

Giornata di studio

La chimica del suolo ieri, oggi e domani

Giornata in ricordo di Paolo Sequi

13 ottobre 2022

Relatori

Paolo Nannipieri, Gianniantonio Petruzzelli, Maria De Nobili,  
Claudio Ciavatta, Stefano Mocali, Giancarlo Renella, Carlo Emanuele Gessa

PAOLO NANNIPIERI<sup>1</sup>

## Le attuali conoscenze partendo dalle sette domande proposte da Waksman

<sup>1</sup> Professore Emerito della Università degli Studi di Firenze e vicepresidente Fondazione per il Clima e la Sostenibilità

### INTRODUZIONE

Il tema di questo contributo, dedicato al prof. Paolo Sequi, riguarda lo stato di avanzamento delle conoscenze relative alle sette grandi questioni che il prof. A. Waksman propose nel 1927 nel suo libro *Principle of Soil Microbiology* (Williams & Wilkins, Baltimore). Secondo Waksman le risposte a queste domande avrebbero portato a comprendere il funzionamento del suolo, che dipende in gran parte dall'attività degli organismi che ci abitano. Le sette domande erano:

1. What organisms are active under field conditions and in what ways?
2. What associative and antagonistic influences exist among soil microflora and fauna?
3. What relationships exist between soil organic matter (SOM) transformations and soil fertility?
4. What is the meaning and significance of energy balance in soil, in particular with reference to C and N?
5. How do cultivated plants influence soil transformations?
6. How can one modify soil populations and to what ends?
7. What interrelationships exist between physicochemical conditions in soil and microbial activities?

Il prof. Waksman vinse il premio Nobel nel 1952 perché aveva scoperto la streptomicina, un antibiotico efficace contro la tubercolosi e prodotto da un microorganismo del suolo *Streptomyces griseus*. È anche conosciuto per i suoi studi di microbiologia e biochimica del suolo. Per esempio, propose la

teoria del complesso ligno-proteico per spiegare la umificazione del suolo: le molecole umiche erano il prodotto della interazione tra proteine sintetizzate dai microrganismi con la lignina modificata.

Lo stato delle conoscenze delle sette domande fu esaminato dal prof. McLaren nel 1977 e, come vedremo in seguito, McLaren è stato importante nello sviluppo della biochimica del suolo, un argomento che Paolo Sequi aveva previsto essere molto importante per comprendere le funzioni del suolo. Successivamente lo stato delle conoscenze relative alle sette domande è stato discusso da Van Elsas e Nannipieri nel 1919 con lo scopo di evidenziare la storia degli studi sul funzionamento del suolo. Lo sviluppo storico delle conoscenze è importante nella attuale fase caratterizzata da indagini bibliografiche che si limitano spesso a quanto è raggiungibile con i sistemi elettronici ignorando quanto pubblicato in precedenza.

#### SEMINARIO DI MCLAREN A PISA NEL 1972 E INIZIO DEGLI STUDI DI BIOCHIMICA DEL SUOLO

Ho iniziato la mia carriera scientifica sotto la supervisione di Paolo Sequi a Pisa presso il Laboratorio per la Chimica del Terreno del CNR. Essendo un biochimico avevo delle perplessità nel condurre ricerche sul suolo che fossero attinenti alla mia preparazione. Il suolo era per me qualcosa di inerte. Tuttavia, Sequi mi spiegò che esisteva la biochimica del suolo ed ebbe la geniale idea di invitare a Pisa gli studiosi di allora che erano "top scientists" nella scienza del suolo. Il primo a essere invitato fu il prof. McLaren della Università di Berkeley, padre della "Soil Biochemistry"; McLaren tenne un seminario dal titolo "Consecutive biochemical reactions in soil with particular reference to the nitrogen cycle", di cui conservo la pubblicazione a cura del Laboratorio per la Chimica del Terreno. In particolare, il prof. McLaren parlò dell'attività ureasica e delle diverse localizzazioni che questo enzima poteva avere nel suolo. Questo intervento mi fece capire che potevo applicare le mie conoscenze di biochimica anche al suolo, che era un sistema biologico complesso e affascinante.

Potremo definire il prof. McLaren anche un chimico agrario perché nei suoi studi si occupò non solo della biochimica e microbiologia del suolo ma anche di reazioni abiotiche della pianta indotte dalla luce. Quindi fu un ricercatore che pose al centro dei suoi studi il sistema suolo-pianta, i cui aspetti chimici e biochimici sono tra le competenze della Chimica Agraria. Il prof. Giovanni Ferrari, fondatore della Società di Chimica Agraria, trascorse un periodo di ricerca nel laboratorio di Berkeley diretto dal prof. McLaren.

## RIASSUNTO DI QUANTO GIÀ RIPORTATO PER LE PRIME TRE DOMANDE

La presentazione delle domande proposte da Waksman e lo stato delle attuali conoscenze relative agli argomenti proposti nelle prime tre domande sono stati discussi in quattro brevi articoli pubblicati dal Notiziario di Informazione dell'Accademia dei Georgofili. Oggi si ritiene il suolo un comparto essenziale non solo per il suo ruolo nella fertilità ma anche per la salute dell'ambiente terrestre e dell'uomo. Quindi si usa il termine qualità del suolo che ha un significato più ampio del termine fertilità del suolo. L'uso di isotopi ha permesso di quantificare le reazioni dei principali elementi nutritivi e il destino dei fertilizzanti nel sistema suolo-pianta. Le tecniche molecolari basate sulla estrazione di acidi nucleici e sul loro sequenziamento hanno permesso di caratterizzare meglio la diversità e le funzioni delle comunità microbiche, dalle quali dipende principalmente il funzionamento del suolo. La biomassa microbica è molto elevata. Phil Brokes, comparando la biomassa degli organismi animali che vivono sulla superficie terrestre con la biomassa microbica del suolo, calcolò che mediamente la biomassa microbica del suolo era equivalente a quella di 100 pecore mentre quella animale sulla superficie terrestre di ettaro era pari a 2 pecore (Nannipieri, 2020). Tuttavia, solamente un volume pari all'1% di quello totale è occupato dalle popolazioni microbiche, perché pochi microambienti offrono le condizioni necessarie per la vita microbica. La diversità microbica è elevata; infatti, in un grammo di suolo vivono migliaia di specie microbiche diverse. In alcuni microambienti occupati le specie microbiche sono attive perché dispongono dei nutrienti; ad esempio, i microambienti della rizosfera, il suolo che circonda la radice. In altri microambienti carenti di nutrienti le specie microbiche sono inattive. Molecole biologiche importanti come gli enzimi e gli acidi nucleici possono persistere nell'ambiente extracellulare se adsorbiti dalle superfici di particelle solide con le quali interagiscono, e ciò caratterizza il suolo per un'attività enzimatica e una carica genomica extracellulare indipendente dall'attività microbica (Nannipieri, 2020). Infine, oggi si comprende meglio il funzionamento del sistema suolo-pianta di quanto fosse possibile ai tempi di Waksman. Ad esempio l'uso combinato di isotopi stabili e tecniche molecolari come la tecnica "Stable Isotope Probes (SIP)" permette di monitorare il destino degli essudati radicali prodotti dalla fissazione dell'isotopo  $^{13}\text{C}$  dell'anidride carbonica: le comunità microbiche che usano tali essudati sintetizzano il DNA pesante, cioè quello che contiene l'isotopo  $^{13}\text{C}$  che è separato dal quello leggero che contiene il  $^{12}\text{C}$  per ultracentrifugazione (fig. 1).

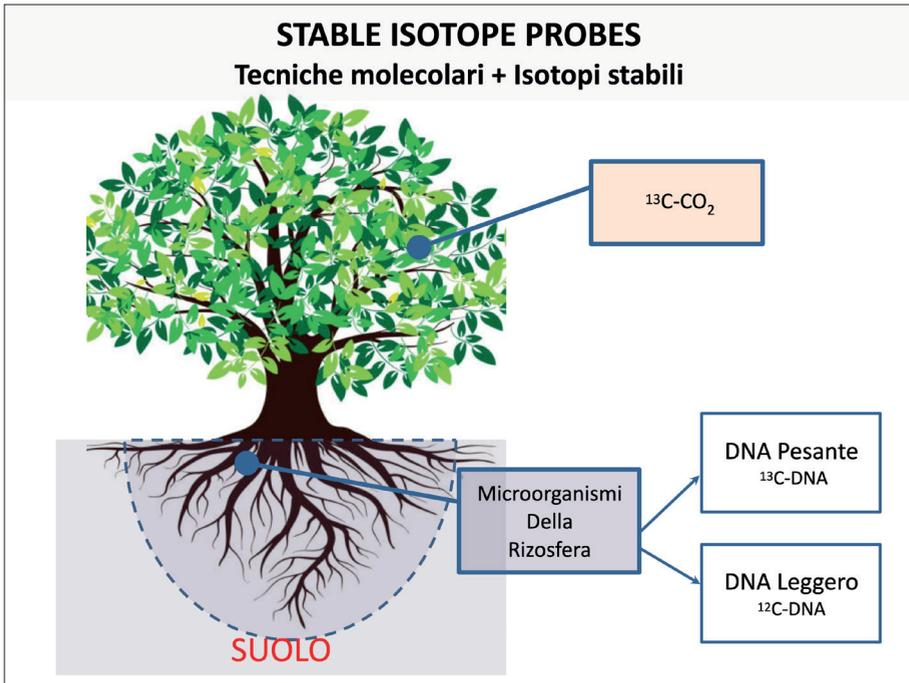


Fig. 1 Applicazione della tecnica "Stable Isotope Probes" al sistema pianta-suolo per monitorare il percorso del carbonio fotosintetizzato dalla pianta alla popolazione microbica del suolo

LA QUARTA DOMANDA: WHAT IS THE MEANING AND SIGNIFICANCE OF ENERGY BALANCE IN SOIL, IN PARTICULAR WITH REFERENCE TO C AND N?

La quarta domanda pone in relazione il flusso energetico con i cicli di due importanti elementi quali il carbonio e l'azoto. Si tratta di tre temi complessi. Tuttavia le dinamiche del carbonio e dell'azoto sono oggi più complesse di quanto fosse conosciuto al tempo di Waksman. Sappiamo che le necromasse microbiche formano il 70-80% della sostanza organica perché i residui vegetali e animali sono in genere degradati dal microbioma, la cui morte genera la sostanza organica, da cui dipende la fertilità dei suoli. Le tecniche che favoriscono l'aumento di sostanza organica nei suoli sono anche importanti perché, attraverso lo "stoccaggio del carbonio" nel suolo, si può contrastare l'aumento di concentrazione di anidride carbonica nell'atmosfera, che è ritenuta la principale causa dell'innalzamento della temperatura. L'aumento delle superfici forestali con tecniche agro-forestali aumenta il contenuto di sostanza organica specialmente negli orizzonti del suolo più profondi. Infatti, il contenuto di so-

stanza organica diminuisce secondo la profondità del suolo e quindi i margini di aumento sono maggiori dove il contenuto è minore.

Il ciclo dell'azoto è oggi più complesso di quanto lo fosse al tempo di Waksman perché le forme azotate possono dare origine a reazioni che erano sconosciute, come la reazione anaerobica ossidativa dello ione ammonio. Oggi sappiamo che il suolo è abitato da popolazioni microbiche allora sconosciute, come la *Nitrosospira*, che contiene gli enzimi responsabili della ossidazione di ammoniaca a nitrito e quelli che catalizzano la ossidazione del nitrito a nitrato. Al tempo di Waksman si conoscevano popolazioni microbiche che effettuavano solo uno dei due processi.

L'energia arriva al suolo in genere sotto forma di composti organici, costituiti principalmente da residui vegetali o rizodeposizioni, cioè essudati radicali e residui radicali. Questi apporti al suolo non sono continui e quindi il suolo si caratterizza non solo per una variabilità spaziale dell'attività microbica ma anche per una variabilità temporale connessa alle variazioni degli inputs energetici.

#### LA QUINTA DOMANDA: HOW DO CULTIVATED PLANTS INFLUENCE SOIL TRANSFORMATIONS?

La pianta può selezionare la popolazione microbica che circonda le radici attraverso il rilascio di essudati radicali. Tuttavia questi effetti sono transitori perché, come già menzionato, la popolazione microbica è resiliente. Sebbene la diversità microbica diminuisca passando dal suolo rizosferico a quello non rizosferico si è stimato che in media solo il 17% della diversità microbica del suolo rizosferico dipende dal tipo di pianta e il rimanente dal tipo di suolo (Nannipieri, 2020). L'effetto della pianta cresce al 40% in media nel determinare la diversità delle popolazioni microbiche endofite, cioè che vivono all'interno della pianta.

È chiaro che nelle policolture con differenti tipi di piante, le radici di diverse piante possono occupare diverse porzioni di suolo e aumentare in questo modo la qualità e la diversità degli essudati radicali e quindi gli effetti sul microbioma del suolo. Tuttavia non sempre si ha una sinergia che porta alla crescita delle diverse specie vegetali. Per esempio, un esperimento con la senape bianca (*Sinapis alba*), facelia di pizzo (*Phacelia tanacetifolia*), avena (*Avena strigosa*) e trifoglio egiziano (*Trifolium alexandrinum*) coltivati da soli o insieme in un suolo "silt loam" ha evidenziato la prevalenza della biomassa radicale della senape e della facelia (Heurmann et al., 2019). Tuttavia, la pratica agronomica pluriennale ha permesso di selezionare policolture che migliorano la fertilità del suolo e l'azione di controllo verso i germi patogeni ma alcuni relativi meccanismi non sono conosciuti e richiedono ulteriori ricerche.

## LA SESTA DOMANDA: HOW ONE MODIFY SOIL POPULATIONS AND TO WHAT ENDS?

Modificare la diversità microbica del suolo favorendo quei microorganismi che possono favorire la resa delle colture e/o combattere i germi patogeni è uno degli scopi della agricoltura sostenibile suolo; è una sfida molto difficile da vincere perché il microbioma è resistente e dipende dalle proprietà del suolo come ho menzionato in precedenza (Van Elsas e Nannipieri, 2019). Perciò la modifica desiderata del microbioma del suolo si può avere non solo introducendo i microorganismi che effettuano le funzioni desiderate ma anche agendo sulle proprietà del suolo che migliorino le funzioni desiderate, ad esempio attraverso la fertilizzazione organica o l'aggiunta di materiali come il biochar che possono selezionare microorganismi aventi azioni benefiche sulla pianta. Sebbene siano stati fatti dei miglioramenti che favoriscono l'introduzione di microorganismi benefici nel suolo, come ad esempio l'uso di "carriers" che agiscono da microambienti favorevoli per l'inoculo microbico, la sopravvivenza dell'inoculo nel suolo è limitata e quindi l'azione desiderata è di breve durata.

## LA SETTIMA DOMANDA: WHAT INTERRELATIONSHIPS EXIST BETWEEN PHYSICOCHEMICAL CONDITIONS IN SOIL AND MICROBIAL ACTIVITIES?

Le tecniche molecolari hanno permesso di identificare il valore di pH come una delle proprietà del suolo più importanti nel determinare l'attività microbica. Da tempo sappiamo che i batteri sono sensibili ai valori di pH acidi mentre i funghi son più resistenti. Tuttavia, oggi abbiamo individuato le specie resistenti e quelle che sono sensibili a valori di pH lontani dalla neutralità (Van Elsas e Nannipieri, 2019).

Un'altra proprietà del suolo che gioca un ruolo importante nel determinare non solo l'attività ma anche la diversità microbica è l'umidità. La secchezza dei suoli causa una marcata riduzione dell'attività e della diversità microbica favorendo le specie resistenti alla limitazione di acqua. Invece nel caso di suoli saturi di acqua prevalgono condizioni di limitata disponibilità di ossigeno favorendo così il metabolismo anaerobico e le specie microbiche anaerobiche. Infine l'uso delle tecniche molecolari ha permesso di studiare le variazioni della diversità microbica del suolo in seguito alle modifiche delle proprietà indotte da pratiche agronomiche, come ad esempio le lavorazioni del suolo (Van Elsas e Nannipieri, 2019).

## CONCLUSIONI

Nonostante l'avanzamento delle conoscenze sulle funzioni del suolo e sul ruolo che hanno gli organismi che lo abitano in queste funzioni, non siamo ancora capaci di comprendere e simulare quello che avviene a livello del microambiente. L'avanzamento delle conoscenze è stato ottenuto in gran parte con tecniche che si basano sulla estrazione di composti dal suolo; ad esempio le tecniche molecolari si basano sulla estrazione di acidi nucleici. I metodi di estrazione presentano alcuni inconvenienti, quali la non completa estrazione del composto, la non conoscenza della distribuzione eterogenea del composto e la possibilità di avere artefatti durante la estrazione. Anche le conoscenze acquisite con esperimenti semplici, quali, ad esempio, quelli che studiano l'adsorbimento di un composto da parte di un componente della fase solida del suolo, non considerano la complessità dell'ambiente suolo; ad esempio nel caso considerato il ruolo di altri componenti della fase solida o di altri composti in aggiunta a quelli considerati. Un ulteriore avanzamento delle conoscenze richiede a mio avviso di visualizzare quello che succede a livello del microambiente e di simulare tali condizioni con esperimenti di laboratorio. Il recente uso del NanoSIMS, un tipo di analisi di spettrometria di massa, ha mostrato il percorso del carbonio fotosintetizzato dalla pianta alle radici, dalle radici alle ife delle micorrize che infettano la radice e da queste ife ai microorganismi che sono vicini alle micorrize (Kaiser et al., 2015). L'impiego combinato di sezioni di suolo esaminate prima al microscopio elettronico di trasmissione e poi con il NanoSIMS ha evidenziato il percorso di residui vegetali marcati con  $^{13}\text{C}$  nei lombrichi, dai lombrichi alla superficie di particelle solide (Vidal et al., 2019). Si tratta esperimenti innovativi che fanno ben sperare per comprendere quello che succede nei diversi microambienti del suolo.

## RIASSUNTO

Ho iniziato la mia carriera scientifica sotto la supervisione di Paolo Sequi a Pisa presso il Laboratorio per la Chimica del Terreno del CNR. Essendo un biochimico avevo delle perplessità nel condurre ricerche sul suolo che fossero attenenti alla mia preparazione. Il suolo era per me qualcosa di inerte. Tuttavia, Paolo mi spiegò che esisteva la biochimica del suolo ed ebbe la geniale idea di invitare a Pisa gli studiosi di allora che erano "top scientists" nella scienza del suolo. Il primo ad essere inviato fu il Prof A.D. McLaren della Università di Berkeley, padre della "Soil Biochemistry"; McLaren tenne un seminario dal titolo "Consecutive biochemical reactions in soil with particular reference to the nitrogen cycle", di cui conservo la pubblicazione a cura del Laboratorio per la Chimica del Terreno. In particolare il prof McLaren parlò dell'attività ureasica e delle diverse localizzazioni che que-

sto enzima poteva avere nel suolo. Questo intervento mi fece capire che potevo applicare le mie conoscenze anche al suolo, che era un sistema biologico complesso ed affascinante. Il prof McLaren fu anche il primo che esaminò nel 1977 l'avanzamento delle conoscenze relative alle tematiche delle domande proposte da Waksman nel 1927 nel suo libro "Principle of Soil Microbiology" (Williams & Wilkins, Baltimore). Le risposte a queste domande avrebbero portato a comprendere il funzionamento del suolo, che dipende in gran parte dall'attività degli organismi che ci abitano.

#### ABSTRACT

*The present knowledge of the seven grand questions by Prof Salem Waksman.* My scientific career has begun under the direction of Paolo Sequi at the "Laboratorio per la Chimica del Terreno, CNR in Pisa. Dealing my research thesis on biochemistry, I was perplexed to carry out studies on soil, that it was for me an inert system. Fortunately, Paolo Sequi explained me the existence of Soil Biochemistry and then he invited Prof A.D. McLaren of the University of Berkeley, the founder of "Soil Biochemistry"; McLaren gave a speech titled "Consecutive biochemical reactions in soil with particular reference to the nitrogen cycle", of which I keep the publication by the "Laboratorio per la Chimica del Terreno". In particular prof McLaren spoke about the urease activity and the different locations of the enzyme in the soil matrix. I understood that the soil was a complex and fascinating biological system. Prof McLaren was the first discussing the status of knowledge of the seven grand questions proposed by Prof Waksman in his book "Principle of Soil Microbiology" (Williams & Wilkins, Baltimore) published in 1927. According to Prof. Waksman, the answers to these questions would allow to understand and quantify soil functions.

#### BIBLIOGRAFIA

- HEUERMANN D., GENTSCH N., BOY J., SCHWENEKER D., FEUERSTEIN U., GROB J., BAUER B., GUGGENBERGER G., VON WIREN N. (2019): *Interspecific competition among catch crops modifies vertical root biomass distribution and nitrate scavenging in soils*, «Scientific Report», 9, p. 11531.
- KAISER C., KILBURN M.R., CLODE P.L., FUCHSLUEGER L., KORANDA M., CLIFF J.B., SOLAIMAN Z.M., MURPHY D.V. (2015): *Exploring the transfer of recent plant photosynthates to soil microbes: mycorrhizal pathway vs direct root exudation*, «New Phytologist», 205, pp. 1537-1551.
- MCLAREN A.D. (1977): *The seven questions of Selman A. Waksman*, «Soil Biology and Biochemistry», 9, pp. 375-376.
- NANNIPIERI P. (2020): *Soil is still an unknown biological system*, «Applied Science», 10, p. 3717.
- NANNIPIERI P. (2022a): *Attività biologica del suolo: le conoscenze attuali partendo dalle sette domande di Waksman*, «Georgofili Info. Notiziario di Informazione a cura dell'Accademia dei Georgofili», 16 febbraio 2022.
- NANNIPIERI P. (2022b): *Attività biologica del suolo: le conoscenze attuali partendo dalle sette*

- domande di Waksman. La prima domanda: What organisms are active under field conditions and in what ways?*, «Georgofili Info. Notiziario di Informazione a cura dell'Accademia dei Georgofili», 23 marzo 2022.
- NANNIPIERI P. (2022c): *Attività biologica del suolo: le conoscenze attuali partendo dalle sette domande di Waksman. La seconda domanda: What relationships exist between soil organic matter (SOM) transformations and soil fertility?*, «Georgofili Info. Notiziario di Informazione a cura dell'Accademia dei Georgofili», 11 maggio 2022.
- NANNIPIERI P. (2022d): *Attività biologica del suolo: le conoscenze attuali partendo dalle sette domande di Waksman. La terza domanda: What relationships exist between soil organic matter (SOM) transformations and soil fertility?*, «Georgofili Info. Notiziario di Informazione a cura dell'Accademia dei Georgofili», 07 settembre 2022.
- VAN ELSAS J.D. e NANNIPIERI P. (2019): *The seven grand questions on soil microbiology (Selman A. Waksman, reexamined by Arthur D. McLaren)*, in *Modern Soil Microbiology*, Third Edition, Van Elsas J.D, Trevors J.T., Soares Rosado A., Nannipieri P., editori, CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 21-35.
- VIDAL A., WATTEAU F., REMUSAT L., MUELLER C.W., NGUYEN TU, BUEGGER F., DERENNE S., QUENEA K. (2019): *Earthworm cast formation and development: A shift from plant litter to mineral associated organic matter*, «Frontiers in Environmental Sciences», 7, p. 15.

GIANNIANTONIO PETRUZZELLI<sup>1</sup>

## L'inquinamento da metalli pesanti da un disegno di Paolo Sequi

<sup>1</sup> CNR-Istituto di Ricerca sugli Ecosistemi Terrestri

Gli effetti sulla salute umana, la presenza negli alimenti e l'influenza sulla qualità del suolo sono i principali problemi che hanno reso lo studio della contaminazione da metalli pesanti una delle attività di ricerca più importanti nelle scienze ambientali a partire dagli anni '70.

Per quanto riguarda il suolo, l'apporto di metalli pesanti è cominciato ad aumentare dall'inizio della rivoluzione industriale e oggi molteplici sono le fonti di contaminazione; una review del 2019 sulla contaminazione del suolo da metalli pesanti ha evidenziato che nel mondo ci sono 5 milioni di siti di suolo contaminati da questi elementi (Li et al., 2019).

Tuttavia, lo studio dell'inquinamento da metalli pesanti non è semplice e la comunità scientifica è impegnata in questo argomento da tempo, con un numero di pubblicazioni che sta crescendo in modo esponenziale (fig. 1).

*Dalla figura si rileva come il primo anno considerato sia il 1979. Un anno prima nello studio di Paolo Sequi nella sede dell'Istituto per la Chimica del Terreno del CNR, stavamo preparando una pubblicazione sulla problematica dell'aggiunta di fanghi urbani e compost sui suoli agrari in relazione alla presenza dei metalli pesanti in questi materiali. Paolo Sequi disegnò una piantina e schematizzò le principali reazioni dei metalli nel terreno (fig. 2).*

*La figura poneva l'accento sulla "biodisponibilità" dei metalli pesanti, evidenziava che la pericolosità dei metalli per il trasferimento verso la pianta o per la percolazione verso la falda dipende dalla loro concentrazione nella fase liquida del suolo, ed elencava le principali interazioni (reazioni) nel suolo che contribuiscono a questa concentrazione.*

Questo disegno è l'essenza della chimica dei metalli pesanti nel terreno.

Nel suolo, la biodisponibilità è la risultante di una serie di complessi processi di trasferimento di massa e di assorbimento che sono determinati dal-

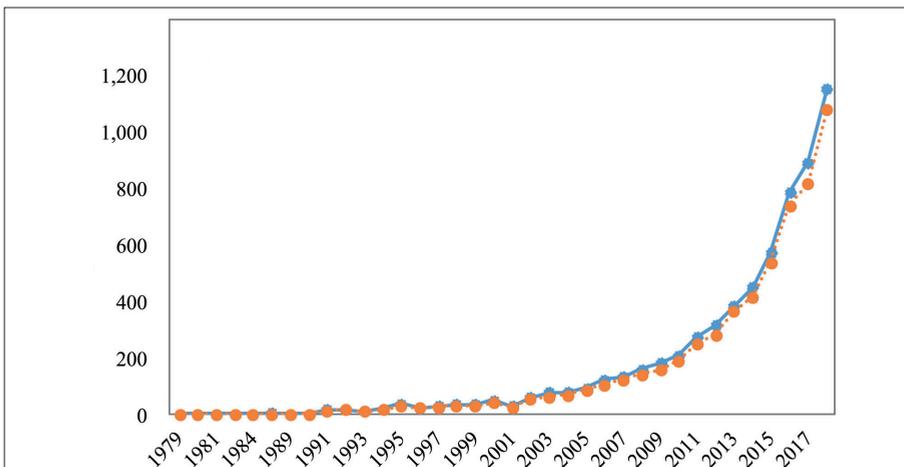


Fig. 1 *Numero di pubblicazione sull'inquinamento da metalli pesanti dal 1979 al 2020. Modificato da Han et al. 2020*

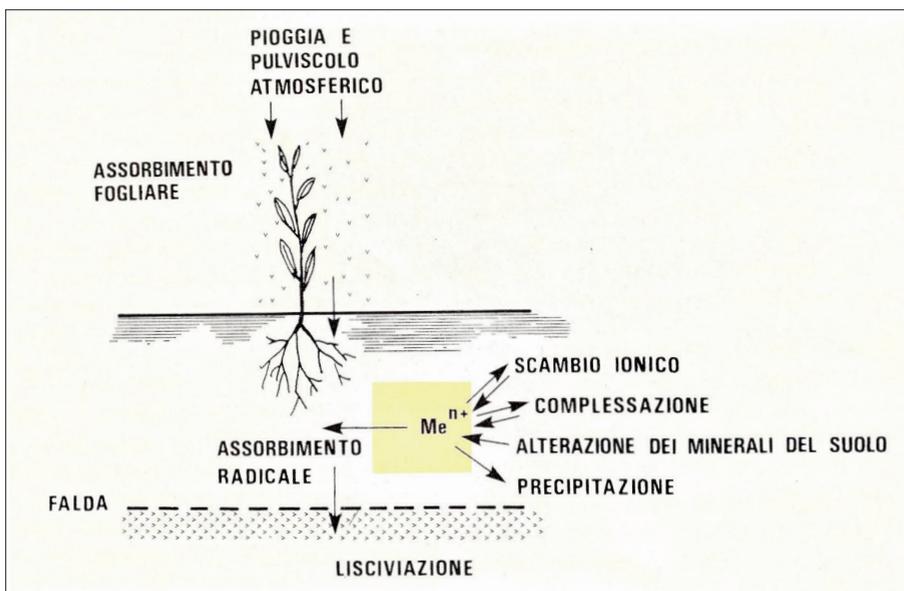


Fig. 2 *Il disegno di Paolo Sequi tratto da Sequi e Petruzzelli 1978*

le proprietà dei metalli, dalle caratteristiche del suolo e dalla biologia degli organismi interessati. Se la pianta è l'anello fondamentale del passaggio di un contaminante dal suolo all'uomo, si deve sottolineare come qualunque sostanza, per essere assorbita dall'apparato radicale, deve essere disciolta nella

fase liquida. Al momento in cui un metallo raggiunge il suolo, il legame con la fase solida può avvenire mediante processi di adsorbimento sia sulla matrice minerale (argille, ossidi, idrossidi) che su quella organica (sostanze umiche), oppure per formazione di precipitati in base a specifiche condizioni chimiche. Si vengono così a formare dei legami di varia natura e forza tra i metalli e le superfici del suolo.

Il rilascio di un metallo dalle superfici del terreno nella fase liquida avviene in risposta a variazioni dell'ambiente chimico nella soluzione del terreno. Una volta rilasciato nella fase liquida, un metallo può muoversi liberamente verso un organismo vivente o migrare verso la falda in seguito a processi di trasporto (diffusione, dispersione, ecc.). Durante la fase di trasporto i metalli possono essere soggetti a ulteriori reazioni (ossidazione, idrolisi, ecc.) che possono modificarne sia la tossicità che la biodisponibilità. La biodisponibilità è la chiave di volta per valutare i rischi derivanti dall'inquinamento e la possibilità del suolo di svolgere la fondamentale azione di barriera protettiva nei confronti degli altri comparti ambientali.

Nei processi di biodisponibilità il passaggio, dalla fase solida alla soluzione del terreno è, come detto, governato dalle caratteristiche specifiche del suolo che determinano la distribuzione dei metalli nelle diverse fasi: solida, liquida e gassosa.

*Nel disegno di Paolo Sequi la parola **precipitazione** individuava la dipendenza della concentrazione dei metalli nella fase liquida dal pH che spesso è anche il parametro fondamentale per definire la pericolosità dei metalli nell'ambiente.*

Il pH, che dipende dalla natura del substrato mineralogico da cui si è originato il suolo, è il parametro più importante che governa la concentrazione degli elementi inorganici nella soluzione del terreno, regolando i fenomeni di precipitazione e solubilizzazione. La solubilità della maggior parte dei metalli tende a diminuire all'aumentare del pH. In condizioni alcaline i processi di precipitazione riducono la quantità della maggior parte degli ioni metallici in soluzione, mentre il fenomeno opposto si verifica in ambiente acido. Fanno eccezione alcuni importanti elementi dotati di pericolosità ambientale, quali l'arsenico e il cromo, che si comportano in modo inverso agli altri metalli. Il pH regola anche i processi di adsorbimento specifico e di complessazione. L'adsorbimento dei metalli è spesso proporzionale al pH a causa della competizione degli ioni  $H^+$  per gli stessi siti di adsorbimento sulle superfici del terreno. Anche l'idrolisi dei metalli a pH più elevato favorisce il trattenimento di questi nella fase solida del terreno sotto forma di idrosso-complessi riducendo, al di sopra di un certo valore caratteristico per ciascun metallo, la concentrazione di questi elementi in soluzione diminuendone di fatto la quota rilasciata dalla fase solida e potenzialmente disponibile per i processi biologici.

*Tornando al disegno di Paolo Sequi con i termini **scambio ionico e complessazione**, si intendeva rimarcare l'importanza della capacità di scambio dei terreni.* Questa grandezza, che esprime la densità di carica sulle superfici dei colloidi del suolo, è determinata dalla sostanza organica e dalla quantità e dal tipo di argille. Lo scambio cationico dei metalli dipende dalla densità di cariche negative sulle superfici dei colloidi del suolo. Le cariche negative sulle superfici del terreno possono essere dipendenti dal pH o permanenti, laddove, ad esempio, si siano verificate sostituzioni isomorfe. Gli ioni metallici positivi ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , ecc.) formano spesso legami elettrostatici deboli con le superficie del suolo e sono facilmente scambiabili con altri cationi (ad esempio  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) che formano legami di questo tipo.

Le argille, costituenti primari del suolo, trattengono i metalli mediante reazioni di adsorbimento specifico e di scambio ionico attraverso un meccanismo di interazione con gli ioni ossidrili ai quali si legano successivamente i metalli ovvero per la formazione di legami direttamente con i metalli e spiazzamento di un protone. Anche gli ossidi di ferro, alluminio e manganese trattengono i metalli sia per reazioni di precipitazione che di adsorbimento specifico, riducendone la quantità in soluzione e di conseguenza la biodisponibilità. Tra i vari tipi di argille esistono notevoli differenze nelle capacità adsorbenti; che sono più elevati nelle argille espandibili nelle quali l'adsorbimento avviene negli spazi interstrati. L'importanza della tessitura del terreno sulla distribuzione dei contaminanti tra le fasi ha delle implicazioni dirette sulla biodisponibilità, che è sempre più elevata in terreni di natura sabbiosa rispetto a quelli argillosi, risultando in quest'ultimi la quota biodisponibile assai più ridotta per i fenomeni di adsorbimento.

La sostanza organica nel terreno, materiale che deriva dalla decomposizione di residui vegetali e animali strutturato in forme chimiche complesse, ha una elevata importanza per la distribuzione dei metalli pesanti tra le fasi del suolo, per la tendenza che le sostanze umiche hanno a formare complessi di varia natura con i metalli che possono essere sia solubili che insolubili. In generale, i complessi che si formano con le sostanze di più basso peso molecolare (acidi fulvici) sono solubili e tendono ad aumentare il contenuto di metalli nella soluzione del terreno. Al contrario, gli acidi umici caratterizzati da un più elevato peso molecolare formano complessi molto stabili con i metalli sottraendoli, in buona parte, ai processi ambientali e riducendone la biodisponibilità in relazione alla forza dei legami che si formano nelle reazioni di complessazione. I gruppi funzionali fenolici, carbossilici e amminici sono essenziali nel trattenimento dei metalli da parte delle sostanze umiche e l'aumento di questi gruppi funzionali durante il processo di umificazione aumenta la stabilità dei complessi nel tempo riducendo la biodisponibilità dei metalli.

Le interazioni tra i metalli pesanti e le superfici del suolo sono oggi oggetto di studio nei processi di adsorbimento, che rappresentano un importante filone di ricerca di fondamentale rilievo per la definizione delle problematiche dell'inquinamento. I processi di adsorbimento e desorbimento determinano la distribuzione dei metalli tra le fasi del suolo e la loro valutazione avviene mediante lo studio delle isoterme di adsorbimento. Attraverso le isoterme e le equazioni che le descrivono si riesce a individuare le quantità massime dei metalli che un suolo può trattenere nella fase solida. Negli ultimi anni, proprio le ricerche sui processi di adsorbimento dei metalli pesanti nel suolo hanno stimolato lo sviluppo di tecniche analitiche avanzate in grado di valutare la natura dei legami che si formano tra i metalli e le superfici solide del terreno. Ad esempio, le analisi spettroscopiche EXAFS (extended X-ray absorption fine structure spectroscopy) e XANES (X-ray absorption near edge structure) forniscono dettagli precisi sulle strutture molecolari dei complessi superficiali e delle modalità di complessazione che caratterizzano la reversibilità o meno dell'adsorbimento dei metalli sulle fasi solide del suolo (Bauer et al., 2022). Altrettanto importante per i processi di adsorbimento è lo sviluppo di tecniche di microscopia elettronica SEM (scanning electron microscopy) per esaminare la morfologia delle particelle di terreno e la loro composizione chimica (Abdelwaheb et al., 2022).

Nel campo degli studi dei processi di adsorbimento si è sviluppato anche un importante settore di ricerca basato sulla modellistica più avanzata. Ad esempio in un recente studio sono stati sviluppati diversi modelli di “machine learning” per prevedere l'adsorbimento di metalli pesanti sui suoli di diverse parti del mondo in base alle specifiche caratteristiche dei suoli e della concentrazione dei metalli pesanti utilizzando 4420 punti di dati sperimentali raccolti da 150 articoli (Yang et al., 2021). I risultati ottenuti in questa ricerca confermano quanto già evidenziato in anni di studio sull'adsorbimento di vari metalli su suoli di diversa natura. Il miglior algoritmo per produrre previsioni accurate e chimicamente significative ha mostrato che l'importanza delle caratteristiche del suolo coinvolte segue l'ordine di pH > argilla > sostanza organica > raggio > forza ionica > temperatura.

Le conclusioni di questo studio evidenziano la necessità di inserire i processi di adsorbimento nell'analisi di valutazione del rischio per la salute e per l'ambiente per ottenere risultati molto più affidabili rispetto alla considerazione della sola concentrazione totale dei metalli.

*Nel disegno di Paolo Sequi, un aspetto particolarmente innovativo è dato dalla necessità di valutare anche l'alterazione dei minerali del suolo come un importante contributo derivante gli apporti di origine naturale alla quantità di metalli nella fase liquida del suolo.*

*In un momento storico nel quale le parole metalli pesanti cominciavano a essere viste quasi come un sinonimo di inquinamento, si tendeva a considerare esclusivamente la concentrazione dei metalli nella specifica area in esame senza guardare al contesto pedologico generale della zona. Paolo Sequi affrontò una problematica relativa a un potenziale inquinamento da arsenico in Puglia, evidenziando come non solo la zona sotto esame era considerata inquinata, ma anche tutti i terreni limitrofi avevano un contenuto anomalo di arsenico di origine geologica.*

*Oggi la considerazione dei valori di fondo dei metalli è parte integrante della fase di caratterizzazione di un sito inquinato, ma per arrivare a questo punto la chimica del terreno ha dovuto superare numerose e difficili battaglie, e all'epoca l'intuizione di Sequi fu senza dubbio estremamente innovativa.*

Quando a livello internazionale emerse la problematica dei siti contaminati, la chimica del suolo fece il suo ingresso in un mondo nuovo, totalmente diverso dall'ambito agrario, trovandosi di fronte una difficile, ma affascinante sfida di contribuire a restituire a nuova vita dei terreni divenuti sostanzialmente inerti.

Infatti, i siti contaminati sono stati ritrovati in diverse zone molto specifiche, quali aree industriali dismesse, vecchie discariche incontrollate. In queste aree, i contaminanti più diffusi sono proprio i metalli pesanti che per le loro caratteristiche di non biodegradabilità tendono infatti a permanere nel suolo per periodi di tempo estremamente lunghi.

Per anni, nelle operazioni di bonifica la qualità del suolo è stata spesso considerata molto marginalmente essendo l'obiettivo primario degli interventi quello di raggiungere i livelli di concentrazioni residue dei contaminanti richiesti dalle normative del settore, con una ridotta attenzione alle possibili conseguenze che le tecnologie impiegate potessero avere sulla qualità del suolo. Dal momento che le tecnologie di bonifica derivavano direttamente da quelle utilizzate per il trattamento dei rifiuti tossici e pericolosi, era stata adottata una insensata equazione che identificava il suolo contaminato con un rifiuto pericoloso, basti pensare che per anni le stesse pubblicazioni del Ministero dell'Ambiente identificavano tre matrici – aria acqua e rifiuti –, ignorando l'importanza fondamentale del suolo come matrice ambientale.

*In questo ambito si deve attribuire proprio a Paolo Sequi la capacità di riuscire a fare escludere dalle normative sulle bonifiche i suoli agrari, per i quali i danni dell'equiparazione di un suolo contaminato con un rifiuto pericoloso sarebbero stati incalcolabili, visto anche che le difficoltà a livello analitico che la matrice suolo presentava rispetto ad aria e acqua avevano portato a considerare esclusivamente la concentrazione totale dei metalli, senza alcuna distinzione tra l'origine naturale e quella antropica.*

Se fino all'inizio degli anni 2000, la maggior parte degli interventi prevedeva la rimozione del terreno con collocamento in discarica o incenerimento, oggi l'impiego di tecnologie innovative è in continuo aumento e molto elevata è l'attenzione agli effetti che l'impiego che certe tecnologie possono avere sull'ambiente, con una crescente evoluzione nella considerazione della matrice suolo.

Per quanto riguarda la bonifica dei siti contaminati da metalli pesanti, nonostante siano state sviluppate diverse tecnologie, ci sono ancora molte problematiche irrisolte da affrontare. Infatti, nel decennio 2012-2022 le pubblicazioni sulla bonifica di siti contaminati da metalli pesanti sono state circa 1150 per le riviste Web Of Science (WOS). A questo numero di articoli vanno aggiunti i numerosi articoli pubblicati su riviste ad accesso libero non ancora catalogate in WOS, per cui si può ragionevolmente presumere che questi numeri dovrebbero essere raddoppiati (Song et al., 2022).

Nel caso dei suoli nei siti contaminati il rapporto terreno-contaminanti è molto complesso, spesso caratterizzato dalla presenza contemporanea di differenti classi chimiche di composti, che si sono accumulate nel tempo. In questo ambito la chimica del suolo deve offrire, all'interno di un approccio multidisciplinare, un contributo essenziale per una scelta corretta delle strategie di recupero dei suoli contaminati, in modo che il suolo non sia più considerato semplicisticamente come un rifiuto da trattare, ma come una matrice che esplica funzioni essenziali di protezione degli altri comparti ambientali, orientando, di conseguenza, anche la scelta delle tecnologie di bonifica, verso quelle soluzioni che consentono di ottenere al termine delle operazioni un suolo, per quanto possibile, con un'elevata funzionalità (Petruzzelli et al., 2021).

*Si può quindi ancora una volta tornare al disegno di Paolo Sequi e trarre spunto proprio dallo schizzo della piantina per accennare a una delle "green technologies" più importante per i metalli: la Phytoremediation. Se all'epoca la biodisponibilità era il processo che veniva messo in luce dal disegno per definire la quantità di metalli che poteva inserirsi nella catena alimentare, in ambito bonifiche è proprio questa stessa quantità quella che può fornire una previsione dell'efficienza della Phytoremediation. L'importanza dello studio dei processi di biodisponibilità che emergeva dal disegno ha trovato riscontro in un crescente interesse a livello internazionale, come documentato dall'incremento delle pubblicazioni su questo argomento. È stato riportato che le pubblicazioni della letteratura "peer-reviewed" relativa alla valutazione della biodisponibilità dei metalli pesanti nei suoli sono aumentate in modo esponenziale dal 1979 al 2022 (fig. 3).*

Le fitotecnologie utilizzano le piante per la bonifica di varie matrici ambientali contaminate; nel suolo, la fitoestrazione sfrutta la capacità di alcune piante di assorbire i metalli dal suolo tramite il sistema radicale e di accumu-

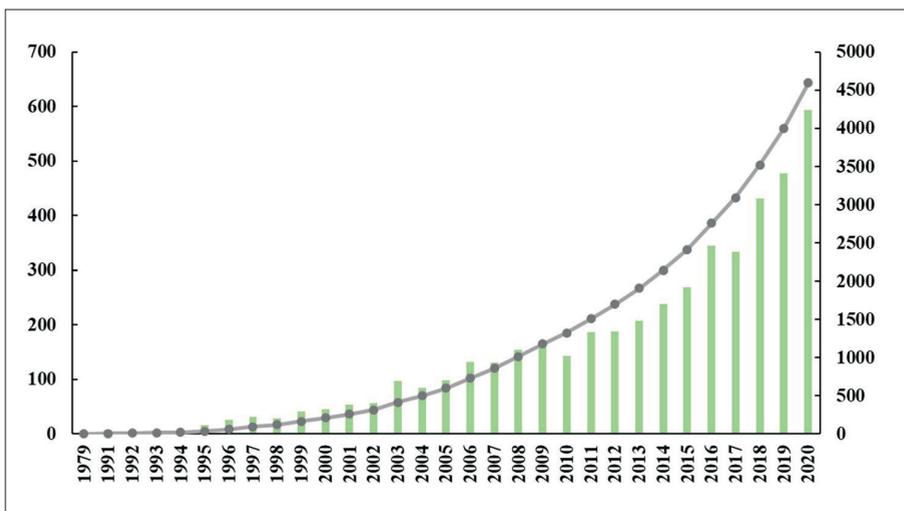


Fig. 3 *Pubblicazioni relative agli studi sulla biodisponibilità dei metalli pesanti nel suolo. Modificato da Sun et al., 2022*

larli nella parte aerea. In definitiva, il principio alla base della fitoestrazione è quello di utilizzare la pianta come estraente. Al termine della crescita, le piante vengono raccolte, rimuovendo così i metalli dal suolo. Questa tecnica di bonifica “green”, essendo applicata in situ non richiede nessuna escavazione e trasporto del terreno, e ha la prerogativa di mantenere o addirittura migliorare le proprietà fisico-chimiche del suolo. Inoltre, è vantaggiosa non solo dal punto di vista ecologico ma anche economico in quanto i costi sono molto inferiori a quelli richiesti per le tecniche convenzionali. L'efficienza della tecnologia dipende strettamente dalle proprietà del suolo che determinano la biodisponibilità dei metalli per l'assorbimento da parte delle piante.

#### UNO SGUARDO AL FUTURO

*Qualche anno prima del disegno che ha guidato questo percorso attraverso la chimica dei metalli nel suolo, Paolo Sequi che aveva una visione ben chiara di come si stava evolvendo la ricerca a livello internazionale, mi parlò delle conseguenze disastrose per la salute derivanti da una dieta ricca di cadmio e mi disse che i metalli pesanti sarebbero stati la ricerca del futuro e che l'Istituto doveva essere protagonista di questa ricerca. Infatti, ricordo che aggiunse «noi non dobbiamo fare le analisi chimiche del terreno per gli altri, noi siamo la chimica del terreno». Come sua consuetudine, senza forzare mai la mano, sapeva trasmettere non solo interesse ma anche entusiasmo per la ricerca.*

Oggi a distanza di tanti anni si può affermare che la sua previsione era pienamente centrata e che quel suo disegno mantiene intatta tutta la sua validità scientifica. Infatti, oggi stiamo vivendo un importante momento storico col passaggio da un'economia basata sul petrolio a un'economia basata sui metalli. Infatti, l'estrazione e la lavorazione dei minerali sono alla base della tecnologia e delle infrastrutture moderne. Ogni anno, nel mondo vengono prodotti oltre 3,3 miliardi di tonnellate di metalli e la maggior parte delle previsioni della richiesta di questi elementi mostra che ci sarà un consumo crescente di metalli nei prossimi decenni, anche nella generazione di energia rinnovabile, nei veicoli elettrici e nelle batterie (Watari et al., 2020). La transizione delle economie e delle industrie mondiali verso energie e tecnologie più sostenibili richiederà una maggiore estrazione e lavorazione delle risorse minerarie non rinnovabili, con impatti sia positivi che negativi sull'ambiente e sulla società. Le proiezioni a lungo termine della domanda di metalli, in particolare quelli relativi all'energia verde, alla mobilità verde e alla digitalizzazione, prevedono una crescita eccezionale della richiesta di metalli, che potrebbe essere tra 6 e 30 volte superiore ai livelli attuali (Elshkaki et al., 2018). La crescita delle energie rinnovabili, in particolare se si considerano le ambizioni di "net zero carbon", potrebbe spostare le basi delle economie mondiali dall'utilizzo dei combustibili fossili allo sfruttamento delle risorse metallifere, con un crescente apporto di metalli nell'ambiente.

*In un mondo in continuo cambiamento, non so se questa previsione si avvererà o meno nel futuro, allora ritorno al passato. Quando Paolo Sequi fondò l'Istituto per la Chimica del Terreno, lui era molto giovane e noi suoi allievi eravamo dei ragazzi. In pochissimi anni, l'Istituto sotto la sua guida diventò uno dei migliori del CNR. Ci chiamavano, ovviamente scherzando, ma anche con una certa ammirazione, "i ragazzi di Via Corridoni". Ognuno di noi ragazzi, appena entrato nel CNR, ha chiamato, per un certo periodo di tempo, Paolo Sequi "professor Sequi". Per la felice vita scientifica che grazie a lui ognuno di noi ha avuto la possibilità di vivere, le ultime parole di questo articolo non possono essere che un ringraziamento di cuore:*

*Grazie professor Sequi dai tuoi "ragazzi di Via Corridoni".*

#### RIASSUNTO

Gli effetti sulla salute umana, la presenza negli alimenti e l'influenza sulla qualità del suolo lo studio della contaminazione da metalli pesanti è una delle attività di ricerca più importanti in campo ambientale

L'apporto di metalli pesanti al suolo è aumentato dall'inizio della rivoluzione industriale e oggi molteplici sono le fonti di contaminazione. Lo studio dell'inquinamento da metalli pesanti è complesso perché deve tener conto della loro presenza di origine geologica nel suolo.

Gli studi attuali della chimica dei metalli pesanti nel suolo vengono ripercorsi alla luce della strada che Paolo Sequi con una lungimirante visione aveva già indicato negli anni 70, evidenziando come la biodisponibilità fosse la chiave per comprendere i rischi derivanti dall'inquinamento, che può essere affrontato con successo solo tenendo conto che le frazioni biodisponibili dei metalli pesanti dipendono dalle proprietà del suolo e dai processi chimici, fisici e biologici, che avvengono nel suolo.

#### ABSTRACT

The effects on human health, their presence in food and the influence on soil quality have made the study of heavy metal contamination one of the most important research activities in the environmental studies.

The contribution of heavy metals to the soil has increased since the beginning of the industrial revolution and today there are many sources of contamination. The study of heavy metal pollution is complex because it must also take into account their geological origin in the soil.

The current studies of the chemistry of heavy metals in the soil are retraced in the light of the path that Paolo Sequi had already indicated in the 70s with a forward-looking vision, highlighting how bioavailability was the key to understanding the risks deriving from pollution. Soil contamination can be faced successfully only taking into account that the bioavailable forms of metals depend on the properties of the soil and on the chemical, physical and biological processes that take place in the soil.

#### RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- ABDELWAHEB M., NEDEFF V., DRIDI-DHAOUADI S., MOSNEGUTU E., BARSAN N., CHITIMUS A.D. (2022): *Assessment of Cadmium and Copper Adsorption by Two Agricultural Soils from Romania and Tunisia: Risk of Water Resource Pollution*, «Processes», 10, 1802.
- BAUER T.V., PINSKII D.L., MINKINA T.M., SHUVAEVA V.A., SOLDATOV A.V., MANDZHIEVA S.S., TSITSUASHVILI V.S., NEVIDOMSKAYA D.G., SEMENKOV I.N. (2022): *Application of XAFS and XRD methods for describing the copper and zinc adsorption characteristics in hydromorphic soils*, «Environ. Geochem. Health.», 44, pp. 335-347.
- ELSHKAKI A., GRAEDEL T., CIACCI L. AND RECK B. (2018): *Resource Demand Scenarios for the Major Metals*, «Environ. Sci. Technol.», 52, pp. 2491-2497.
- HAN R., ZHOU B., HUANG Y., LU X., LI S., LI N. (2020): *Bibliometric overview of research trends on heavy metal health risks and impacts in 1989-2018*, «J. Clean. Prod.», 276, 123249.
- LI C., ZHOU K., QIN W., TIAN C., QI M., YAN X., HAN W. (2019): *A review on heavy*

- metals contamination in soil: effects, sources, and remediation techniques*, «Soil Sediment Contam.», 28, pp. 380-394. doi:10.1080/15320383.2019.1592108.
- PETRUZZELLI G., PEDRON F., BARBAFIERI M., ROSELLINI I., GRIFONI M., FRANCHI E. (2022): *Remediation Technologies, from Incineration to Phytoremediation: The Rediscovery of the Essential Role of Soil Quality*, in Prasad, R. (eds), *Phytoremediation for Environmental Sustainability*, Springer, Singapore.
- SEQUI P. E PETRUZZELLI G. (1978): *Il riciclaggio dei rifiuti. Pericolo per l'inquinamento del terreno*, «L'Italia Agricola», 115, pp. 55-72.
- SONG P., XU D., YUE J., MA Y., DONG S., FENG J. (2022): *Recent advances in soil remediation technology for heavy metal contaminated sites: A critical review*, «Sci. Tot. Environ.», 838, 156417, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156417>.
- SUN Y., SHEN J., SUN Z., FUJUN MA F., JONES K.C., GU Q. (2022): *A bibliometric analysis and assessment of priorities for heavy metal bioavailability research and risk management in contaminated land*, «Environ. Geochem. Health.», doi: 10.1007/s10653-022-01387-6.
- WATARI T., NANSAI K., NAKAJIMAET K. (2020): *Review of critical metal dynamics to 2050 for 48 elements*, «Resour. Conserv. Recycl.», 155, 104669.
- YANG H., HUANG K., ZHANG K., WENG Q., ZHANG H., WANG F. (2021): *Predicting Heavy Metal Adsorption on Soil with Machine Learning and Mapping Global Distribution of Soil Adsorption Capacities*, «Environ. Sci. Technol.», 55, pp. 14316-14328.

CLAUDIO CIAVATTA<sup>1</sup>

## Le problematiche della fertilità e dei fertilizzanti oggi

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari,  
*Alma Mater Studiorum* Università di Bologna

### I. INTRODUZIONE

In questo momento storico trattare le problematiche della fertilità dei suoli e dei fertilizzanti, assume un rilievo ancora più attuale alla luce della maggiore e crescente coscienza che i cittadini e le Istituzioni hanno nei confronti della risorsa suolo, della salvaguardia delle sue funzioni vitali, del suo ruolo cruciale nella produzione di alimenti per uomini e animali, di fibre, legname, ecc., e della conservazione di questa essenziale risorsa difficilmente rinnovabile. Temi, questi, tutti molto cari al prof. Paolo Sequi, sui quali ha dedicato gran parte delle sue energie di ricercatore, docente e scienziato nel corso della lunga e brillantissima carriera accademica, sin dall'esordio agli inizi degli anni '60.

Il consumo di suolo, sia in termini fisici che di funzionalità, quindi di fertilità, è un tema che deve trovare un consenso unanime e trasversale nell'ambito della ricerca e del trasferimento tecnologico, al di là delle sfumature e delle sensibilità di ciascun individuo e degli schieramenti politici. Anche in questo, il prof. Sequi ha precorso i tempi.

La fertilizzazione è uno strumento indispensabile per consentire la nutrizione equilibrata dei vegetali e garantire la sicurezza alimentare in termini di possibilità universale di accesso a una quantità di cibo sufficiente per condurre una vita dignitosa (*food security*) e di qualità, intesa come igiene e salubrità di un alimento (*food safety*).

Oltre a questo ruolo fondamentale, la fertilizzazione deve rispondere anche alle esigenze di salvaguardia della salute dell'uomo, degli animali, del suolo, delle acque e dell'aria cioè dell'ambiente, così come chiaramente definito dagli articolati delle norme di settore (Reg. (UE) 2019/1009; D.Lgs. 75/2010; Reg. (UE) 2018/848).

La fertilizzazione del futuro non potrà prescindere da un utilizzo razionale e parsimonioso delle risorse naturali, con particolare riguardo alle non rinnovabili. Pertanto, la stella polare che dovrà guidare lo sviluppo di nuovi prodotti fertilizzanti, così come il miglioramento di quelli esistenti, dovrà essere l'economia circolare (2020). La riduzione dell'uso di risorse non rinnovabili, i costi dell'energia cresciuti esponenzialmente tra fine 2021 e nel 2022, i recenti venti di guerra in Europa che hanno fatto prepotentemente emergere la forte dipendenza fra costi dell'energia e costi dei fertilizzanti minerali di sintesi, sarà un *must* anche per il settore fertilizzanti. Per dare risposte concrete occorrerà intervenire sinergicamente su alcuni aspetti di seguito trattati.

## 2. COSTI ENERGETICI PER LA PRODUZIONE DEI CONCIMI MINERALI

I costi energetici per la produzione dei concimi minerali, la maggior parte di sintesi, hanno iniziato a salire dall'autunno 2021 per poi crescere esponenzialmente dalla primavera 2022 in concomitanza dell'inizio del conflitto russo-ucraino. La ragione è semplice. La maggior parte di questa produzione è energivora e la fonte principale è data dal gas metano. Si tenga presente che, ad esempio, per sintetizzare una tonnellata (t) di ammoniaca ( $\text{NH}_3$ ), la base della maggior parte dei concimi azotati di sintesi, occorre circa 1 t di nafta, oppure servono 30-35 MMBTU<sup>1</sup> di gas naturale, 1,9 t di carbone, oppure tra 8.000-12.000 kWh quando si produce per elettrolisi. Per produrre 1000 kg di urea (1 t), il più utilizzato concime azotato (circa il 50% del totale delle unità fertilizzanti azotate distribuite annualmente in campo a livello mondiale) occorrono 580 kg di ammoniaca (Alessio Vernì e Ciavatta, 2016). Un quadro piuttosto esaustivo delle materie prime necessarie per produrre le maggiori tipologie di concimi minerali è riportato nella tabella 1.

<sup>1</sup> 1 MMBTU equivale a 1 milione di BTU (British Thermal Unit). Il gas naturale è misurato in BTU. L'unità MBTU viene utilizzata per misurare il gas naturale e in altri settori per indicare 1.000 BTU. Tuttavia, esiste un'ambiguità in quanto il sistema metrico (SI) utilizza il prefisso "M" per indicare "Mega-", un milione (1.000.000). Così, "MMBTU" è spesso usato per indicare un milione di BTU, in particolare nell'industria petrolifera e del gas. 1 BTU = 28,263682 m<sup>3</sup> di gas naturale a temperatura e pressione definite. 1 BTU equivale a circa 1055 Joule.

PER PRODURRE 1000 kg (1 t) DI:	MATERIE PRIME NECESSARIE
Ammoniaca (NH <sub>3</sub> )	1000-1100 kg di nafta, oppure 30-35 MMBtu di gas naturale
Urea 46% N	580 kg di NH <sub>3</sub> + CO <sub>2</sub>
Acido nitrico (100%)	290 kg di NH <sub>3</sub>
Nitrato ammonico 34% N	210 kg di NH <sub>3</sub> + 780 kg di acido nitrico
Nitrato ammonico calcareo 26% N	160 kg di NH <sub>3</sub> + 590 kg di acido nitrico + 250 kg di carbonati
Acido solforico (100%)	330 kg di zolfo
Acido fosforico (100%)	2300-2800 kg di roccia fosfatica + 2000-2100 kg di acido solforico
Perfosfato triplo 46% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	400-470 kg di roccia fosfatica + 490-510 kg di acido fosforico
Perfosfato semplice 19% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	640-700 kg di roccia fosfatica + 370 kg di acido solforico
Fosfato biammonico NP 18-46	230 kg di NH <sub>3</sub> + 640-660 kg di acido fosforico
Fosfato monoammonico NP 11-53	145 kg di NH <sub>3</sub> + 740-760 kg di acido fosforico

Tab. 1 *Materie prime necessarie alla produzione dei più comuni concimi minerali (Alessio Verni e Ciavatta, 2016)*

Pertanto, per produrre 1000 kg di urea agricola 46% N occorrono 580 kg di ammoniaca (tab. 1) che, in termini energetici, significa:

$$\begin{aligned}
 0,58 \text{ (t)} \times 30\text{-}35 \text{ (MMBTU)} &= 17,4\text{-}20,3 \text{ MMBtu} \\
 17,4\text{-}20,3 \text{ (MMBTU)} \times 28,263682 \text{ (m}^3 \text{ di gas naturale)} &= 492\text{-}574 \text{ m}^3 \text{ di} \\
 &\text{gas naturale} \\
 0,58 \text{ (t)} \times 1900 \text{ (kg di carbone)} &= 1102 \text{ kg di carbone} \\
 0,58 \text{ (t)} \times 8000\text{-}12.000 \text{ (kWh)} &= 4640\text{-}6960 \text{ kWh}
 \end{aligned}$$

Ciò significa anche che in 1000 kg di urea agricola 46% N ci sono 460 kg di N. Riprendendo i dati sopra riportati avremo che per sintetizzare 1 kg di N ureico occorreranno:

$$\begin{aligned}
 492\text{-}574 \text{ (m}^3 \text{ di gas naturale)} / 460 \text{ (kg di N)} &= 1,07\text{-}1,25 \text{ m}^3 \text{ di gas naturale} \\
 1102 \text{ (kg di carbone)} / 460 \text{ (kg di N)} &= 2,396 \text{ kg di carbone} \\
 4640\text{-}6960 \text{ (kWh)} / (460 \text{ kg di N)} &= 10,09\text{-}15,13 \text{ kWh}
 \end{aligned}$$

Lasciamo al lettore il “piacere” del calcolo dei costi dei singoli concimi minerali ai prezzi correnti dell’energia.

### 3. CARBONIO ORGANICO E FERTILITÀ DEL SUOLO

Per contrastare efficacemente la perdita di fertilità dei terreni occorre agire sulla dinamica del carbonio organico del suolo (SOC, *soil organic carbon*) che, tuttavia, richiede una profonda conoscenza dei fattori fisico-chimici, biochimici, microbiologici e ambientali che controllano questo complesso processo (Zdruli et al., 2004). Questi fattori agiscono sul SOC svolgendo un ruolo diverso a seconda della scala dello studio: globale, continentale, regionale, ecc. (Viscarra Rossel et al., 2019). Su scala globale, il principale fattore che controlla la distribuzione e la dinamica del SOC è il clima (Lal, 2004). Fino ad ora, i fattori climatici sono stati ritenuti stabili, ma oggi questa affermazione è chiaramente cambiata. Su scala continentale, e ancora più specificamente su scala regionale, dove il clima agisce in modo uniforme, i controlli specifici per regione influenzano le distribuzioni e dinamiche locali del SOC. Di conseguenza, quando questa specificità regionale non è adeguatamente considerata, il rischio reale è quello di diminuire gli sforzi globali per contenere le perdite SOC. In altre parole, mentre i problemi sono su scala globale, le soluzioni devono essere trovate a livello locale. I ricercatori sono chiamati a trovare soluzioni, a contrastare i processi che guidano il declino della sostanza organica (SOM, *soil organic matter*) sia rispondere al paradigma della sostenibilità basato su aspetti sociali, economici e ambientali. Tra le diverse soluzioni possibili, stimolare il recupero e il riciclo nel terreno di biomasse ricche di carbonio organico (OC, *organic carbon*) e nutrienti provenienti dalle filiere di recupero dei rifiuti organici è la più promettente. Nelle società moderne, caratterizzate da un alto grado di urbanizzazione, i rifiuti organici rappresentano una potenziale fonte di OC e di sostanze nutritive. Tuttavia, per promuovere un razionale, efficace e sicuro riciclo dei rifiuti organici, è necessario modificare i nostri modelli di sviluppo passando dall'economia lineare a quella circolare. Nelle quattro fasi del modello di sviluppo lineare (prendere, fare, usare e smaltire), la fase di smaltimento ostacola la naturale chiusura del ciclo del materiale: il C organico residuo e i nutrienti nei rifiuti vengono collocati in discarica o termovalorizzati e non possono tornare nel terreno. Al contrario, il modello di economia circolare comporta lo sviluppo di nuove filiere produttive dedicate al recupero di sostanza organica e nutrienti dagli scarti, piuttosto che il loro smaltimento, e la conversione in materie prime e prodotti a base biologica. Nel modello di economia circolare, la quarta fase è attivata sul riciclo e permette il recupero delle risorse come fertilizzanti, promuovendo la chiusura dei cicli del C organico e delle sostanze nutritive nel suolo. Percorso che soddisfa pienamente i principi dell'ecologia e la sostenibilità delle risorse nella sua piena accezione.

Le tipologie di biomasse maggiormente prodotte, con previsioni di ulteriore crescita nei prossimi anni, sono date dalla frazione organica proveniente dalla raccolta differenziata dei rifiuti solidi urbani (FORSU, Frazione Organica Residui Solidi Urbani) e dai fanghi di depurazione (SS, *sewage sludge*), provenienti dagli impianti di trattamento delle acque reflue urbane.

La FORSU prodotta annualmente nell'UE è stimata intorno a 88 Mt, che è salita a circa 96 Mt nel 2020 (ISPRA, 2020). Questa frazione contiene principalmente carboidrati, proteine e lipidi ed è una buona materia prima per il compostaggio e i processi di digestione anaerobica. Un compost tipico derivato da trattamento della FORSU ha un contenuto di OC del 22%, di N 2,2% e C/N 10 (Grigatti et al., 2014; Ciavatta et al., 2022).

La produzione di SS dell'Unione Europea (UE) nel 2008 ha raggiunto circa 10 milioni di tonnellate (Mt) di sostanza secca (Milieu, 2008). In Italia, Eurostat (2014) ha stimato una produzione di circa 1,1 Mt di sostanza secca. Utilitalia (2017) ha riportato che oltre il 50% dei SS analizzati aveva un contenuto di OC > 30%, di N > 4,5% e di P > 1,5% (dati espressi sulla sostanza secca). Questi rifiuti sono e potranno essere di grande interesse agronomico come vera e propria fonte di OC e di nutrienti per contribuire a limitare il progressivo degrado del suolo e consentire una produzione più sostenibile delle colture.

La quantità di rifiuti prodotti annualmente e potenzialmente disponibili suggerisce l'opportunità di predisporre, laddove possibile, un piano sostenibile per il recupero e il riciclo di questi materiali a fini agronomici (Clapp et al., 2007). Tuttavia, persistono ancora molti dubbi sul riciclo agronomico di queste biomasse, legati al loro contenuto di contaminanti (EFAR, 2018). Il contenuto di elementi potenzialmente tossici, contaminanti organici, micro e nanoplastiche e microrganismi sono gli aspetti critici da affrontare un uso agronomico sicuro di queste biomasse (Arcadis, 2021; Pivato et al., 2022). Gli obiettivi principali sono: recuperare l'OC, che riduce il declino della sostanza organica del suolo (SOM), e recuperare i nutrienti, principalmente N e P, al fine di ridurre la nostra dipendenza dai fertilizzanti minerali ottenuti impiegando risorse non rinnovabili. Solo in questo modo si può contribuire allo sviluppo di sistemi agricoli più sostenibili. Abbiamo a che fare con materiali che sicuramente hanno caratteristiche agronomiche significative insieme a potenziali contenuti di sostanze indesiderabili. Pertanto, la soluzione non è contrastare l'uso di questi materiali in agricoltura, applicando semplicemente il principio di precauzione, ma piuttosto dotandoci di soluzioni legislative che, intervenendo ove necessario, garantiscano la sicurezza del riciclo di queste biomasse in agricoltura. La valorizzazione delle risorse disponibili nell'area di coltivazione dovrebbero trovarsi all'interno dell'area stessa dei processi produttivi. Tutto ciò può anche aumentare la sostenibilità ambientale del riciclo

dei rifiuti, tenendo conto dei fattori regionali che regolano le dinamiche SOC al fine di massimizzare gli sforzi nel contrasto delle perdite SOC.

Gli impatti attesi sono riconducibili i) alle tecnologie in grado di migliorare la qualità delle biomasse dal punto di vista delle loro sicurezza e proprietà agronomiche, ii) a protocolli analitici che garantiscono la qualità dei fertilizzanti ottenuti riciclando i rifiuti organici, iii) alla pianificazione di ulteriori prove sul campo a medio e lungo termine per valutare l'effetto di questi materiali sulle proprietà dei suoli e sulla qualità dei prodotti alimentari e non ottenuti, iv) all'individuazione dei fertilizzanti organici più idonei e loro protocollo di distribuzione ottimale, da utilizzare in alternativa ai fertilizzanti minerali, v) alla riduzione della lisciviazione dell'azoto e dell'inquinamento delle falde, vi) alla riduzione delle emissioni gassose di N (NO<sub>x</sub>) in atmosfera, vii) all'aumento della salute del suolo e della diversità biologica, viii) al miglioramento della fertilità del suolo e della capacità di ritenzione idrica, ix) alla promozione dell'economia circolare con l'utilizzo di rifiuti prodotti in loco, x) alla mitigazione dei cambiamenti climatici, attraverso il miglioramento del sequestro del carbonio nel suolo.

La fertilizzazione del futuro non potrà non prestare attenzione agli apporti di C organico soprattutto negli areali del Paese dove la fertilizzazione minerale ha di fatto soppiantato l'organica, le monosuccessioni con cerealicole e le colture intensive hanno prevalso. È possibile affermare che la tecnica di fertilizzazione che ha preso piede a partire dagli anni '60-'70 è risultata nei fatti essere "strabica" guardando, per motivi spesso non imputabili al coltivatore, alla sola fonte minerale dei nutrienti, a scapito dell'apporto di sostanza organica.

#### 4. RICERCA DI FONTI COMPLEMENTARI/ALTERNATIVE DI NUTRIENTI

La ricerca di altre fonti, complementari/alternative, di nutrienti nel solco chiaramente indicato dai principi dell'economia circolare dovrà rappresentare la stella polare. Le azioni da perseguire nell'immediato e nel medio-lungo termine devono essere rivolte a favorire tutti i trattamenti e processi che, a partire sostanzialmente da rifiuti, consentano ai materiali trattati di acquisire lo status di *End of Waste* (D.Lgs. 152/2006) e quindi di prodotto che nell'ambito del settore fertilizzanti dovranno fare riferimento alle norme di settore, dalla norma nazionale, il D.Lgs. 75/2010 e/o all'europea, il Reg. (UE) 2019/1009. Tali processi, inserendosi pienamente negli obiettivi dell'economia circolare, permetterebbero di recuperare nutrienti e carbonio (C) organico da reflui zootecnici, digestati e fanghi di depurazione, nel pieno rispetto della sicurezza, della salute dell'uomo e degli animali, della qualità del suolo, delle acque e

dell'ambiente (Arcadis, 2021; Pivato et al., 2022). In questi anni si è tergiversato troppo a tutti i livelli e non si è proceduto speditamente a dare corpo al recupero dei biosolidi per i materiali a base organica e dei fosfati da reflui di diversa origine per la produzione, ad esempio, di struvite ( $\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ).

## 5. AZOTO DA FONTI RINNOVABILI

Recuperare biomasse di scarto/rifiuto per la produzione di fertilizzanti significa, innanzitutto, chiudere il ciclo degli elementi, oltre che avere un forte risparmio in termini energetici, oggi più che mai importante. Si tratta di un'attività che è connaturata da sempre con l'agricoltura stessa: si pensi al recupero delle deiezioni animali, dal letame alle polline, che hanno rappresentato il pilastro della fertilizzazione delle colture per millenni. Ma che anche nell'era moderna, con l'industrializzazione del settore fertilizzanti, gran parte dei fertilizzanti minerali e soprattutto organici sono i prodotti di processi di trattamento e recupero di sottoprodotti o rifiuti di settori produttivi, fondamentalmente agro-alimentare, agro-industriale e industriale. La trasformazione di rifiuti in prodotti è nota e praticata da sempre.

Pertanto, ipotizzando che per ogni 10 t (10.000 kg) di N da fonti non rinnovabili apportate ai suoli con concimi di sintesi, per esempio urea, il calcolo del risparmio energetico sarebbe:

$$1,07-1,25 \text{ (m}^3 \text{ di gas naturale)} \times 10.000 \text{ (kg di N)} = 10.700-125.000 \text{ m}^3 \text{ di gas naturale}$$

$$2,396 \text{ (kg di carbone)} \times 10.000 \text{ (kg di N)} = 23.960 \text{ kg di carbone}$$

$$10,09-15,13 \text{ (kWh)} \times 10.000 \text{ (kg di N)} = 100.900-151.300 \text{ kWh}$$

In termini economici, per pura curiosità, 10 t di N trasformate in t di urea:

$$10 \text{ (t di N)} / 0,46 \text{ (t di N x t di urea 46\%)} = 21,74 \text{ t di urea 46\% N}$$

In base alle quotazioni di mercato per forniture industriali dell'urea dell'agosto 2022 che oscillavano fra 440-770 euro/t, avremmo:

$$21,74 \text{ (t di urea 46\% N)} \times 440-770 \text{ (euro/t urea 46\% N)} = 9.566-16.740 \text{ euro}$$

Se il calcolo riguardasse il nitrato ammonico (NA) 26% N, sempre in base alle quotazioni di mercato per forniture industriali dell'agosto 2022 che oscillavano fra 665-675 euro/t, avremmo:

$$10 \text{ (t di N)} / 0,26 \text{ (t di N x t di NA 26\% N)} = 38,46 \text{ t di NA 26\% N}$$

$$38,46 \text{ (t di NA 26\% N)} \times 665-675 \text{ (euro/t NA 26\% N)} = 25.576-25.961 \text{ euro}$$

Infine, se il calcolo riguardasse il solfato ammonico (SA) 21% N, sempre in base alle quotazioni di mercato per forniture industriali dell'agosto 2022 che oscillavano fra 560-580 euro/t, avremmo:

$$10 \text{ (t di N)} / 0,21 \text{ (t di N x t di SA 21\% N)} = 47,62 \text{ t di SA 21\% N}$$

$$47,62 \text{ (t di SA 21\% N)} \times 560-580 \text{ (euro/t SA 21\% N)} = 26.667-27.620$$

euro

## 6. RECUPERO NUTRIENTI DALLE ACQUE REFLUE

In questa ottica, anche il recupero delle acque reflue di depurazione, in particolare degli impianti che trattano acque reflue civili/urbane, porterebbe molti benefici in termini di recupero di preziosa risorsa idrica e di nutrienti che la siccità del 2022 ha mostrato in tutta la sua gravità. Oggi si stima che solo il 5% di queste acque venga riutilizzata in agricoltura. Tuttavia, per consentirlo al passo con i tempi, occorre rivedere la normativa (Decreto Ministeriale 12 giugno 2003, n. 185) tenga conto degli aggiornamenti tecnico-scientifici degli ultimi decenni in campo analitico, agronomico e ambientale. A tale scopo, il nuovo Regolamento europeo 2020/741 è stato salutato con fiducia perché dovrebbe agevolare il riuso delle acque reflue e quindi anche il recupero di nutrienti. Una sorta di "fertirrigazione *light*" delle colture, tenuto conto della concentrazione degli elementi nelle acque depurate, ma estremamente importante in termini quali-quantitativi. Crediamo che non ci si possa più permettere, sotto il profilo tecnico ed etico, di irrigare le colture da seme (proteoleginose), da foraggio e le arboree con acqua potabile (*sic!*). Ovviamente, l'utilizzo dovrà seguire rigidi protocolli e prescrizioni che l'agricoltore dovrà osservare con scrupolo e che le autorità dovranno vigilare, così come accade nei Paesi dove già questa prassi è consolidata.

## 7. EFFICIENZA DELLE UNITÀ FERTILIZZANTI

Un'altra pietra miliare della fertilizzazione futura riguarda l'aumento dell'efficienza delle unità fertilizzanti (UF). In questi anni lo si è fatto, ma non basta, perché occorre un deciso cambio di passo. La fertilizzazione si è evoluta con l'aggiornamento tecnico-scientifico in risposta alla richiesta di aumentare l'ef-

ficienza delle UF, la cosiddetta *Nutrient Use Efficiency* (NUE) soprattutto per azoto e fosforo.

Occorre spingere verso lo sviluppo di prodotti più performanti, più collegati alla *bio-based economy* e maggiormente aderenti agli stadi fenologici delle colture. I prodotti devono garantire la cessione controllata degli elementi, coniugando biodisponibilità verso le radici per un tempo congruo. L'obiettivo va raggiunto con modalità differente a seconda dei nutrienti.

Per l'azoto, ad esempio, con prodotti a base organica, inibitori dell'ureasi e della nitrificazione, concimi ricoperti a cessione controllata e organo-minerali.

Per il fosforo il miglioramento della NUE si può ottenere con concimi che proteggano le forme minerali solubili, ad esempio dei perfosfati, attraverso la ricopertura dei granuli con membrane a cessione controllata dalla temperatura (Alessio Vernì e Ciavatta, 2016). L'impiego di concimi organici e organo-minerali potrà contribuire a un rilascio controllato dalla stessa complessità molecolare della frazione organica e dalla cinetica dei processi di mineralizzazione. I concimi organo-minerali dovranno essere formulati con l'obiettivo di rendere massima la NUE e di fornire i nutrienti in modo coerente con la fase fenologica della coltura.

In questo ambito possiamo verificare come il prof. Paolo Sequi avesse le idee molto chiare sin dall'inizio della sua carriera (1961). Suoi alcuni brevetti sul miglioramento della nutrizione fosfatica e ferrica (figg. 2 e 4) e sull'interazione fra sostanze umiche e fosfati (fig. 3) e sostanze umiche e microelementi (fig. 1). Temi dopo sessant'anni ancora di stretta attualità.

## 8. TECNICHE DI FERTILIZZAZIONE

Un altro aspetto riguarda le tecniche di fertilizzazione che sono di stretta competenza agronomica. L'agricoltura di precisione è una realtà, ma andrà sempre più sviluppata. Le tecniche di concimazione a rateo variabile, oltre a quelle localizzate, si stanno espandendo. Avere fertilizzanti maggiormente efficienti, a parità di produzioni quali-quantitative, significa usare meno risorse e minimizzare il carico ambientale.

## 9. SVILUPPO DI NUOVI FERTILIZZANTI

Un ulteriore aspetto, che potrebbe essere anche il primo, riguarda la ricerca e lo sviluppo di nuovi fertilizzanti. Il miglioramento della NUE deve prevedere diverse linee d'azione, tra le quali: ricoprenti, possibilmente *bio-based*, inibito-

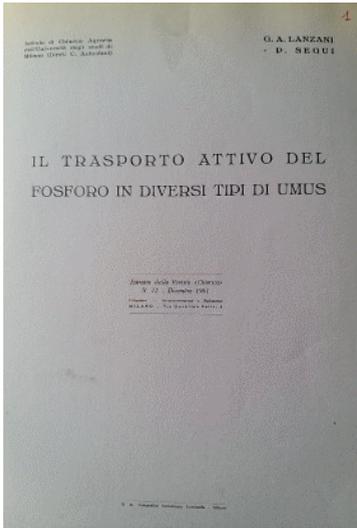


Fig. 1 *Prima pubblicazione del prof. Sequi, dicembre 1961, sul trasporto attivo dei fosfati e sulle sostanze umiche: ancora oggi temi centrali della fertilità*

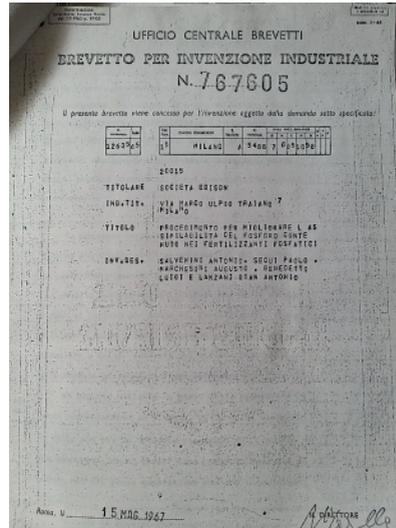


Fig. 2 *Brevetto del 1967 per migliorare l'efficienza del fosforo contenuto nei fertilizzanti fosfatici: altro tema di estrema attualità*

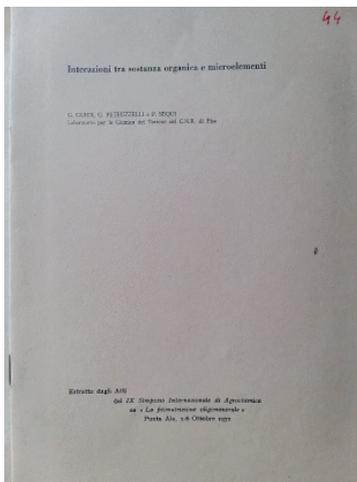


Fig. 3 *Interazione fra sostanze umiche e microelementi*

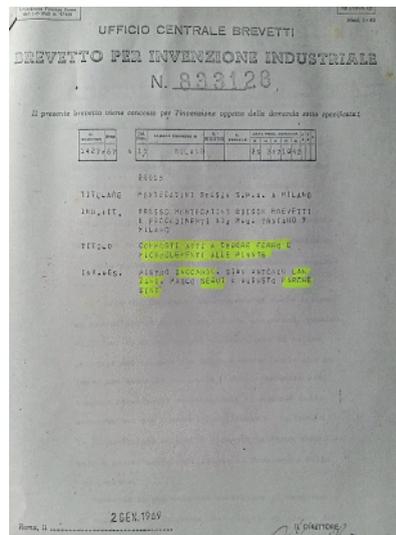


Fig. 4 *Brevetto del 1969 per migliorare l'assimilabilità del ferro nei vegetali*

ri enzimatici, nuovi formulati organo-minerali, biostimolanti vegetali, il recupero del carbonio organico e dei nutrienti nell'alveo dell'economia circolare. Tutto ciò richiede l'impegno di ricercatori in stretta sinergia fra istituzioni pubbliche e private di ricerca e imprese.

Tali obiettivi si possono raggiungere già, applicando sia le norme vigenti di settore, nazionali ed europee, sia con interventi normativi che, tuttavia, dovranno essere più rapidi di quanto non lo siano ora.

#### IO. ESPRESSIONE DEGLI ELEMENTI: PASSATO ANCORA PRESENTE E FUTURO

Nel 2020 è stato pubblicato un interessante articolo – *Pervasive use of  $P_2O_5$ ,  $K_2O$ ,  $CaO$ ,  $MgO$ , and basic cations, none of which exist in soil* (Lambers e Barrow, 2020) – che tratta, talvolta anche in modo piuttosto ironico, il permanere nella letteratura e anche nell'espressione dei titoli dei nutrienti nei fertilizzanti di queste espressioni che di scientifico non hanno proprio nulla. Quando Carl Sprengel e Justus von Liebig (Sprengel, 1828; Jungk, 2009) fecero il loro lavoro innovativo sulla nutrizione delle piante, le conoscenze sulla natura chimica dei nutrienti che gli autori dimostrarono essere necessari alle piante erano molto scarse. Justus von Liebig basò in gran parte la sua presentazione delle sostanze chimiche sulla dottrina di Berzelius (1814). Sfortunatamente, gli usi arcaici si sono protratti nella scienza del suolo molto tempo dopo il loro tempo. Purtroppo, molti autori indicano ancora gli elementi sottoforma di ossidi: il calcio come  $CaO$  (che non esiste nel suolo) e il fosfato come  $P_2O_5$ . Il fosfato ( $PO_4$ ), che esiste, dovrebbe sicuramente essere preferito, o in alternativa l'elemento (P), che molti in America hanno già adottato. L'elemento P corrisponde a 2,29 di  $P_2O_5$  e a 3,06 di  $PO_4$  (Leeper, 1948). Dopo oltre 70 anni che Leeper pubblicò il suo libro di testo che divenne la bibbia nella disciplina,  $P_2O_5$ ,  $K_2O$  e  $CaO$  non esistono ancora nel suolo, ma i termini continuano a essere usati in letteratura. E questo non va bene. È comprensibile che alle aziende, specie di fertilizzanti, convenga esprimere i titoli in  $P_2O_5$  sulle etichette, poiché danno l'impressione di vendere molto più di quanto non ci sia nella confezione. È un mistero, tuttavia, perché i laboratori di analisi e gli scienziati del suolo persistano nel mostrare i loro dati come era prassi nel diciannovesimo secolo. È venuto il tempo di cambiare definitivamente questo vetusto e fuorviante metodo di esprimere gli elementi della fertilità: o si utilizza il simbolo chimico come per l'azoto, oppure le forme chimiche di assorbimento.

## RIASSUNTO

T trattare le problematiche della fertilità dei suoli e dei fertilizzanti, oggi assume un rilievo ancora più attuale per la maggiore coscienza che cittadini e Istituzioni hanno della risorsa suolo, delle sue funzioni vitali, del ruolo chiave nella produzione di alimenti e della conservazione di una risorsa difficilmente rinnovabile.

La fertilizzazione, strumento indispensabile per la nutrizione equilibrata dei vegetali, deve rispondere anche alla salvaguardia della salute dell'uomo, degli animali e dell'ambiente, nell'alveo dell'economia circolare.

Per dare risposte concrete occorre intervenire su:

- ricerca di fonti complementari di nutrienti nel solco dell'economia circolare: favorire i processi che, a partire da materiali di scarto, consentano ai materiali trattati di acquisire lo status di prodotti *end of waste*, con recupero di nutrienti e C organico;
- aumento dell'efficienza delle unità fertilizzanti: soprattutto per N e P, sviluppare prodotti più performanti, collegati alla *bio-based economy* e agli stadi fenologici delle colture;
- tecniche di fertilizzazione: a partire dall'agricoltura di precisione, adottare tecniche a rateo variabile, localizzate, ecc.;
- ricerca e sviluppo di nuovi fertilizzanti, come: ricoprenti *bio-based*, inibitori enzimatici, nuovi formulati organo-minerali, biostimolanti vegetali, recupero di C organico e nutrienti, ecc.

L'impegno dei ricercatori, così come la loro stretta sinergia con le imprese, sarà determinante affinché si abbia successo.

Il professor Paolo Sequi ha speso molte delle sue energie di ricercatore, docente e scienziato su questi temi sin dall'inizio della sua carriera. Grazie mille Paolo!

## ABSTRACT

Today, the problems of soil fertility and fertilizers take more importance due to greater awareness that citizens and Institutions have towards the soil, the protection of its vital functions, the crucial role in food production, and the conservation of a hardly renewable resource.

Fertilization, a fundamental tool for a balanced nutrition of plants, must also respond to safeguard the health of humans, animals, and the environment, in the context of the circular economy.

To give concrete answers, actions are needed on:

- search for complementary sources of nutrients in the wake of the circular economy: favor processes that, starting from waste materials, allow these treated materials to acquire the status of "end of waste" product, with recovery of nutrients and organic C;
- increase the efficiency of fertilizer units: especially for N and P, develop more performing products, more connected to the bio-based economy and to the phenological stages of crops;
- fertilization techniques: starting from precision agriculture, adopt variable rate fertilization techniques, localized one, etc.;

- research and development of new fertilizers: e.g., bio-based coatings, enzyme inhibitors, new organo-mineral formulations, plant biostimulants, recovery of organic C and nutrients, etc.

The commitment of researchers, as well as their close synergy with companies, will be crucial for success.

Professor Paolo Sequi spent a lot of his energy as researcher, teacher and scientist on these topics since at the beginning of his career. Thanks a lot, Paolo!

#### RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- ALESSIO VERNÌ M., CIAVATTA C. (2016): *Fertilizzanti: commodities e nuove tipologie*, in *Fertilizzazione sostenibile: Principi, tecnologie ed esempi operativi*, a cura di Carlo Grignani, Edagricole Università e Formazione, cap. 2, pp. 9-55, Bologna. ISBN 978-88-50-5445-1.
- ARCADIS (2021): *Contaminants in fertilisers: Assessment of the risk from their presence and socio-economic impacts of a possible restriction under REACH*, Final Report under contract for European Commission 070201/2019/817112/SER/ENV.B2.
- BERENDSEN, R.L., PIETERSE, C.M., BAKKER, P.A. (2012): *The rhizosphere microbiome and plant health*, «Trends in Plant Science», 17, pp. 478-486.
- CIAVATTA C., CENTEMERO M., TOSELLI M., ZACCONE C., SENESI N. (2022): *Compost Production, Analysis and Applications in Agriculture*, Chapter 13, in *Multi-scale Biogeochemical Processes in Soil Ecosystems: Critical Reactions and Resilience to Climate Changes*, (Yang Y., Keiluweit M., Senesi N., Xing B.), Part IV - Mitigation of Greenhouse Gas Emission and Improvement of Ecosystem Resilience. Wiley - IUPAC Series on Biophysical-Chemical Processes in Environmental Systems, volume 5, pp. 297-321.
- CLAPP C.E., HAYES M.H.B., CIAVATTA C. (2007): *Organic wastes in soils: Biogeochemical and environmental aspects*, «Soil Biol. Biochem.», 39 (6), pp. 1239-1243. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.12.001>
- DECRETO LEGISLATIVO 27 gennaio 1992, n. 99. *Attuazione della direttiva n. 86/278/CEE concernente la protezione dell'ambiente, in particolare del suolo, nell'utilizzazione dei fanghi di depurazione in agricoltura*, della G.U. della Repubblica italiana n. 38 del 15 febbraio 1992, Suppl. Ordinario n. 28.
- DECRETO LEGISLATIVO 29 aprile 2010, n. 75. *Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88*, G.U. della Repubblica italiana n. 126 del 26 maggio 2010.
- DECRETO LEGISLATIVO 3 aprile 2006, n. 152. *Norme in materia ambientale*, G.U. della Repubblica italiana n. 88 del 14 aprile 2006.
- Decreto MINISTERIALE 12 giugno 2003, n. 185 *Regolamento recante norme tecniche per il riutilizzo delle acque reflue in attuazione dell'articolo 26, comma 2, del D.Lgs. 11 maggio 1999, n. 152*. (G.U. 23 luglio 2003, n. 169).
- ECONOMIA CIRCOLARE (2020): [https://ec.europa.eu/environment/circular-economy/pdf/new\\_circular\\_economy\\_action\\_plan.pdf](https://ec.europa.eu/environment/circular-economy/pdf/new_circular_economy_action_plan.pdf)
- EFAR (2018): *Public Health Risk Assessment of Sludge land Spreading*, Final report N° DRC-07-81117-09289-18th C, INERIS, July 2008, pp. 1-32.
- EUROSTAT (2014): *Eurostat regional yearbook 2014*, ISBN 978-92-79-38906-1.

- GRIGATTI M., CAVANI L., MARZADORI C., CIAVATTA C. (2014): *Recycling of dry-batch digestate as amendment; soil C and N dynamics and ryegrass nitrogen utilization efficiency*, «Waste and Biomass Valorization», 5, pp. 823-833.
- ISPRA (2020): *Rapporto Rifiuti Urbani – Edizione 2019*. Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, ISPRA, Rapporti 313/2019, ISBN 978-88-448-0971-3.
- JUNGK A. (2009): *Carl Sprengel-the founder of agricultural chemistry: a re-appraisal commemorating the 150<sup>th</sup> anniversary of his death*, «J. Plant Nutr. Soil Sci.», 172, pp. 633-636. <https://doi.org/10.1002/jpln.200900065>
- LAL R. (2004): *Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security*, «Science», 304, pp. 1623-1627.
- LAMBERS H., BARROW N.J. (2020): *Pervasive use of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O, CaO, MgO, and basic cations, none of which exist in soil*, «Biology and Fertility of Soils», 56, pp. 743-745. <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01486-5>
- LEEPER G.W. (1948): *Introduction to soil science*, Melbourne University Press, Parkville.
- LI L., LI S.-M., SUN J.-H., ZHOU L.-L., BAO X.-G., ZHANG H.-G., ZHANG F.-S. (2007): *Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils*, «Proc. Natl. Acad. Sci.» USA, 104, pp. 11192-11196.
- MILIEU LTD, WRC, RPA AND DG ENVIRONMENT (2008): *Environmental, Economic and Social Impacts of the Use of Sewage Sludge on Land*, Final report for the European Commission.
- PIVATO A., BEGGIO G., BONATO T., BUTTI L., CAVANI L., CIAVATTA C., DI MARIA F., FERRARA R., GRENNI P., JOHANSSON O., MAGGI L., MAZZI A., PENG W., PERES F., PETERSSON M., SCHIEVANO A., VARGHESE G. (2022): *The role of the precautionary principle in the agricultural reuse of sewage sludge from urban wastewater treatment plants*, «Detritus», 19, V-XII. <https://doi.org/10.31025/2611-4135/2022.15202>
- REGOLAMENTO (UE) 2019/1009 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 5 giugno 2019 che stabilisce norme relative alla messa a disposizione sul mercato di prodotti fertilizzanti dell'UE, che modifica i regolamenti (CE) n. 1069/2009 e (CE) n. 1107/2009 e che abroga il regolamento (CE) n. 2003/2003. G.U. dell'Unione europea L 170 del 25.6.2019.
- REGOLAMENTO (UE) 2020/741 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 25 maggio 2020 recante prescrizioni minime per il riutilizzo dell'acqua. G.U. dell'Unione europea L 177 del 05.06.2020.
- SPRENGEL C. (1828): *Von den Substanzen der Ackerkrume und des Untergrundes (about the substances in the plow layer and the subsoil)*, «J. für Technische and Ökonomische Chemie», 2, pp. 397-421.
- UTILITALIA (2017): *Utilizzo dei fanghi di depurazione in agricoltura. Indagine Utilitalia sui fanghi prodotti dal trattamento delle acque reflue urbane*, Coordinamento scientifico, Giuseppe Mininni. Gruppo di lavoro Utilitalia, Paolo Giacomelli, Elena Mauro, Bernardo Piccioli. Roma.
- VISCARRA ROSSEL R.A., JUHWAN L., BEHRENS T., ZHONGKUI L., BALDOCK J., RICHARDS A. (2019): *Continental-scale soil carbon composition and vulnerability modulated by regional environmental controls nature research*, «Nature Geoscience», 12, pp. 547-552.
- ZDRULI P., JONES R.J.A., MONTANARELLA L. (2004): *Organic Matter in the Soils of Southern Europe*, European Soil Bureau Technical Report, EUR 21083 EN (2004), pp. 16, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

MARIA DE NOBILI<sup>1</sup>

## La complessità della sostanza organica del suolo e le nuove prospettive di ricerca sull'umificazione

<sup>1</sup> Università degli Studi di Udine

Anche partendo da un semplice approccio chimico-fisico, pochi sono i sistemi che risultano così complessi come il sistema suolo. La coesistenza di tre fasi fisiche distinte e di componenti colloidali sia minerali che organici, che agiscono come interfacce attive tra di queste, rendendo anisotropa, ad esempio, la stessa fase liquida e regolando gli equilibri dinamici di adsorbimento di soluti e dissoluzione di solidi sarebbero di per sé già sufficienti a dare ragione di una complessità difficilmente descrivibile con modelli semplici. A tutto questo si aggiunge comunque il contributo fondamentale della componente biologica che si esplica sia in termini di estrema biodiversità, la quale supera quella presente alla superficie del suolo, sia in termini di numero e varietà di interazioni e interdipendenze che si stabiliscono, non solo tra gli organismi stessi, ma anche con le componenti non viventi.

La necessità di un approccio sistemico, cioè di un paradigma scientifico generale incentrato sulle relazioni complesse (Noble, 2006) al sistema suolo è stata recentemente indicata come l'unica che possa aiutarci a sviluppare una prospettiva chiara su come le sue funzioni ecologiche e agricole si originino dai processi di interazione su piccola scala costituendo: «un prerequisito per sviluppare strategie scientificamente basate per la gestione sostenibile del suolo» (Vogel et al., 2019).

Ancora maggiore sarebbe la necessità di sviluppare un approccio di tale genere per far avanzare le nostre conoscenze sulla sostanza organica del suolo. Queste conoscenze sono infatti tutt'oggi, per quanto favorite dallo sviluppo di nuove potenti tecniche analitiche, ancora purtroppo frammentate e settoriali. Purtroppo negli ultimi anni, gli studiosi della materia hanno mostrato, al contrario, una decisa tendenza verso la proposta di approcci riduzionisti,

come quelli espressi ad esempio attraverso il recente Soil Continuum Model (SCM) di Lehmann e Kleber (2015).

Secondo questo modello la sostanza organica del suolo esisterebbe «come un continuo di frammenti organici che vengono continuamente trasformati dalla comunità dei decompositori verso dimensioni molecolari più piccole. La rottura delle molecole grandi porta ad una diminuzione nelle dimensioni dei componenti principali dei materiali vegetali primari con un aumento concomitante i gruppi polari e ionizzabili, e perciò ad una aumentata solubilità in acqua» (Lehmann e Kleber, 2015). Questo aumento della solubilità dei prodotti rilasciati dall'idrolisi delle macromolecole naturali dovrebbe, sempre secondo il modello proposto, favorirne l'adsorbimento sulle superfici minerali e l'inclusione negli aggregati strutturali del suolo, aumentando in questo modo la protezione fisica contro il procedere della decomposizione, semplicemente regolando la disponibilità dei substrati nella fase acquosa. Il modello esclude qualsiasi resintesi secondaria spontanea che porti alla formazione di molecole non pre-esistenti come monomeri strutturali, o come componenti semplici dei residui vegetali o animali o del metabolismo cellulare microbico.

Questa visione è stata purtroppo supportata dall'applicazione impropria di tecniche spettroscopiche moderne, quali le tecniche bidimensionali di NMR o alcune applicazioni della spettrometria di massa, che non sono però adatte ad affrontare direttamente il problema della composizione di miscele polidisperse, come quella rappresentata dalle sostanze umiche. Queste tecniche sono state troppo spesso impiegate e acclamate acriticamente come risolutive, senza una piena coscienza dei loro limiti analitici intrinseci e hanno indotto negli ultimi decenni a negare la possibilità che reazioni termodinamicamente favorite possano avvenire tra i molti costituenti reattivi presenti negli apporti organici vegetali, animali e microbici e condurre alla re-sintesi di sostanze umiche.

La realtà della sostanza organica del suolo, tradizionalmente già intuita e comprovata in due secoli di studi sull'umificazione, è molto diversa (De Nobili et al., 2020), ed è possibile rendersene conto soprattutto utilizzando un approccio interdisciplinare, anche completamente indipendente dalle classiche teorie sull'umificazione. Un esame della letteratura più aggiornata riguardante le nuove conoscenze sui processi che avvengono spontaneamente durante la conservazione dei prodotti alimentari, rivela, infatti, come nuovi studi nel campo ad esempio della scienza degli alimenti, abbiano permesso di appurare che nelle cellule dei tessuti vegetali e animali e dei funghi, non appena cessa la regolazione dei processi metabolici attuata attraverso le funzioni vitali, cominciano a instaurarsi tutta una serie di processi spontanei (Mishra and Gautam, 2016; Lattanzio, 2003) in cui le componenti fenoliche si legano tra

di loro o ad altre molecole presenti all'interno dello stesso comparto cellulare, attraverso reazioni di ossidoriduzione e di addizione, formando sostanze complesse di colore bruno.

La moderna spettrometria di massa ad alta risoluzione ha permesso in molti casi di seguire con sempre più grande dettaglio e precisione tali reazioni (Garcia et al., 2017; Zhang et al., 2010), che sono catalizzate da enzimi classificati a seconda della loro specificità di substrato e meccanismo di azione come laccasi (E.C.:1.10.3.2), catecol-ossidasi (E.C.1.10.3.1) e tirosinasi (1.14.18.1). I meccanismi di reazione comprovano una rapida diagenesi di addotti sempre più complessi, che si formano attraverso reazioni radicaliche. I radicali danno infatti origine a derivati chinonici che attraverso attacco nucleofilo da parte di altri radicali formano dimeri, trimeri ed eventualmente polimeri di colore bruno (Wong, 2009).

La somiglianza dei cammini di reazione oggi osservati dagli scienziati di altre discipline con i meccanismi ipotizzati dalla classica teoria dell'unificazione è più che evidente.

Un'altra conferma deriva dalle conoscenze ormai consolidate sui processi che avvengono all'interno dell'ultimo tratto dell'intestino di molte larve e insetti e ci dimostra allo stesso tempo come le critiche avanzate all'estrazione delle sostanze umiche con estraenti alcalini non siano del tutto giustificate<sup>1</sup>. Numerose ricerche hanno infatti appurato come negli ecosistemi naturali, i residui vegetali apportati alla superficie e la sostanza organica del suolo transitino, anche più volte, attraverso il processo di digestione da parte della pedofauna (Wolters, 2000; Zanella et al., 2018b) dove sono esposti a variazioni estreme di pH e all'azione di enzimi. Sino pochi anni fa, si riteneva che l'azione della pedofauna si limitasse alla frantumazione dei residui vegetali, aumentandone la superficie di contatto con l'ambiente esterno e favorendo la colonizzazione da parte di batteri e funghi. Lo studio delle micromorfologie degli orizzonti organici ha messo in luce come la pedofauna ingerisca gran parte degli apporti organici al suolo, ma ne assimili solo una piccola parte (fig. 1): il resto ritorna al suolo sotto forma di feci, che possono costituire la maggior parte della sostanza organica di orizzonti organici superficiali e anche una frazione consistente di quelli inorganici (Zanella et al, 2018c). La trasformazione della lettiera in feci modifica molti tratti della decomposizione dei residui (Morriën e Prescott, 2018), diminuendo, ad esempio, l'importanza del tipo di lettiera (disponibilità di nutrienti, contenuto di lignina ecc.) ed esercita un controllo importante sulle dinamiche del carbonio e dell'azoto:

<sup>1</sup> Dimenticando completamente peraltro tutti i numerosissimi studi effettuati nel secolo scorso utilizzando estraenti neutri come le soluzioni di pirofosfato di sodio a pH 7.

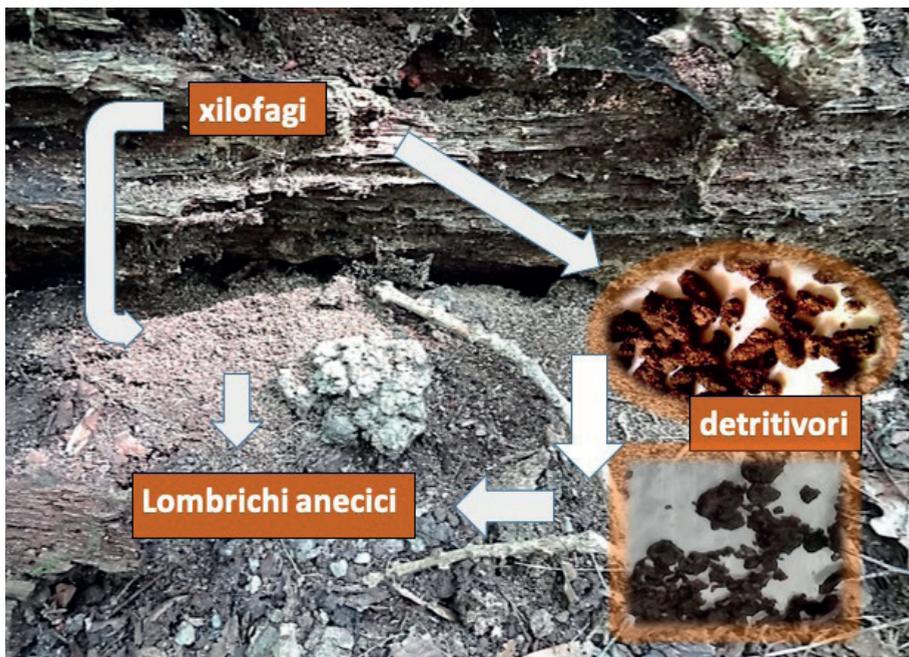


Fig. 1 La complessa catena alimentare costituita dalla pedofauna assimila solo una piccola parte degli apporti organici e li restituisce al suolo dopo averli trasformati

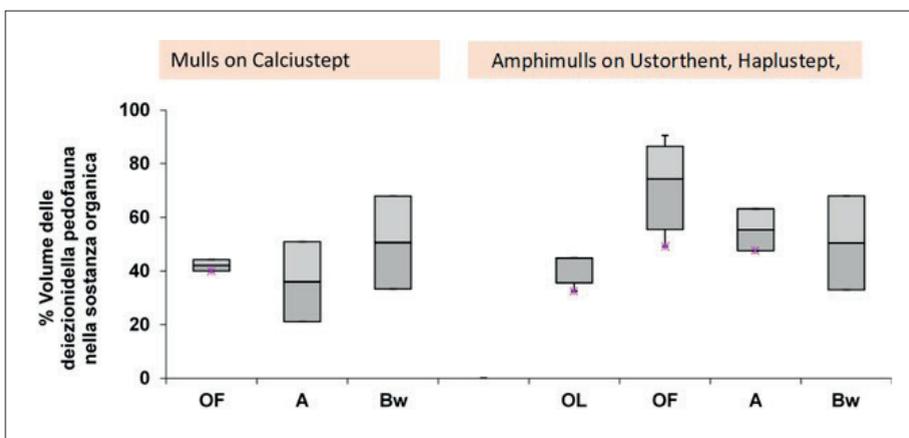


Fig. 2 Contributo volumetrico delle deiezioni morfologicamente riconoscibili della pedofauna agli orizzonti organici e organo-minerali di suoli forestali mediterranei. Modificato da Zaites e Poch (2016)

la respirazione microbica viene solo temporaneamente stimolata, mentre le feci costituiscono una forma di sostanza organica stabilizzata (Rawlins et al., 2007). Infatti, i tessuti ancora non decomposti vengono non solo finemente suddivisi, ma attivamente trasformati nella loro composizione chimica, attraverso l'esposizione all'azione di enzimi non solo idrolitici, ma anche di polifenol-ossidasi e laccasi. Queste ultime hanno la funzione di bloccare la tossicità dei polifenoli, favorendone la polimerizzazione. Durante il passaggio attraverso l'intestino di larve insetti e anellidi, avviene inoltre, la colonizzazione di quanto non viene assimilato da parte di batteri e funghi e in alcuni casi, come ad esempio nei lombrichi, anche la formazione di aggregati organo-minerali.

Un'idea dell'importanza di questi processi si può ottenere (fig. 2) considerando il contributo volumetrico delle deiezioni, ancora morfologicamente riconoscibili, della pedofauna alla sostanza organica degli orizzonti superficiali sia organici che minerali di suoli forestali in ambiente mediterraneo (Zaites e Poch, 2016). Negli orizzonti organici, tale contributo volumetrico va dal 10 al 30%, mentre nel primo orizzonte organo-minerale A arriva anche al 28% e persino al 36% nel sottostante orizzonte Bw, superando di gran lunga il volume occupato dalla sostanza organica amorfa.

Studi di fisiologia, resi oggi possibili dall'uso di microsensori ed effettuati *in vivo* sul tratto digerente di insetti xilofagi e pedonti (Wu et al., 2015; Ceja-Navarro et al., 2019), mostrano anche come sia inconsistente la critica oggi diffusa riguardo ai tradizionali sistemi di estrazione delle sostanze umiche del suolo mediante soluzioni alcaline. Secondo tale critica le sostanze umiche sarebbero in realtà artefatti dell'esposizione di sostanze semplici e di struttura nota a una alcalinità eccessiva che non ha riscontri nel mondo naturale (Shao et al., 2012). Al contrario, il tratto finale dell'intestino di molti degli organismi della pedofauna ha un pH estremamente alcalino (spesso anche  $\text{pH} > 10$ ): le sostanze umiche quindi sarebbero naturalmente esposte a valori di pH paragonabili a quelli delle soluzioni impiegate per la loro estrazione dal suolo.

Esiste naturalmente anche una diagenesi non zoogenica delle sostanze umiche, che è favorita da clima molto freddo o secco, acidità, substrati non sufficientemente nutrienti (Zanella et al., 2018b). In alcuni suoli si osserva infatti la formazione di orizzonti organici caratterizzati da assenza di deiezioni e da decomposizione fungina (*white rot fungi*) e di orizzonti organo minerali non-zoogenici con struttura a grani singoli o massiva o sostenuta solo da ife (Zanella et al., 2018b). Anche in questi casi la sintesi secondaria spontanea delle sostanze umiche avviene con meccanismi molto simili in quanto i funghi sono capaci di rilasciare nel suolo polifenol-ossidasi e laccasi con lo scopo di decomporre ad esempio la lignina e favorire il rilascio di sostanze azotate e substrati energeticamente convenienti.

Sono molteplici le reazioni che è stato dimostrato avvengono spontaneamente e in maniera disordinata, portando alla formazione di addotti e strutture miste, sempre più complesse (Zvarizina, 2018) che immobilizzano i polifenoli e che si originano dall'azione esogena di laccasi (Keller et al., 2014; Eichlerová, 2012), enzimi non specifici che operano a pH anche vicini alla neutralità e in presenza di ossigeno. L'esistenza di queste reazioni extracellulari e spontanee è ampiamente provata oggi dal gran numero di studi nel campo della Chimica Verde che si sono occupati recentemente di questa classe di enzimi per le loro caratteristiche di persistenza, capacità di mantenere l'attività anche dopo adsorbimento sulle superfici solide, e per la possibilità che offrono di venir impiegati nel trattamento di reflui industriali (Witayakran abd Ragauskas, 2009).

La teoria classica dell'umificazione risulta quindi, alla luce delle nuove indagini portate avanti con tecniche innovative, sia in scienza del suolo (Hertkorn et al., 2008; Dou et al., 2020), sia in discipline che vanno dalla Scienza degli Alimenti alla Chimica Verde, ancora assolutamente valida sia da un punto di vista chimico che termodinamico. Essa è stata inoltre, non bisogna dimenticarlo, sempre ampiamente supportata e validata pragmaticamente (Olk et al., 2019 a, b) secondo la definizione data da Blackburn (1994) di verità scientifica, che implica l'esistenza necessaria di «profonde connessioni tra l'idea che un sistema rappresentativo sia accurato e il probabile successo dei progetti e degli obiettivi su questo basati».

L'enorme eterogeneità potenziale dei possibili prodotti di re-sintesi secondaria è essa stessa alla base di quella complessità che fa ancor oggi delle sostanze umiche i componenti della sostanza organica del suolo ancora meno conosciuti da un punto di vista strutturale. La risposta a molte domande ancora insolte riguardo alla loro natura può essere ottenuta proprio attraverso un approccio sistemico che tenga conto delle proprietà funzionali che esse esercitano nel suolo e nell'ambiente e le utilizzi nella validazione di modelli computazionali che leghino ipotesi di struttura molecolare dei componenti della miscela complessa con le funzioni esercitate.

L'approccio sistemico è per molti aspetti simile a un approccio olistico, ma si differenzia fondamentalmente perché considera i sistemi come network dinamici e perché implica un'analisi computazionale e la modellizzazione matematica del sistema oggetto di studio.

Un esempio degli strumenti matematici con cui è possibile oggi affrontare la complessità del processo di umificazione è la chimica dinamica combinatoria, una tecnica computazionale che si basa sull'individuazione dei prodotti più termodinamicamente più stabili e quindi più probabili che si originano all'equilibrio di una miscela interagente. Questo strumento è quindi partico-

larmente utile per testare le ipotesi di combinazioni supramolecolari calcolandone la forza e la stabilità sulla base di parametri termodinamici determinati sperimentalmente e disponibili in diverse banche dati (Corbett et al., 2013).

La validazione delle ipotesi di struttura molecolare potrebbe anche essere effettuata mediante modelli QSAR (*quantitative structure-activity relationship*), diffusamente impiegati nell'approccio sistemico. Tali modelli applicano la chemometrica e la chemo-informatica per predire le proprietà chimiche e fisiche delle sostanze sulla base di descrittori variabili consistenti in parametri misurabili sperimentalmente. Essi sono oggi ampiamente impiegati per individuare ad esempio, tra le molte teoricamente possibili, le strutture molecolari capaci di particolari funzioni biologiche, ma l'approccio potrebbe essere capovolto nel caso della sostanza organica del suolo, di cui conosciamo ampiamente le funzioni. Si potrebbe ad esempio utilizzare tali modelli per escludere da un data base di formule brute derivato da analisi di spettroscopia di massa a ultra-elevata risoluzione, quelle ipotetiche composizioni della miscela umica che non siano coerenti con le funzionalità osservate sperimentalmente (Vialikh, 2019).

Ancora più specificamente sarebbe utile applicare un approccio QSPR (*quantitative structure-property relationship*) per costruire un modello di sostanze umiche non basato su una singola ipotesi strutturale, ma, molto più realisticamente, su un sistema interagente di molecole. Un esempio di uno schema di applicazione e validazione di un approccio di tipo QSPR per l'individuazione di possibili strutture molecolari e del loro possibile contributo in termini quantitativi alla miscela polidispersa costituita dalle sostanze umiche potrebbe essere il seguente. In una ipotetica applicazione la computazione iniziale del modello sarebbe fatta descrivendo il sistema attraverso un set di equazioni differenziali che incorporano parametri legati alle proprietà di base sperimentalmente note e considerate determinanti. Da questo primo modello si ottengono nuovi modelli stocastici, caratterizzati da molteplici soluzioni che possiedono diversi gradi di probabilità. Questi modelli dovrebbero venire successivamente testati per la loro sensibilità e robustezza attraverso successivi processi interattivi di feedback che possono portare ad amplificazioni o riduzioni della risposta del modello o alla sua eliminazione. I dati in uscita andrebbero in ogni caso confrontati con dati sperimentali presenti in letteratura (*data mining*) oppure usati per predire il risultato di esperimenti di validazione, disegnati *ad hoc*. Per ultimo la simulazione della dinamica molecolare, normalmente usata per predire le proprietà delle molecole o di loro miscele a partire dalla struttura, dovrebbe essere di nuovo applicata ai risultati finali e validata verificandone la coerenza con dati ricavati da un ampio spettro di tecniche analitiche.

Negli ultimi anni, sono comparsi alcuni interessanti articoli sull'applicazione di tecniche computazionali di questo tipo alle sostanze umiche (Petrescu

et al., 2019; Savy et al., 2020) dimostrandone le notevoli potenzialità. Purtroppo il numero di componenti, il numero di classi e il numero di interazioni, attualmente gestibili, non rispecchiano ancora nemmeno lontanamente la complessità della composizione delle sostanze umiche quale appare dalla spettroscopia di massa di ultra elevata risoluzione (Green and Purdue, 2015). Infatti, attualmente la computazione di modelli applicati a miscele di sostanze composte formate da un numero di componenti anche di due ordini di grandezza minori, rispetto a quello delle possibili strutture derivate da analisi di spettrometria di massa ad alta risoluzione, è ancora assolutamente fuori questione in termini di tempo macchina richiesto. La rapidissima evoluzione tecnica a cui stiamo assistendo in questi campi, assieme alla individuazione di una adatta strategia di scelta euristica, potrebbero però renderla fattibile in tempi non troppo lontani, rendendo possibili avanzamenti a tutt'oggi impensabili.

#### RIASSUNTO

Il suolo è un sistema estremamente complesso su cui agiscono molteplici fattori climatici, geomorfologici e biotici. Questa diversità si riflette nella composizione della sostanza organica, su cui si esplica in misura anche maggiore, l'azione combinata degli organismi che vivono e agiscono nel suolo o sopra di esso. L'adozione di approcci riduzionisti, come quelli sovente proposti negli ultimi anni, sottostima questa estrema complessità e non permette di avanzare la nostra comprensione del ruolo funzionale del suolo nell'ambiente. Grazie allo sviluppo di tecniche analitiche sempre più potenti, sono state recentemente accumulate da parte di diverse discipline scientifiche, informazioni accurate sui processi di re-sintesi spontanea, che avvengono nelle cellule non appena cessa la regolazione vitale dei processi metabolici. La somiglianza dei cammini di reazione osservati con i meccanismi ipotizzati dalla classica teoria dell'umificazione è sorprendente. Un'altra conferma deriva dai processi che avvengono all'interno dell'ultimo tratto dell'intestino di molte larve ed insetti, in cui il pH raggiunge valori che non si discostano molto da quelli delle soluzioni normalmente impiegate per l'estrazione delle sostanze umiche.

Solo un approccio sistemico, del tipo ora applicato con sempre maggiore successo in molti campi delle scienze biologiche, può aiutare a gestire, anche grazie all'impiego di strumenti computazionali che collegano struttura e funzione a livello molecolare, l'enorme interconnessione e la diversità di un simile sistema, aprendo prospettive mai immaginate nello studio della sostanza organica.

#### ABSTRACT

Soil is an extremely complex system affected by several climatic, geomorphologic and biotic factors. This diversity is reflected by the composition of soil organic matter, on which

acts in an even stronger fashion the combined action of living organisms that dwell in or above the soil. The adoption of reductionist approaches, as those often proposed during the last years, underestimates this extreme complexity and does not allow to advance our knowledge of the functional role of soil in the environment. Because of the development of new powerful analytical tools, research carried out in other disciplines has piled up accurate information on the re-synthesis processes that spontaneously occur inside cells as soon as the regulation of metabolic processes by vital functions ceases. The similarity of these reaction mechanisms with those hypothesized by the classic humification theories is striking. Another confirmation derives from the consolidated knowledge of the processes that occur in the final digestive tract of insects and larvae, where the pH is actually not much different from that of the solutions employed to extract humic substances.

Only a systematic approach, of the type that is applied with more and more success in the biological sciences, can help, thanks to the use of advanced computational tools, to deal with the huge interconnection and diversity of such a system, opening up perspectives never imagined before in the study of organic matter.

#### BIBLIOGRAFIA

- CEJA-NAVARRO J.A., KARAOZ U., BILL M., HAO Z., WHITE R.A., ARELLANO A., RAMAN-CULOVA L., FILLEY T.R., BERRY T.D., CONRAD M.E., BLACKWELL M., NICORA C.D., KIM YOUNG M., REARDON P.N., LIPTON M.S., ADKINS J.N., PETT-RIDGE J., BRODIE E.L. (2019): *Gut anatomical properties and microbial functional assembly promote lignocellulose deconstruction and colony subsistence of a wood-feeding beetle*, «Nature microbiology», 4, pp. 864-875.
- BLACKBURN S. (1994): *The Oxford dictionary of philosophy*, Oxford University Press, New York.
- CORBETT P.T., LECLAIRE J., VIAL L., WEST K.R., WIETOR J., SANDERS J.K.M. AND OTTO S. (2013): *Dynamic Combinatorial Chemistry*, «Chem. Rev.», 2006, 106, 9, pp. 3652-3711.
- DE NOBILI M., BRAVO C., CHEN Y. (2020): *The spontaneous secondary synthesis of soil organic matter components: A critical examination of the soil continuum model theory*, «Applied Soil Ecology», 154, 103655-103670.
- DOU S., SHAN J., SONG X., CAO R., WU M. LI C., GUAN S. (2020): *Are humic substances soil microbial residues or unique synthesized compounds? A perspective on their distinctiveness*, «Pedosphere», 30, pp. 159-167.
- EICHLEROVÁ I., ŠNAJDR J., BALDRIAN P. (2012): *Laccase activity in soils: considerations for the measurement of enzyme activity*, «Chemosphere», 88, pp. 1154-1160.
- GARCÍA C.J., GARCÍA-VILLALBA R., GIL M.I., TOMAS-BARBERAN F.A. (2017): *LC-MS untargeted metabolomics to explain the signal metabolites inducing browning in fresh-cut lettuce*, «J. Agric. Food Chem.», 65, pp. 4526-4535.
- GREEN N.W., PERDUE E.M. (2015): *Fast Graphically Inspired Algorithm for Assignment of Molecular Formulae in Ultrahigh Resolution Mass Spectrometry*, «Anal. Chem.», 87, pp. 5086-5094.
- HERTKORN N., FROMMBERGER M., WITT M., KOCH B.P., SCHMITT-KOPPLIN PH. AND PERDUE E.M. (2008): *Natural Organic Matter and the Event Horizon of Mass Spectrometry*, «Anal. Chem.», 80, 23, pp. 8908-8919.

- KELLNER H., LUIS P., PECYNA M.J., BARBI F., KAPTURSKA D., KRÜGER D., ZAK D.R., MARMEISSE R., VANDENBOL M., HOFRICHTER M. (2014): *Widespread occurrence of expressed fungal secretory peroxidases in forest soils*, «PLoS One», 9, pp. 1-9.
- LATTANZIO V. (2003): Bioactive polyphenols: their role in quality and storability of fruit and vegetables, «J. Appl. Bot-Angew. Bot.», 77, pp. 128-146.
- MISHRA B.B., GAUTAM S. (2016): *Polyphenol oxidases: biochemical and molecular characterization, distribution, role and its control*, «Enz. Eng.», 5, pp. 141-150.
- MORRIËN E., PRESCOTT C.E. (2018): *Pellets or particles? How can we predict the effect of soil macro-arthropods on litter decomposition?*, «Functional ecology», 32, pp. 2480-2482.
- NOBLE D. (2006): *The Music of Life: Biology Beyond the Genome*, Oxford University Press, Oxford.
- OLK D.C., BLOOM P.R., DE NOBILI M., CHEN Y., MCKNIGHT D., WELLS M., WEBER J. (2019a): *Using humic fractions to understand natural organic matter processes in soil and water: selected studies and applications*, «J. Environ. Qual.», 48, pp. 1633-1643.
- OLK D.C., BLOOM P.R., PERDUE E.M., MCKNIGHT D.M., CHEN Y., FARENHORST A., SENESI N., CHIN Y.-P., SCHMITT-KOPPLIN P., HERTKORN N., HARIR M. (2019b): *Environmental and agricultural relevance of humic fractions extracted by alkali from soils and natural waters*, «J. Environ. Qual.», 48, pp. 217-232.
- PETRESCU A.M., LUKINICH-GRUIA A.T., PAUNESCU V., ILIA G. (2019): *A Theoretical Study of the Molecular Coupled Structures of Aristolochic Acids and Humic Acid, Potential Environmental Contaminants*, «Chemistry and Biodiversity», 16.
- RIVA S. (2006): *Laccases: blue enzymes for green chemistry*, «Trends Biotechnol.», 24, pp. 219-226.
- SAVY D., BROSTAUX Y., COZZOLINO V., DELAPLACE P., DU JARDIN P. AND PICCOLO A. (2020): *Quantitative Structure-Activity Relationship of Humic-Like Biostimulants Derived From Agro-Industrial Byproducts and Energy Crops*, «Front. Plant Sci., Sec. Crop and Product Physiology», <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00581>
- SHAO Q., YANG B., XU Q., LI X., LU Z., WANG C., HUANG Y., SÖDERHÄLL K., LING E. (2012): *Hindgut innate immunity and regulation of fecal microbiota through melanization in insects*, «J. Biol. Chem.», 287, pp. 14270-14279.
- RODRÍGUEZ COUTO S., TOCA HERRERA J.L. (2006): *Industrial and biotechnological applications of laccases: a review*, «Biotechnol. Adv.», 24, pp. 500-513.
- VIALYKH É.A., SALAHUB D.R., ACHARI G., COOK R.L., LANGFORD C.H. (2019): *Emergent functional behaviour of humic substances perceived as complex labile aggregates of small organic molecules and oligomers*, «Environmental Chemistry», 16, pp. 505-516.
- WITAYAKRAN S., RAGAUSKAS A.J. (2009): *Synthetic applications of laccase in green chemistry*, «Adv. Synth. Catal.», 351, pp. 1187-1209.
- WOLTERS V. (2000): *Invertebrate control of soil organic matter stability*, «Biol. Fertil. Soils», 31, pp. 1-19.
- WU K., ZHANG J., ZHANG Q., ZHU S., SHAO Q., CLARK K.D., LIU Y., LING E. (2015): *Plant phenolics are detoxified by prophenoloxidase in the insect gut*, «Sci. Rep.», 5 (16823).
- ZAIETS O., POCH R.M. (2016): *Micromorphology of organic matter and humus in Mediterranean mountain soils*, «Geoderma», 272, pp. 83-92.
- ZANELLA A., PONGE J.F., JABIOL B., SARTORI G., KOLB E. ET AL. (2018<sup>a</sup>): *Humusica 1, article 4: terrestrial humus systems and forms – specific terms and diagnostic horizons*, «Appl. Soil Ecol.», 122, pp. 56-74.
- ZANELLA A., PONGE J.F., JABIOL B., SARTORI G., KOLB E., LE BAYON R.C., GOBAT J.-M., AUBERT M., DE WAAL R., VAN DELFT B., VACCA A., SERRA G., CHERSICH S., ANDREET-

- TA A., KÓLLI R., BRUN J.J., COOLS N., ENGLISCH M., HAGER H., KATZENSTEINER K., BRÊTHES A., DE NICOLA C., TESTI A., BERNIER N., GRAEFE U., WOLF U., JUILLERET J., GARLATO A., OBBER S., GALVAN P., ZAMPEDRI R., FRIZZERA L., TOMASI M., BANAS D., BUREAU F., TATTI D., SALMON S., MENARDI R., FONTANELLA F., CARRARO V., PIZZEGHELLO D., CONCHERI G., SQUARTINI A., CATTANEO D., SCATTOLIN L., NARDI S., NICOLINI G., VIOLA F. (2018): *Humusica 1, article 5: Terrestrial humus systems and forms. Keys of classification of humus systems and forms*, «Applied Soil Ecology», 122, pp. 75-86.
- ZANELLA A., PONGE J.F., BRIONES M.J. (2018b): *Humusica 1, article 8: terrestrial humus systems and forms – biological activity and soil aggregates, space-time dynamics*, «Appl. Soil Ecol.», 122, pp. 103-137.
- ZAVARZINA A.G., LISOV A.V., LEONTIEVSKY A.A. (2018): *The role of ligninolytic enzymes laccase and a versatile peroxidase of the white-rot fungus Lentinus tigrinus in biotransformation of soil humic matter: comparative in vivo study*, «J. Geophys. Res-Biogeol.», 123, pp. 2727-2742.
- ZHANG X., DO M.D., CASEY P., SULISTIO A., QIAO G.G., LUNDIN L., LILLFORD P., KOSARAJU S., (2010): *Chemical cross-linking gelatin with natural phenolic compounds as studied by high-resolution NMR spectroscopy*, «Biomacromolecules», 11, pp. 1125-1132.

STEFANO MOCALI<sup>1</sup>

## Lo studio del microbiota del suolo

<sup>1</sup> Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria – Centro di ricerca Agricoltura e Ambiente (CREA AA), Firenze

### PREMESSA

Era il 2000 quando iniziai il mio Dottorato di ricerca in «Scienze del suolo e climatologia» dal titolo “Studio della diversità microbica in suoli concimati con cuoio idrolizzato”, presso l'Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante (ISNP) di Roma, diretto dal prof. Paolo Sequi. Non avevo mai conosciuto il prof. Sequi prima di allora ma la sua fama lo precedeva e quando il prof. Paolo Nannipieri me lo presentò, capii subito di essere di fronte a una persona fuori dal comune. Nonostante avessi una Laurea in Scienze Biologiche con indirizzo biomolecolare e una tesi di microbiologia ambientale, il prof. Sequi – insieme alla dott.ssa Anna Benedetti – mi introdusse nel mondo del suolo e dei fertilizzanti, e fu capace di trasmettermi subito la passione per un mondo che avrebbe cambiato la mia vita per sempre. In quegli anni, infatti, il prof. Sequi ebbe l'intuito di intravedere nella microbiologia, nelle biotecnologie e nella biologia molecolare delle competenze strategiche su cui l'istituto avrebbe dovuto puntare per essere competitivo nella scienza del suolo degli anni a venire. E fu così che mi venne chiesto di allestire il primo laboratorio di ecologia microbica e molecolare dell'ISNP, dandomi la possibilità di iniziare un percorso scientifico affascinante e ricco di sfide che prosegue ancora oggi. Tra le varie cose, mi venne affidata la realizzazione di un volume specifico da inserire nella collana di metodi analitici per l'agricoltura, promossa e sostenuta dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali e dall'Osservatorio Nazionale Pedologico e coordinata dal prof. Sequi (fig. 1). L'opera, nata nell'ambito delle attività della Società Italiana della Scienza del Suolo (SISS) grazie al contributo della dott.ssa Anna Benedetti e del dott. Nerino Miclaus, era un elemento funzionale ad altri due volumi tematicamente affini già presenti nella collana e

già pubblicati ufficialmente: i *Metodi di analisi microbiologica del suolo* (2002) e i *Metodi di analisi biochimica del suolo* (2004). I tre volumi, pur avendo una loro autonomia e identità, costituiscono ancora oggi un compendio prezioso nello studio della microbiologia del suolo. Se da una parte, infatti, lo sviluppo e l'applicazione delle tecniche molecolari hanno rivoluzionato lo studio della biodiversità microbica e la definizione delle teorie ecologiche del suolo, ciò non significa che tutte le altre tecniche o metodologie analitiche “tradizionali” siano necessariamente diventate obsolete o inutili, anzi. Ogni tecnica ha i suoi vantaggi e i suoi difetti e solo una sapiente combinazione di strategie e tecniche diverse può consentire di ottenere il maggior numero di informazioni relative a (Myrold and Nannipieri, 2014).

#### LA BIODIVERSITÀ DEL SUOLO

Negli ultimi decenni l'uso eccessivo di fitofarmaci e prodotti chimici in agricoltura ha spesso provocato danni alla fertilità del suolo e all'ambiente, con un costo ambientale elevato, oggi non più sostenibile. Perciò è quanto mai urgente e necessario promuovere un cambiamento nel modo in cui produciamo e consumiamo cibo. Per fare ciò bisogna tenere presente che il suolo è un organismo vivente complesso e dinamico considerato un fattore essenziale per la vita e la sostenibilità del nostro pianeta. È una risorsa non rinnovabile di cui la gran parte delle funzioni e servizi ecosistemici è garantita da miliardi di minuscoli organismi che convivono e interagiscono tra loro, promuovendo e garantendo le principali funzioni del suolo. Si stima che la biodiversità del suolo rappresenti circa il 25% della biodiversità dell'intero pianeta e che un grammo di suolo possa ospitare miliardi di batteri, con oltre 50.000 specie diverse (FAO, 2020). Un ruolo fondamentale è svolto proprio dai microrganismi, un'incredibile biomassa “invisibile” che vive in ogni tipo di ecosistema, compreso l'uomo, e che è responsabile del mantenimento dei servizi ecosistemici del suolo, garantendo così la salute delle piante, degli animali e dell'uomo. Ad esempio, questi ecosistemi microbici complessi, denominati collettivamente *microbioti*, svolgono un ruolo centrale non solo per la fertilità del suolo e la nutrizione delle piante ma anche per lo stoccaggio del carbonio nel suolo, il ciclo dei nutrienti, il turnover della sostanza organica, il flusso dei gas serra, la decontaminazione di acqua e suolo, il mantenimento della struttura del suolo e anche per rappresentare un'enorme patrimonio genetico dalle potenzialità biotecnologiche ancora tutte da esplorare. Si stima, infatti, che di tutta la biodiversità del suolo ne conosciamo meno del 1% (FAO, 2020). Tale conoscenza, frenata a lungo da limitazioni di carattere tecnico-metodo-

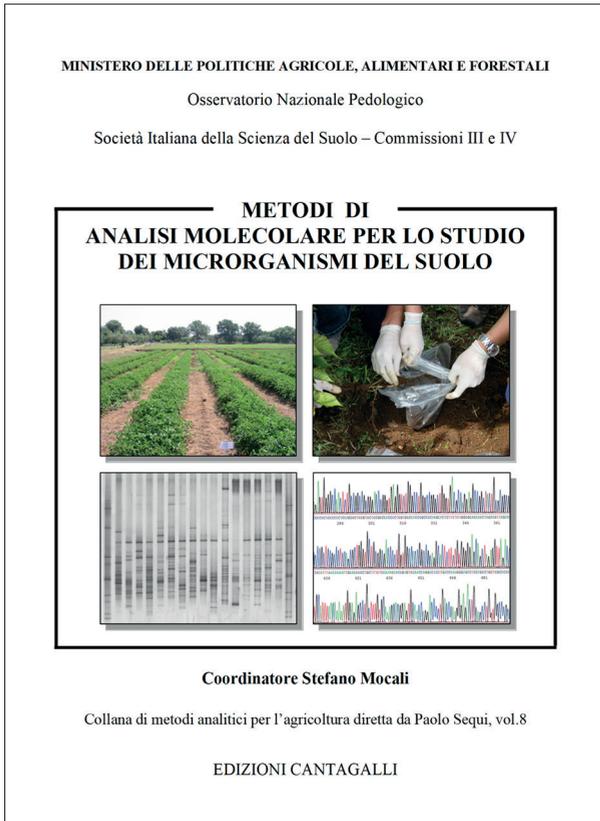


Fig. 1 Il volume dei "Metodi di analisi molecolare per lo studio dei microrganismi del suolo", Collana di metodi analitici per l'agricoltura diretta da Paolo Sequi, vol. 8, Edizioni Cantagalli, 2010 (ISBN: 978-88-8272-760-4)

logico, sta aumentando vertiginosamente negli ultimi anni grazie soprattutto all'utilizzo di tecniche molecolari e alle moderne tecniche "omiche". Grazie a queste metodologie, oggi è possibile esplorare nel dettaglio la composizione e le funzioni del microbiota del suolo e poter così promuovere opportune pratiche agricole e/o interventi finalizzati alla valorizzazione della biodiversità del suolo, alla sostenibilità delle produzioni, alla protezione del suolo e alla tutela del territorio.

#### L'AVVENTO DELLE TECNICHE "OMICHE"

Attualmente la maggior parte degli studi di ecologia microbica ricorrono all'utilizzo di tecniche di sequenziamento massivo (Next-Generation Sequencing, NGS) per l'analisi di geni target filogenetici (es. 16S rRNA e ITS) o funzio-

nali (es. *amoA*, *nifH*, ecc.). Per gli studi di carattere funzionale si utilizzano sempre più spesso anche tecniche metagenomiche (es. *shotgun sequencing*).

Esistono numerose tecnologie molecolari applicate all'ecologia microbica in genere e molte di queste appartengono alle cosiddette "omiche". Tutto ciò che è *omico* è spesso richiamato nel linguaggio anglosassone dal suffisso *omics* (es. genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics, ecc.), a indicare lo studio simultaneo di tutte le molecole d'interesse presenti in un determinato organismo. Ad esempio, genetica e genomica non sono la medesima cosa: la genetica guarda al singolo gene, la genomica a tutti i geni dell'organismo. Di conseguenza, gli studi "meta-omici" (es. metagenomica, metatrascrittomica, ecc.) consentono le analisi di tutti geni, trascritti, proteine ed eventuali metaboliti presenti in un determinato campione come, nel nostro caso, il suolo. Non è certo questo il contesto per descriverle tutte in modo esaustivo ma è importante comprenderne le basi concettuali e sostanziali. Come sempre accade, anche le tecniche molecolari più avanzate hanno pregi e difetti e – se male utilizzata – anche la tecnica più potente può risultare inefficace. Tutto dipende dal contesto in cui stiamo lavorando e soprattutto qual è la domanda a cui cerchiamo di dare una risposta.

In generale gli approcci molecolari si possono dividere in due grandi categorie: i) a formato aperto o ii) a formato chiuso (Zhou et al. 2015), come illustrato in figura 2.

- Tecnologie a formato aperto: ci si riferisce a tecnologie il cui risultato sperimentale potenziale non può essere previsto prima di eseguire l'analisi stessa. Pertanto, di solito non è necessario avere informazioni "a priori" sulla comunità microbica di interesse e consentono di scoprire nuovi geni, molecole, vie metaboliche, taxa, ecc.
- Tecnologie a formato chiuso: si intendono quelle tecnologie il cui potenziale range dei risultati sperimentali finali sono già definiti prima di eseguire l'analisi. In questo caso è necessario disporre di informazioni "a priori" perché le molecole e le sonde utilizzate per l'analisi sono note.

Il sequenziamento NGS di DNA e RNA è l'ideale per caratterizzare la biodiversità microbica e per scoprire nuovi geni mentre la metagenomica consente di assegnare funzioni a geni precedentemente sconosciuti o senza funzioni assegnate. Ad esempio, campioni di DNA/RNA possono essere estratti dal suolo e preparati per il sequenziamento di un gene target (*target gene sequencing*, TGS), per l'analisi metagenomica (*shotgun metagenome sequencing*, SMS) e/o per l'analisi metatrascrittomica (*metatranscriptome sequencing*, MTS) (fig. 2a). In alcuni casi, invece, può essere più utile confrontare la presenza o l'e-

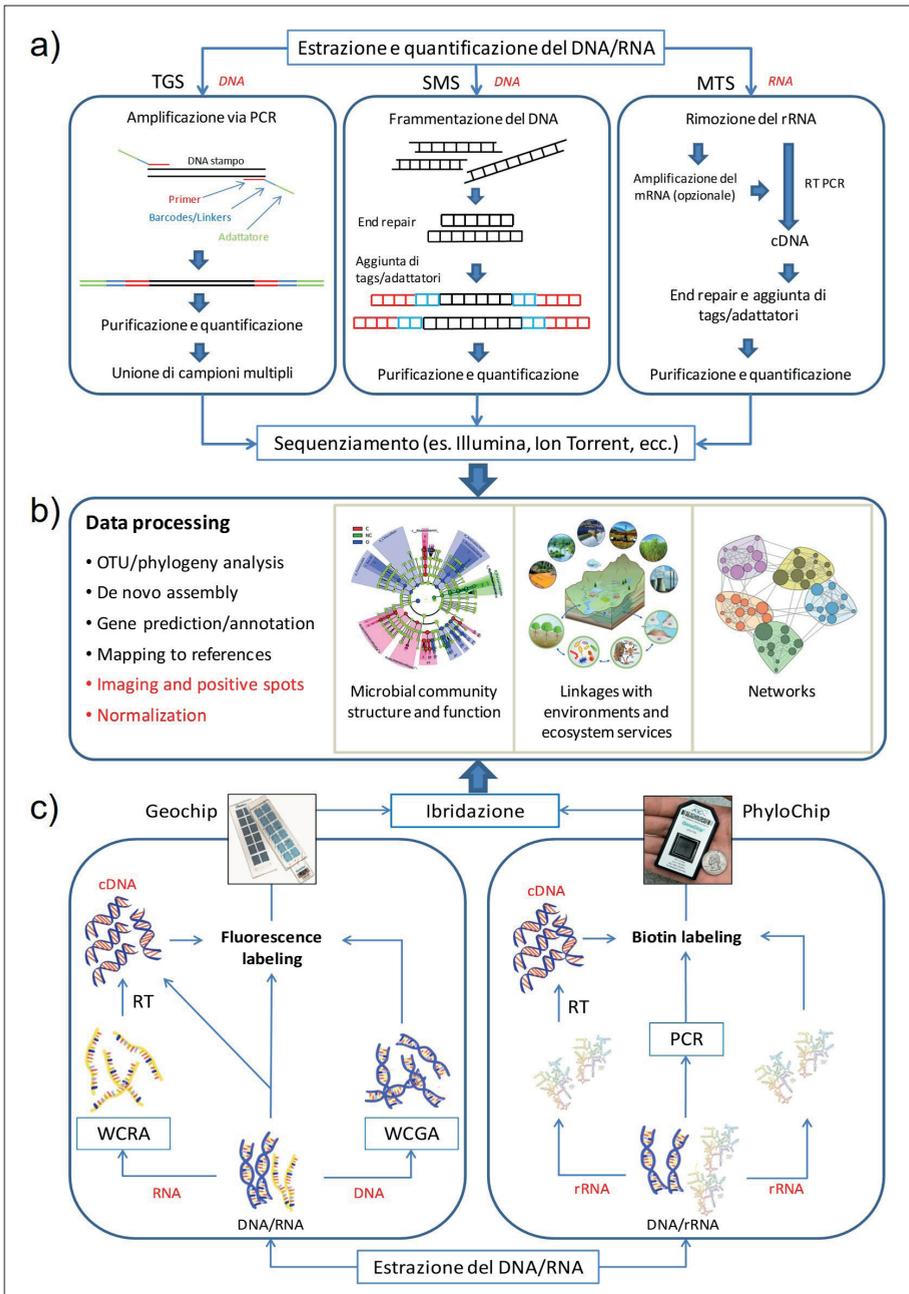


Fig. 2 Schema riepilogativo delle principali tecnologie molecolari a formato aperto (a), chiuso (c) ed elaborazione dei dati (b) (tratto da Zhou et al., 2015)

spressione di geni e funzioni note. In tali casi si può ricorrere a microarray specifici per lo studio delle funzioni e composizione delle comunità microbiche del suolo (es. Geochip, Phylochip): il DNA/RNA viene estratto, marcato e fatto ibridare direttamente sul chip. Nel caso in cui la quantità di DNA/RNA fosse insufficiente per l'analisi, il campione viene preventivamente amplificato mediante WCGA (whole-community genome amplification) o WCRA (whole-community RNA amplification) (fig. 2c).

#### ATTIVITÀ RECENTI E PROSPETTIVE FUTURE

In questi ultimi anni, gli studi di ecologia e biodiversità microbica del suolo che ho condotto col gruppo di ricerca del CREA Agricoltura e Ambiente hanno continuato a percorrere la strada tracciata a suo tempo dal prof. Sequi e dalla dott.ssa Benedetti, riuscendo a recitare – nel nostro piccolo – un ruolo di primo piano nel panorama nazionale e internazionale. Ad esempio, numerosi studi condotti in ambito vitivinicolo e dei suoli dei vigneti (soprattutto nell'area del Chianti Classico), hanno portato evidenze sul ruolo determinante della biodiversità microbica del suolo nel garantire la qualità e la sostenibilità delle produzioni, nella definizione di “terroir”, e nel legame tra vino e territorio (Vadour et al., 2015; Mocali et al., 2020; Giffard et al., 2022).

Nel 2017 abbiamo partecipato all'Earth Microbiome Project (EMP), una gigantesca ricerca partecipata da 160 istituti di ricerca e oltre 500 scienziati di tutto il mondo nata per cercare di catalogare tutta la biodiversità microbica del pianeta, i cui risultati sono stati pubblicati sulla prestigiosa rivista “Nature” (Thompson et al., 2017).

Nel 2019 riusciamo a ottenere il coordinamento del progetto H2020 EXCALIBUR “Exploiting the multifunctional potential of belowground biodiversity in horticultural farming” (Grant n.817946, <https://excaliburh2020.eu/en/>), con lo scopo di valorizzare al meglio le potenzialità della biodiversità del suolo in orticoltura, attraverso l'utilizzo di bioinoculi microbici multifunzionali, per promuovere la nutrizione e la difesa di piante di pomodoro, fragola e melo. L'obiettivo è quello di fornire strumenti concreti e indicazioni precise agli agricoltori su come gestire al meglio i propri suoli per rispondere alle diverse tipologie di problemi causati da stress biotici/abiotici. Il principio è che nessuna azienda è uguale a un'altra: ognuna ha i propri sistemi colturali, una condizione pedoclimatica diversa, con un suolo caratterizzato da una biodiversità nativa tipica di quel luogo. Perciò non esiste una soluzione unica per qualsiasi problema. Il progetto EXCALIBUR propone di adottare una strategia basata sull'utilizzo di bioinoculi microbici formulati e applicati in funzione del problema rilevato,

della tipologia di suolo e – soprattutto – della biodiversità nativa del suolo di interesse. La tematica dei bioinoculi e dei prodotti a base di consorzi microbici in generale desta grandissimo interesse per le potenzialità che possono avere tali prodotti nel sostenere la nutrizione e le strategie di biocontrollo in agricoltura (Baldi et al., 2021; Canfora et al., 2021), anche alla luce del nuovo Regolamento Ue 2019/1009 sui fertilizzanti entrato in vigore nel luglio 2022.

Un'altra attività di grande rilevanza è quella relativa al coordinamento del progetto europeo MINOTAUR “Modeling and mapping soil biodiversity patterns and functions across Europe” finanziato nel 2021 nell'ambito del programma EJP SOIL - Towards climate-smart sustainable management of agricultural (Grant n. 862695, <https://ejpsoil.eu/soil-research/minotaur>). L'obiettivo di tale progetto è di fare il punto sulla biodiversità funzionale del suolo a livello europeo e, sulla base dei dati raccolti, individuare i bioindicatori più adatti per il monitoraggio dei suoli europei. Gli indicatori selezionati saranno utilizzati per realizzare mappe e modelli previsionali capaci di aiutare gli agricoltori ad adottare pratiche agronomiche sostenibili ed efficaci nel rispondere ai cambiamenti climatici. Al tempo stesso, il progetto si propone di valutare – se possibile – i range e gli eventuali valori soglia di tali indicatori, al di sopra o al di sotto dei quali un suolo possa definirsi “sano” o “non-sano” come richiesto dalla nuova “Soil mission” dell'European Green Deal (Montanarella e Panagos, 2021). Circa la metà dei 17 obiettivi di sviluppo sostenibile (SDG) stabiliti dal programma d'azione dell'Agenda 2030, sottoscritto nel settembre 2015 dai governi dei 193 Paesi membri dell'ONU per il bene dell'intero pianeta (<https://unric.org/it/agenda-2030/>), dipende dal suolo e dalla sua diversità genetica e funzionale. Questo rafforza ancora di più il ruolo della biodiversità del suolo come elemento cardine indispensabile nel concetto di “One Health”, contribuendo a una nuova prospettiva integrata della salute degli organismi viventi (Trinh et al., 2018).

#### RINGRAZIAMENTI

Le attività brevemente riportate in questo testo non sarebbero state possibili senza il supporto degli amici e dei colleghi con cui ho trascorso questi ultimi 20 anni di lavoro, a Roma e a Firenze. Un ringraziamento particolare va anche al prof. Paolo Nannipieri e alla dott.ssa Anna Benedetti per avermi sempre sostenuto, anche e soprattutto nei momenti difficili. Ma il ringraziamento maggiore va alla mia famiglia, per il supporto e la pazienza che hanno sempre mostrato nei miei confronti e senza i quali non sarei riuscito a superare le numerose difficoltà di questo lavoro meraviglioso.

## RIASSUNTO

Il suolo è un organismo vivente complesso e dinamico considerato un fattore essenziale per la vita e la sostenibilità del nostro pianeta. È una risorsa non rinnovabile di cui la gran parte delle funzioni e servizi ecosistemici è garantita da miliardi di minuscoli organismi, il cosiddetto *microbiota del suolo*, il cui ruolo ecologico è spesso sottovalutato. Si stima che il suolo contenga circa 1/4 di tutta la biodiversità del pianeta di cui però ne conosciamo meno del 1%. Tale conoscenza sta aumentando vertiginosamente negli ultimi anni grazie all'utilizzo di tecniche molecolari e alle moderne tecniche "omiche", consentendo così di promuovere opportune pratiche agricole e/o interventi finalizzati alla valorizzazione della biodiversità del suolo, alla sostenibilità delle produzioni, alla protezione del suolo e alla tutela del territorio.

## ABSTRACT

Soil is a complex and dynamic living organism, considered an essential factor for the life and sustainability of our planet. It is a non-renewable resource which most of the ecosystem functions and services it provides are guaranteed by billions of tiny organisms, the so-called soil microbiota, whose ecological role is often underestimated. It is estimated that the soil contains about 1/4 of all the planet's biodiversity, of which we know less than 1%. Recently, this knowledge is dramatically increasing thanks to the use of molecular techniques and modern "omics" techniques, thus making possible to promote appropriate agricultural practices and/or initiatives aimed at enhancing soil biodiversity, sustainability of production, soil and land protection.

## BIBLIOGRAFIA

- BALDI E., GIOACCHINI P., MONTECCHIO D., MOCALI S., ANTONIELLI L., MASOERO G., TOSELLI M. (2021): *Effect of biofertilizers application on soil biodiversity and litter degradation in a commercial apricot orchard*, «Agronomy», 11 (6), 1116.
- CANFORA L., COSTA C., PALLOTTINO F., MOCALI S. (2021): *Trends in soil microbial inoculants research: a science mapping approach to unravel strengths and weaknesses of their application*, «Agriculture», 11 (2), 158.
- FAO, ITPS, GSBI, SCBD e EC (2020): *State of knowledge of soil biodiversity - Status, challenges and potentialities*, Report 2020, FAO, Rome (Italy).
- GIFFARD B., WINTER S., GUIDONI S., NICOLAI A., CASTALDINI M., CLUZEAU D., ... & LEYER I. (2022): *Vineyard Management and Its Impacts on Soil Biodiversity, Functions, and Ecosystem Services*, «Frontiers in Ecology and Evolution», 10.
- MYROLD D.D., NANNIPIERI P. (2014): *Classical techniques versus omics approaches*, in *Omics in soil Science*, a cura di: P. Nannipieri, G. Pietramellara, e G. Renella, Caster Academic Press, Norfolk, UK, pp. 179-187.
- MOCALI S. (2010): *Metodi di analisi molecolare per lo studio dei microrganismi del suolo*,

- Collana di metodi analitici per l'agricoltura diretta da Paolo Sequi, vol. 8, Edizioni Cantagalli, Siena.
- MOCALI S., KURAMAE E.E., KOWALCHUK G.A., FORNASIER F., PRIORI S. (2020): *Microbial functional diversity in vineyard soils: sulfur metabolism and links with grapevine plants and wine quality*, «Frontiers in Environmental Science», volume 8, 75.
- MONTANARELLA L., PANAGOS P. (2021): *The relevance of sustainable soil management within the European Green Deal*, «Land use policy», 100, 104950.
- THOMPSON L.R., SANDERS J.G., MCDONALD D., AMIR A., LADAU J., LOCEY K.J., [...], NAVAS-MOLINA J.A. (2017): *A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity*, «Nature», 551, 7681.
- TRINH P., ZANEVELD J.R., SAFRANEK S., RABINOWITZ P.M. (2018): *One Health Relationships Between Human, Animal, and Environmental Microbiomes: A Mini-Review*, «Frontiers in Public Health», 6, 235.
- VAUDOUR E., COSTANTINI E., JONES G.V., MOCALI S. (2015): *An overview of the recent approaches to terroir functional modelling, footprinting and zoning*, «Soil Discussions», 1 (1), pp. 287-312.
- ZHOU J., HE Z., YANG Y., DENG Y., TRINGE S.G., ALVAREZ-COHEN L. (2015): *High-throughput metagenomic technologies for complex microbial community analysis: open and closed formats*, «MBio», 6 (1), e02288-14.

GIANCARLO RENELLA<sup>1</sup>

## La proteomica del suolo: piccoli progressi rivelano grandi potenzialità

<sup>1</sup> Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE),  
Università degli Studi di Padova

(Sintesi)

Il suolo è il corpo naturale che svolge molteplici funzioni fondamentali per il mantenimento degli ecosistemi terrestri e la produttività dei sistemi agrari. Alcune delle funzioni agro-ecologiche fondamentali quali la decomposizione delle biomasse, la mineralizzazione dei nutrienti, gli scambi gassosi con l'atmosfera, la stabilizzazione del carbonio e la qualità delle acque sono legate dall'attività dei microorganismi presenti nel suolo. Sebbene la biomassa microbica del suolo costituisca una frazione molto ridotta della sostanza organica del suolo, il suolo ospita la più grande biodiversità microbica tra gli ecosistemi terrestri. Mentre lo studio della diversità genetica dei microorganismi del suolo fornisce informazioni su composizione e abbondanza relativa dei diversi gruppi di microorganismi, l'analisi dell'attività dei microorganismi necessita di approcci post-genomici. La proteomica, cioè il profilo di espressione proteica dei microorganismi è tra gli approcci più promettenti per la caratterizzazione funzionale delle comunità microbiche. Nonostante i limiti che le tecniche analitiche e le potenzialità della bioinformatica non siano ancora sufficienti per l'analisi metaproteomica del suolo, ogni piccolo miglioramento conferma le grandi potenzialità di questo approccio, ancor più quando accoppiata a tecniche di genomica, trascrittomica e metabolomica. Alcune delle attuali strategie di analisi proteomica saranno confrontate con quelle del passato per una valutazione dei progressi ottenuti.

*Soil proteomics: small progress reveal great potentials. Soil is the natural body that performs multiple essential functions for the maintenance of terrestrial ecosystems and the productivity of agricultural systems. Some of the key agro-ecological functions such as organic matter decomposition, nutrient mineralization, gaseous*

*exchange with the atmosphere, carbon stabilization and water quality are linked by the activity of soil micro-organisms. Although soil microbial biomass constitutes a very small fraction of soil organic matter, soil hosts the largest microbial biodiversity among terrestrial ecosystems. While the study of the genetic diversity of soil microbial communities provides information on the composition and relative abundance of different groups of microorganisms, the analysis of the activity of microorganisms requires post-genomic approaches. Proteomics, i.e., the protein expression profile of microorganisms, is among the most promising approaches to functional characterization of microbial communities. Despite the limitations of the analytical techniques and of bioinformatics, each small improvement in this field confirms the great potential of proteomics, even more when coupled with genomic, transcriptomic and metabolomic studies. Some of the current proteomic analysis strategies will be compared to the past to assess progress.*

CARLO EMANUELE GESSA<sup>1</sup>

## Paolo Sequi: uomo e scienziato

<sup>1</sup> Università degli Studi di Bologna

Dopo aver ascoltato le brillanti relazioni dei colleghi che, con dovizia di particolari, hanno illustrato il vasto lavoro di ricerca del professor Paolo Sequi e gli importanti riconoscimenti da lui conseguiti a livello nazionale e internazionale, voglio esprimere a voi tutti, suoi collaboratori, il mio più sincero apprezzamento per questa iniziativa e ringraziarvi per avermi coinvolto nel ricordo del vostro stimato Maestro e mio grande amico.

A conclusione di questa bella giornata, vi confesso che vivo con molta commozione questo momento. Il ricordo dell'amico Paolo mi è tanto caro e sono onorato di prendere la parola in questa prestigiosa accademia per tratteggiarne la insigne figura di Uomo e Scienziato.

Il prof. Sequi era un galantuomo intelligente, pacato e riservato. Il suo garbo era ammantato da una modestia disarmante tanto che, a una prima impressione, poteva sembrare una persona timida. In realtà non si trattava di pusillanimità, ma piuttosto di una forma signorile di rispetto che lui riservava a ogni persona.

Mi accorsi di questo suo carattere il primo giorno che l'ho conosciuto. Un dolce mattino di fine novembre fui convocato con urgenza nell'ufficio di Presidenza della Facoltà. Mi precipitai con molta apprensione ignorando il motivo di tanta sollecitudine. Il preside, un uomo alto e sfilato, sovrastava il giovane incravattato e tutto impettito che gli stava di fronte.

«Prego si accomodi», mi disse appena spuntai dalla porta di quella sorta di sacrario. «Voglio farle conoscere il nuovo direttore del suo Istituto, il professor Paolo Sequi, venuto a salutarmi perché oggi prende servizio. Al professor Paolo Sequi, incaricato dal Consiglio di Facoltà anche dell'insegnamento di Chimica Agraria, auguriamo buon lavoro». A conclusione dell'incontro, il preside mi chiese di accompagnare in Istituto il nuovo direttore, ci fece strada

fino alla porta dell'ufficio e ci salutò con una cordiale stretta di mano. L'esperienza sassarese di Paolo fu di breve durata. L'anno successivo, su ingiunzione del CNR, fu costretto a rinunciare all'incarico in Sardegna poiché ritenuto non compatibile con la sua attività di Direttore dell'Istituto di Chimica del Suolo del CNR di Pisa.

In quell'anno accademico 1970-1971 Paolo svolse compiutamente il suo lavoro, ma gli mancò il tempo per poter impostare una propria attività di ricerca. Nonostante ciò, lasciò a Sassari un segno profondo. Durante la sua permanenza, si dedicò principalmente all'insegnamento delle sue discipline, compito eseguito brillantemente con grande apprezzamento degli studenti. Dopo la lezione, il professore si tratteneva in segreteria e con inusitata cortesia si informava della difficile situazione finanziaria dell'Istituto. Mi convocava, quindi, in biblioteca per parlare di ricerca e del lavoro avviato con il professore Eschena prima del suo trasferimento all'università di Napoli. Per quanto gli argomenti trattati non facessero parte del suo fardello sperimentale, mi ascoltava con attenzione e non mancava di rivolgermi espressioni di incoraggiamento per i risultati sperimentali che via via conseguivo. Mi sorprese l'interessamento che dimostrò per gli studi sulle argille insature volti a chiarire la natura delle funzionalità acide responsabili del terzo tratto tamponato, nonché per l'approccio sperimentale utilizzato nella determinazione dei parametri termodinamici calcolati nei processi di scambio cationico per coppie ioniche formate dal calcio e diversi cationi organici. Le discussioni scientifiche scivolavano spesso sulle proposte di ricerca da preparare e inviare agli appositi enti o organismi pubblici e privati per il loro finanziamento. In questo campo Paolo, nonostante la sua giovane età, fu di grande aiuto. Mi convinsi allora che con le sue buone relazioni in ambito universitario e le sue non comuni doti di ricercatore non avrebbe avuto grosse difficoltà a farsi largo in un mondo complesso e non privo di inciampi come quello accademico. In quel periodo, per me molto difficile, germogliò e si rafforzò la nostra amicizia, amicizia che non trovò alcun ostacolo, favorita dalla nostra giovane età. Entrambi scapoli, potevamo permetterci ogni tanto di pranzare insieme mangiando del buon pesce a Platamona, dove da Ernesto si poteva gustare anche l'aragosta. Con il pesce si tracannava dell'ottimo torbato ragion per cui era consigliabile rientrare al lavoro dopo avere trascorso qualche tempo a respirare l'aria fresca del mare. Ricordo sempre il dispiacere provato nell'apprendere che il prossimo anno accademico sarebbe arrivato un altro direttore. Il mio stato d'animo era profondamente turbato, ma non tanto dall'ansia che ogni cambiamento può generare quanto per il brusco distacco da una persona fidata che già sentivo amica.

L'impressione di avere conosciuto una persona integerrima e guadagnato la stima di un amico fu confermata qualche anno dopo quando mi invitò a Pisa a visitare il suo istituto. La sua ospitalità non mi sorprese: la visita ebbe tutte le caratteristiche di un incontro tra vecchi amici. La sera mi portò a Viareggio da sua madre e lì consumammo una squisita cena rievocando fatti e personaggi conosciuti durante la sua breve esperienza sassarese. Mi accompagnò poi a Pietrasanta dove aveva una dependance che mise a mia disposizione per il pernottamento. Quel viaggio a Pisa lo ricordo con un pizzico di invidia. Mi colpì l'entusiasmo dei suoi giovani impegnati nel loro lavoro di ricerca e la devozione per il loro giovane direttore. Pensai che mi sarebbe piaciuto fare parte di quel gruppo operoso, mi confortava tuttavia la sua stima, l'apprezzamento di una persona ricca di sentimento alla quale non mancavano le capacità per una luminosa carriera.

Seguirono anni difficili e di particolare impegno, ma il nostro rapporto non si infiacchì, anzi ebbe modo di consolidarsi in seguito a due avvenimenti che segnarono la storia della nostra vita: i nostri sponsali. Mi sposai ad Assisi e Paolo fu uno dei testimoni. Alla nascita di mio figlio, Giuseppe, ricevemmo in regalo un servizio di pappia in argento con i suoi auguri e quelli di sua madre. Alcuni anni dopo convolò a nozze, impalmando la cara Elia. Per viaggio di nozze scelse la Sardegna e, con nostro immenso piacere, fece la sorpresa di venire a trovarci. Si fermò a Sassari alcuni giorni, una buona occasione per fare gustare ai freschi sposi alcuni piatti della nostra tradizione e cucinati con maestria da mia moglie. Il suo matrimonio suggellò la nostra amicizia, allargandola alle nostre spose e il telefono svolse il suo ruolo.

Giunse il 1980 ed entrambi fummo dichiarati vincitori nel concorso a cattedra per professore ordinario. Ci complimentammo a vicenda e d'accordo decidemmo la sede della Facoltà a cui presentare la domanda per la chiamata. Paolo lasciò il CNR e andò a Udine mentre io andai a Perugia.

L'Università di Udine era nata recentemente. Il Dpr n° 102, emanato il 6 marzo 1978, decretava la nascita delle prime 5 Facoltà: Agraria; Ingegneria; Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali; Lettere e Filosofia; Lingue e Letterature Straniere. La Facoltà di Agraria non era burocraticamente ingessata, conservava ancora l'entusiasmo giovanile del suo corpo docente. Un'atmosfera ideale per il giovane professore Sequi che si presentava a quel consesso accademico con tanta voglia di fare, un'atmosfera che si confaceva ai suoi propositi e alla sue aspirazioni. In pochi anni Paolo organizzò il suo Istituto, scelse i suoi collaboratori, impostò e promosse l'attività didattica e di ricerca con eccellenti risultati.

Nel 1981 fu fondata la Società Italiana di Chimica Agraria, SICA, importante strumento per una efficace politica universitaria. Alle agitazioni degli

anni '70 era seguito un periodo di relativa calma e agli inizi degli anni '80 veniva promulgata anche una nuova legge per l'Università, la 382. La SICA non appena istituita si trovò ad affrontare una difficile battaglia a livello ministeriale: rischiava di perdere una delle due discipline fondamentali, Chimica Agraria II o Chimica Agraria Vegetale (così chiamata in alcune sedi). Il nostro SSD aveva proposto la sostituzione del nome della disciplina: non più Chimica Agraria II, ma Biochimica Agraria. La nuova denominazione, in verità più suadente, aveva incontrato l'opposizione agguerrita dei biochimici (SIB) che chiedevano di incardinare la disciplina nel loro SSD. La Biochimica era un feudo della potentissima Facoltà di Medicina e il passaggio della disciplina da un settore a un altro non avrebbe sicuramente favorito coloro i quali operavano nelle Facoltà di Agraria. La "contesa" si protrasse per diverso tempo durante il quale si svolsero al Ministero dell'Università e Pubblica Istruzione alcuni incontri tra le rappresentanze delle due Società scientifica, SICA e SIB. Anch'io partecipai a quelle riunioni e posso attestare che la nostra rappresentanza illustrò con dovizia le nostre ragioni. Paolo si distinse per la sua abilità di argomentare con logica serrata e in modo particolarmente abile e persuasivo e il Ministero ci diede ragione. Un giorno, se ben ricordo, prima di incontrare i delegati SIB, ci riunimmo per una disamina della situazione della Chimica Agraria a livello nazionale. Quel giorno maturò l'idea di sollecitare gli organi competenti ad assegnare un posto di professore di prima fascia alla Chimica Agraria per la Facoltà di Agraria di Bologna. Tale richiesta era più che motivata: una Facoltà di antica istituzione, come la Facoltà di Agraria di Bologna, che abbondava di professori di prima fascia in diversi SSD non disponeva di una cattedra di Chimica Agraria e la Presidenza della Facoltà si guardava bene di includere nei bandi di concorso un posto di prima fascia per il nostro SSD. Vista l'inutilità di qualsiasi sforzo, la SICA nella persona del suo più autorevole rappresentante presentava un'interrogazione al Ministero in cui lamentando la scarsa sensibilità della Facoltà di Agraria di Bologna, chiedeva il suo intervento per assegnare un posto di prima fascia al nostro raggruppamento concorsuale. Il posto venne assegnato e coperto per trasferimento dal professore Paolo Sequi.

Anche a Bologna Paolo fece un ottimo lavoro, ma si fermò pochi anni. Nel 1991 venne chiamato, per chiara fama, a dirigere l'Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante del Ministero delle Politiche Agricole e Forestali di Roma. Probabilmente sono stato uno dei primi a sapere di questa sua prospettiva. Un bel mattino di primavera 1989, dopo una riunione che si svolse a Roma nei locali del CNR, andai a pranzo con Paolo in un ristorante vicino alla Stazione Termini. Subito dopo aver scelto il menù, Paolo mi disse: «Non ti ho mai chiesto perché non sei rimasto a Perugia?».

Risposi: «A Perugia, non avevo fatto in tempo ad accomodarmi sulla cattedra che si fece vivo il Rettore di Sassari, il professore Milella, per dirmi che aveva a disposizione una cattedra per la Chimica Agraria e che desiderava il mio ritorno in Sardegna. Ringraziai per la stima che mi dimostrava e lo pregai di darmi qualche giorno per pensarci. Il giorno dopo sciolsi la riserva e l'anno accademico successivo presi la via del ritorno».

Paolo mi guardò negli occhi e aggiunse: «So del bel lavoro che hai fatto a Sassari, penso quindi che non hai più intenzione di muoverti».

«Sinceramente non ci ho mai pensato, anche perché non sono molte le sedi che potrebbero stimolarmi a lasciare la mia bella Isola».

«Anche Bologna... è tra queste?».

A questa domanda risposi con un sorriso e dissi: «Bologna mi darebbe sicuramente da pensare, ma non capisco perché mi fai questa domanda».

Paolo abbassò il capo verso il piatto di pastasciutta fumante appena portato dalla cameriera, attese qualche secondo poi fissandomi attentamente disse: «Perché potresti essere tu il mio sostituto, sempre che tu sia d'accordo».

Durante il pranzo mi raccontò delle manifestazioni di interesse ricevute dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali per un suo trasferimento a Roma come direttore dell'Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante e della concreta possibilità che questo progetto si realizzasse in un futuro molto prossimo. La notizia mi fece molto piacere, tuttavia sentivo affollarsi nella mia mente due sensazioni confliggenti: all'entusiasmo per un trasferimento a una sede tanto prestigiosa si contrapponeva la consapevolezza di ciò che lasciavo e delle difficoltà a cui sarei andato incontro. Ma quando Paolo mi disse che non poteva lasciare Bologna senza segnalare alla Facoltà un suo sostituto da chiamare prima possibile perché gli appetiti erano tanti e aveva timore di un probabile trasferimento della cattedra di Chimica Agraria ad altro SSD, i miei dubbi scemarono. Ci lasciammo con l'impegno di confermare la mia disponibilità in settimana dopo aver parlato con i miei.

A Roma trovò un Istituto decadente che riportò in auge rimettendo in moto l'attività scientifica su linee di ricerca avanzate e di rilevanza internazionale. Il suo carisma si riverberò sull'intero gruppo dei suoi collaboratori che ebbe sempre a suo fianco in un ambiente tanto complesso come quello dominato dalla valenza politica che non gli risparmiò diffidenze e non sempre ne comprese i propositi. Anche il periodo romano fu ricco di soddisfazioni e per diversi anni a partire dal 1997 ricoprì la prestigiosa carica di presidente della Società Italiana di Scienza del Suolo. In questo ruolo celebrò nel 2001 a Erice il cinquantenario della SISS. Trascrivo alcune frasi del presidente riportate in Presentazione del numero d'oro del Bollettino della SISS:

«Con la Società Italiana della Scienza del Suolo che giunge al suo cinquantesimo anno di età si apre un periodo di rinnovato impegno... Siamo lieti pertanto di dedicare questo bollettino alla celebrazione di alcune delle più importanti personalità che ci hanno lasciato o comunque non hanno più vissuto a contatto con noi... Si è voluto dedicare una serie di “flash” a tutti coloro che si sono prodigati per il suolo e per la Società in questo cinquantennio e lo spirito di questi brevi contributi è stato quello di tratteggiare i lati umani più che quelli scientifici».

A voi, che siete ancora in attività, spetta il non facile compito di continuare la sua opera, sicuro che il suo insegnamento vi sarà sempre di sprone per onorarlo e conservare e accrescere il prestigio della sua scuola.

#### RIASSUNTO

Un amico commemora con accenti commossi il professor Paolo Sequi, uomo di valore e stimato scienziato. Lo ricorda richiamando alla mente 50 anni della sua vita accademica: dalla brevissima esperienza vissuta presso la Facoltà di Scienze Agrarie dell'Università di Sassari, alla Chiamata per “Chiara Fama” a Roma alla Direzione dell'Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante del Ministero delle Politiche agricole e Forestali nel 1991. Durante la sua luminosa carriera nel campo della Scienza del Suolo, in particolare della Chimica Agraria, il professor Sequi svolse la sua attività in sedi diverse: prima a Pisa (1972-1980) in qualità di direttore dell'Istituto di Chimica del Suolo del CNR; dopo a Udine, chiamato alla Cattedra di Chimica Agraria dell'Università e poi a Bologna, per trasferimento alla stessa Cattedra dell'Università. In entrambe le sedi ricoprì anche il ruolo di direttore dell'Istituto relativo.

Il professore Sequi ha operato sempre con entusiasmo e determinazione lasciando in tutte le sedi un segno profondo. Per la passione che dedicava all'insegnamento riscuoteva grande apprezzamento da parte degli studenti. Instancabile lavoratore, sapeva trascinare e motivare nel lavoro di ricerca i suoi collaboratori che lo seguivano con impegno e devozione.

#### ABSTRACT

A friend remembers with fond memories Professor Paolo Sequi, a gentleman and a scientist of high value. He recalls 50 years of his Academic Life: from a short experience at Agriculture Faculty of Sassari University, to the call through “Chiara Fama” to Rome at MIPAF in 1991. During his shining career on the field of Soil Science, particularly of the Agriculture Chemistry, the Professor carried out his activity in different cities: first of all, at Pisa (1969-1980) as Director of Soil Chemistry Institute CNR, after at the Udine University (1981) and at the Bologna University (1985) as Full Professor of Agriculture Chemistry and Director of the Institute. Professor Paolo Sequi left everywhere a deep positive influence.