend	e1.10.07	Are soil amendments used to increase contaminant bioavailability?	This information helps the assessment of potential risks
e1.01.01	02_pollenR	02_effects	02_pollen	d1.01.02	Potential toxic/allergenic effects on workers. (d)	
e1.01.02	02_pollenR	02_effects	02_pollen	d1.01.03	Potential effects on human population. (i)	
e1.01.03	02_pollenR	02_effects	02_pollen	e1.01.04	Potential changes to consumer populations. (d)	Consumers are insects or animals feeding on pollen
e1.01.04	02_pollenR	02_effects	02_pollen	d1.01.05	Potential changes to trophic chains. (i)	These are indirect or long term effects.
e1.01.05	02_pollenR	02_effects	02_pollen	e1.01.06	Potential effects on efficiency of pollination. (d)	
e1.01.06	02_pollenR	02_effects	02_pollen	e1.01.ctr1	Potential changes to biodiversity. (i)	These are indirect or long term effects.

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
e1.01.ctr1	02_pollenR	02_effects	02_pollen	d1.02.01	verification of b1.04.09	
e1.02.01	01_pollAR	02_effects	03_pollen_as	e1.02.02	Potential changes to agricultural practice. (i)	
e1.02.02	01_pollAR	02_effects	03_pollen_as	d1.02.05	Potential changes to agrobiodiversity. (i)	
e1.02.03	01_pollAR	02_effects	03_pollen_as	e1.02.04	Potential unforeseen dispersion of the plant species in the environment. (d)	This effect takes into account the potential dispersion and establishing of the plant species used in the phytoremediation process. This effect is considered when an alien species is used.
e1.02.04	01_pollAR	02_effects	03_pollen_as	e1.02.05	Potential colonisation of natural habitats. (d)	
e1.02.05	01_pollAR	02_effects	03_pollen_as	e1.02.06	Potential changes to biodiversity. (i)	
e1.02.06	01_pollAR	02_effects	03_pollen_as	e1.02.07	Potential increase in alien species population. (d)	
e1.02.07	01_pollAR	02_effects	03_pollen_as	b1.04.12	Potential pollution of natural genetic resources. (i)	
e1.03.01	02_fruit_r	02_effects	04_fruit	d1.03.02	Potential food chain contamination. (d)	
e1.03.02	02_fruit_r	02_effects	04_fruit	e1.03.03	Potential changes to consumer populations. (d)	
e1.03.03	02_fruit_r	02_effects	04_fruit	e1.03.04	Potential changes to trophic chains. (i)	
e1.03.04	02_fruit_r	02_effects	04_fruit	e1.03.ctr1	Potential changes to biodiversity. (i)	
e1.03.ctr1	02_fruit_r	02_effects	04_fruit	c1.04.01	verification of b1.04.09	
e1.04.01	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	e1.04.02	Potential increase in weeds. (d)	
e1.04.02	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	e1.04.03	Potential changes to agricultural practice. (i)	
e1.04.03	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	d1.04.02	Potential changes to agrobiodiversity. (i)	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
e1.04.04	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	e1.04.05	Potential unforeseen dispersion of the plant species in the environment. (d)	This effect takes into account the potential dispersion and establishing of the plant species used in the phytoremediation process. This effect is considered when an alien species is used.
e1.04.05	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	e1.04.06	Potential pollution of natural genetic resources. (d)	
e1.04.06	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	e1.04.07	Potential changes to agrobiodiversity. (i)	
e1.04.07	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	e1.04.08	Potential colonisation of natural habitats. (i)	
e1.04.08	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	d1.04.03	Potential changes to biodiversity. (i)	
e1.04.09	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	e1.04.10	Potential changes to trophic chains. (i)	
e1.04.10	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	e1.04.11	Potential changes to consumer populations. (i)	
e1.04.11	02_fruitAR	02_effects	05_fruit_as	b1.04.13	Potential changes to biodiversity. (i)	
e1.05.01	02_vegPOR	02_effects	06_veg_prop_org	e1.05.02	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	Inter and intra-specific variability. Report available experimental and/or bibliographic data.
e1.05.02	02_vegPOR	02_effects	06_veg_prop_org	e1.05.03	Potential changes to edaphic fauna biodiversity. (d)	
e1.05.03	02_vegPOR	02_effects	06_veg_prop_org	e1.05.04	Potential changes to soil fertility. (i)	
e1.05.04	02_vegPOR	02_effects	06_veg_prop_org	e1.05.05	Potential changes to agricultural practice. (i)	
e1.05.05	02_vegPOR	02_effects	06_veg_prop_org	e1.05.06	Potential changes to agrobiodiversity. (i)	
e1.05.06	02_vegPOR	02_effects	06_veg_prop_org	d1.05.03	Potential changes to biodiversity. (i)	
e1.05.07	02_vegPOR	02_effects	06_veg_prop_org	e1.05.08	Potential changes to consumer populations. (d)	Those animals (including insects) that feed on veg.prop org.
e1.05.08	02_vegPOR	02_effects	06_veg_prop_org	e1.05.ctr1	Potential changes to trophic chains. (i)	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
e1.05.ctr1	02_vegPOR	01_descr	06_veg_prop_org	c1.06.01	verification of b1.04.09	
e1.06.01	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	e1.06.02	Potential changes to agrobiodiversity. (d)	
e1.06.02	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	e1.06.03	Potential changes to agricultural practice. (i)	
e1.06.03	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	e1.06.04	Potential food chain contamination. (i)	
e1.06.04	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	e1.06.05	Potential unforeseen dispersion of the plant species in the environment. (d)	This effect takes into account the potential dispersion and establishing of the plant species used in the phytoremediation process. This effect is considered when an alien species is used.
e1.06.05	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	e1.06.06	Potential colonisation of natural habitats. (d)	
e1.06.06	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	e1.06.07	Potential changes to biodiversity. (i)	
e1.06.07	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	e1.06.08	Potential pollution of natural genetic resources. (i)	
e1.06.08	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	e1.06.09	Potential changes to consumer populations. (d)	
e1.06.09	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	e1.06.10	Potential changes to trophic chains. (i)	
e1.06.10	02_vegPOAR	02_effects	07_veg_prop_org_as	b1.04.14	Potential changes to biodiversity. (i)	
e1.07.01	02_cultRAR	02_effects	08_cult_res	e1.07.02	Potential unforeseen dispersion of the plant species in the environment. (d)	This effect takes into account the potential dispersion and establishing of the plant species used in the phytoremediation process. This effect is considered when an alien species is used.

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
e1.07.02	02_cultRAR	02_effects	08_cult_res	e1.07.03	Potential colonisation of natural habitats. (d)	
e1.07.03	02_cultRAR	02_effects	08_cult_res	e1.07.04	Potential changes to biodiversity. (i)	
e1.07.04	02_cultRAR	02_effects	08_cult_res	b1.04.15	Potential pollution of natural genetic resources. (i)	
e1.07.05	02_cultRR	02_effects	08_cult_res	e1.07.06	Potential changes in fauna populations biodiversity. (d)	Due to contaminant presence in plant tissues and bromatological changes.
e1.07.06	02_cultRR	02_effects	08_cult_res	d1.07.03	Potential changes to trophic chains. (i)	
e1.07.07	02_cultRR	02_effects	08_cult_res	e1.07.08	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	
e1.07.08	02_cultRR	02_effects	08_cult_res	e1.07.09	Potential changes to edaphic fauna biodiversity. (d)	Edaphic fauna is soil micro and meso fauna.
e1.07.09	02_cultRR	02_effects	08_cult_res	d1.07.ctr2	Potential changes to soil fertility. (d)	
e1.08.01	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	e1.08.02	Potential changes to agro-biodiversity. (d)	Indirect effects deriving from changes to agricultural practice.
e1.08.02	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	e1.08.03	Potential colonisation of natural habitats. (d)	In case an alien species is used.
e1.08.03	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	e1.08.04	Potential changes to biodiversity. (i)	In case an alien species is used.
e1.08.04	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	b1.04.16	Potential changes to agricultural practice. (i)	In case an alien species is used.
e1.08.05	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	e1.08.06	Potential changes to consumer populations. (d)	
e1.08.06	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	e1.08.07	Potential changes to trophic chains. (i)	
e1.08.07	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	e1.08.08	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	
e1.08.08	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	e1.08.09	Potential food chain contamination. (i)	
e1.08.09	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	d1.08.04	Potential effects on human population. (i)	

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
e1.08.10	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	e1.08.11	Potential release of the contaminant into different environmental matrices. (i)	
e1.08.11	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	d1.08.ctr1	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	
e1.08.ctr1	02_harvSR	02_effects	10_harv_stor	b1.04.16	ctrl Q on c1.08.01	
e1.09.01	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.09.02	Potential changes to consumer populations. (d)	direct effect
e1.09.02	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	d1.09.05	Potential changes to trophic chains. (i)	Indirect effect.
e1.09.03	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.09.04	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	Inter and intra-specific variability. Report available experimental and/or literature data.
e1.09.04	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.09.05	Potential changes to the plant development. (i)	
e1.09.05	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	d1.09.10	Potential changes to plant productivity. (i)	
e1.09.06	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.09.07	Potential changes to pathogen host range. (d)	direct effect
e1.09.07	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.09.08	Potential development of resistant pathogen populations. (d)	direct effect
e1.09.08	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	d1.09.13	Potential development of new pathogens. (i)	indirect effect
e1.09.09	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.09.10	Potential changes to rhizosphere abiotic component. (d)	direct effect
e1.09.10	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.09.11	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	Inter and intra-specific variability. Report available experimental and/or literature data.
e1.09.11	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.09.12	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	Inter and intra-specific variability. Report available experimental and/or literature data.
e1.09.12	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.09.13	Potential changes to biodiversity. (i)	Indirect effect.

codice	cod_gruppo	cod_sottogruppo	cod_oggetto	next_qry	testo	note
e1.09.13	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	b1.04.18	Potential changes to plant development due to contaminant concentration. (i)	Indirect effect. Could lead to a less effectiveness of phytoremediation process
e1.10.01	02_soilAmR	02_effects	12_soil_amend	e1.10.02	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	direct
e1.10.02	02_soilAmR	02_effects	12_soil_amend	e1.10.03	Potential changes in soil fertility. (i)	Indirect effect.
e1.10.03	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.10.04	Potential changes to the plant development. (i)	Indirect effect.
e1.10.04	02_pIOPR	02_effects	11_plant_org_part	e1.10.05	Potential changes to plant productivity.(i)	Indirect effect.
e1.10.05	02_soilAmR	02_effects	12_soil_amend	e1.10.06	Potential changes to agricultural practice. (i)	Indirect effect.
e1.10.06	02_soilAmR	02_effects	12_soil_amend	d1.10.02	Potential changes to biodiversity. (i)	Indirect effect.
e1.10.07	02_soilAmR	02_effects	12_soil_amend	e1.10.08	Potential changes to plant development due to contaminant concentration. (i)	Indirect effect. Could lead to a less effectiveness of phyto rem. Process
e1.10.08	02_soilAmR	02_effects	12_soil_amend	end	Potential increase in leachate . (i)	

Note: Le tabelle riportano le informazioni relative ai codici assegnati ad ogni domanda e risposta contenuta nel questionario elettronico di PhytERA. I codici sono stati utilizzati per la compilazione delle *form* descritte nel paragrafo 3.3.3. In colonna "codice" è riportato il codice univoco di identificazione della domanda, in colonna "cod_gruppo" i codici da inserire nella *form Groups* dell'applicazione, in colonna cod_sottogruppo i codici da inserire nella *form subgroups*, in colonna cod_oggetto i codici inseriti nella *form Subject*. la colonna next_qry indica la domanda successiva a quella che si sta compilando, nella colonna testo è riportato il testo della domanda e nella colonna note sono riportate alcune informazioni utili alla compilazione del questionario. Tutte le informazioni saranno contenute nella *form Questions*.

Allegato 3.3: Form dell'applicazione sviluppata in Access.

Question structure

QUESTION Code: Control question

Question text:

Question notes:

Default following question:

Normal question Control question

MULTIPLE RESPONSE

Response code	Seq	Response	Next query
y	1	Yes	c1.03.10
n	2	No	c1.03.cir5
dk	3	Don't know	d1.03.01

Relevant question:

Response type:

Question length:

Subject:

Group:

Subgroup:

Record: 58 di 289

Subject code	Description	
01_source	source	<input type="checkbox"/>
02_pollen	pollen	<input type="checkbox"/>
03_pollen_as	pollen_AS	<input type="checkbox"/>
04_fruit	fruit	<input type="checkbox"/>
05_fruit_as	fruit_AS	<input type="checkbox"/>
06_veg_prop_org	veg_prop_organ	<input type="checkbox"/>
07_veg_prop_org_as	veg_prop_organ_AS	<input type="checkbox"/>
08_cult_res	cultural residues	<input type="checkbox"/>
09_cult_res_as	cultural residues_AS	<input type="checkbox"/>
10_harv_stor	harvested_stored	<input type="checkbox"/>
11_plant_org_part	plant_organ_part	<input type="checkbox"/>
12_soil_amend	soil_amendment	<input type="checkbox"/>
		<input type="checkbox"/>

Form, della applicazione Access, che gestisce le domande. Viene aperta cliccando sul pulsante *Questions* del pannello principale del questionario.

Form, della applicazione in Access, che gestisce i diversi Oggetti. Viene aperta cliccando sul pulsante *Subjects* del pannello principale del questionario.

Group Code	Description
01_matrix	matrix_characterisation
01_pollAR	pollen_AS_R
01_pollDf	pollen_DF
01_pOPDf	plant_organ_part_DF
01_soilAmD	soil_amendment_DF
01_vegPOAD	veg_prop_organ_AS_DF
01_vegPrOD	veg_prop_organ_DF
02_cultRAR	cultural_residues_AS_R
02_cultRR	cultular_residues R
02_fruit_r	fruit_R
02_fruitAR	fruit_AS_R
02_harvSR	harvested_stored_R
02_plOPR	plant_organ_part_R
02_pollenR	pollen_R
02_site	site_characterisation
02_soilAmR	soil_amendment_R
02_vegPOAR	veg_prop_organ_AS_R
02_vegPOR	veg_prop_organ_R
03_contam	contaminant_characterisation
04_phyto	phytotechnology charact.
05_plant	plant_characterisation

Record: 5 di 25

Form, della applicazione in Access, che gestisce i diversi gruppi. Viene aperta cliccando sul pulsante *Groups* del pannello principale del questionario.

Subgroup code	Description
01_descri	description
02_effects	effects

Record: 1 di 2

Form, della applicazione in Access, che gestisce i diversi sottogruppi. Viene aperta cliccando sul pulsante *Subgroups* del pannello principale del questionario.

Allegati al capitolo 4

Allegato 4.1: Rapporto Caso 1: Tree worst scenario

Respondent: caso 1

source

matrix_characterisation

description

a	Purpose of the trial	Phytostabilisation of hydrocarbon in soil
a1	Type of matrix.	Soil

site_characterisation

description

b1.01.01	Plants establishment.	April 2005, september 2013
b1.01.02	The site is located in:	Private Area
b1.01.03	Local environment:	Industrial
b1.01.04	Area size of the whole site	20
b1.01.05	Size of area cultivated for remediation.	A block 100x100 m
b1.01.06	Information on hydrography of the interested area.	Maps are available
b1.01.07	Describe the morphology and climatic characteristics of the site.	The area is a flat, with river nearby the site. It is a windy location with low humidity rate.
b1.01.08	Soil type and features.	High soil permeability, sandy soil.

contaminant charact.

description

b1.02.01	Is the contaminant an organic compound?	Yes
b1.02.02	Is the contaminant an inorganic compound or element?	No
b1.02.03	Is the contaminant a metal?	No
b1.02.04	Indicate the main contaminant/s	Toluene

phytotechnology charact.

description

b1.03.01	Is the phytotechnology applied phytodegradation/phytotransformation?	No
----------	---	----

b1.03.02	Is the phytotechnology applied phytoextraction?	No
b1.03.03	Is the phytotechnology applied phytostabilisation?	Yes
b1.03.04	Is the phytotechnology applied phytovolatilisation?	No
b1.03.05	Is the phytotechnology applied rhizodegradation?	Yes
b1.03.06	Is the phytotechnology applied rhizofiltration?	No
b1.03.07	Is the plant's CTR value (capacity of translocation of the contaminant from soil to roots) high?	Yes
b1.03.08	Is the plant's CTI value (capacity of contaminant translocation from roots to aerial parts) high?	No

*plant characterisation
description*

b1.04.01	Plant identity.	<i>Populus deltoides x maximowiczii</i> clone Eridano
b1.04.02	The used plant is	Tree
b1.04.03	Is the tree deciduous?	Yes
b1.04.04	Root apparatus.	Usually poplar very strong and invasive root systems.
b1.04.05	Fruit type.	The fruit is a two to four-valved dehiscent capsule, green to reddish-brown, mature in mid summer, containing numerous minute light brown seeds.
b1.04.06	Brief description of phenological characteristic.	Most poplars begin flowering between age 10 and 15 years, although flowering in <i>P. deltoides</i> may occur as early as age four. Dormancy during winte, flowers appear in May.
b1.04.07	Does the plant contain or produce toxins, antinutrients and/or allergens?	Yes
b1.04.08	Indicate any toxins, antinutrients and/or allergens present in the plant.	Allergens
b1.04.09	Is the plant used alien with respect to the receiving environment?	Yes
b1.04.10	Does the plant produce flowers during the release period?	Yes
b1.04.12	Does the plant produce fruits during the release period?	Yes
b1.04.13	Does the plant develop vegetative propagation organs?	Yes
b1.04.14	Are the cultural residues harvested ?	No
b1.04.15	Are the plants harvested?	No
b1.04.16	During the phytoremediation process, is the contaminant accumulated in the above ground or below ground parts of the used plant?	Yes
b1.04.17	Has the remediation process caused changes to the bromatological composition in the above ground or below ground parts of the used	Yes

	plant ?	
b1.04.18	Before and during the phytoremediation process are soil amendments used?	Yes

pollen
pollen_DF
description

c1.01.01	Are any new proteins, or other substances, produced or accumulated in the pollen in relation to the phytotechnology process?	Yes
c1.01.02	Description of pollen characteristics.	Pollen germinates within the first few hours after pollination.
c1.01.03	Indicate autogamy and allogamy percentages.	High allogamy
c1.01.04	Can pollen be dispersed by cultivation practices, wind, insects or other organisms?	Yes
c1.01.05	Factors influencing pollen dispersal.	Pollen is usually dispersed by wind.
c1.01.06	Work and treatments during flowering phase.	Site cleaning.
c1.01.07	Precautionary measures adopted to reduce pollen dispersal.	No measures adopted

pollen_R
description

d1.01.01	Are workers protected from exposure to pollen?	No
d1.01.02	Are there human settlements and activities within distances reachable by pollen?	Yes
d1.01.03	Are there any organisms which may ingest the pollen of the plant under study present within reachable distances?	Yes
d1.01.04	Description of these organisms.	Bees and butterflies.
d1.01.05	Are there any pollinating insects populations at the release site?	Yes

effects

e1.01.01	Potential toxic/allergenic effects on workers. (d)	To be monitored
e1.01.02	Potential effects on human population. (i)	Pollen allergies should be monitored
e1.01.03	Potential changes to consumer populations. (d)	To be studied
e1.01.04	Potential changes to trophic chains. (i)	To be monitored
e1.01.05	Potential effects on efficiency of pollination. (d)	No evidence, but ad hoc studied should be done
e1.01.06	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored

pollen_AS

pollen_AS_R
description

d1.02.01	Are any sexually compatible cultivations nearby the field under study?	Yes
d1.02.02	Flowering overlap between the fields.	60% of overlap
d1.02.03	Fertilisation efficiency.	No data
d1.02.04	Following fertilisation are viable seeds produced?	Yes
d1.02.05	Are there any sexually compatible wild species present within reachable distances from the plant pollen under study?	Yes
d1.02.06	Is there more than one species?	Yes
d1.02.07	Distances.	From 100 mt to 1,000 mt
d1.02.08	List the species	The wide distribution of many poplar species, frequent introgressive hybridisation, a long history of cultivation and ease of vegetative propagation has led to much confusion in the nomenclature of poplars. At the site diverse specie are present
d1.02.09	Flowering overlap.	Different range, more than 40%
d1.02.10	Fertilisation efficiency.	No data
d1.02.11	Following fertilisation with the plant pollen under study are viable seeds produced?	Don't know

effects

e1.02.01	Potential changes to agricultural practice. (i)	No changes have been identified
e1.02.02	Potential changes to agrobiodiversity. (i)	to be monitored
e1.02.03	Potential unforeseen dispersion of the plant species in the environment. (d)	Seed development proceeds rapidly and dispersal occurs in most species by midsummer, before the full growth of the leaves. Typically, the longevity of poplar seeds under natural conditions is quite short – about two to four weeks.
e1.02.04	Potential colonisation of natural habitats. (d)	The low viability of the seeds shouldn't allow colonisation of natural habitats
e1.02.05	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored
e1.02.06	Potential increase in alien species population. (d)	To be monitored
e1.02.07	Potential pollution of natural genetic resources. (i)	It is clear that migration of genes to other section members can occur easily throughout a very large portion of the North Temperate zone. Poplars are pioneering species and migrate quickly.

fruit

fruit_DF

description

c1.03.01	Following the phytoremediation process, are there any substances toxic to consumers in the fruit/seed?	Yes
c1.03.02	Fruit type.	Deiscent
c1.03.03	Are the fruits harvested before their maturation period?	No
c1.03.04	Are the fruits harvested ?	Yes
c1.03.05	Can fruits/seeds be dispersed by wind, water, water channel or runoff?	Yes
c1.03.06	Can fruits/seeds be dispersed by animals?	Yes
c1.03.07	Are any fruits/seeds-dispersing animal present in the site?	Yes
c1.03.08	Which?	Small roditors
c1.03.09	Could any cultivation practices be responsible for fruits/seeds dispersing?	Yes
c1.03.10	Describe cultivation practices which might favour fruits/seeds dispersal.	Coppicing refers to the cutting of a tree at the base of its trunk, resulting in the emergence of new shoots from the stump and/or roots
c1.03.11	Precautionary measures adopted to reduce fruits/seeds dispersal.	No measures adopted

fruit_R

description

d1.03.01	Are the fruits/seeds usually used as food for human consumption?	Yes
d1.03.02	Are the fruits/seeds usually used as feed (animal nutrition)?	Yes

effects

e1.03.01	Potential food chain contamination. (d)	No evidence
e1.03.02	Potential changes to consumer populations. (d)	No evidence
e1.03.03	Potential changes to trophic chains. (i)	To be monitored
e1.03.04	Potential changes to biodiversity. (i)	to be monitored

fruit_AS

fruit_AS_DF

description

c1.04.01	Are the fruits/seeds produced in the field viable?	Yes
c1.04.02	Maturation period.	Seed development proceeds rapidly and dispersal occurs in most species by midsummer, before the full growth of the leaves.

c1.04.03	Have fruits/seeds a dormancy period	No
c1.04.05	Can the fruits/seeds survive under particular environmental conditions?	No
c1.04.07	Does the crop produce seed bank?	No
c1.04.08	Factors influencing seed germination.	A favourable medium such as fine mineral soil is required for germination, together with light and continual moisture
c1.04.09	Can fruits/seeds be dispersed by wind, water?	Yes
c1.04.10	Are any fruit/seeds-dispersing animal (including insects) present?	Yes
c1.04.11	Could any cultivation practices be responsible for dispersing fruits/seeds?	Yes
c1.04.12	Describe cultivation practices which might favour fruits/seeds dispersal.	Coppicing and fertilisation
c1.04.13	Are the fruits/seeds transported away from the field?	Yes
c1.04.14	Precautionary measures adopted to reduce fruits/seeds dispersal.	No measures adopted.

*fruit_AS_R
description*

d1.04.01	Are any cultivated fields present at distances reachable by fruits/seeds?	Yes
d1.04.02	Does the natural habitat within distances reachable by the fruits/seeds enable the survival of the plant specie used in the phytoremediation process?	Yes
d1.04.03	Are there any organisms that usually feeds on the fruits/seeds, nearby the field under study?	Yes

effects

e1.04.01	Potential increase in weeds. (d)	To be monitored
e1.04.02	Potential changes to agricultural practice. (i)	No evidence
e1.04.03	Potential changes to agrobiodiversity. (i)	No evidence, to be monitored
e1.04.04	Potential unforeseen dispersion of the plant species in the environment. (d)	To be monitored
e1.04.05	Potential pollution of natural genetic resources. (d)	To be monitored with focused studies
e1.04.06	Potential changes to agrobiodiversity. (i)	To be monitored
e1.04.07	Potential colonisation of natural habitats. (i)	Low probability
e1.04.08	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored

e1.04.09	Potential changes to trophic chains. (i)	To be monitored
e1.04.10	Potential changes to consumer populations. (i)	To be monitored
e1.04.11	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored

veg_prop_organ

*veg_prop_organ_DF
description*

c1.05.01	Description of vegetative propagation organs.	All poplars sprout vigorously from the stump and root collar. Coppicing occurs occasionally on young aspen. Reproduction from adventitious shoots on roots (root suckers) is common in many species.
c1.05.02	Following the bioremediation process, are there any substance toxic to consumers in the vegetative propagation organs?	Yes
c1.05.03	Are there any bromatological changes in vegetative propagation organs due to phytoremediation process?	Yes
c1.05.04	Are vegetative propagation organs harvested during the phytoremediation process?	Yes
c1.05.05	Are vegetative propagation organs harvested at the end of the phytoremediation process?	Yes

*veg_prop_organ_R
description*

d1.05.01	Are there potential consumers of vegetative propagation organs in soil microflora populations?	Yes
d1.05.02	Are there potential consumers of vegetative propagation organs in edaphic fauna?	Yes
d1.05.03	Can animals feed on vegetative propagation organs?	Yes
d1.05.04	Are there any organisms which might feed on vegetative propagation organs present in areas different by the research site?	Yes

effects

e1.05.01	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	No experimental data.
e1.05.02	Potential changes to edaphic fauna biodiversity. (d)	To be monitored
e1.05.03	Potential changes to soil fertility. (i)	To be monitored
e1.05.04	Potential changes to agricultural practice. (i)	To be verified
e1.05.05	Potential changes to agrobiodiversity. (i)	To be verified
e1.05.06	Potential changes to biodiversity. (i)	To be verified

e1.05.07	Potential changes to consumer populations. (d)	To be monitored
e1.05.08	Potential changes to trophic chains. (i)	To be verified

veg_prop_organ_AS
veg_prop_organ_AS_DF
description

c1.06.01	Can vegetative propagation organs be dispersed naturally or by agronomic practices?	Yes
c1.06.02	Describe the natural methods (animal or water dispersal, etc.) most likely to be responsible for dispersal of vegetative propagation organs.	Water dispersal
c1.06.03	Environmental conditions influencing dispersal of vegetative propagation organs.	Strong rain and wind.
c1.06.04	Describe the release site's morphology and climatic characteristics.	Actually no important climatic events have been reported during the last decade.
c1.06.05	Indicate presence, at site, of organisms involved in dispersion of vegetative propagation organs .	Roditors are present, but other animal too.
c1.06.06	Factors influencing the emergence of new individuals from vegetative propagation organs.	Reproduction from adventitious shoots on roots (root suckers) is common in many species,
c1.06.07	Precautionary measures adopted.	No measures adopted
c1.06.08	Describe the cultivation practices most responsible for dispersal of vegetative propagation organs.	Coppicing and harvesting
c1.06.09	Precautionary measures adopted.	No measures adopted.

veg_prop_organ_AS_R
description

140	d1.06.01	Are there any cultivated fields at distances potentially reachable by vegetative propagation organs?
-----	----------	--

effects

e1.06.01	Potential changes to agrobiodiversity. (d)	To be monitored
e1.06.02	Potential changes to agricultural practice. (i)	No evidence
e1.06.03	Potential food chain contamination. (i)	To be assessed
e1.06.04	Potential unforeseen dispersion of the plant species in the environment. (d)	To be assessed
e1.06.05	Potential colonisation of natural habitats. (d)	Low probability due to low seed viability
e1.06.06	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored

e1.06.07	Potential pollution of natural genetic resources. (i)	To be assessed
e1.06.08	Potential changes to consumer populations. (d)	To be studied
e1.06.09	Potential changes to trophic chains. (i)	to be studied
e1.06.10	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored through ecological index

cultural residues

*cultural residues DF
description*

c1.07.02	Do residues contain viable vegetative propagation organs?	Yes
c1.07.03	Precautionary measures adopted to control sprouting.	No measures adopted
c1.07.04	Is the contaminant present in cultural residues?	Yes
c1.07.05	Has the remediation process caused changes to the bromatological composition of plant residues?	Yes

*cultural residues R
description*

d1.07.01	Can the presence of contaminant or bromatological changes in plant tissues affect fauna feeding on cultural residues?	Yes
d1.07.02	Precautionary measures adopted to avoid animal feeding.	No measures adopted
d1.07.03	Can the presence of contaminant or the bromatological changes in cultural residues, affect edaphic fauna ?	Yes
d1.07.04	Precautionary measures adopted.	No measures adopted
d1.07.05	Can the presence of contaminant or the bromatological changes in cultural residues confer selective advantages to any soil organisms ?	Yes
d1.07.07	Could the contaminant contained in the residues be released in to the soil?	Yes
d1.07.08	Could the soil microflora be affected by the cultural residues composition changes?	Yes
d1.07.09	Is cultivation of sexually compatible plants, on the site, planned for a time when the emergence from vegetative propagation is still possible?	Yes

effects

e1.07.01	Potential unforeseen dispersion of the plant species in the environment. (d)	To be monitored
e1.07.02	Potential colonisation of natural habitats. (d)	To be monitored

e1.07.03	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored
e1.07.04	Potential pollution of natural genetic resources. (i)	To be monitored
e1.07.05	Potential changes in fauna populations biodiversity. (d)	To be monitored
e1.07.06	Potential changes to trophic chains. (i)	To be monitored
e1.07.07	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be verified
e1.07.08	Potential changes to edaphic fauna biodiversity. (d)	To be monitored
e1.07.09	Potential changes to soil fertility. (d)	To be monitored

harvested_stored

harvested_stored_DF

description

c1.08.02	Are there other plant species in the site?	Yes
c1.08.03	Are these plants alien species?	Yes
c1.08.04	Are these plants harvested too?	Yes
c1.08.05	Are these plants stored too?	Yes
c1.08.06	Is the contaminant present in the harvested and stored material?	Yes
c1.08.07	Parts of plant which are harvested.	Roots and above ground parts
c1.08.08	Harvest method.	Mechanic
c1.08.09	Quantity of harvested and transported seeds.	10 ton
c1.08.10	Quantity of harvested and transported roots.	10 ton
c1.08.11	Quantity of harvested and transported plants.	100 ton
c1.08.12	Storage method.	The material was collected in storage silos

harvested_stored_R

description

d1.08.01	Are the stored materials placed in an isolated place?	No
d1.08.02	Can the harvested stored materials release the contaminant into the environment?	Yes
d1.08.04	During and following the materials disposal could the contaminant be released into the environment?	Yes

effects

e1.08.05	Potential changes to consumer populations. (d)	To be monitored
e1.08.06	Potential changes to trophic chains. (i)	To be monitored

e1.08.07	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be monitored
e1.08.08	Potential food chain contamination. (i)	To be monitored
e1.08.09	Potential effects on human population. (i)	to be monitored
e1.08.10	Potential release of the contaminant into different environmental matrices. (i)	To be monitored
e1.08.11	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be monitored

plant_organ_part
plant_organ_part_DF
description

c1.09.01	Which part?	Shoots, stem and leaves
c1.09.02	Experimental data on modifications.	Bibliographic resources

plant_organ_part_R
description

d1.09.02	Main plant consumers.	roditors and larvae
d1.09.03	Can the presence of contaminant in plant tissues or bromatological changes affect consumers?	Yes
d1.09.05	Following the phytoremediation process, are there any composition changes to lysates and/or root exudates?	Yes
d1.09.06	Does the used plant have any symbiotic relationships at roots level?	Yes
d1.09.07	Describe main symbiotic relationships.	mycorhiza
d1.09.08	Could the contaminant cause changes to interactions between the used plant and symbiotic organisms?	Yes
d1.09.09	Can the presence of contaminant in soil or in the plant be a selective advantage for any symbiotic organisms?	Yes
d1.09.10	Can the plant be attacked by pathogens or parasites?	Yes
d1.09.11	Description of main pathogens and parasites.	Rust, brown spots, Mosaic virus, woolly aphid, cortical necrosis
d1.09.12	Could the presence of contaminant in soil or in the plant cause changes to interactions between the plant and pathogens/parasites?	Yes
d1.09.13	Could the accumulation of contaminant in roots be an advantage to some rhizosphere organisms?	Yes
d1.09.14	Could the accumulation of contaminant in roots cause changes to interactions between the plant and rhizosphere organisms?	Yes

effects

e1.09.01	Potential changes to consumer populations. (d)	To be monitored
e1.09.02	Potential changes to trophic chains. (i)	To be monitored
e1.09.03	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be monitored
e1.09.04	Potential changes to the plant development. (i)	To be monitored
e1.09.05	Potential changes to plant productivity. (i)	To be monitored
e1.09.06	Potential changes to pathogen host range. (d)	To be monitored
e1.09.07	Potential development of resistant pathogen populations. (d)	To be monitored
e1.09.08	Potential development of new pathogens. (i)	To be monitored
e1.09.09	Potential changes to rhizosphere abiotic component. (d)	To be monitored
e1.09.10	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be monitored
e1.09.11	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be monitored
e1.09.12	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored
e1.09.13	Potential changes to plant development due to contaminant concentration. (i)	To be monitored

soil_amendment

*soil_amendment_DF
description*

c1.10.01	Description of cultivation method.	Before the planting the soil was amended with vegetable compost, and organic fertilizers and logging wastes.
c1.10.02	Have tillage management procedures been applied?	Yes
c1.10.03	Are soil amendments used to promote plant growth?	Yes
c1.10.04	Which ones?	A roots promoter:
c1.10.05	Are plant growth promoter bacteria used?	Yes
c1.10.06	Which ones?	Soil bacteria.
c1.10.07	Are plant growth promoter mycorrhizal fungi used?	Yes
c1.10.08	Which ones?	VAM

*soil_amendment_R
description*

d1.10.01	Could the growth promoter affects the soil populations of other organisms?	Yes
d1.10.02	Are soil amendments used to stabilize or reduce bioavailability the contaminant?	No

d1.10.03	Are soil amendments used to increase contaminant bioavailability?	Yes
<i>effects</i>		
e1.10.01	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be monitored
e1.10.02	Potential changes in soil fertility. (i)	To be monitored
e1.10.03	Potential changes to the plant development. (i)	To be monitored
e1.10.04	Potential changes to plant productivity.(i)	To be monitored
e1.10.05	Potential changes to agricultural practice. (i)	To be monitored
e1.10.06	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored
e1.10.07	Potential changes to plant development due to contaminant concentration. (i)	To be monitored
e1.10.08	Potential increase in leachate . (i)	To be monitored

Allegato 4.2: Rapporto Caso 2: Grass best scenario

*Respondent: caso2
source
matrix_characterisation
description*

a	Purpose of the trial	Phytoremediation of petroleum contaminated field
a1	Type of matrix.	Soil

*site_characterisation
description*

b1.01.01	Plants establishment.	April2000 - September 2000
b1.01.02	The site is located in:	Public Area
b1.01.03	Local environment:	Industrial
b1.01.04	Area size of the whole site	100,000 mq
b1.01.05	Size of area cultivated for remediation.	100x100 m
b1.01.06	Information on hydrography of the interested area.	Map available. Near a river Duliajan derived its name from "Dulia" meaning "palanquin-bearers" of the Ahom kings and "Jan" meaning "a river stream".
b1.01.07	Describe the morphology and climatic characteristics of the site.	In Duliajan, the climate is warm and temperate. In winter there is much less rainfall than in summer. According to Köppen and Geiger, the climate is classified as Cwa. The average annual temperature in Duliajan is 23.2 °C.
b1.01.08	Soil type and features.	The soil employed for this experimental study was collected from a oil contaminated field

*contaminant characterisation
description*

b1.02.01	Is the contaminant an organic compound?	Yes
b1.02.02	Is the contaminant an inorganic compound or element?	No
b1.02.03	Is the contaminant a metal?	No
b1.02.04	Indicate the main contaminant/s	Total petroleum hydrocarbon

*phytotechnology charact.
description*

b1.03.01	Is the phytotechnology applied phytodegradation/phytotransformation?	Yes
b1.03.02	Is the phytotechnology applied phytoextraction?	No

b1.03.03	Is the phytotechnology applied phytostabilisation?	No
b1.03.04	Is the phytotechnology applied phytovolatilisation?	No
b1.03.05	Is the phytotechnology applied rhizodegradation?	No
b1.03.06	Is the phytotechnology applied rhizofiltration?	No
b1.03.07	Is the plant's CTR value (capacity of translocation of the contaminant from soil to roots) high?	No
b1.03.08	Is the plant's CTI value (capacity of contaminant translocation from roots to aerial parts) high?	No

*plant characterisation
description*

b1.04.01	Plant identity.	<i>Cyperus rotundus</i> and <i>Cyperus brevifolius</i>
b1.04.02	The used plant is	Other
b1.04.04	Root apparatus.	Rhizomes, are initially white, fleshy and covered with scaly, modified leaves, but become brown and woody with age. On reaching the surface, a rhizome may swell into a structure called a 'basal bulb'.
b1.04.05	Fruit type.	Produces a dry, single-seeded fruit, which is up to two millimetres long, and brown to black with a network of grey lines
b1.04.06	Brief description of phenological characteristic.	It is an abundant and widespread plant and is not facing any major threats. This species is highly tolerant of habitat disturbance.
b1.04.07	Does the plant contain or produce toxins, antinutrients and/or allergens?	No
b1.04.09	Is the plant used alien with respect to the receiving environment?	No
b1.04.10	Does the plant produce flowers during the release period?	No
b1.04.11	Specify reasons why the plant does not produce flowers.	Too dry season
b1.04.12	Does the plant produce fruits during the release period?	No
b1.04.13	Does the plant develop vegetative propagation organs?	No
b1.04.14	Are the cultural residues harvested ?	Yes
b1.04.15	Are the plants harvested?	No
b1.04.16	During the phytoremediation process, is the contaminant accumulated in the above ground or below ground parts of the used plant?	No
b1.04.17	Has the remediation process caused changes to the bromatological composition in the above ground or below	No

	ground parts of the used plant ?	
b1.04.18	Before and during the phytoremediation process are soil amendments used?	No

harvested_stored
harvested_stored_DF
description

c1.08.02	Are there other plant species in the site?	No
----------	--	----

Allegato 4.3: Rapporto Caso A_Massacci

*Respondent: A_Massacci
source
matrix_characterisation
description*

a	Purpose of the trial	To confirm that the association of phytoremediation and biomass production is a suitable, cost effective solution for coping with environmental criticalities of river Sacco
a1	Type of matrix.	Soil

*site_characterisation
description*

b1.01.01	Plants establishment.	april 2008 - untill now
b1.01.02	The site is located in:	Private Area
b1.01.03	Local environment:	Rural Area
b1.01.04	Area size of the whole site	8,000 mq
b1.01.05	Size of area cultivated for remediation.	54x40 m, 4440 mq for each area
b1.01.06	Information on hydrography of the interested area.	The experimentl field is along the Sacco river. With water table at 15 mt . Maps available.
b1.01.07	Describe the morphology and climatic characteristics of the site.	These have not been collected because not requested by the legislative framework (Dg.Ls 152/06)
b1.01.08	Soil type and features.	Data available

*contaminant characterisation
description*

b1.02.01	Is the contaminant an organic compound?	Yes
b1.02.02	Is the contaminant an inorganic compound or element?	No
b1.02.03	Is the contaminant a metal?	Yes
b1.02.04	Indicate the main contaminant/s	Lindane, also known as gamma-hexachlorocyclohexane, is an organochlorine chemical variant of hexachlorocyclohexane that has been used both as an agricultural insecticide and as a pharmaceutical treatment for lice and scabies.

*phytotechnology characterisation
description*

b1.03.01	Is the phytotechnology applied phytodegradation/phytotransformation?	Yes
b1.03.02	Is the phytotechnology applied phytoextraction?	No
b1.03.03	Is the phytotechnology applied phytostabilisation?	No
b1.03.04	Is the phytotechnology applied phytovolatilisation?	No
b1.03.05	Is the phytotechnology applied rhizodegradation?	Yes
b1.03.06	Is the phytotechnology applied rhizofiltration?	No
b1.03.07	Is the plant's CTR value (capacity of translocation of the contaminant from soil to roots) high?	Yes
b1.03.08	Is the plant's CTI value (capacity of contaminant translocation from roots to aerial parts) high?	Yes

*plant characterisation
description*

b1.04.01	Plant identity.	3 poplar hybrids: <i>Populus generosa x nigra</i> "Monviso" , <i>Populus – canadensis</i> "AF2", <i>Populus x euramericana</i> clone I-214
b1.04.02	The used plant is	Tree
b1.04.03	Is the tree deciduous?	Yes
b1.04.04	Root apparatus.	The roots are really extended, also because the cultivation system adopted is at high plants density (1plant x mq). Usually poplar very strong and invasive root systems.
b1.04.05	Fruit type.	The fruit is a two to four-valved dehiscent capsule, green to reddish-brown, mature in mid summer, containing numerous minute light brown seeds.
b1.04.06	Brief description of phenological characteristic.	Floral initiation takes place in buds, located in the axils of leaves on the current-year shoot. Terminal buds burst in May, and axillary primordia initiate several bud scales during rapid shoot elongation. Reproductive apices are determined around mid-June
b1.04.07	Does the plant contain or produce toxins, antinutrients and/or allergens?	Yes
b1.04.08	Indicate any toxins, antinutrients and/or allergens present in the plant.	In female poplar seeds are not allergenic, but can transport fungi and spores that may cause allergenic reaction.
b1.04.09	Is the plant used alien with respect to the receiving environment?	No
b1.04.10	Does the plant produce flowers during the release period?	No
b1.04.12	Does the plant produce fruits during the release period?	No

b1.04.13	Does the plant develop vegetative propagation organs?	Yes
b1.04.14	Are the cultural residues harvested ?	No
b1.04.15	Are the plants harvested?	No
b1.04.16	During the phytoremediation process, is the contaminant accumulated in the above ground or below ground parts of the used plant?	Yes
b1.04.17	Has the remediation process caused changes to the bromatological composition in the above ground or below ground parts of the used plant ?	No
b1.04.18	Before and during the phytoremediation process are soil amendments used?	Yes

[veg_prop_organ](#)

[veg_prop_organ_DF
description](#)

c1.05.01	Description of vegetative propagation organs.	All poplars sprout vigorously from the stump and root collar. Coppicing occurs occasionally on young aspen. Reproduction from adventitious shoots on roots (root suckers) is common in many species.
c1.05.02	Following the bioremediation process, are there any substance toxic to consumers in the vegetative propagation organs?	Don't know
c1.05.03	Are there any bromatological changes in vegetative propagation organs due to phytoremediation process?	No
c1.05.04	Are vegetative propagation organs harvested during the phytoremediation process?	No
c1.05.05	Are vegetative propagation organs harvested at the end of the phytoremediation process?	No

[veg_prop_organ_R
description](#)

d1.05.01	Are there potential consumers of vegetative propagation organs in soil microflora populations?	Don't know
d1.05.02	Are there potential consumers of vegetative propagation organs in edaphic fauna?	Don't know
d1.05.03	Can animals feed on vegetative propagation organs?	No

effects

e1.05.01	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be monitored
e1.05.02	Potential changes to edaphic fauna biodiversity.(d)	To be monitored
e1.05.03	Potential changes to soil fertility.(i)	To be monitored
e1.05.04	Potential changes to agricultural practice.(i)	To be monitored
e1.05.05	Potential changes to agrobiodiversity.(i)	To be monitored
e1.05.06	Potential changes to biodiversity.(i)	To be monitored

cultural residues

cultural residues DF

description

c1.07.01	Are the leaves harvest?	No
c1.07.02	Do residues contain viable vegetative propagation organs?	No
c1.07.04	Is the contaminant present in cultural residues?	No
c1.07.05	Has the remediation process caused changes to the bromatological composition of plant residues?	No

harvested_stored

harvested_stored_DF

description

c1.08.02	Are there other plant species in the site?	No
----------	--	----

plant_organ_part

plant_organ_part_DF

c1.09.01	Which part?	Below and above ground part. The above ground part up to 1mt from the ground
c1.09.02	Experimental data on modifications	To be published

plant_organ_part_R

description

d1.09.01	Can any organism feed on the plant?	Yes
d1.09.02	Main plant consumers.	Many mammals feed on the bark, leaves and roots. Many species of birds thrive in poplar forests.
d1.09.03	Can the presence of contaminant in plant tissues or bromatological changes affects consumers?	Don't know
d1.09.05	Following the phytoremediation process, are there	Don't know

	any composition changes to lysates and/or root exudates?	
d1.09.06	Does the used plant have any symbiotic relationships at roots level?	Yes
d1.09.07	Describe main symbiotic relationships.	The specific symbiotic relationship has not been investigated.
d1.09.08	Could the contaminant cause changes to interactions between the used plant and symbiotic organisms?	Don't know
d1.09.09	Can the presence of contaminant in soil or in the plant be a selective advantage for any symbiotic organisms?	No
d1.09.10	Can the plant be attacked by pathogens or parasites?	Yes
d1.09.11	Description of main pathogens and parasites	Poplars coexist with a wide range of insects, but most pose a more serious threat only to artificial populations of planted species and their hybrids. They include caterpillars, butterfly larvae, beetle and many species aphids are also responsible for damage. Other diseases: rusts, cortical necrosis, mosaic virus.
d1.09.12	Could the presence of contaminant in soil or in the plant cause changes to interactions between the plant and pathogens/parasites?	No
d1.09.13	Could the accumulation of contaminant in roots be an advantage to some rhizosphere organisms?	No
d1.09.14	Could the accumulation of contaminant in roots cause changes to interactions between the plant and rhizosphere organisms?	Don't know

effects

e1.09.01	Potential changes to consumer populations. (d)	To be monitored
e1.09.02	Potential changes to trophic chains. (i)	To be monitored
e1.09.09	Potential changes to rhizosphere abiotic component. (d)	Should be investigated
e1.09.10	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	Should be investigated
e1.09.12	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored
e1.09.13	Potential changes to plant development due to contaminant concentration. (i)	To be monitored.

soil_amendment
soil_amendment_DF
description

c1.10.01	Description of cultivation method.	The plant investment is high, 1 plant x mq. Before the planting the soil was amended with vegetable compost, and organic fertilizers and logging wastes.
c1.10.02	Have tillage management procedures been applied?	No
c1.10.03	Are soil amendments used to promote plant growth?	Yes
c1.10.04	Which ones?	A roots promoter: ORC Oxygene Release Compound. It used to improve rooting and root surface. It is patented as bioremediation process.
c1.10.05	Are plant growth promoter bacteria used?	Yes
c1.10.06	Which ones?	<i>Arthrobacter</i> is a genus of bacteria that is commonly found in soil. All species in this genus are Gram-positive obligate aerobes that are rods during exponential growth and cocci in their stationary phase.
c1.10.07	Are plant growth promoter mycorrhizal fungi used?	No

soil_amendment_R
description

d1.10.01	Could the growth promoter affects the soil populations of other organisms?	Yes
d1.10.02	Are soil amendments used to stabilize or reduce bioavailability the contaminant?	No
d1.10.03	Are soil amendments used to increase contaminant bioavailability?	No

effects

e1.10.01	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	The aerobic population may have been improved thanks to the plant growth bacteria inoculated. That was the scope of <i>inocula</i> .
e1.10.02	Potential changes in soil fertility. (i)	Yes changes have been observed, but in a positive way. The ORC amendment stimulated the roots development, roots biomass and turnover, together with increase in humic acids content. Hence the contaminant uptake is increased.
e1.10.03	Potential changes to the plant development. (i)	Yes the ORC amendment improve roots development and biomass production
e1.10.04	Potential changes to plant productivity.(i)	Yes, but in a positive way. The plant productivity is improved.
e1.10.05	Potential changes to agricultural practice. (i)	To be assessed
e1.10.06	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored with focused studies

Allegato 4.4: Rapporto Caso J_White

*Respondent: J_White
source
matrix_characterisation
description*

a	Purpose of the trial	Field experiments to determine the efficacy of plant assisted phytoremediation of weathered p,p,DDE residues in agricultural soil.
a1	Type of matrix.	Soil

*site_characterisation
description*

b1.01.01	Plants establishment.	Seeds were planted on May 15, 2000 - On August 5, 2000, the soil and vegetation were harvested. Further experiments have been done in following years, until 2010
b1.01.02	The site is located in:	Public Area
b1.01.03	Local environment:	Rural Area
b1.01.04	Area size of the whole site	The total area of the Lockwood farm is of 303508,55 mq (75 acre)
b1.01.05	Size of area cultivated for remediation.	8 plots of 2x2 m each, thus 32 mq
b1.01.06	Information on hydrography of the interested area.	Yes maps can be provided. No surface water on the site. Groundwater depth unknown but likely over a dozen meters.
b1.01.07	Describe the morphology and climatic characteristics of the site.	Weather and morphology characteristic data can be downloaded at www.ct.gov/caes/
b1.01.08	Soil type and features.	The soil is designated as Cheshire fine sandy loam (56% sand, 36% silt, 8% clay; pH 6.7) and has an organic carbon content of 1.4%.

*contaminant characterisation
description*

b1.02.01	Is the contaminant an organic compound?	Yes
b1.02.02	Is the contaminant an inorganic compound or element?	No
b1.02.03	Is the contaminant a metal?	No

b1.02.04	Indicate the main contaminant/s	DDE is 2,2-bis(p-chlorophenyl)1,1-dichloroethylene (p,p9-DDE) a Persistent Organic Pollutant (POP). It is a metabolite of DDT ([[1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane]])
----------	---------------------------------	---

*phytotechnology charact.
description*

b1.03.01	Is the phytotechnology applied phytodegradation/phytotransformation?	No
b1.03.02	Is the phytotechnology applied phytoextraction?	Yes
b1.03.03	Is the phytotechnology applied phytostabilisation?	No
b1.03.04	Is the phytotechnology applied phytovolatilisation?	No
b1.03.05	Is the phytotechnology applied rhizodegradation?	No
b1.03.06	Is the phytotechnology applied rhizofiltration?	No
b1.03.07	Is the plant's CTR value (capacity of translocation of the contaminant from soil to roots) high?	Yes
b1.03.08	Is the plant's CTI value (capacity of contaminant translocation from roots to aerial parts) high?	Yes

*plant characterisation
description*

b1.04.01	Plant identity.	<i>Cucurbita pepo</i> ssp <i>pepo</i> (zucchini, several cultivars) and <i>Cucurbita pepo</i> Baby bear (pumpkin)
b1.04.02	The used plant is	Other
b1.04.04	Root apparatus.	Rooting commonly occurs at the stem nodes. As roots can penetrate up to a metre into the soil, a well drained soil is preferred. <i>Cucurbita</i> also have feeder roots close to the surface. Roots can grow to about the same spread as the vines.
b1.04.05	Fruit type.	Fruits of <i>Cucurbita</i> are of the pepo type: a berry with numerous seeds surrounded by a fleshy wall that does not open at maturity. Fruits have a thin and soft, or rigid and woody, shell that emerges from the outer layer of the ovary (exocarp).
b1.04.06	Brief description of phenological characteristic.	<i>Cucurbita pepo</i> is a annual climber growing to 0.6 m (2ft) by 5 m (16ft 5in) at a fast rate. It is frost tender. It is in flower from Jul to September, and the seeds ripen from Aug to October.
b1.04.07	Does the plant contain or produce toxins, antinutrients and/or allergens?	Yes
b1.04.08	Indicate any toxins, antinutrients and/or allergens present in the plant.	The plants contain the toxins cucurbitin. The more toxic cucurbitacin has an LD50 of 5 mg/kg body weight in the mouse, but it is present in the wild cultivar.
b1.04.09	Is the plant used alien with respect to the receiving environment?	No
b1.04.10	Does the plant produce flowers during the release	Yes

	period?	
b1.04.12	Does the plant produce fruits during the release period?	Yes
b1.04.13	Does the plant develop vegetative propagation organs?	No
b1.04.14	Are the cultural residues harvested ?	Yes
b1.04.15	Are the plants harvested?	Yes
b1.04.16	During the phytoremediation process, is the contaminant accumulated in the above ground or below ground parts of the used plant?	Yes
b1.04.17	Has the remediation process caused changes to the bromatological composition in the above ground or below ground parts of the used plant ?	Yes
b1.04.18	Before and during the phytoremediation process are soil amendments used?	Yes

pollen

pollen_DF

description

c1.01.01	Are any new proteins, or other substances, produced or accumulated in the pollen in relation to the phytotechnology process?	Don't know
c1.01.02	Description of pollen characteristics.	Cucurbita pollen grains are large and sticky, and well suited to transport by insects. Wind does not pollinate Cucurbita species. Ovules are fertile only during the period of flowering, or the day prior.
c1.01.03	Indicate autogamy and allogamy percentages.	Limited autogamy. Although it is self-compatible, the existence of separate staminate and pistillate flowers prevents autogamous selfing.
c1.01.04	Can pollen be dispersed by cultivation practices, wind, insects or other organisms?	Yes
c1.01.05	Factors influencing pollen dispersal.	Among the Cucurbita, some agent – usually bees - is necessary to transfer pollen from the male to female flower; as the pollen is large (80 to 150 μm diameter) and sticky. The species of the genera are not wind pollinated.
c1.01.06	Work and treatments during flowering phase.	Some manual pollination and crossing; On a daily basis, male and female flowers on the six parental cultivars were inspected in the afternoon; flowers that were likely to open the next morning were covered with paper bags fitted with a rubber band so as to exclude pollinators and preserve pollen. After the open flowers were exposed the following morning, stamens were removed from male flowers of predetermined cultivars and were used to pollinate the protected female flower of cultivars of the opposing subspecies.

c1.01.07	Precautionary measures adopted to reduce pollen dispersal.	None; soil levels were not considered contaminated in a regulatory sense; more of a model site.
----------	--	---

*pollen_R
description*

d1.01.01	Are workers protected from exposure to pollen?	Yes
d1.01.02	Are there human settlements and activities within distances reachable by pollen?	Yes
d1.01.03	Are there any organisms which may ingest the pollen of the plant under study present within reachable distances?	Yes
d1.01.04	Description of these organisms.	Abundant wildlife (rodents, birds, mammals)
d1.01.05	Are there any pollinating insects populations at the release site?	Yes.

effects

e1.01.02	Potential effects on human population. (i)	No effects are foreseen because the experimental area is small, thus not a large amount of pollen can be dispersed. Furthermore the contaminant concentration in pollen has not been investigated.
e1.01.03	Potential changes to consumer populations.(d)	See previous effect identified
e1.01.04	Potential changes to trophic chains (i)	See previous effect identified
e1.01.05	Potential effects on efficiency of pollination. (d)	To be monitored during trial.
e1.01.06	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored. But take into account the limited surface of the research area, 32 mq, thus important effects on biodiversity don't seem possible .

fruit

*fruit_DF
description*

c1.03.01	Following the phytoremediation process, are there any substances toxic to consumers in the fruit/seed?	Yes
c1.03.02	Fruit type.	Indiscent
c1.03.03	Are the fruits harvested before their maturation period?	No
c1.03.04	Are the fruits harvested ?	Yes

harvested_stored

*harvested_stored_DF
description*

c1.08.01	Are the plants stored?	No
c1.08.02	Are there other plant species in the site?	Yes
c1.08.03	Are these plants alien species?	No
c1.08.04	Are these plants harvested too?	Yes
c1.08.05	Are these plants stored too?	No

[plant_organ_part](#)
[plant_organ_part_DF](#)
[description](#)

c1.09.01	Which part?	Both aerial and below ground parts
c1.09.02	Experimental data on modifications.	see paper in bibliography

[plant_organ_part_R](#)
[description](#)

d1.09.02	Main plant consumers.	Animals. Furthermore phytophagous insects, In general, the cucurbitacins produced by the Cucurbita are thought to defend against phytophagous insects. However, for a group of Chrysomelidae beetles of the tribe Luperini, cucurbitacins act as arrestants and feeding stimulants. The beetles belong to the subtribes Diabroticina (about 900 species distributed in the American continent) and Aulacophorina (about 480 species found in Asia).
d1.09.03	Can the presence of contaminant in plant tissues or bromatological changes affect consumers?	Don't know
d1.09.05	Following the phytoremediation process, are there any composition changes to lysates and/or root exudates?	Yes
d1.09.06	Does the used plant have any symbiotic relationships at roots level?	Yes
d1.09.07	Describe main symbiotic relationships.	The symbiotic relationships where those inoculated for studies purposes.
d1.09.08	Could the contaminant cause changes to interactions between the used plant and symbiotic organisms?	Don't know
d1.09.09	Can the presence of contaminant in soil or in the plant be a selective advantage for any symbiotic organisms?	Don't know
d1.09.10	Can the plant be attacked by pathogens or parasites?	Yes
d1.09.11	Description of main pathogens and parasites.	One bacterial pathogen, <i>Erwinia tracheiphila</i> , is particularly problematic in the Cucurbita. It is transmitted to the plant by chrysomelid beetles, and above these beetles are attracted to plants

		expressing cucurbitacins.
d1.09.12	Could the presence of contaminant in soil or in the plant cause changes to interactions between the plant and pathogens/parasites?	No
d1.09.13	Could the accumulation of contaminant in roots be an advantage to some rhizosphere organisms?	No
d1.09.14	Could the accumulation of contaminant in roots cause changes to interactions between the plant and rhizosphere organisms?	Don't know

effects

e1.09.01	Potential changes to consumer populations. (d)	To be monitored during trial. Even if the surface of trial plots is so limited that related effects should be negligible.
e1.09.02	Potential changes to trophic chains. (i)	to be monitored during further trials.
e1.09.03	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be monitored
e1.09.04	Potential changes to the plant development. (i)	Changes in plant development have not been observed, and yet not investigated
e1.09.05	Potential changes to plant productivity. (i)	No effects observed, and not yet investigated through specific experiments
e1.09.06	Potential changes to pathogen host range. (d)	To be studied with specific experimental protocols
e1.09.07	Potential development of resistant pathogen populations. (d)	To be studied with specific experimental protocols.
e1.09.08	Potential development of new pathogens. (i)	To be studied with specific experimental protocols.
e1.09.09	Potential changes to rhizosphere abiotic component. (d)	To be monitored
e1.09.10	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be monitored
e1.09.12	Potential changes to biodiversity. (i)	To be monitored with specific ecological index
e1.09.13	Potential changes to plant development due to contaminant concentration. (i)	Not identified during the research activities.

soil_amendment

*soil_amendment_DF
description*

c1.10.01	Description of cultivation method.	There were eight treatments (four growth stages, biosurfactant amendment, fungal amendment, no fruit, and intercropping) that were distributed randomly across the 1400-m ² experimental plot.
c1.10.02	Have tillage management procedures been applied?	No

c1.10.03	Are soil amendments used to promote plant growth?	Yes
c1.10.04	Which ones?	VAM and bacteria
c1.10.05	Are plant growth promoter bacteria used?	Yes
c1.10.06	Which ones?	<i>Arthrobacter globiformis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , two <i>Azobacter</i> species, and four <i>Pseudomonas</i> species .
c1.10.07	Are plant growth promoter mycorrhizal fungi used?	Yes
c1.10.08	Which ones?	Three separate commercially available mycorrhizal inoculants were obtained. The first mycorrhizal root inoculant, called BioVam, was purchased from T&J Enterprises (Spokane, WA). The product contains vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM) as a primary constituent and is recommended for use to enhance the growth and survivability of a range of agricultura and non-agricultural plant species. Specifically, the material consists of endomycorrhize, ectomycorrhizae, two <i>Trichoderma</i> species. The second inoculant was called Myco-Vam TM and was purchased from Helena Chemical Company (Collierville, TN). This product contains three species of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi; <i>Glomus intraradices</i> , <i>Glomus aggregatum</i> , and <i>Glomus mosseae</i> . The final product was a mixture of four species obtained from Dr. Joseph Morton's INVAM collection at West Virginia University.

[soil_amendment_R](#)
[description](#)

d1.10.01	Could the growth promoter affects the soil populations of other organisms?	Don't know
d1.10.02	Are soil amendments used to stabilize or reduce bioavailability the contaminant?	No
d1.10.03	Are soil amendments used to increase contaminant bioavailability?	Yes

[effects](#)

e1.10.01	Potential changes in soil microflora and microfauna populations. (d)	To be identified with specific research activities.
e1.10.02	Potential changes in soil fertility. (i)	Yes, but the changes in soil fertility were the objectives of the research activity.
e1.10.03	Potential changes to the plant development. (i)	Not investigated.
e1.10.04	Potential changes to plant productivity.(i)	In some cases. the biosurfactant reduce the biomass.
e1.10.05	Potential changes to agricultural practice. (i)	The small surface wouldn't lead to changes in agricultural pratctice
e1.10.06	Potential changes to biodiversity. (i)	It is possible, to be investigated.
e1.10.07	Potential changes to plant development due to contaminant concentration. (i)	to be investigated.

e1.10.08	Potential increase in leachate . (i)	To be investigated in future studies
----------	--------------------------------------	--------------------------------------