



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
FEDERICO II

SCUOLA POLITECNICA E DELLE SCIENZE DI BASE
DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA CIVILE EDILE E AMBIENTALE



CZECH UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES PRAGUE
FACULTY OF ENVIRONMENTAL SCIENCES

MASTER'S THESIS IN
ENVIRONMENTAL ENGINEERING

**IMPACT OF POTASSIUM ON CESIUM UPTAKE BY LACTUCA SATIVA
IN A PHYTOREMEDIATION PROCESS**

SUPERVISOR

Prof. Ing. Massimiliano Fabbricino

AUTHOR

Daniela De Medici

M67000270

CO-SUPERVISORS

Prof. RNDr. Dana Komínková, Ph.D.

Ing. Marco Race

ACADEMIC YEAR 2016/2017

ABSTRACT

L'inquinamento del suolo è uno degli argomenti su cui la ricerca scientifica pone grande attenzione al giorno d'oggi. Tra le sostanze inquinanti ritroviamo i metalli pesanti tra cui il Cs, in particolare uno dei suoi isotopi, il ^{137}Cs .

L'attenzione posta sul ^{137}Cs deriva dalla sua pericolosità dovuta ad una emivita di 30.17 anni e alla sua capacità di emanare raggi β e γ , in grado di entrare rapidamente nel sistema biologico.

Una delle più grandi fonti di inquinamento da Cs deriva dall'esplosione dell'impianto nucleare di Chernobyl in Ucraina il 26 aprile 1986. La nube tossica si diffuse rapidamente in tutta Europa, raggiungendo anche Giappone e Stati Uniti. L'11 Marzo 2011 il terremoto seguito dallo tsunami che si verificò in Giappone causò l'incidente all'impianto nucleare di Fukushima-Dai Ichi, causando anche in questo caso la dispersione in atmosfera di materiale radioattivo che facilmente si riversò in ambiente acquatico, terrestre e urbano.

Tecniche fisico-chimiche di decontaminazione da metalli pesanti possono risultare costose e non sempre appropriate, mentre un processo economico e flessibile è la Phytoremediation che si basa sull'utilizzo di piante al fine di bonificare ambienti contaminati da diverse tipologie di inquinanti. In questo lavoro di tesi è stata svolta una specifica tecnica, la Phytoextraction, che consiste nell'utilizzare piante chiamate "iperaccumulatrici" in grado di crescere su siti contaminati e accumulare grandi quantità di metalli in radici e foglie.

Lo scopo della tesi è quello di studiare, attraverso un primo esperimento di germinazione, la capacità della pianta *Lactuca sativa* di effettuare l'uptake del Cs da un suolo contaminato e di valutare quindi la sua applicabilità per un processo di Phytoremediation. Un secondo obiettivo è invece quello di analizzare l'effetto del potassio sull'uptake del Cs da parte di questa pianta.

Il test di germinazione è stato realizzato nel laboratorio della Czech University of Life Sciences (CULS) di Praga. 600 semi di una particolare specie di pianta, la *Lactuca sativa* sono stati coltivati in soluzioni di CsCl a differenti concentrazioni. 200 semi della stessa pianta sono stati invece disposti in sola acqua distillata come campioni di controllo.

Concentration of CsCl in the solution (mM)	Number of seeds
0,5	100
1	100
2	100
5	100
10	100
15	100

L'esposizione ai trattamenti è durata 10 giorni.

L'esperimento di Uptake è stato svolto tra la serra e il laboratorio dell'Università di Praga (CULS) e il laboratorio dell'Istituto di ricerca "Institute of Experimental Botany, The Czech Academy of Science". Nella seguente tabella sono elencati i trattamenti applicati ad un totale di 125 piante.

	Solution	K ₂ SO ₄ Concentration in distilled water [mM]	CsCl concentration in distilled water [mM]	K ₂ SO ₄ solution [ml]	Amount of CsCl solution [ml]	Amount of distilled water [ml]	Number of plants
CONTROL	Distilled water	0	0	0	0	100	10
0,5 K	Potassium solution+ distilled water	0,5	0	75	0	25	5
1 K	Potassium solution+ distilled water	1	0	75	0	25	5
2 K	Potassium solution+ distilled water	2	0	75	0	25	5
5 K	Potassium solution+ distilled water	5	0	75	0	25	5
10 K	Potassium solution+ distilled water	10	0	75	0	25	5
20 K	Potassium solution+ distilled water	20	0	75	0	25	5
40 K	Potassium solution+ distilled water	40	0	75	0	25	5
Cs + 0 K	CsCl solution + distilled water	0	0,5	0	25	75	10
Cs + 0,5 K	CsCl solution+ K ₂ SO ₄ solution	0,5	0,5	75	25	0	10
Cs + 1 K	CsCl solution+ K ₂ SO ₄ solution	1	0,5	75	25	0	10
Cs + 2 K	CsCl solution+ K ₂ SO ₄ solution	2	0,5	75	25	0	10
Cs + 5 K	CsCl solution+ K ₂ SO ₄ solution	5	0,5	75	25	0	10
Cs + 10 K	CsCl solution+ K ₂ SO ₄ solution	10	0,5	75	25	0	10
Cs + 20 K	CsCl solution+ K ₂ SO ₄ solution	20	0,5	75	25	0	10
Cs + 40 K	CsCl solution+ K ₂ SO ₄ solution	40	0,5	75	25	0	10

Dopo un periodo di 13 giorni per permettere alle piante di ambientarsi e una successiva esposizione ai trattamenti durata 9 giorni, suolo, radici e foglie sono state separate. I 250 campioni risultanti di foglie e radici sono stati sottoposti a essiccamento per 4 giorni in un forno a microonde a 40° C fino al raggiungimento di un peso costante; i campioni sono stati polverizzati e sottoposti a mineralizzazione utilizzando una soluzione di HNO₃+ HClO₄ (in un rapporto 7:1) e successivamente sottoposti a digestione. Sono stati scelti 3 campioni di suolo per ogni trattamento, sottoposti a mineralizzazione con 10 ml HNO₃ + H₂O₂ (rapporto 9:1) e poi a digestione. Le analisi sui campioni sono state effettuate con uno spettrometro di massa (ICP-MS).

Sono stati poi calcolati alcuni parametri come segue:

$$Plant\ condition = RW + RL + L + DL$$

Con RW peso delle radici, RL lunghezza delle radici, L numero di foglie, DL numero di foglie morte.

$$TF = \frac{CS_{leaves}}{CS_{roots}}$$

$$TF' = \frac{CS_{plant}}{CS_{soil}}$$

$$BF = \frac{CS_{plant}}{CS_{solution}}$$

$$BCF = \frac{CS_{roots}}{CS_{soil}}$$

$$BCF' = \frac{CS_{leaves}}{CS_{soil}}$$

Calcolati sia come rapporto di concentrazioni (ppm/ppm) che come rapporto di masse ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$).

Successivamente sono stati calcolati due coefficienti di correlazione per ogni coppia di parametri come segue.

Coefficiente di Pearson:

$$r = \frac{cov}{s_x * s_y}$$

Coefficiente di Spearman:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d^2}{n(n^2 - 1)}$$

Entrambi I coefficienti forniscono valori compresi tra -1 e 1. La forza della correlazione è stata definita in accordo con la seguente tabella:

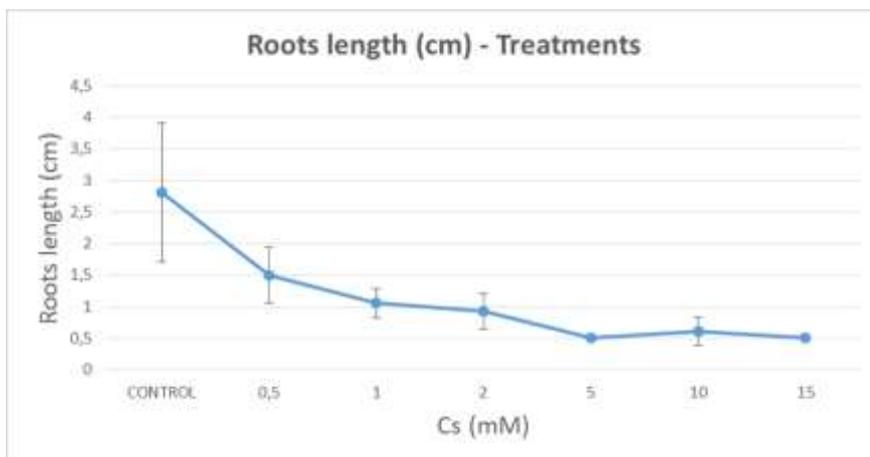
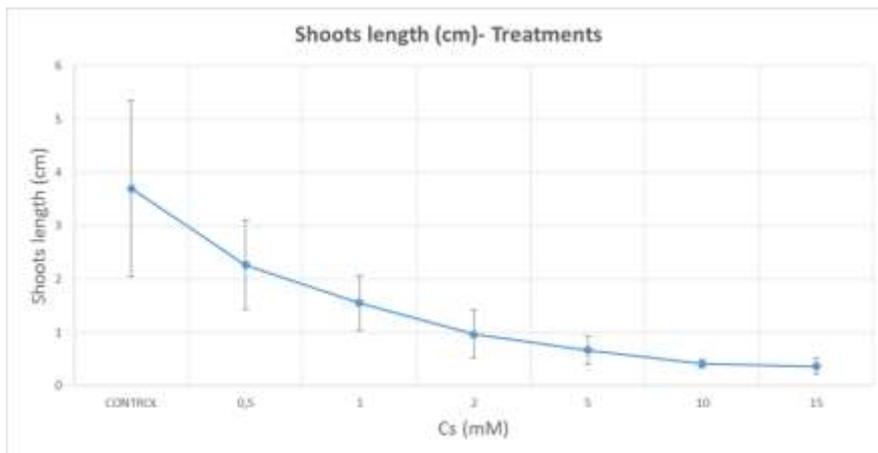
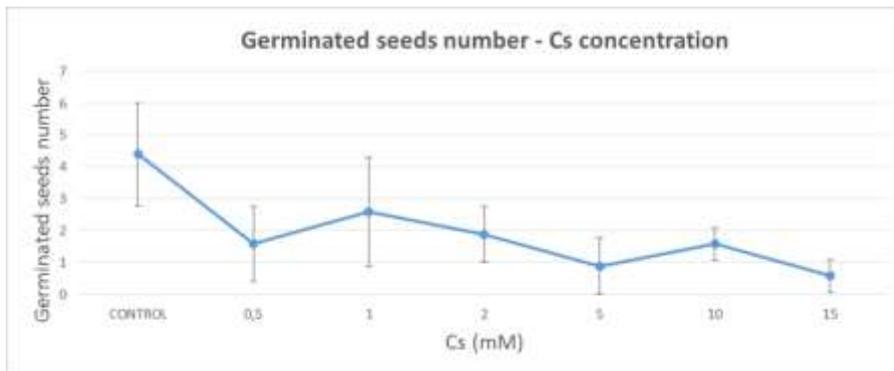
Correlation coefficient	Strenght of correlation
0-0,2	small
0,2-0,4	low
0,4-0,6	regular
0,6-0,8	high
0,8-1	very high

Successivamente è stato realizzato un test d'ipotesi per garantire la significatività dei risultati. Utilizzando un test a due code e scegliendo un livello di significatività di 0.05, è stata valutata quindi la variabile T di Student:

$$T = r * \sqrt{\frac{n - 2}{1 - r^2}}$$

L'ipotesi di significatività dei risultati è stata accettata quando la variabile T di Student ha fornito un valore maggiore del valore critico.

Il test di germinazione ha prodotto quindi i seguenti grafici:



È possibile osservare che concentrazioni elevate di Cs inibiscono la crescita della pianta, probabilmente perché la presenza di elevate quantità di Cs impediscono l'entrata del potassio che

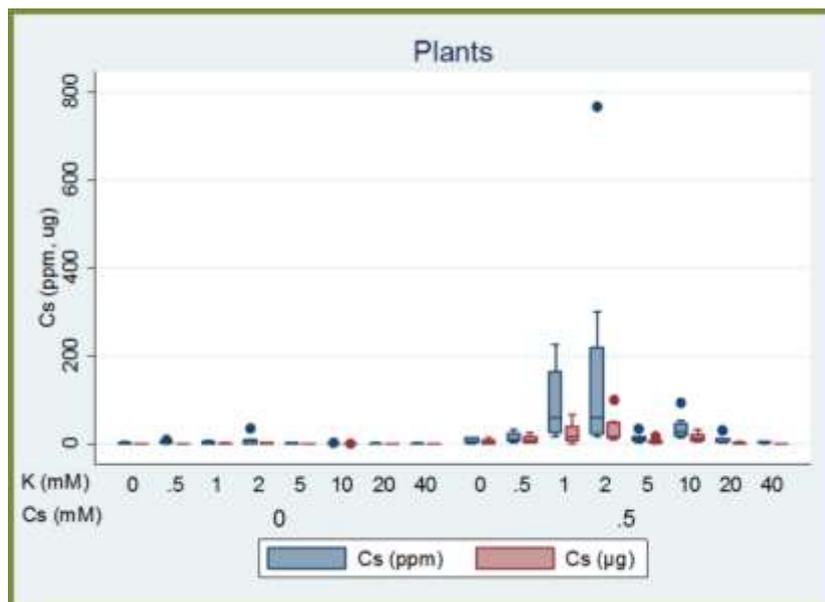
rappresenta una sostanza nutritiva fondamentale alla pianta. Anche i coefficienti di correlazione hanno fornito una proporzionalità inversa tra concentrazione di Cs e crescita della pianta.

Germinated seeds number - Cs (mM)	Coefficient	Type of correlation	Strength of the correlation
PEARSON	-0,512412505	inverse	regular
SPEARMAN	-0,911157993	inverse	very high
Shoot length (cm) - Cs (mM)	Coefficient	Type of correlation	Strength of the correlation
PEARSON	-0,435207681	inverse	regular
SPEARMAN	-0,644685414	inverse	high
Roots length (cm) - Cs (mM)	Coefficient	Type of correlation	Strength of the correlation
PEARSON	-0,417593646	inverse	regular
SPEARMAN	-0,667566778	inverse	high

Per i successivi esperimenti di uptake è stata utilizzata una concentrazione di CsCl in soluzione 0,5 mM evitando quindi le concentrazioni più alte che sono risultate tossiche.

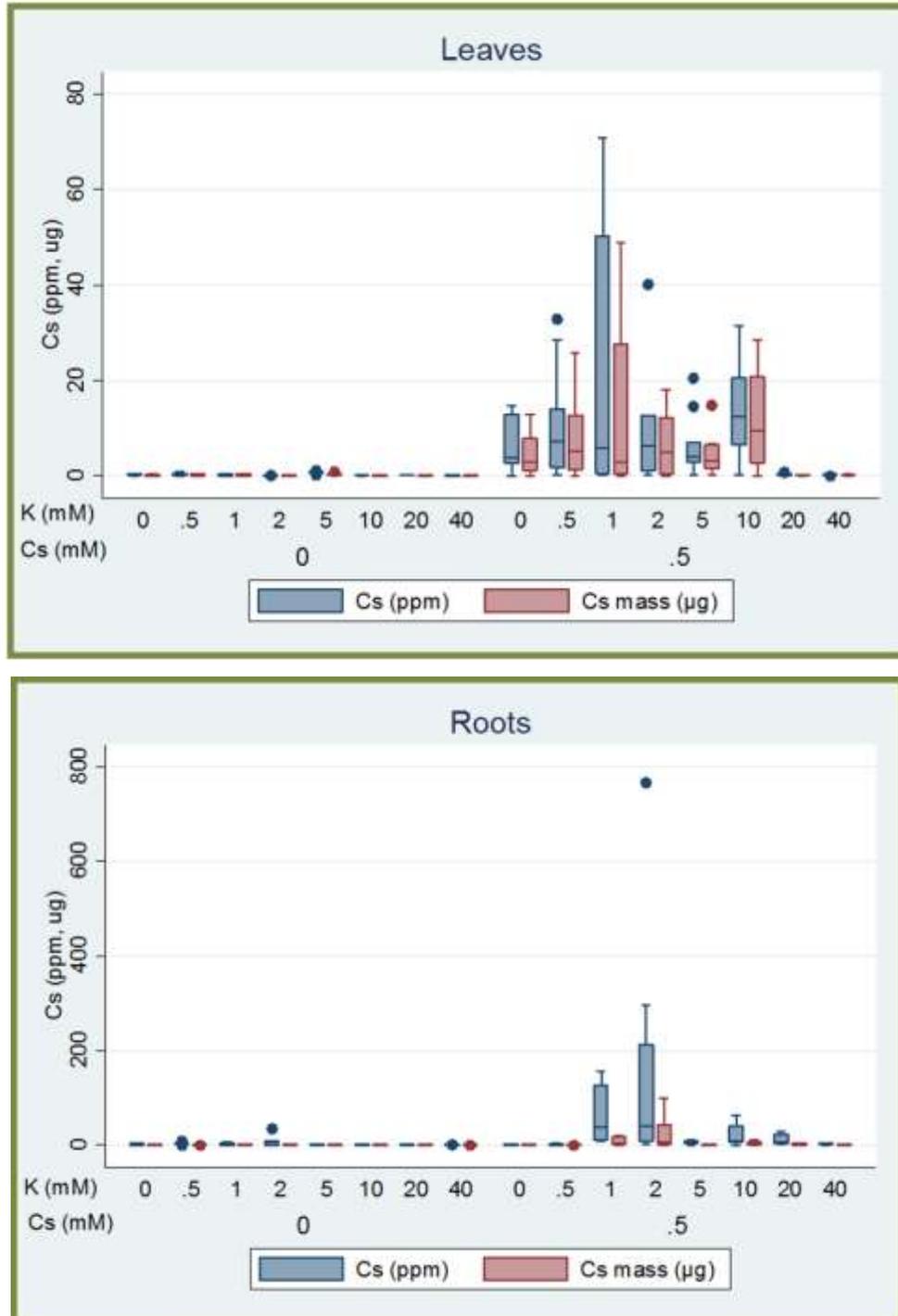
Treatments	% Cs uptake in plants
Cs + DI water	3,15
Cs + 0,5 mM K	1,83
Cs + 1 mM K	1,63
Cs + 2 mM K	6,55
Cs + 5mM K	1,16
Cs + 10mM K	0,86
Cs + 20mM K	0,14
Cs + 40mM K	0,04

La percentuale più alta di uptake del Cs è stata riscontrata nel trattamento Cs + 2 mM K, con un valore pari a 6.55 %, molto simile al valore 7.4 % riscontrato in letteratura, dallo studio svolto su di una pianta di girasole.

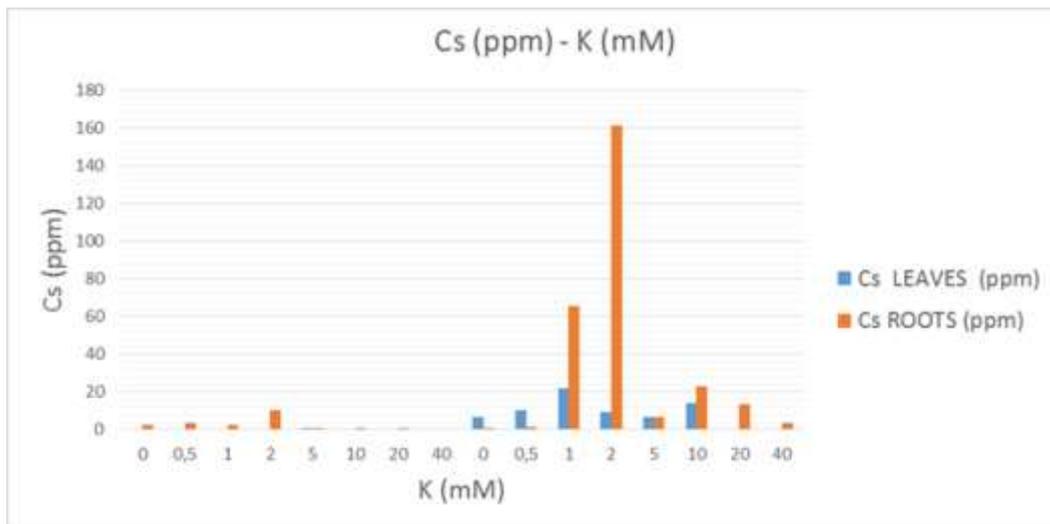


Tramite i boxplot nella figura precedente sono rappresentati tutti i dati relativi sia alle concentrazioni in ppm che alla massa in µg di Cs riscontrate nelle piante analizzate. Nel primo gruppo di trattamenti,

in assenza di Cs, i valori sono quasi nulli come ci si aspettava, mentre il secondo gruppo, contenente Cs, non mostra nessun trend particolare, ma è chiaro che per alte concentrazioni di K (20 mM e 40 mM) l'uptake tende ad annullarsi; mentre i trattamenti Cs + 1 mM e Cs + 2 mM K hanno mostrato un contenuto di Cs maggiore.

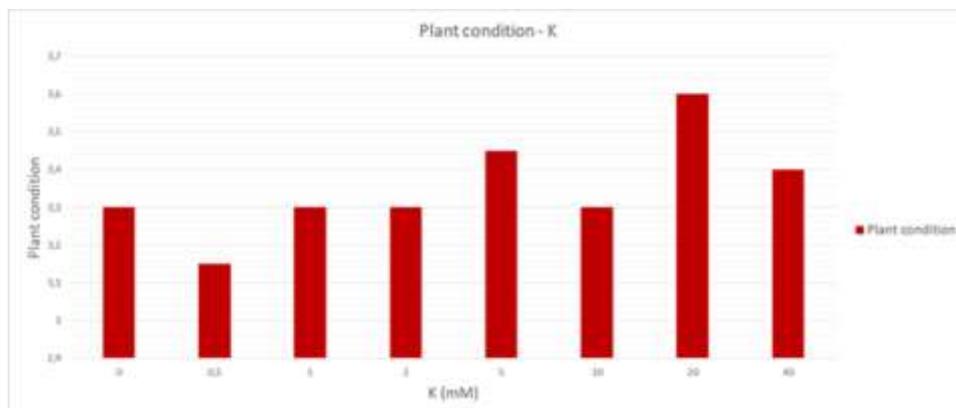


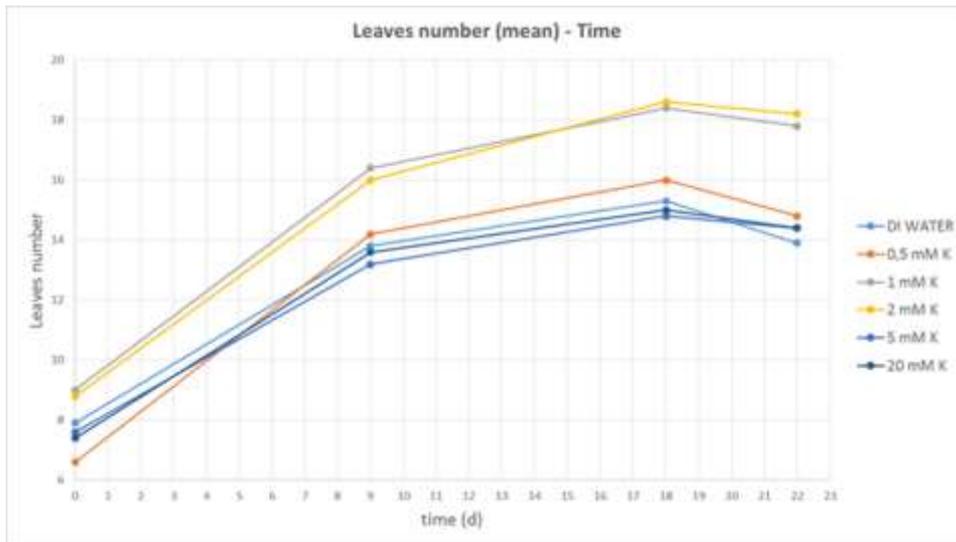
Analizzando i risultati di foglie e radici, si può notare che nelle foglie il trattamento che ha mostrato un contenuto di Cs maggiore è Cs + 1 mM K, e nelle radici Cs + 2 mM K, fenomeno riscontrato anche in altri studi. Anche in questo caso è chiara una decrescita per i trattamenti Cs + 20 mM K e Cs + 40 mM K.



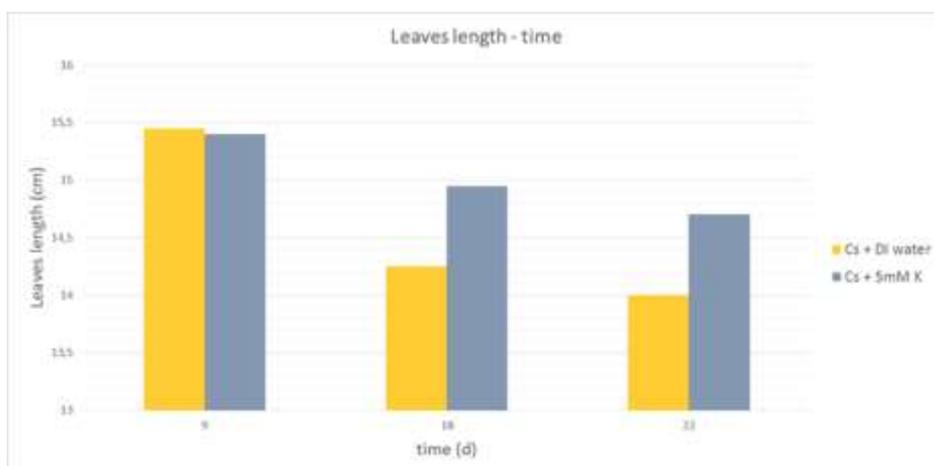
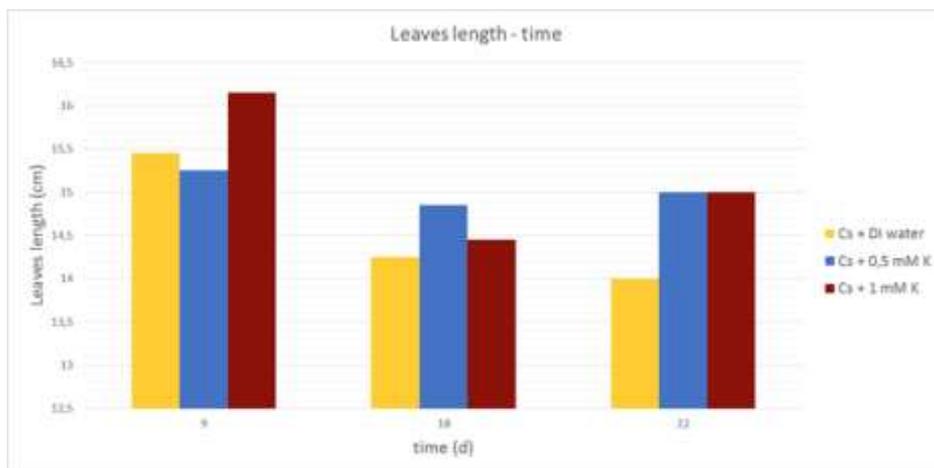
Questo grafico evidenzia la presenza dominante del Cs all'interno delle radici rispetto alle foglie. Questo fenomeno può essere attribuito al fatto che i trasportatori di K attraverso cui viene anche trasportato il Cs sono efficienti solo nelle radici, non molto all'interno delle foglie. Inoltre le radici si trovano sicuramente a contatto più diretto con la soluzione assorbendo Cs e trasportandone solo una parte nelle foglie.

Solo per le piccole concentrazioni di K il contenuto di Cs risulta prevalente nelle foglie piuttosto che nelle radici, in effetti si tratta di trattamenti relativi a campioni in stato di salute migliore, come è possibile notare da questo grafico in cui i livelli più bassi indicano piante in media più sane.

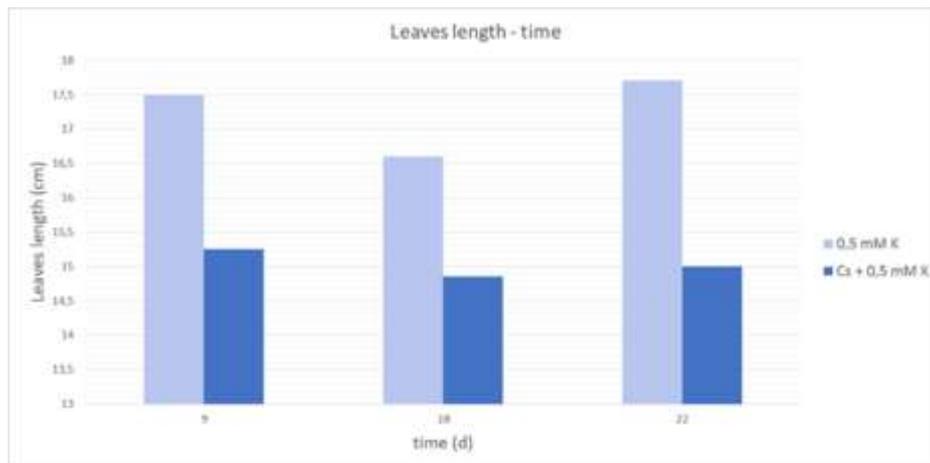




Qui è stato riportato il numero di foglie nel tempo dei trattamenti non contenenti Cs. Si può osservare che nell'ultimo tratto, quindi in pieno uptake, i campioni di controllo presentano una pendenza maggiore rispetto agli altri, la presenza di K sembra quindi influenzare positivamente la crescita. Inoltre si può notare che i trattamenti 1 mM K e 2 mM K presentano una quantità di biomassa più alta sin dall'inizio dell'esperimento, che può essere il motivo per cui, anche se in assenza di Cs in soluzione, questi campioni hanno mostrato un'efficienza di uptake maggiore.



Nei due istogrammi è evidente che la presenza di una piccola concentrazione di K ha un effetto positivo sulla crescita di biomassa in termini di lunghezza delle foglie.



Confrontando invece due trattamenti con la stessa quantità di K ma differente quantità di Cs, sembrerebbe che per basse concentrazioni di K, la presenza di Cs inibisca la crescita delle foglie.

I coefficienti di correlazione mostrano una proporzione inversa tra il contenuto di Cs rilevato (in ppm e in μg) e la concentrazione di K nelle foglie e nell'intera pianta.

Il TF indica che maggiore è la concentrazione di K, meno il Cs tende ad essere assorbito dalle foglie, fermandosi quindi alle radici.

Il numero di foglie mostra una correlazione inversa rispetto al Cs in soluzione, evidenza del fatto che il Cs influenza negativamente la crescita delle foglie. Questo fenomeno è osservabile anche dalla correlazione con la "condizione della pianta".

La presenza di K comporta inoltre la crescita di biomassa anche in termini di peso delle radici.

Analizzando le correlazioni tra crescita della biomassa e contenuto di Cs nelle foglie, contenuto di Cs nell'intera pianta e fattori TF', BF, BCF' e BCF, è evidente una correlazione diretta, ovvero le foglie riescono ad accumulare più Cs se più biomassa è disponibile.

La *Lactuca sativa* è quindi una buona pianta da poter utilizzare in un processo di phytoremediation di suoli contaminati da Cs e la presenza di K è importante per la crescita della biomassa, anche se in concentrazioni elevate risulta inibente per il processo di uptake tendendo ad assorbire quantità di Cs maggiori in prossimità delle radici, senza trasportarle fino alla foglie. La presenza di Cs inoltre risulta tossica per la *Lactuca sativa* a concentrazioni elevate. Il processo di uptake del Cs risulta più efficiente se la biomassa disponibile è maggiore.

In futuro, potrebbe essere utile studiare l'applicazione di nutrienti sull'uptake della *Lactuca sativa*, usare differenti tipologie di suolo con diversi contenuti di materia organica, e misurare il contenuto interno di K nella piante prima dell'inizio dei trattamenti.