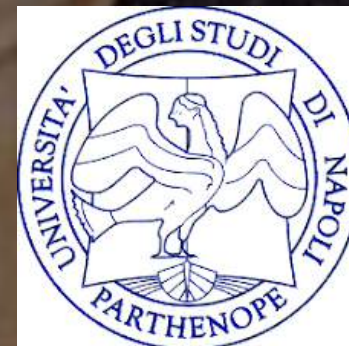


A cura di:  
Mariafrancesca Zefilippo 0123002733  
Fabiana Corbo 0123002876  
Flavia Ciaramella 0123002884  
Giovannbattista Esposito 0123002920  
Gaetana Tania Crisci 0123002790  
Angelina Caldarelli 0123002740  
Francesco Pio De Simone 0123002772

# BIOMONITORAGGIO

---

Tecniche e campi di applicazione



# COS'È IL BIOMONITORAGGIO?

Il biomonitoraggio o monitoraggio ambientale è l'osservazione degli effetti dell'inquinamento mediante **organismi viventi** e **parametri biologici**.

Esso si basa sullo studio di variazioni ecologiche dovute all'effetto di una o più sostanze inquinanti presenti nei vari comparti della biosfera.





A photograph showing several beekeepers in full protective suits, including hoods and gloves, working with beehives in a lush, green forest. One beekeeper in the foreground is wearing a blue suit, while another in the background is wearing a white suit. They are surrounded by numerous wooden beehives stacked on the ground. The scene is set in a dense, wooded area with many trees and green foliage.

---

Sulla base degli effetti indotti dagli inquinanti ambientali sugli organismi possiamo osservare due differenti situazioni:

- **BIOINDICAZIONE** = modificazioni morfologiche, fisiologiche e genetiche a livello cellulare, di organismo, di popolazione e di comunità (misure biologiche);
- **BIOACCUMULO** = accumulo di sostanze presenti nell'ambiente (analisi chimiche).

Dunque esistono organismi bioindicatori e organismi bioaccumulatori.





# BIOINDICATORI, BIOACCUMULATORI E BIOMARCATORI

Bioindicatori, bioaccumulatori e biomarcatori sono strumenti utilizzati nella biologia per valutare lo stato di salute di un ambiente naturale o di un organismo vivente.

- I **bioindicatori** sono organismi o specie che rispondono in modo sensibile ai cambiamenti nelle condizioni ambientali. Possono essere usati per monitorare l'inquinamento dell'aria, dell'acqua o del suolo, e per valutare la qualità ecologica di un ecosistema.
- I **bioaccumulatori** sono organismi in grado di accumulare sostanze tossiche o inquinanti dall'ambiente in cui vivono. Sono spesso utilizzati nella bonifica di siti contaminati, in quanto possono essere utilizzati per rimuovere inquinanti dall'ambiente.
- I **biomarcatori** sono misuratori biologici che possono essere utilizzati per valutare l'esposizione di un organismo a sostanze inquinanti o il suo stato di salute. Possono essere misurati a livello genetico, proteico o cellulare e sono utilizzati in ambito medico per diagnosticare malattie o tossicità ambientale.





# BIOINDICATORI A LIVELLO SUBCELLULARE

I processi biochimici e fisiologici utilizzati  
come biosensori per l'ambiente



# Prefazione

Negli ultimi tempi, c'è stato un aumento significativo della presenza di sostanze tossiche di vario genere nella catena alimentare, principalmente a causa della diffusione maggiore di tali sostanze nell'ambiente.

Questo problema viene affrontato in diverse maniere, come ad esempio cercando di limitare la dispersione delle sostanze tossiche e provando a sviluppare tecnologie per la decontaminazione.

Inoltre è sempre più urgente monitorare l'introduzione di inquinanti organici e inorganici nell'ambiente.

Inizialmente si è cercato di misurare direttamente la concentrazione di vari tipi di inquinanti in diversi ambienti come suolo, acqua e aria, utilizzando metodologie analitiche complesse e costose che spesso non forniscono informazioni utili sulla qualità ambientale a lungo termine.







## Sistemi biologici per il biomonitoraggio

Recentemente si è iniziato a valutare l'utilizzo di sistemi biologici per il monitoraggio ambientale (biomonitoraggio).

Permette di valutare la reale tossicità di un inquinante su organismi viventi anche in ambienti complessi.

Tiene conto dell'effettiva disponibilità dell'inquinante nell'ambiente naturale, valutando eventuali interazioni tra diverse sostanze tossiche.

E' particolarmente importante perché l'inquinamento ambientale di solito non è causato da una singola sostanza chimica ma da più di esse.



# Risposte biochimiche e fisiologiche come bioindicatori di inquinanti

Una metodologia di biomonitoraggio, attualmente ancora in fase sperimentale, consiste nell'utilizzare le risposte degli organismi viventi alla presenza di sostanze tossiche.

Queste includono adattamenti morfologici e funzionali che dipendono dall'assorbimento e traslocazione delle sostanze tossiche nell'organismo.

In particolare, le modifiche a livello sub-cellulare, ossia nelle attività biochimiche e fisiologiche causate direttamente o indirettamente dalle sostanze tossiche.

Queste modifiche possono essere rilevate tramite variazioni in parametri legati ai meccanismi di tossicità e detossificazione (livelli di metaboliti, attività enzimatiche, ecc.).

È da notare che la vasta gamma di parametri bioindicatori derivanti da diversi eventi biochimici e fisiologici potrebbe consentire di individuare la presenza di inquinanti con diversi gradi di specificità, includendo intere classi di inquinanti o sostanze specifiche.



# Vantaggi e potenzialità



Riduzione dei costi rispetto ai metodi tradizionali.



Può essere sensibile e utile per individuare precocemente **situazioni di inquinamento**, **monitorare l'evoluzione dell'ambiente**, **valutare il recupero di siti contaminati** e **determinare il grado di inquinamento di aree estese**.



L'uso di piante come bioindicatori può permettere di valutare la **fitotossicità dei suoli**, la **contaminazione di sottoprodotti agricoli o industriali** e la **velocità di introduzione di sostanze tossiche nella catena alimentare**.



È necessario calibrare il “bio-dosaggio” per ottenere valutazioni accurate, considerando le risposte massime e minime del parametro biochimico o fisiologico.



È fondamentale anche determinare la cinetica delle variazioni nel tempo e scegliere il tempo di esposizione adeguato.

# Limitazioni

Le limitazioni sono legate alla specificità dei parametri biochimici e fisiologici, e alla loro capacità/affidabilità di fornire informazioni in condizioni naturali.

È importante analizzare le risposte dell'organismo a diversi tipi di stress.

Inoltre, è fondamentale considerare l'adattamento degli organismi all'inquinante presente nell'ambiente, poiché questo può influenzare l'efficacia dei bioindicatori che diminuisce all'aumentare dell'adattamento.

La valutazione dei limiti nell'utilizzo dei parametri bioindicatori in condizioni di campo richiede attenzione alla **stagionalità**, agli **effetti sinergici di molteplici inquinanti** e all'**individuazione di una situazione di controllo** per confrontare i risultati.

---





# Come individuare i bioindicatori: criteri di scelta

L'individuazione di nuovi parametri biochimici e fisiologici da utilizzare come bioindicatori, richiederà l'approfondimento dello studio dei meccanismi biochimici e fisiologici che determinano una particolare sensibilità e tolleranza a inquinanti.

Ad esempio per gli organismi vegetali può risultare interessante utilizzare quelli che mostrano meno barriere di selettività all'entrata nelle cellule di sostanze tossiche (licheni) che in questo modo possono esplicare la loro azione con maggiore efficienza.

Anche le piante superiori possono risultare adatte, poiché la selettività dei sistemi di trasporto a livello della membrana plasmatica per alcune sostanze inquinanti può essere bassa, infatti si è capito che il trasporto attraverso il plasmalemma di alcuni elementi tossici come **Cd**, **Cs**, **Cr** e **As** sia mediato dai sistemi di trasporto di **Ca**, **K**, **SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>** e **PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>** rispettivamente.



# Bioindicatori di inquinanti atmosferici

## Ozono

Le piante esposte all'ozono mostrano un aumento dei livelli di **forme di ossigeno attivate** e di **enzimi detossificanti** (le superossido dismutasi (SOD), l'ascorbico perossidasi, la deidroascorbico reductasi e la glutathione reductasi) che svolgono un ruolo importante nella detox e nella regolazione dei livelli delle principali **molecole antiossidanti** (acido ascorbico e deidroascorbico, glutathione ridotto e ossidato, poliammine).

## Fluoro

Alcune piante esposte a elevati livelli di fluoro sintetizzano **fluoroacetilCoA** e lo convertono a **fluorocitrato** tramite il **ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA)**, che inibisce l'**enzima aconitasi** e blocca il TCA, causando l'accumulo di fluorocitrato.

L'analisi dei livelli di fluorocitrato in piante vicino a potenziali fonti di emissione di fluoro potrebbe essere un utile bioindicatore economico.





## Ossido di azoto

Studi condotti su piante di pino (*Pinus sylvestris*) e abete rosso (*Picea excelsa*) suggeriscono che le variazioni dei livelli di **glutamina** e **arginina** negli aghi possono essere utili bioindicatori dell'inquinamento da deposizioni azotate.

Tuttavia, tali differenze non sembrano essere significative per gli alberi di abete rosso danneggiati e sani.

Altri studi hanno suggerito che indicatori biochimici come i livelli di clorofilla, amido, prolina, attività di fosfatasi acida e perossidasi potrebbero essere utilizzati per evidenziare uno stress generalizzato, ma possono essere difficilmente correlati ad uno specifico fattore.

## Ammoniaca

L'ammonio atmosferico proveniente da fonti antropiche sta diventando un problema ambientale serio, esso influisce sul **metabolismo dell'azoto** e sul **bilancio acido-base** delle piante.

Utilizzando coloranti fluorescenti sensibili al pH, è stato possibile misurare le variazioni di pH citoplasmatico e vacuolare in foglie di Geranio, Mais e Amaranto esposte a diverse concentrazioni di  $\text{NH}_3$  nell'aria.

---

# Bioindicatori di metalli pesanti: aria, acqua, suolo

## Fitochelatine

Le fitochelatine sono peptidi a basso peso molecolare i cui livelli aumentano in presenza di alcuni metalli pesanti, dunque potrebbero svolgere un ruolo importante nella **detossificazione dei metalli pesanti** nelle piante.

Studi sulla diatomea *Thalassiosira weissflogii* hanno mostrato che la presenza di cadmio nel mezzo di incubazione influisce sui livelli di fitochelatine all'interno delle cellule.

Inoltre, campioni naturali di *T. weissflogii* raccolti in diverse zone marine hanno mostrato livelli simili di fitochelatine in rapporto al cadmio.

Questi risultati suggeriscono che i livelli di fitochelatine possono essere usati come indicatori dello stress da metalli pesanti ciò potrebbe essere importante anche per capire il degrado delle foreste, dove si è visto che i livelli di fitochelatine sono più alti nelle zone con maggior danno agli alberi.

Questi studi indicano che i metalli pesanti potrebbero contribuire al degrado delle foreste.



## Attività enzimatiche

Le variazioni delle attività enzimatiche e isoenzimatiche nelle piante possono essere utilizzate come criteri diagnostici per valutare la fitotossicità di suoli contaminati da metalli pesanti.

Un esempio è la relazione quantitativa tra **l'attività perossidasi** e **l'assimilazione di metalli pesanti** nelle piante di fagiolo (*Phaseolus vulgaris*) che ha permesso di rilevare che esse possono sopportare livelli bassi di rame nei suoli fertilizzati con liquami suini.

Un altro studio ha evidenziato che il **cadmio** induce la produzione di **enzimi specifici** nelle piante di frumento, esso inoltre influisce sulla produzione di una proteina alternativa che può aiutare a intrappolare composti tossici nel vacuolo.

Ad esempio bioindicatori come le **GSTs**, possono identificare la presenza di cadmio e il suo impatto sulle piante.

---

# Bioindicatori di erbicidi



Per rilevare la presenza di erbicidi, si possono usare come bioindicatori le evidenze fisiche e genetiche studiate, infatti ciò che rende una pianta resistente agli erbicidi sono gli enzimi che metabolizzano e detossificano queste sostanze.

Le **GSTs** svolgono un ruolo chiave in questo processo, inattivando gli erbicidi tramite la coniugazione al **glutathione**, dunque piante con livelli più alti di attività GST possono sopravvivere in presenza di erbicidi che uccidono altre piante.

I parametri bioindicatori per le sostanze inquinanti organiche possono essere cercati nei **diversi stadi metabolici** che le piante e gli animali usano per detossificarle ed anche nelle variazioni dell'attività dei **trasportatori coinvolti nella detossificazione**.



## JRC Scientific and Technical Reports

## Bioindicatori per valutare la qualità dei suoli di alcuni parchi della città di Roma

R. M. Cenci, D. Dabergami, E. Beccaloni, G. Ziemacki, A. Benedetti, L. Pompili, A. S. Mellina, M. Bianchi



Il presente studio è stato effettuato al fine di stimare parte della qualità ambientale in alcuni parchi della città di Roma. Per tale indagine sono stati utilizzati muschi, suoli superficiali raccolti nei parchi di Villa Borghese, Villa Ada e Villa Doria Pamphili. Queste aree sono state scelte perché adiacenti a strade ad alto traffico veicolare. Complessivamente sono state approntate 11 stazioni di prelievo.

Sono state valutate le concentrazioni di metalli pesanti quali Al, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, V, Zn, Pt e Rh in suoli e muschi, i valori ottenuti hanno permesso di osservare l'andamento spaziale e identificare l'origine delle ricadute degli elementi. In aggiunta su un campione composito di suolo per ogni "villa" è stata stimata la concentrazione di IPA, PCBs e Organoclorurati. Per una indagine più approfondita sono stati altresì utilizzati indicatori microbiologici, biochimici e molecolari della qualità del suolo al fine di valutare l'effetto delle deposizioni al suolo di inquinanti presenti nell'aria nei confronti della popolazione microbica e dei cicli biogeochimici.

L'insieme dei dati ottenuti ha permesso di valutare parte dello stato di salute dei tre parchi romani; l'indagine andrebbe allargata sia agli altri parchi romani sia ai parchi di altre città italiane ed estere utilizzando la stessa metodica per una comparazione dei risultati e per conoscere la qualità dei parchi cittadini al fine di una corretta gestione.

**Parole chiave:** parchi, muschi, suoli, batteri, metalli pesanti, IPA, PCBs

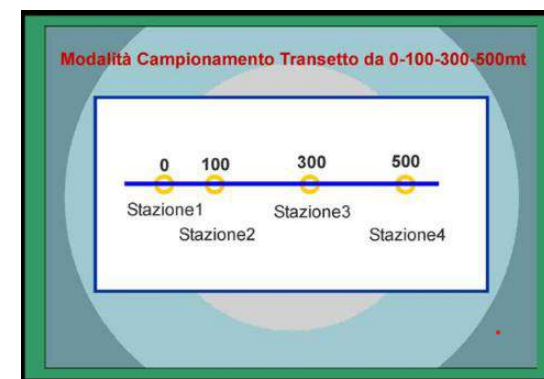


Figura 4. Localizzazione delle aree di campionamento

## Risultati e discussione

### Fattore di arricchimento

La concentrazione dell'alluminio, quale elemento conservativo (Wiersma *et al.*, 1987; Torunn *et al.*, 1995), è stata valutata sia nei muschi sia nei suoli. I valori di concentrazione sono stati utilizzati per identificare l'origine delle ricadute degli elementi indagati.

Tale "normalizzazione" dei valori di concentrazione dei metalli pesanti nei suoli e nei muschi con l'alluminio (Olmez *et al.*, 1985; Bargagli, *et al.*, 1994) permette di discriminare e identificare l'apporto antropico da quello naturale in accordo con la seguente formula (Puckett et Finegan, 1980):

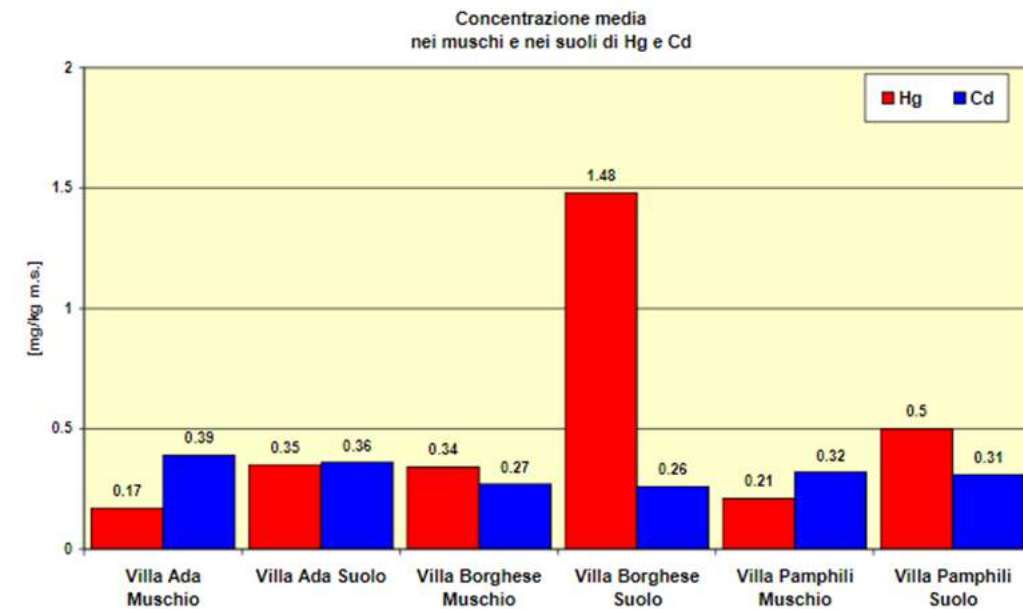
$$F.A = (X \text{ moss} / Al \text{ moss} / X \text{ soil} / Al \text{ soil})$$

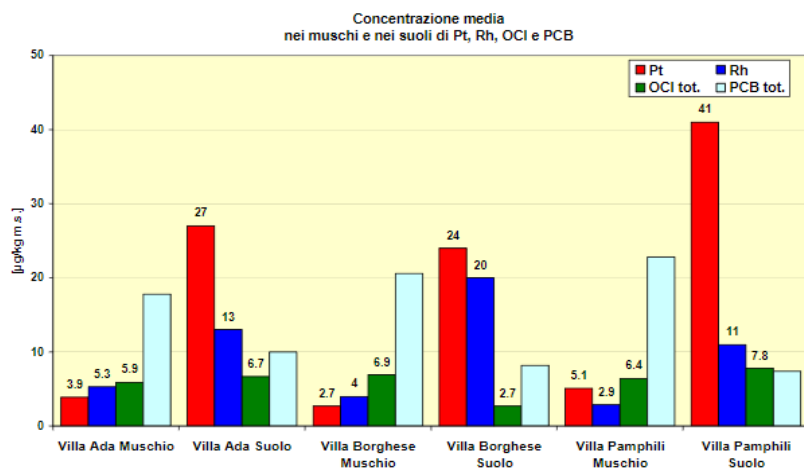
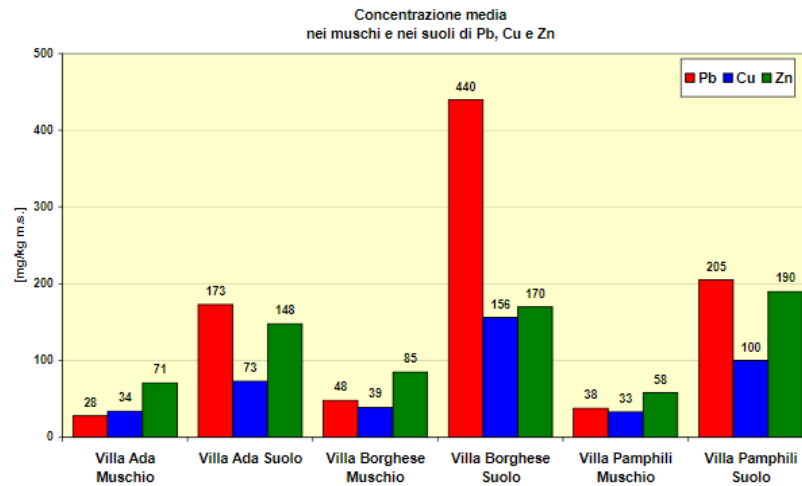
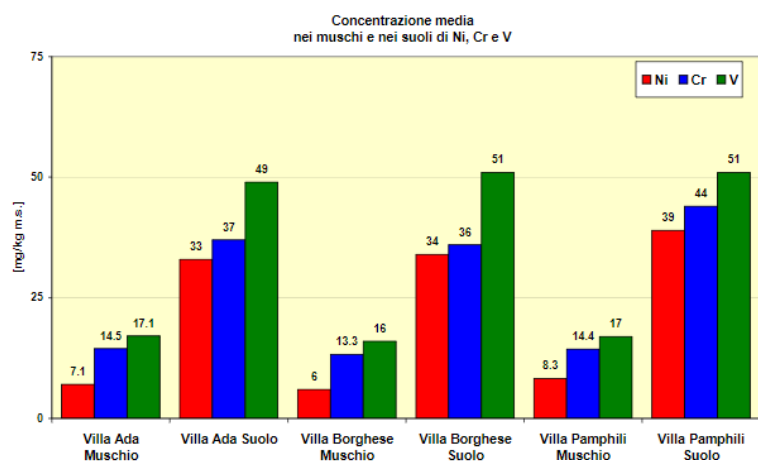
Da tale approccio si ottiene il Fattore di Arricchimento (F.A.): se superiore a 15, le concentrazioni riscontrate nei muschi possono essere causate da attività antropiche o eventi naturali (attività vulcanica, incendi boschivi ecc.), se F.A. è inferiore a 5 significa che c'è una origine prevalentemente influenzata dal suolo. Tra 5 e 15, suolo e attività antropiche concorrono nelle stesse misure. Le stime sui F.A. (tabella 1) effettuate nelle aree di campionamento dei tre parchi romani hanno evidenziato solo per il Cd nel parco della Villa Pamphili e per lo Zn nel parco di Villa Borghese, una origine prevalentemente antropica. Per i restanti elementi e negli altri siti di indagine, l'origine deve essere imputata in larghissima maggioranza al substrato/soilo.

Elemento	Villa Ada (F.A.)	Villa Borghese (F.A.)	Villa Pamphili (F.A.)
Cd	7	8	12
Cr	2	3	2
Cu	2	2	2
Hg	2	4	2
Ni	1	1	1
Pb	1	2	1
V	2	3	2
Zn	6	11	2
Pt	1	1	1
Rh	2	3	2

Tabella 2. Concentrazione media nei muschi e nei suoli di metalli pesanti, IPA tot, PCB tot, Organoclorurati (Pesticidi totali)

Analisi	Villa Ada		Villa Borghese		Villa Pamphili	
	muschio	suolo	muschio	suolo	muschio	suolo
Al (mg/kg m.s.)	11900	63100	7900	63600	10600	71000
Cd (mg/kg m.s.)	0.39	0.36	0.27	0.26	0.32	0.31
Cr (mg/kg m.s.)	14.5	37	13.3	36	14,4	44
Cu (mg/kg m.s.)	34	73	39	156	33	100
Hg (mg/kg m.s.)	0.17	0.35	0.34	1.48	0.21	0.50
Ni (mg/kg m.s.)	7.1	33	6	34	8.3	39
Pb (mg/kg m.s.)	28	173	48	440	38	205
V (mg/kg m.s.)	17.1	49	16	51	17	51
Zn (mg/kg m.s.)	71	148	85	170	58	190
Pt (µg/kg m.s.)	3.9	27	2.7	24	5.1	41
Rh (µg/kg m.s.)	5.3	13	4.0	20	2.9	11
IPA tot (µg/kg m.s.)	701	1522	355	736	509	600
PCBtot (µg/kg m.s.)	17.8	10	20.6	8.2	22.8	7.4
OCltot (µg/kg m.s.)	5.9	6.7	6.9	2.7	6.4	7.8





## Conclusioni

Lo studio di monitoraggio eseguito in tre parchi romani, ha permesso di ottenere una prima lettura circa la distribuzione spaziale e il livello di concentrazione di numerosi elementi/composti notoriamente dannosi per la salute dell'uomo e valutare, in abbinamento con lo studio dei batteri, parte dello "stato di salute" dei suoli.

La distribuzione degli elementi indagati nei muschi e nei suoli presenta, lungo i transesti considerati, un andamento che potrebbe essere definito costante, la vicinanza delle strade e il traffico veicolare sembrano non influire in modo significativo sulla quantità delle deposizioni e quindi sulla concentrazione.

L'origine delle deposizioni è risultata per Cd e Zn parzialmente influenzata dalle attività dell'uomo. Destano preoccupazione i valori di concentrazione per Pb, Hg e Zn nei suoli e per gli ultimi due elementi anche nei muschi.

Per le sostanze organiche indagate (IPA, PCBs e OrganoClorurati), i valori sono simili a quanto riscontrato in aree ad elevata antropizzazione.

Dal punto di vista dell'attività microbica del suolo si può affermare che la situazione relativa alle stazioni approntate nelle tre Ville di Roma presenta, in modo non omogeneo, una situazione di disturbo in quanto risentono in più punti dell'attività antropica rappresentata dalla vicinanza di strade urbane e dalle relative ricadute di contaminanti.

L'impiego di suoli e di muschio ha permesso di ottenere una prima serie di dati, che sarebbe interessante estendere, prendendo in considerazione molte più aree della città di Roma e aree di altre città italiane ed europee, al fine di poter valutare parte della qualità dell'ambiente urbano. Il monitoraggio andrebbe inoltre, ripetuto negli anni a venire per permettere di identificare gli andamenti nel tempo della concentrazione degli elementi/composti indagati. Sarebbe auspicabile estendere l'indagine anche dal punto di vista della biodiversità presente nei suoli. Tali dati, nel loro insieme, permetterebbero agli amministratori una più corretta e completa gestione dei parchi che andrebbe a vantaggio della salute dei cittadini.



—

# I microorganismi del suolo come bioindicatori

---



# Prefazione

---

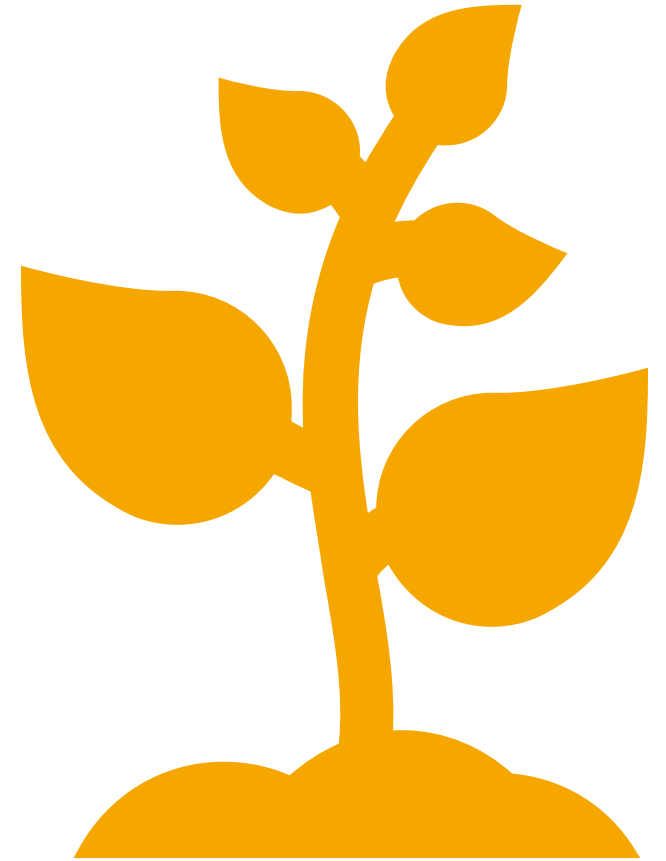
I microrganismi sono presenti in tutti i suoli e sono importanti per mantenerne l'equilibrio.

Le interazioni tra questi e le piante sono essenziali per arricchire il terreno e renderlo resistente.

Il suolo è in continua relazione con gli altri ambienti e scambia sostanze chimiche e organismi viventi, i microrganismi svolgono un ruolo fondamentale nella decomposizione della sostanza organica per produrre nutrienti per le piante.

Studiando la microflora è possibile capire la fisiologia del suolo e gli effetti di eventuali stress ambientali o agenti inquinanti che influenzano l'attività e la diversità dei microrganismi nel suolo.

Studiare questi aspetti permette di comprendere come la comunità microbica si adatta all'ambiente e come reagisce a stress esterni.



# Le micorrize come bioindicatori

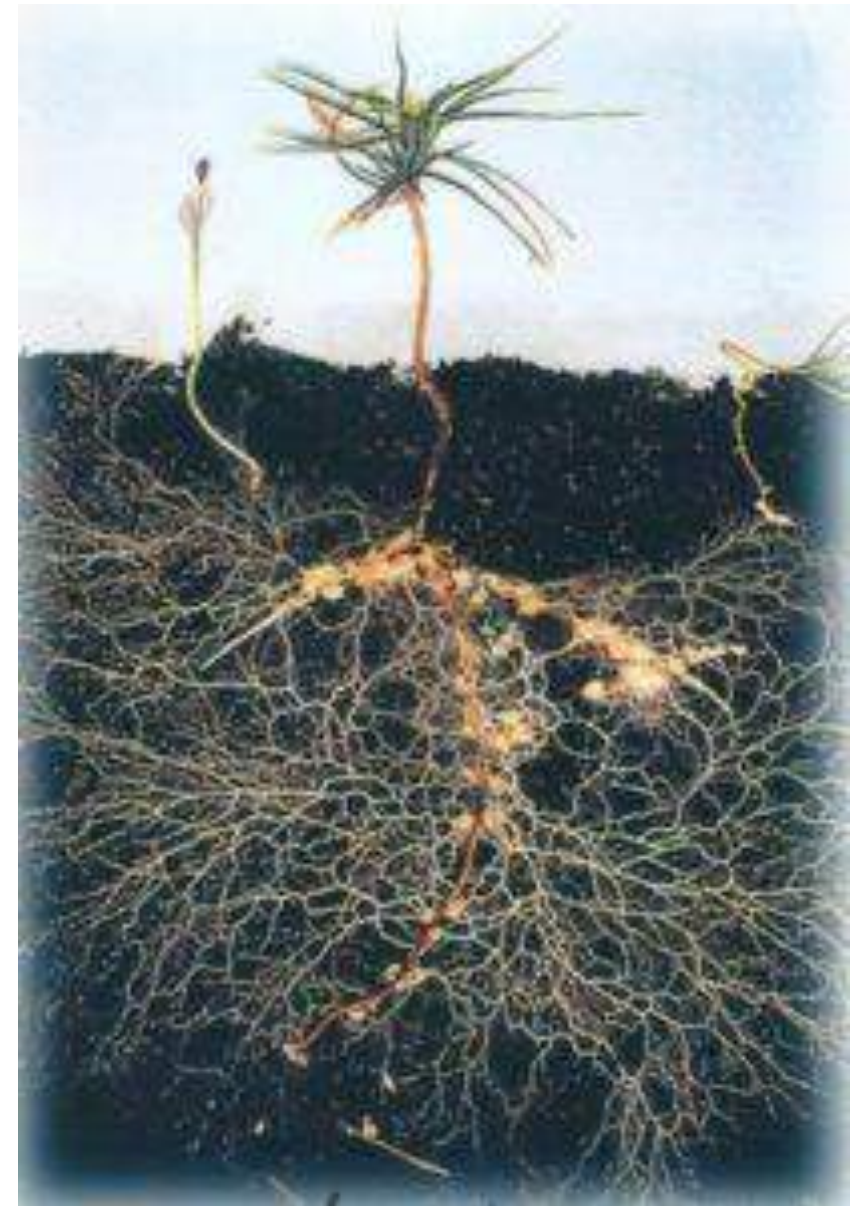
Le micorrize sono associazioni mutualistiche tra funghi e radici delle piante, esse aiutano ad assorbire acqua e nutrienti, proteggendo le piante e migliorando la salute del suolo.

I **funghi ectomicorrizici** e **arbuscolari** vivono in simbiosi con le piante, ma possono essere influenzati negativamente dall'inquinamento atmosferico e da altri stress ambientali.

Alcuni funghi possono essere utilizzati come bioindicatori di stress, ma non tutti reagiscono allo stesso modo.

Ad esempio, i funghi arbuscolari sembrano essere più tolleranti agli inquinanti rispetto ai funghi ectomicorrizici.

Inoltre, i **funghi simbiotici delle Ericacee** sono particolarmente interessanti, poiché possono aiutare le piante a sopravvivere in suoli contaminati da metalli pesanti.





# Rassegna e discussione delle metodiche



# Ecotossicologia



L'ecotossicologia è una disciplina che studia gli effetti dei contaminanti ambientali sugli organismi viventi, sia a livello individuale che a livello di ecosistema.



L'obiettivo è quello di **valutare e prevenire danni agli ecosistemi e alla salute umana** causati dai contaminanti ambientali, al fine di **promuovere la sostenibilità ambientale** e la **conservazione della biodiversità**.



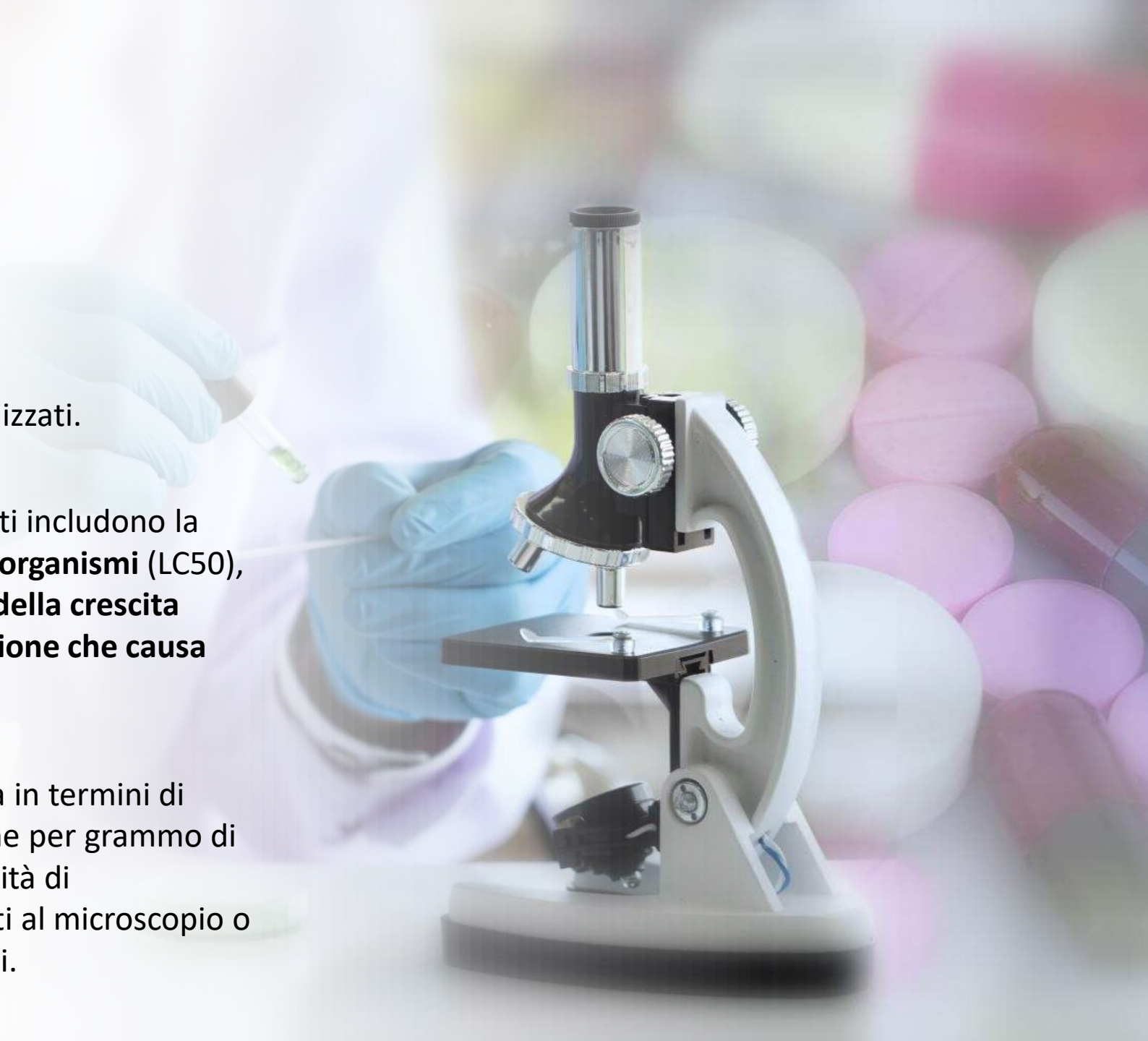
Inoltre si occupa di capire come gli agenti inquinanti influenzano la **fisiologia**, il **comportamento**, la **crescita** e la **riproduzione** degli organismi, nonché le **interazioni** tra le diverse specie presenti in un ambiente.



Gli ecotossicologi studiano quindi i rischi associati alla presenza di sostanze chimiche in natura e sviluppano strategie per ridurre l'impatto negativo di tali sostanze sugli organismi e sugli ecosistemi.

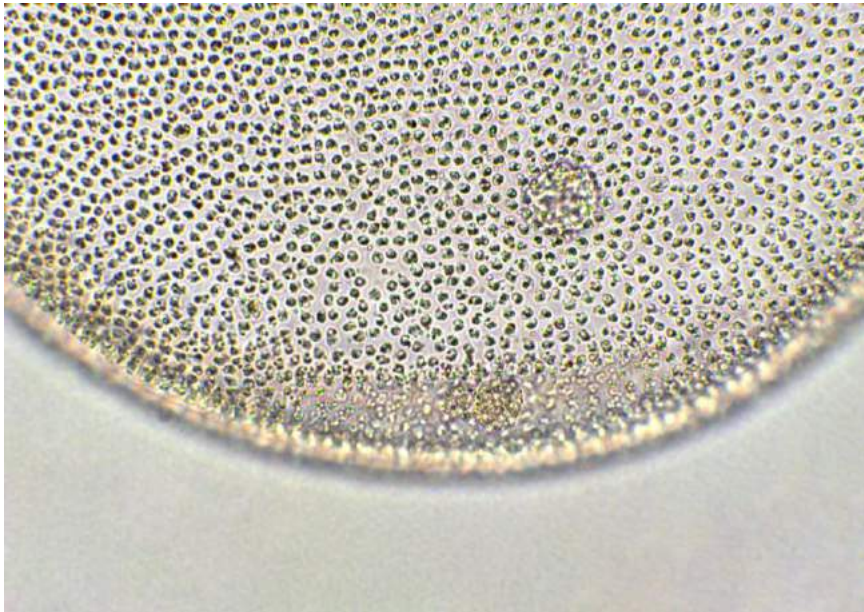
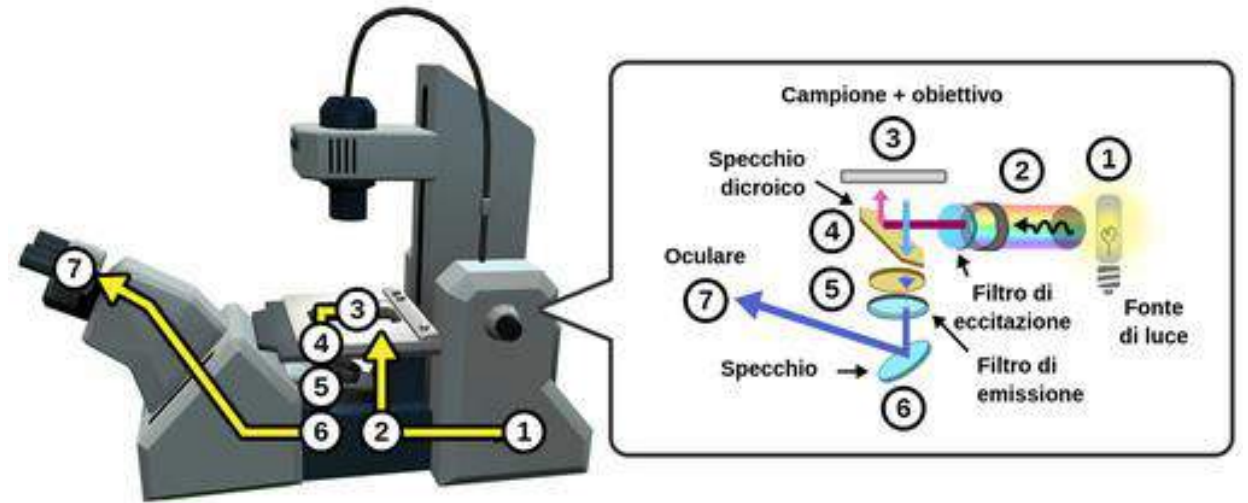
# Valutazioni quantitative

- Utilizzano metodi e protocolli standardizzati.
- Alcuni parametri comunemente valutati includono la **concentrazione letale per il 50% degli organismi (LC50)**, la **concentrazione inibente per il 50% della crescita degli organismi (IC50)**, e la **concentrazione che causa effetti subletali negativi**.
- Altri valutano la popolazione microbica in termini di **biomassa** (numero di cellule microbiche per grammo di suolo secco, che rappresenta una densità di popolazione) attraverso conteggi diretti al microscopio o tramite colture in terreni liquidi o solidi.





# Metodi per valutazioni di tipo quantitativo



Le conte microscopiche di microrganismi, vengono comunemente effettuate con l'ausilio di particolari colorazioni che permettono di evidenziare cellule che possiedono effettivamente un'attività metabolica, oltre a permettere la distinzione di cellule dalle particelle non biologiche.

È necessario l'impiego di un microscopio a epifluorescenza appositamente equipaggiato.

# Le diverse fasi:



- Prelievo dei campioni di suolo da analizzare.
- Conservazione del campione.
- Setacciamento del campione a 2mm.
- Preparazione del campione: 10 g di suolo vengono aggiunti a 90 ml di acqua distillata o soluzione salina tampone di Winogradsky.
- Triturazione del campione: per separare le cellule microbiche e le particelle del suolo, il campione può essere triturato in un mortaio o trattato con omogenizzatori a lame rotanti.
- Diluizioni successive: si preparano diluizioni successive in base alle necessità delle semine da realizzare nei terreni colturali.
- Inoculazione: 1 ml delle diluizioni vengono inoculate nei terreni colturali liquidi o su piastre con terreno agarizzato.
- Incubazione: le piastre vengono poste in incubazione a temperatura appropriata per un tempo determinato.
- Lettura dei risultati: si conta il numero di colonie cresciute e si calcola il numero di unità formanti colonia per grammo di campione.
- Stima del numero di microrganismi per ml: tramite la tecnica del MPN.
- Ricerca di gruppi anaerobi tramite incubazione in contenitori con generatore di anaerobiosi.
- Precauzioni: si mantengono materiali sterili e si adottano precauzioni durante le manipolazioni.

Per ogni carica si determina la frazione di secco nel campione di suolo esaminato, questa può essere ottenuta pesando il campione prima e dopo il processo di essiccazione.



La percentuale di secco nel campione può essere calcolata come il rapporto tra il peso del campione essiccato e quello iniziale moltiplicato per 100.



Per confrontare le cariche microbiche e verificare se alcune sono effettivamente superiori ad altre, è necessario utilizzare l'analisi della varianza quando si dispongono di più analisi su ogni campione.



La piastra può essere considerata significativamente superiore a un'altra solo se la prima è almeno 2-3 volte superiore in numero, nel caso dei terreni colturali liquidi, la differenza deve essere almeno 15



È importante considerare sia le cariche microbiche che la frazione di secco nel campione per valutare in modo accurato la biologia del suolo e stabilire eventuali differenze significative tra i campioni analizzati.



Successivamente si procede analizzando i singoli gruppi microbici.





# Valutazioni qualitative

- Identificazione delle specie microbiche presenti: tramite classiche **metodiche di tipo colturale** (isolare e studiare le colonie cresciute su piastre seminate con diluizioni del suolo) oppure le **metodiche avanzate di tipo biochimico-genetico** (sonde di acidi nucleici, sequenziamento del rRNA 16S).

Queste ultime possono permettere, con l'aiuto della PCR, di evidenziare e di studiare anche forme microbiche non-coltivabili;

- Valutazione generica della biodiversità microbica: forme microbiche isolate vengono sottoposte a una serie di **test**, per esempio **di tipo fisiologico** (mediante kit commerciali tipo API o simili), per avere indicazioni di massima sul **numero di forme microbiche diverse presenti**, anche senza arrivare a una completa identificazione;

- Caratterizzazione fisiologica della comunità microbica nel suo insieme: si sottopone a una **serie di test fisiologici** l'intera comunità microbica, per evidenziare la diversificazione all'interno della microflora nella capacità di utilizzare substrati.



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI TORINO

SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA

TESI DI SPECIALIZZAZIONE

# ***E. coli* come bioindicatore della qualità delle acque superficiali Caso studio della Valle d'Aosta**

Presentata dalla Dott.ssa:

*Silvia Piovano*

Direttrice Prof.ssa *Rossana Cavallo*

Co-relatrice Prof.ssa *Giuliana Banche*



## ***E. coli* INDICATORE DELLE ACQUE SUPERFICIALI**

- **Scarse probabilità di ritrovarlo nel terreno**  
→ la presenza nelle acque non può essere ascritta ad un evento casuale;
- **Incapace di moltiplicarsi nell'acqua**  
→ non c'è amplificazione nel tempo di una contaminazione inizialmente inapparente;

Dimostrazione di come *E. coli* sia ancora un parametro utile nella valutazione della qualità dei corpi idrici superficiali.

## **SCOPO DEL LAVORO**

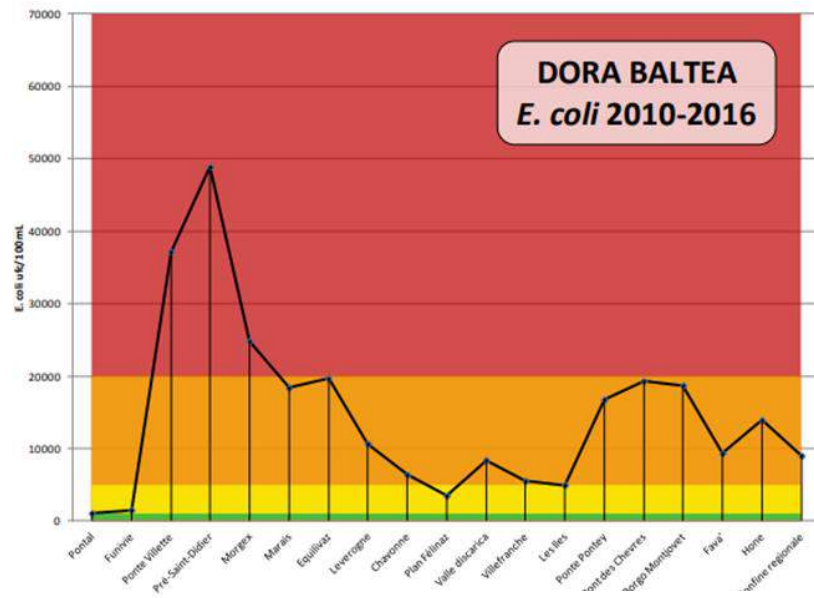
Approfondimento di quello che può essere considerato un vuoto normativo in materia di tutela della salute di coloro che praticano sport d'acqua viva.

La presenza di contaminanti di natura biologica nelle acque ha particolare rilevanza per le possibili conseguenze sulla salute dell'uomo e/o degli animali. Organismi capaci di provocare malattie, attraverso il circuito oro-fecale, raggiungono l'ambiente acquatico, che garantisce la loro circolazione e il manifestarsi di patologie in altri soggetti. Nelle acque si ritrovano tuttavia anche quei microrganismi di per sé non patogeni la cui presenza costituisce un indice indiretto e teorico della eventuale contemporanea presenza di patogeni. Essi costituiscono il gruppo dei microrganismi definiti indicatori di contaminazione fecale, la cui ricerca costituisce la parte largamente prevalente dell'esame microbiologico delle acque.

*E. coli* è ritenuto attualmente tra i più validi indicatori microbiologici di questo tipo e per le sue caratteristiche ecologiche sembra meglio soddisfare i requisiti insiti nella definizione di organismo indicatore per le acque dolci superficiali e per questo viene utilizzato per determinare la qualità delle acque superficiali e di acque reflue che, con il loro apporto inquinante, influenzano e modificano le caratteristiche del corpo idrico recettore (fiume, lago, mare).

Tuttavia, con l'entrata in vigore della Direttiva 2000/60/CE, recepita in Italia con il D. Lgs. 152/2006 e s.m.i., l'indice che valuta la qualità delle acque correnti per quanto riguarda i nutrienti e l'ossigenazione (LIMeco) non prende più in considerazione il parametro microbiologico *E. coli*, come al contrario accadeva per l'indice LIM, previsto dal D. Lgs 152/1999, abrogato dalla nuova normativa.

Inoltre, tra le acque superficiali, sono presenti quelle definite ad uso ricreazionale, che possono essere una fonte di infezione da parte di diversi microrganismi (patologie gastrointestinali acute, patologie cutanee e patologie respiratorie). Le attività ricreative si dividono in base al grado di esposizione all'acqua e alla durata dell'attività ludica; gli sport d'acqua viva, secondo questa classificazione, non vengono associati alla balneazione, che segue una normativa a parte, ma vengono inseriti tra le attività che comportano un contatto limitato con le acque superficiali. In questo caso, non esistono ad oggi limiti di legge a livello comunitario da rispettare. Poiché il contatto con acque ricreative non adibite alla balneazione non esonera comunque dall'esposizione a rischi per la salute per la scarsa qualità della risorsa idrica e per il livello di esposizione che può aumentare improvvisamente verso quello che viene definito contatto primario, diversi enti hanno elaborato, a tutela della salute pubblica, delle Linee Guida, che utilizzano come indicatore di qualità proprio *E. coli*.



codice stazione	nome stazione	codice corpo idrico	nome corpo idrico	LIM_2010-2016	LIMeco_2010-2016	E. coli_2010-2016
DBL010	Pontal	01va	Dora Baltea	490	0,89	1080
DBL020	Funivie	02wva	Dora Baltea	460	0,88	1518
DBL030	Ponte Vilette	02wva	Dora Baltea	415	0,81	37167
DBL040	Pré-St-Didier (Champex)	02wva	Dora Baltea	379	0,76	48857
DBL050	Morgex	04wva	Dora Baltea	423	0,83	24833
DBL060	Marais	04wva	Dora Baltea	449	0,85	18393
DBL070	Equilivaz	07va	Dora Baltea	402	0,79	19643
DBL080	Leverogne	08va	Dora Baltea	456	0,85	10654
DBL088	Chavonne/Sarriod de la Tour	09va	Dora Baltea	446	0,86	6371
DBL100	Plan Félinaz	010va	Dora Baltea	480	0,91	3475
DBL105	Valle discarica	011wva	Dora Baltea	310	0,48	8388
DBL110	Villefranche	012wva	Dora Baltea	377	0,60	5514
DBL120	Les Iles	012wva	Dora Baltea	372	0,62	4963
DBL130	Ponte Pontey	013va	Dora Baltea	398	0,77	16750
DBL140	Pont des Chevres	013va	Dora Baltea	362	0,70	19292
DBL150	Borgo Montjovet	014va	Dora Baltea	371	0,70	18696
DBL160	Fava'	015va	Dora Baltea	372	0,75	9336
DBL170	Hone	016IRva	Dora Baltea	380	0,77	13900
DBL180	Confine regionale	016IRva	Dora Baltea	401	0,79	9021

Confronto tra risultati LIM e LIMeco 2010-2016

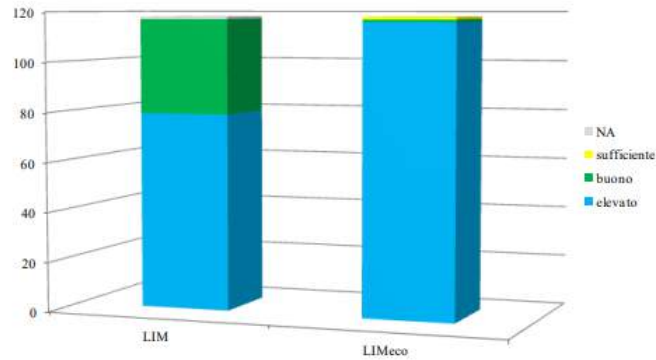


Figura 6.1 - Confronto tra risultati LIM e LIMeco 2010-2106

La differenza principale tra LIM e LIMeco in ecologia risiede nel fatto che mentre LIM (Livello di Intervento Minimo) si riferisce al livello minimo di intervento necessario per mantenere l'equilibrio di un ecosistema, LIMeco si riferisce al Livello di Intervento Minimo Ecologico, che tiene conto anche degli aspetti ecologici e naturalistici dell'ambiente.

LIMeco quindi rappresenta un approccio più completo e attento alle dinamiche ecologiche e naturali di un ecosistema, considerando non solo il livello minimo di intervento necessario per mantenere l'equilibrio, ma anche gli impatti ecologici e la biodiversità dell'ambiente.

*E. coli*

- ✓ più precisa lettura della realtà, registrando in maniera più accurata impatti che altrimenti il LIMeco non rilevarebbe (scarichi fognari, derivazioni);
- ✓ valutazione sistemi depurativi.

## CONCLUSIONI

L'*estate* è la stagione più critica

- ✓ periodo di pratica sportiva

Alla luce dei risultati, porre l'attenzione su un possibile rischio microbiologico sottostimato.

Collaborazione con ASL locale, società sportive e attività commerciali per:

- ricerca di segnalazioni di casi di GE;
- somministrazione di interviste e questionari.





---

# Tossicologia

La tossicologia è la branca della scienza che si occupa dello studio delle sostanze tossiche e dei loro effetti sul corpo umano, sugli animali e sull'ambiente.

**Identifica, valuta e gestisce** i rischi associati all'esposizione a sostanze tossiche, sia chimiche che naturali.

La tossicologia comprende diverse discipline, tra cui la **tossicologia ambientale**, che studia gli effetti delle sostanze tossiche sull'ambiente, e la **tossicologia clinica**, che si occupa degli effetti tossici sul corpo umano e sulle modalità di gestione e trattamento delle tossicosi.

Gli esperti di tossicologia sono coinvolti in diverse aree, tra cui la **ricerca**, la **valutazione del rischio**, la **diagnosi** e il **trattamento** delle intossicazioni.

L'obiettivo principale della tossicologia è proteggere la salute umana e l'ambiente dalla tossicità delle sostanze chimiche e garantire la sicurezza dei prodotti chimici presenti negli alimenti, nei farmaci, nei cosmetici e negli ambienti di lavoro.



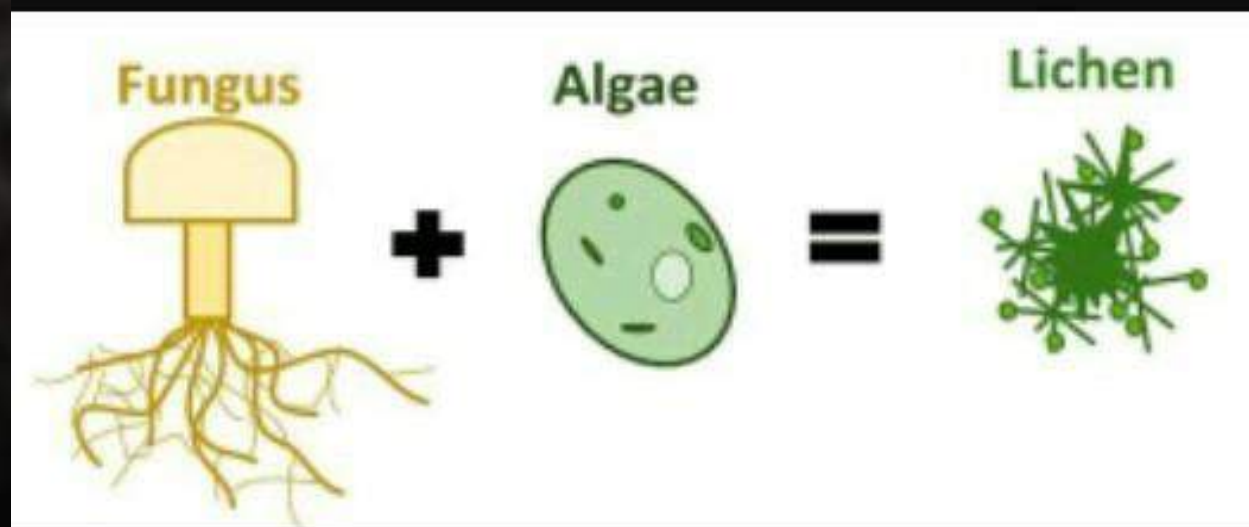
# BIOINDICATORI VEGETALI

LICHENI



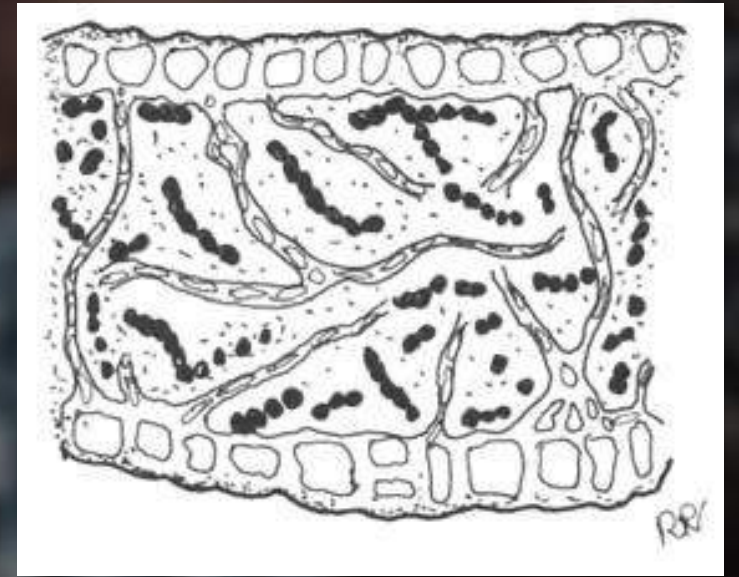
# LICHENI

- Si tratta di organismi formati dalla simbiosi tra: **organismi eterotrofi (funghi)** e **organismi autotrofi (alghe e/o cianobatteri)**. I funghi ricevono carboidrati dalle alghe e in cambio forniscono quest'ultime di acqua e sali minerali.
- crescono su alberi, rocce o sul terreno. Hanno l'aspetto di croste, piccole foglioline o ciuffetti. Possono avere colorazioni molto diverse





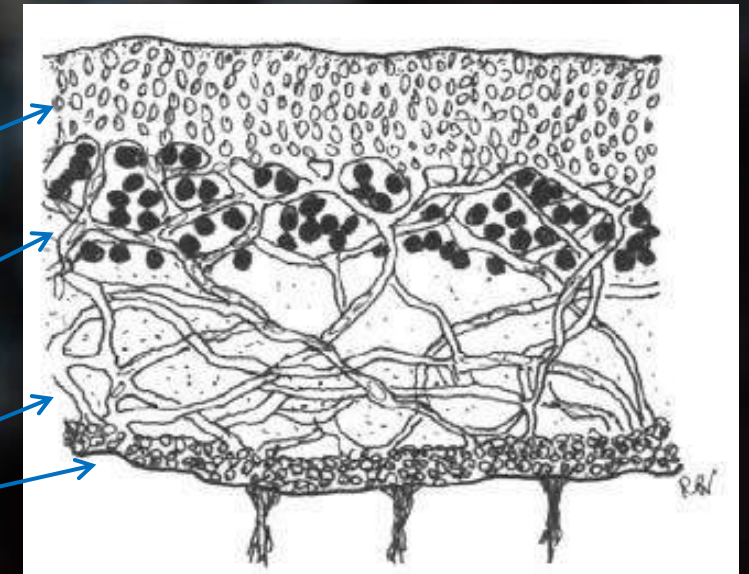
- In cui le alghe sono distribuite più o meno uniformemente
- Non è possibile distinguere una organizzazione a strati



Il tallo può essere di 2 tipi:

1. OMEOMERO
2. ETEROMERO

- si osserva un'organizzazione a strati:
- Strato corticale superiore o cortex superiore
  - Secondo strato composto dalle alghe
  - Strato medullare o medulla
  - Cortex inferiore





## Come distinguo i diversi licheni?

- **COLORE:** possono essere gialli, arancioni, verdi, bianchi ..





- **FORMA E MODALITÀ DI ADESIONE AL SUBSTRATO:** si distinguono in 3 gruppi



1. LICHENE CROSTOSO



2. LICHENE FOGLIOSO



3. LICHENE FRUTICOSO



# 1. I CROSTOSI

- fortemente aderenti al substrato
- privi di cortex inferiore
- e *assumono l'aspetto di croste*, diverse per forma, colore e dimensioni;
- irregolarmente circolari, hanno superficie continua, fessurata o composta da areole



## 2. I FOGLIOSI

- presentano **lobi piuttosto appiattiti**, a *struttura dorso-ventrale* e di *dimensioni variabili*;
- sono generalmente **ancorati al substrato** per mezzo di rizine
- e sono, per lo più, facilmente asportabili.





### ***3. I FRUTICOSI***

- Aderiscono al substrato solo con la parte basale,
- hanno lobi tridimensionali a sezione circolare o appiattita

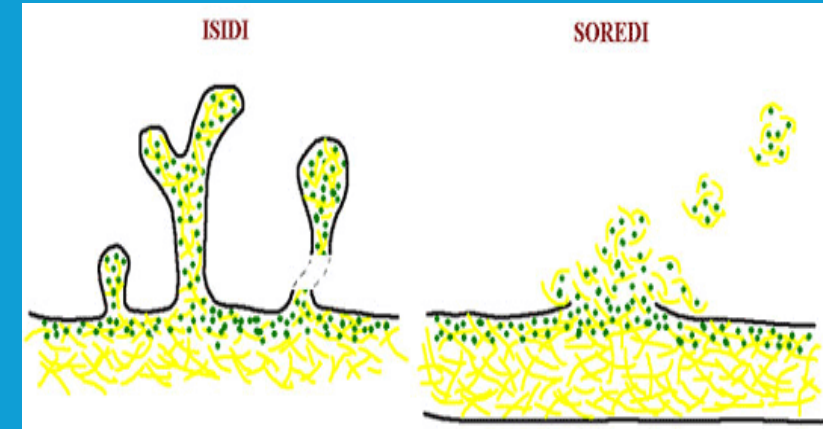




# • RIPRODUZIONE

Avviene per dispersione di frammenti di tallo con la formazione di:

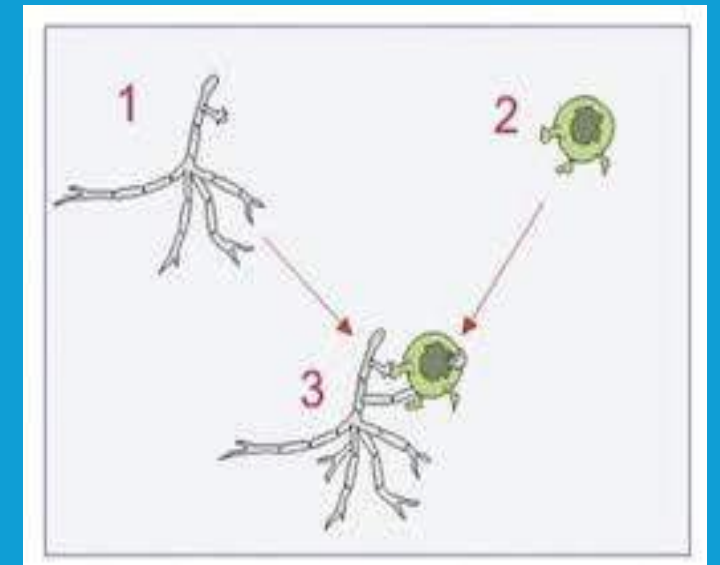
- Soredi: sono piccoli e di forma ondeggiante, costituiti da ife fungine che avvolgono una o più alghe, privi di rivestimento del cortex.
- Isidi: sono frammenti di tallo di maggiore dimensioni rispetto ai soredi, di forma diversa, costituiti da alghe protetti da uno strato di cortex



PER VIA  
VEGETATIVA

Si può generare un nuovo tallo quando una spora fungina, germinando, incontra cellule algali con cui entrare in simbiosi.

PER VIA SESSUALE



## CARATTERISTICHE DEI LICHENI:

- Hanno una **lunga vita**: possono essere addirittura plurisecolari
- Hanno una **crescita molo lenta**: in un anno il loro tallo aumenta tra 1 e 10 mm
- Possono **colonizzare** qualsiasi tipo di substrato naturale e artificiale
- Sono in grado di **vivere in luoghi** dove altri vegetali incontrerebbero numerose difficoltà
- Vengono utilizzati come **alimento** , **decorazione** ; nella preparazione di **coloranti** e **profumi**
- Servono per **datare** substrati di età ignota ( pH, grado di umidità, presenza di sostanze azotate)
- Permettono di individuare zone con **atmosfera inquinata**

# LICHENI COME BIOINDICATORI E BIOACCUMULATORI

*Come mai il lichene è un buon bioindicatore e un buon bioaccumulatore ?*

1. Facilmente riconoscibili
2. Presenti tutto l'anno
3. Sono sensibili agli agenti inquinanti
4. In grado di rilevare sostanze che per la loro bassa concentrazione sarebbe difficile rilevare in altri modi
5. Sono utilizzati come segnalatori della qualità dell'aria
6. Hanno un lento accrescimento e vita sopra la media



*Corteccia di un albero lungo il viale di una città. Presenti pochissimi e minuscoli licheni*



*Corteccia di un albero in campagna. Presenti vari licheni ben sviluppati*



# TRAPIANTO

i licheni vengono **coltivati** in zone non inquinate e poi trapiantati nelle zone d'interesse

**Scelta** della specie lichenica: appartenenti alla stessa specie

Il **prelievo** viene effettuato sul tronco a più di un metro d'altezza, con bisturi d'acciaio e il materiale viene inserito in buste di carte

Il materiale viene **ripulito** allo stereomicroscopio da terriccio, pezzi di scorza e viene **seccato all'aria**

**150 mg** di campione vengono sottoposti a trattamenti chimici e le soluzioni ottenute vengono analizzate attraverso le tecniche della **gascromatografia** e **spettrofotometria**, per determinare la concentrazione dei metalli

Successivamente le concentrazioni dei vari metalli pesanti sono elaborate attraverso programmi di cartografia computerizzata al fine di ottenere la visualizzazione di zone a diversa concentrazione del metallo considerato.

*MODALITA' D'USO:*

## VANTAGGI

- Non occorrono conoscenze lichenologiche approfondite
- Le determinazioni analitiche sono effettuate mediante spettrofotometria, o gascromatografia
- Metodo economico
- Il lavoro può essere svolto anche in condizioni di deserto lichenico

## SVANTAGGI

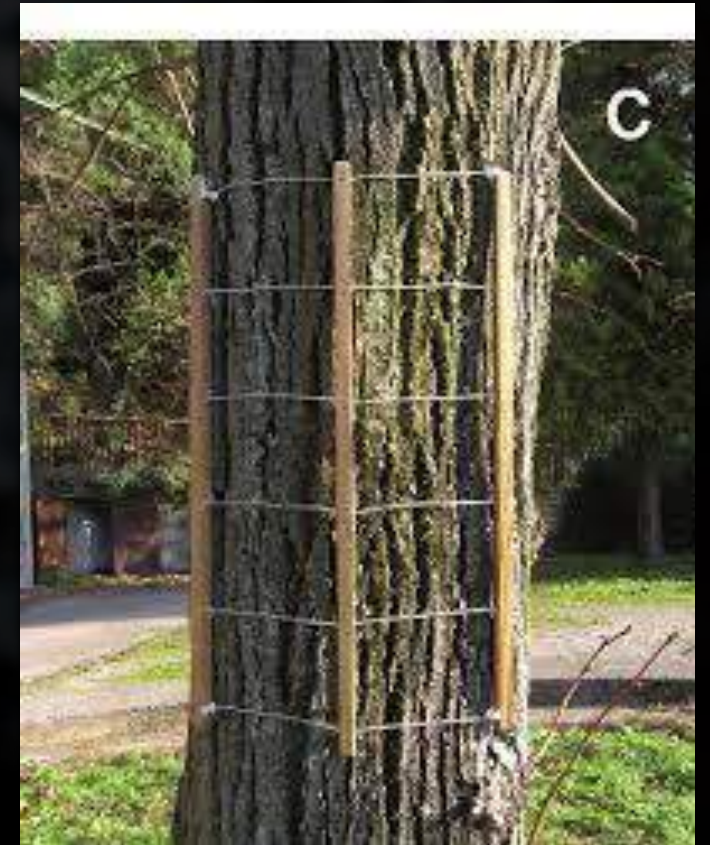
- I dati ricavati da indagini diverse, sono confrontabili solo se vengono utilizzate le stesse specie licheniche e le stesse procedure di campionamento
- È un metodo che richiede molta cautela, in quanto le alterazioni possono essere provocate non solo dall'inquinamento, ma anche dalle condizioni climatiche diverse del luogo del trapianto



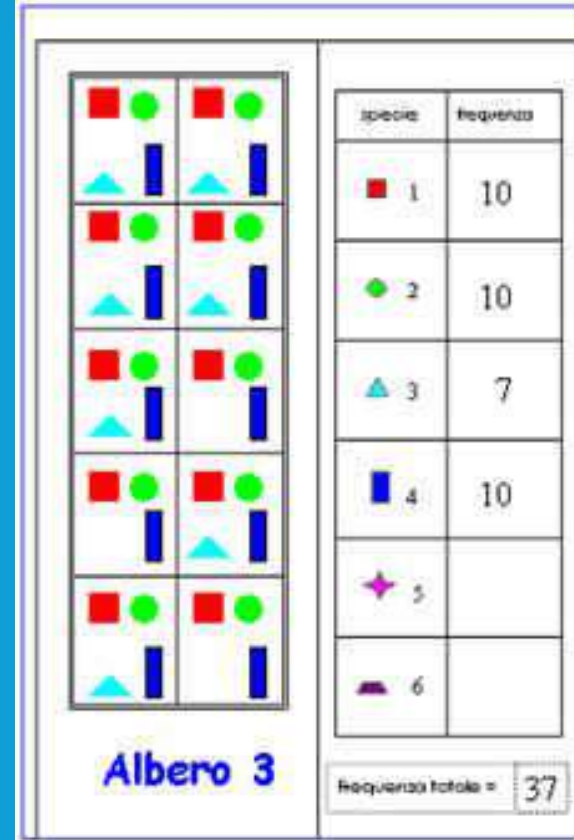
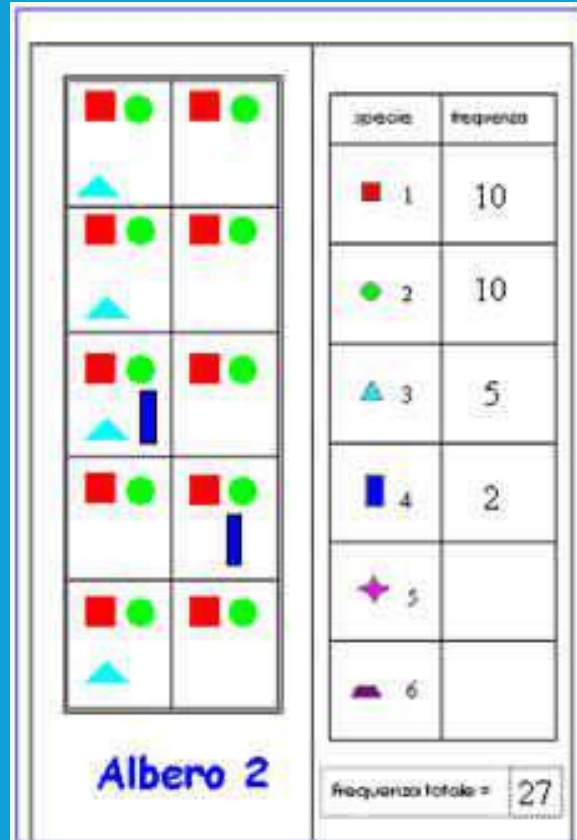
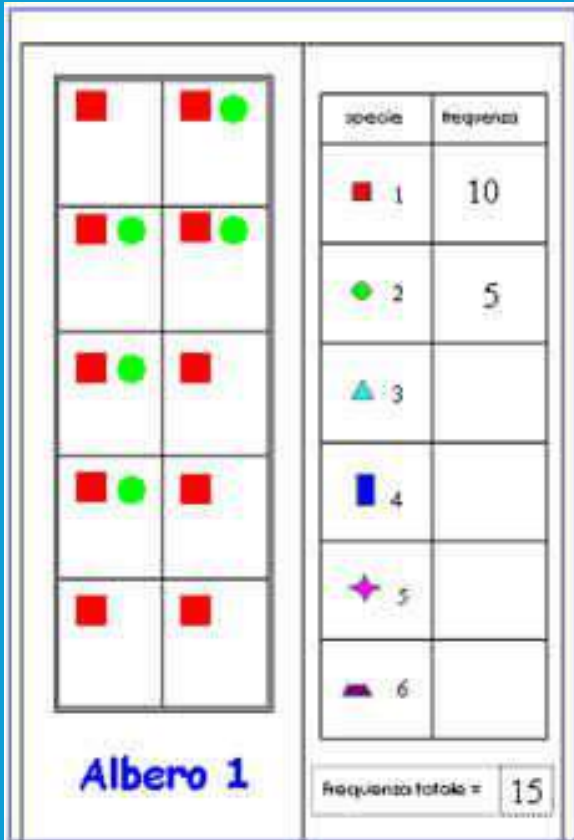
# I.A.P. (INDICI DI PUREZZA ATMOSFERICA)

La valutazione quantitativa della qualità dell'aria si ottiene sulla base di un Indice di Purezza Atmosferica (I.A.P.), calcolato sulla base della frequenza delle specie licheniche presenti nelle diverse stazioni dell'area di studio.

1. Per ogni stazione viene rilevato un gruppo di alberi continui e su ognuno viene posizionato un **reticolo** suddiviso in 10 rettangoli, posizionato sul tronco nella zona dove sono presenti più licheni, ad una altezza dai 120 cm in su.
2. Per ogni rettangolo vengono annotate le **specie licheniche presenti** e la loro **frequenza**
3. Vengono **calcolati i valori I.A.P.** risultanti dalla media aritmetica delle frequenze totali dei var licheni presenti nei reticoli
4. Valori dello I.A.P. inferiori a 10 sono tipici delle zone ai margine del deserto lichenico e sono indice di una scarsa qualità dell'aria. Quando l' I.A.P. raggiunge e supera il punteggio di 30, la qualità dell'aria comincia ad attestarsi su di un discreto livello.



Si prendono per esempio 3  
alberi campioni:



Sommando le frequenze di tutte le specie licheniche individuate si ottiene la frequenza totale dell'albero considerato (**valore di I.A.P dell'albero**), che in questo caso è:



1. I.A.P.= 15
2. I.A.P.= 27
3. I.A.P.= 37

L'indice di purezza atmosferica (I.A.P.) della 'stazione' è dato dalla media aritmetica delle frequenze totali degli alberi della stazione stessa:

$$I.A.P. = (15+27+37)/3 \approx 26$$



Per facilitare la lettura e l'interpretazione dei risultati ottenuti, i valori di I.A.P. delle singole stazioni possono essere fatti rientrare in classi di qualità, ciascuna delle quali corrispondente ad un intervallo di valori dell'indice e contraddistinta da un determinato colore.

<b>Classi di qualità</b>	<b>Giudizio di qualità dell'aria</b>	<b>Colore</b>		<b>Valori di I.P.A.</b>
<b>1</b>	<b>Molto scadente</b>	<b>Rosso</b>		<b>0 - 5</b>
<b>2</b>	<b>Scadente</b>	<b>Arancione</b>		<b>5 - 10</b>
<b>3</b>	<b>Bassa</b>	<b>Giallo</b>		<b>10 - 15</b>
<b>4</b>	<b>Mediocre</b>	<b>Verde scuro</b>		<b>15 - 20</b>
<b>5</b>	<b>Media</b>	<b>Verde chiaro</b>		<b>20 - 25</b>
<b>6</b>	<b>Discreta</b>	<b>Azzurro</b>		<b>25 - 35</b>
<b>7</b>	<b>Buona</b>	<b>Blu</b>		<b>&gt; 35</b>

Con un indice di purezza con valori da:

- *0 a 15*: valori della qualità dell'aria scadenti
- *15-25*: valori della qualità dell'aria media
- *25-35*: valori della qualità dell'aria discreta
- *35 in poi*: valori buoni

## VANTAGGI

- L'indice I.A.P. è molto oggettivo ed è ricavabile con un metodo abbastanza semplice
- Queste indagini hanno un costo contenuto
- E permettono di valutare contemporaneamente l'azione di più sostanze

## SVANTAGGI

- La scelta degli alberi può richiedere molto tempo, perché è meglio evitare alberi con scorza troppo acida o troppo basica
- L'identificazione dei licheni non è sempre agevole
- Il metodo non è applicabile se l'inquinamento è eccessivo, in quanto si determina la scomparsa totale dei licheni
- Fornisce valori relativi e non assoluti



# INDICI ECOLOGICI

Questa tecnica permette di valutare l'inquinamento atmosferico, rilevando la presenza di contaminanti che modificano il pH del substrato

A ogni specie licheniche si attribuiscono i quattro indici ecologici relativi a

1. pH

2. *Indici di luce*

3. *Indici di aridità*

4. Eutrofizzazione

Di seguito si illustra la procedura per caratterizzare ecologicamente due stazioni diverse tramite gli indici ecologici.

La tabella riporta le specie presenti nelle due stazioni, con quanta frequenza e, per ogni specie, i valori per ciascun indice ecologico

Specie	Stazione 1	Stazione 2	pH	Aridità	Luce	Eutrof.
A	5	0	3-4	3-4	4-5	3-4-5
B	5	0	3-4	3-4	4-5	3-4-5
C	2	0	3-4	3	4-5	4-5
D	2	0	3-4-5	3-4-5	4-5	2-3-4
E	1	0	2-3-4-5	3-4	3-4-5	4-5
F	0	4	1-2-3	2-3	3-4	1-2
G	0	4	1-2-3	2-3	3-4-5	1-2-3
H	0	3	1-2	2-3	3-4	1-2
I	0	3	1-2	2-3	3-4	1-2



Si procede calcolando la **media ponderata dell'indice di pH** per la stazione 1:

La frequenza di ciascuna specie va moltiplicata per i valori corrispondenti di Ph .

Si sommano i valori di ogni classe, e poi si sommano i totali parziali così ottenuti.

Specie	1	2	3	4	5	Tot.
A			5x3	5x4		
B			5x3	5x4		
C			2x3	2x4		
D			2x3	2x4	2x5	
E		1x2	1x3	1x4	1x5	
TOT:		2	45	60	15	122

I totale va diviso per un numero pari alla somma di tutte le frequenze delle specie nella tabella che in questo caso è pari a 34.

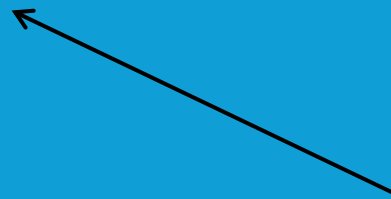


Il nostro indice ponderato di pH per la stazione 1 sarà quindi di :

- $122/34 = 3.6$

Ripetendo l'operazione per gli altri indici, e per entrambe le stazioni, si ottengono i seguenti dati:

	<b>pH</b>	<b>Aridità</b>	<b>Luce</b>	<b>Eutrof.</b>
Stazione 1	3.6	3.6	4.5	3.9
Stazione 2	1.8	2.5	3.7	1.7



Le maggiori differenze tra le due stazioni riguardano l'indice di pH del substrato e l'eutrofizzazione.

## VANTAGGI

- Metodo economico
- Tempi relativamente brevi
- Mappature di vaste aree

## SVANTAGGI

- Richiede competenze licheneologiche avanzate per una corretta identificazione delle specie



# BIOMONITORAGGIO DI METALLI PRESENTI NELL'ARIA TRAMITE I LICHENI

Maggio 1997, Friuli-Venezia Giulia



Come bioaccumulatore è stata impiegata *Xanthoria parietina*, un lichene con ampia distribuzione nell'area di studio.

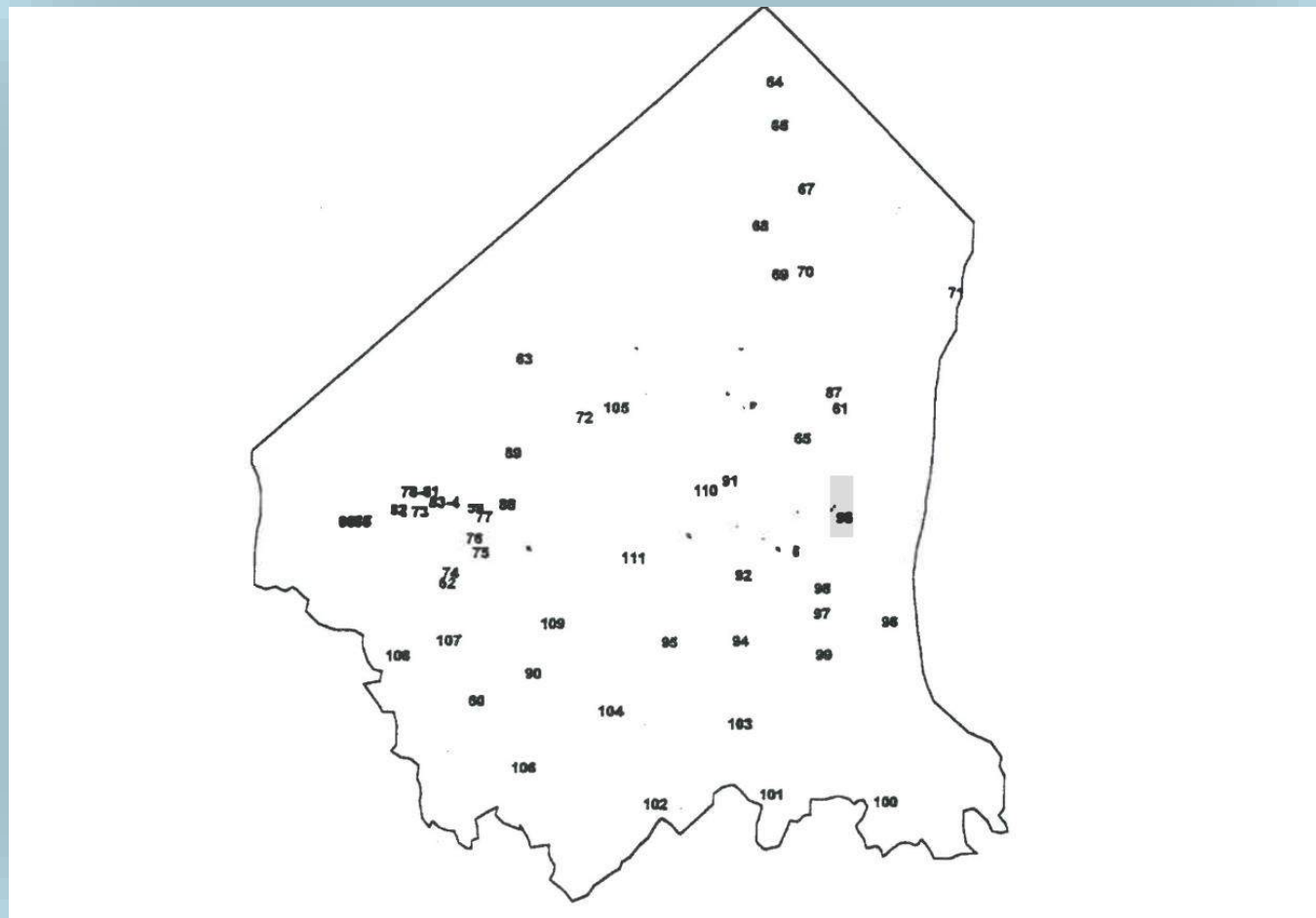
# CAMPIONAMENTO

Il campionamento è stato eseguito nel maggio del 1997, in un periodo di tre settimane, con 155 stazioni

Le stazioni sono state ripartite come segue:

- Provincia di Pordenone: 53 stazioni,
- Provincia di Udine: 58 stazioni,
- Provincia di Gorizia: 41 stazioni,
- Provincia di Trieste: 3 stazioni.

La maggior parte delle stazioni si trova presso discariche autorizzate, abusive o abbandonate, in punti segnalati dalla Regione come potenziali aree a rischio. Alcune però sono state localizzate in modo casuale, in modo da ottenere una distribuzione più omogenea sul territorio.



## ANALISI DEI MATERIALI:

In ogni stazione sono stati individuati almeno due alberi corrispondenti agli standard stabiliti che sono:

- a) **inclinazione del tronco** non superiore a  $10^\circ$
- b) **assenza di fenomeni evidenti di disturbo** (verniciature, presenza di chiodi, puntine, etc.);
- c) **assenza di forte copertura di muschi.**

- I campioni vengono prelevati al di sopra di 70 cm dal suolo per evitare contaminazioni da materiale terrigeno
- I licheni, staccati dal substrato con un temperino in acciaio inossidabile, sono stati inseriti in una busta di carta

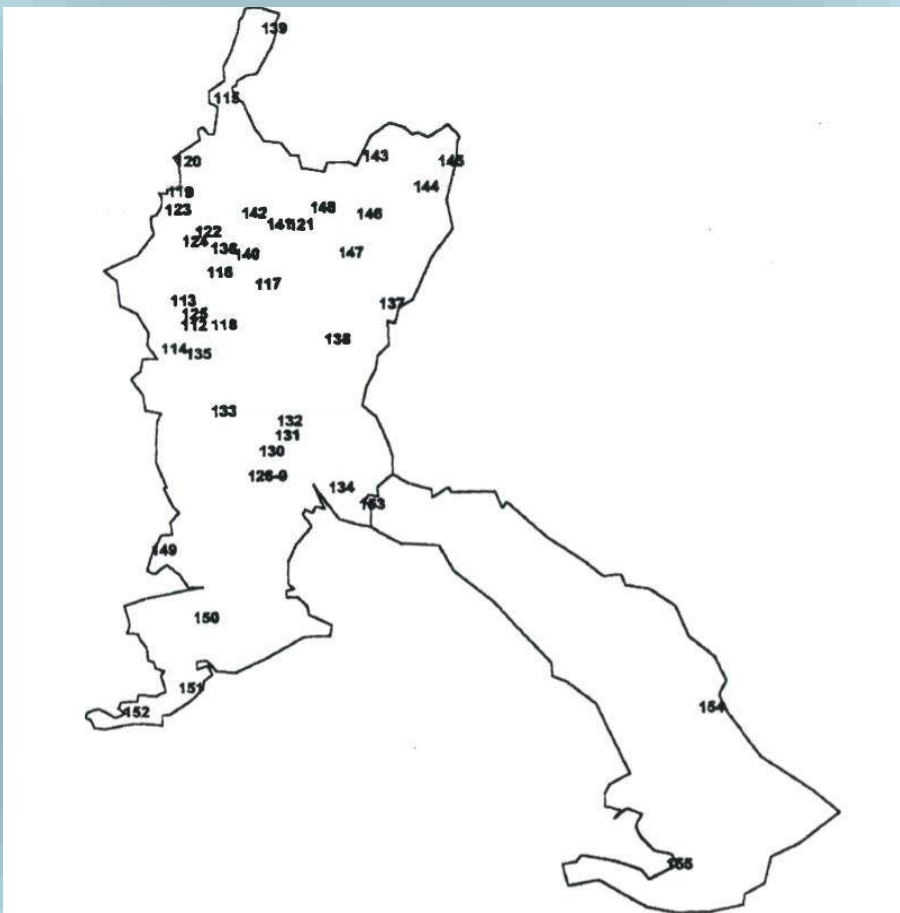


- Il materiale viene ripulito al microscopio binoculare per eliminare materiali estranei, e seccato a temperatura ambiente
- Prima del trattamento chimico, il materiale viene triturato ed omogeneizzato
- Circa 150 mg di materiale viene mineralizzati in contenitori di Teflon sotto pressione a 120°C per sei ore mediante  $HNO_3$  concentrato
- Dopo la digestione, il contenuto di ciascun contenitore è stato lasciato raffreddare e portato ad un volume di 10 ml con acqua distillata.
- Le concentrazioni degli elementi sono state determinate tramite spettrofotometria ad assorbimento atomico.

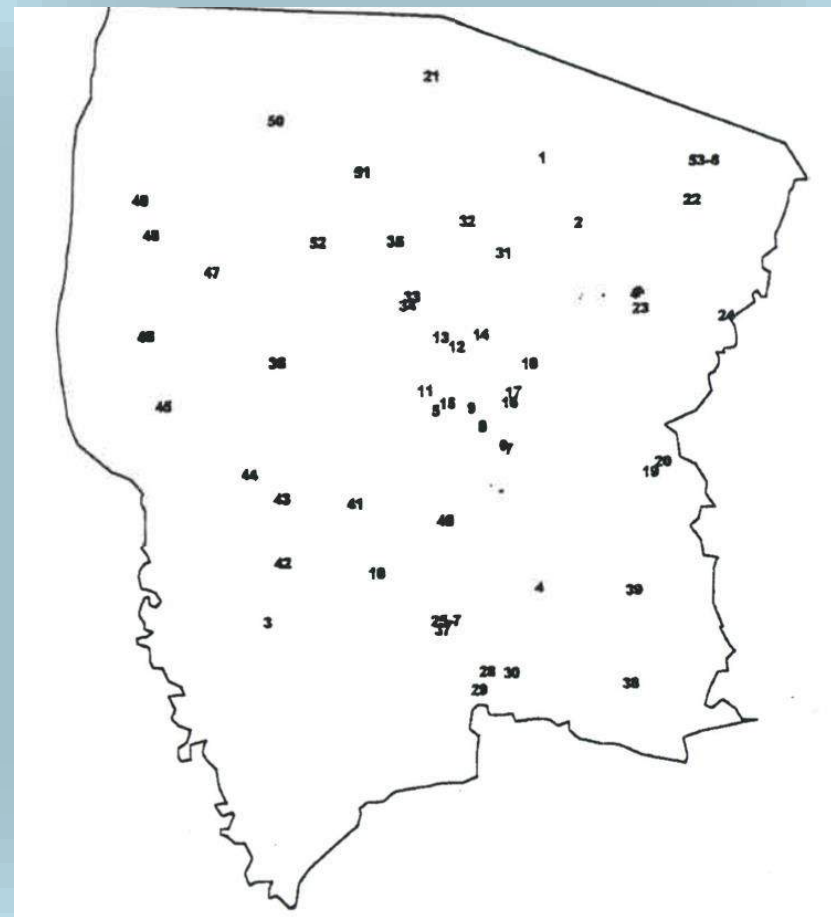
# Elaborazioni dei

## dati

Le elaborazioni sono state eseguite in modo tale da ridurre il margine di soggettività nell'interpretazione dei dati. La distribuzione delle concentrazioni di metalli sul territorio è stata riportata sotto forma di carte, ottenute con programmi di cartografia computerizzata.



Localizzazione delle stazioni di campionamento nelle Province di Gorizia e Trieste.



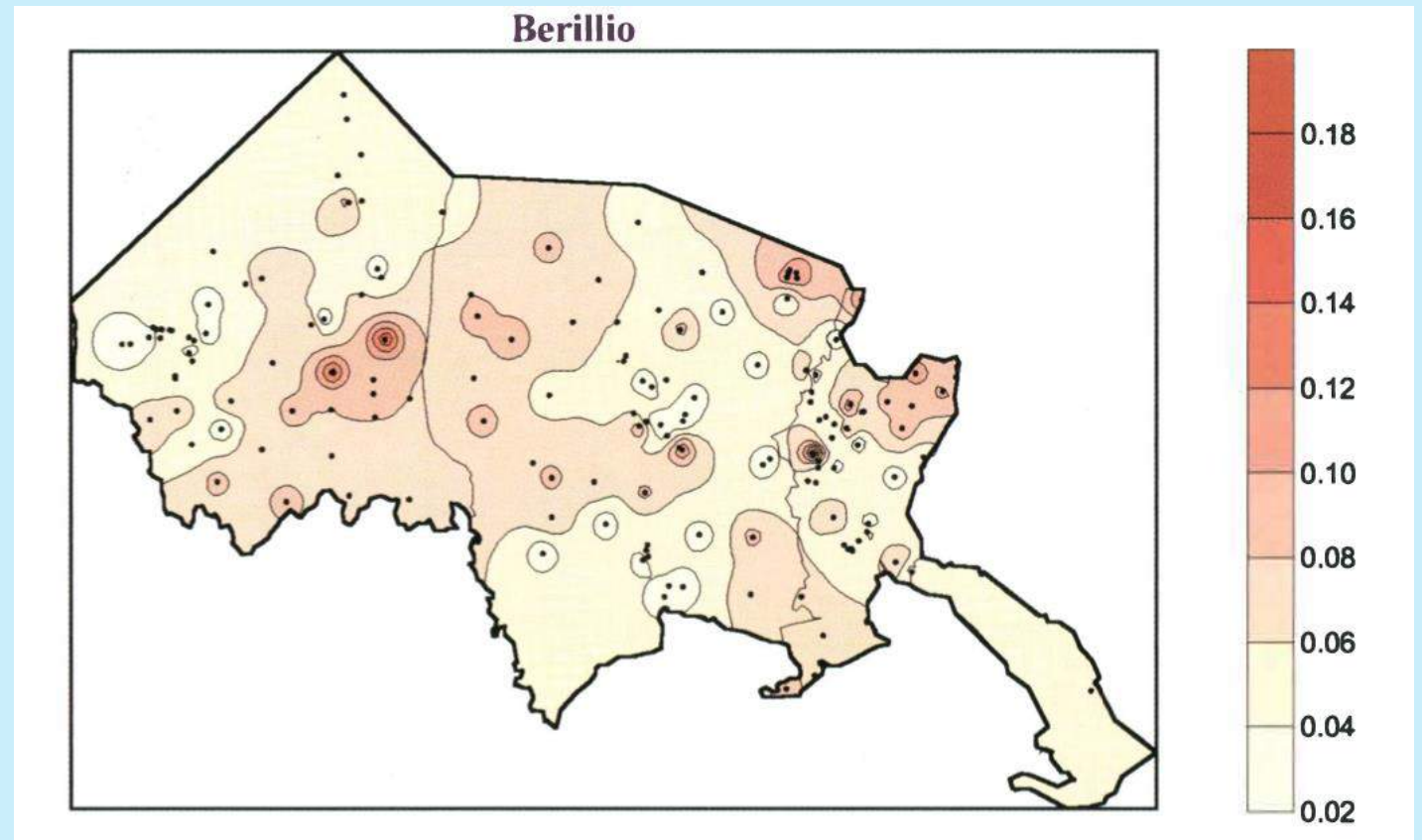
Localizzazione delle stazioni di campionamento nella Provincia di Udine

# BERILLIO

Studi sugli effetti del Berillio sulle **piante** sono piuttosto rari: in alcuni casi basse concentrazioni possono persino indurre effetti benefici sulla crescita.

Il Berillio ed i suoi sali sono tossici per **l'uomo**, con effetti sia acuti che cronici. A livello cronico, il Berillio puo' indurre alterazioni patologiche nel sistema immunitario, come disturbi nell'afflusso dei linfociti nei tessuti danneggiati, o una malattia nota come Berilliosi, dovuta all'inalazione di composti tossici del Berillio, che conduce a complicazioni cardiache. Esposizioni acute possono provocare infiammazioni del polmone. Il Berillio puo' anche provocare dermatiti ed ulcerazioni della pelle

L'area con alterazioni maggiori si limita ad una **piccola porzione della Provincia di Pordenone**, e le condizioni ambientali appaiono generalmente buone

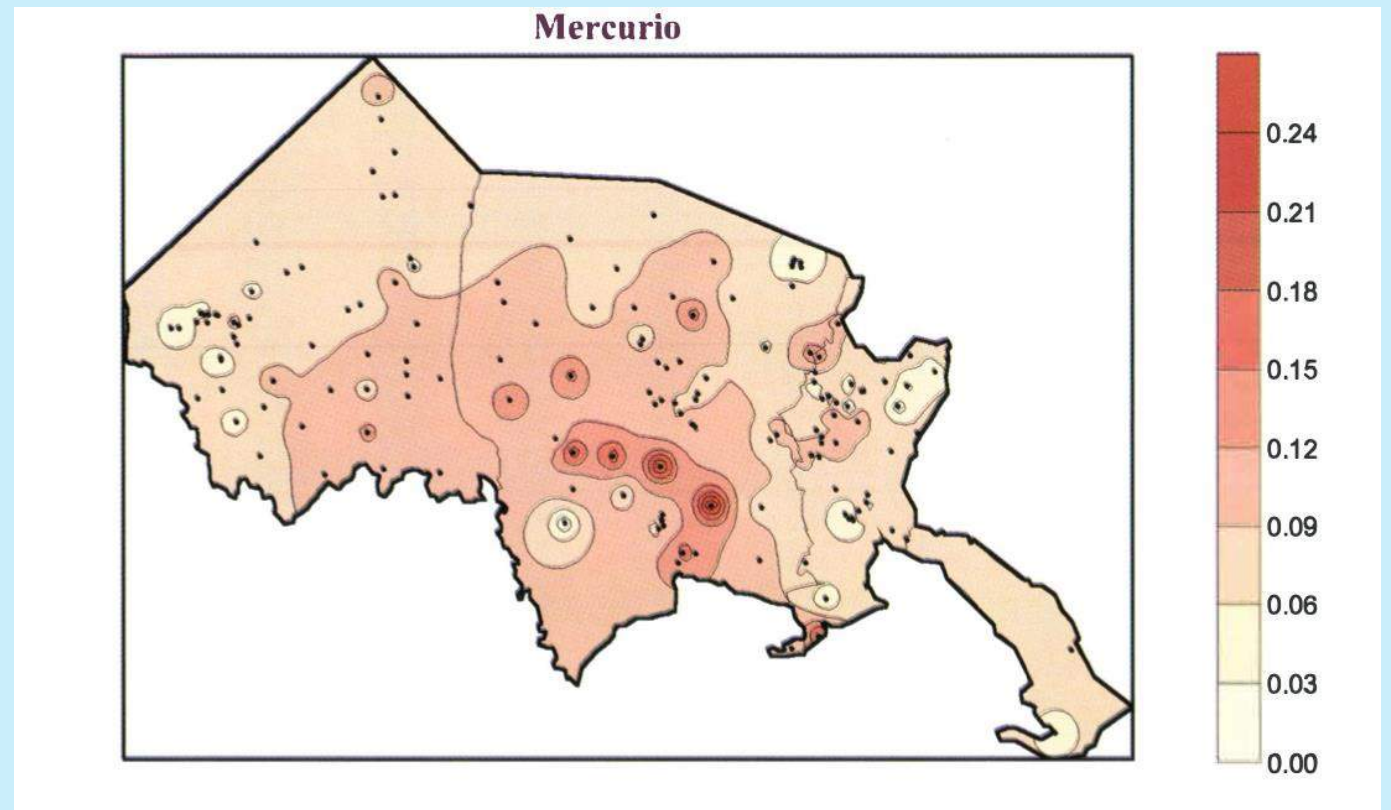




# MERCURIO

Il Mercurio e i suoi composti possono subire trasformazioni biologiche sia nell'ambiente che nell'organismo; i **composti organici** sono i più pericolosi perché permeano le membrane e si accumulano nel cervello, fegato e rene; il metil-mercurio si accumula nelle catene alimentari con effetti fortemente tossici. Nei **vegetali** esso causa disturbi mitotici, ma le piante ne assorbono solo piccole quantità.

I dati più consistenti nella **fascia meridionale della Provincia di Udine, lungo il corso dei fiumi Aussa e Corno**. Ciò indica un'estensione della contaminazione proveniente dalla terra che inquina il sistema lagunare. I massimi rientrano nella media italiana, ma l'elevato rapporto tra massimo e minimo locale suggerisce contaminazioni non trascurabili, specialmente nell'area dell'Aussa Corno.



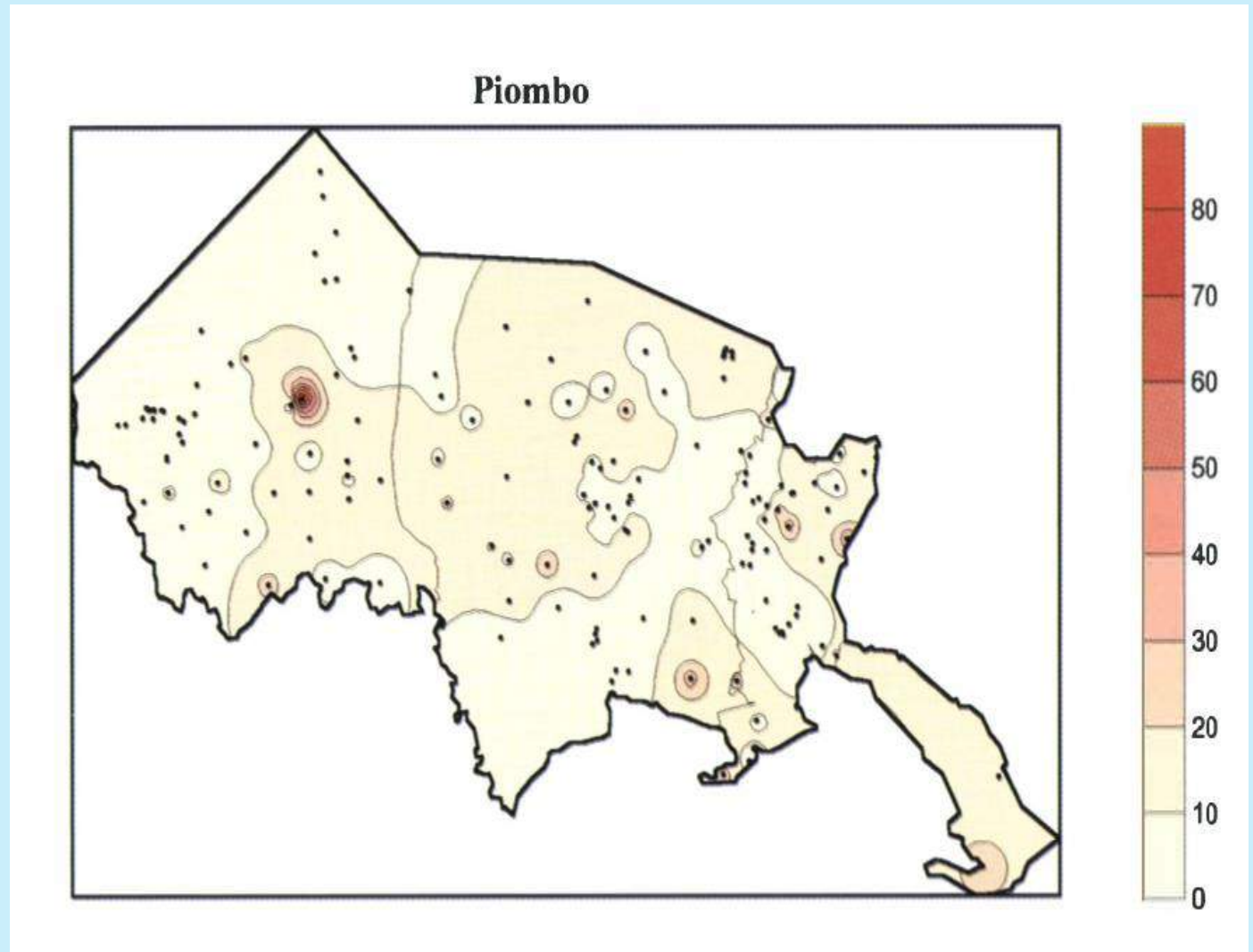
# PIOMBO

I danni maggiori che provoca il piombo, sono a carico dei **sistemi eritropoietico , nervoso, gastrointestinale e renale.**

Altri compartimenti di deposito sono il **sangue.**

L'eliminazione avviene prevalentemente per via urinaria (80%); altre vie di secrezione sono i capelli, le unghie ed il sudore.

Si sono registrati **valori piuttosto bassi rispetto ad altre parti d'Italia:** l'influsso delle emissioni veicolari nell'area di studio non appare significativo.

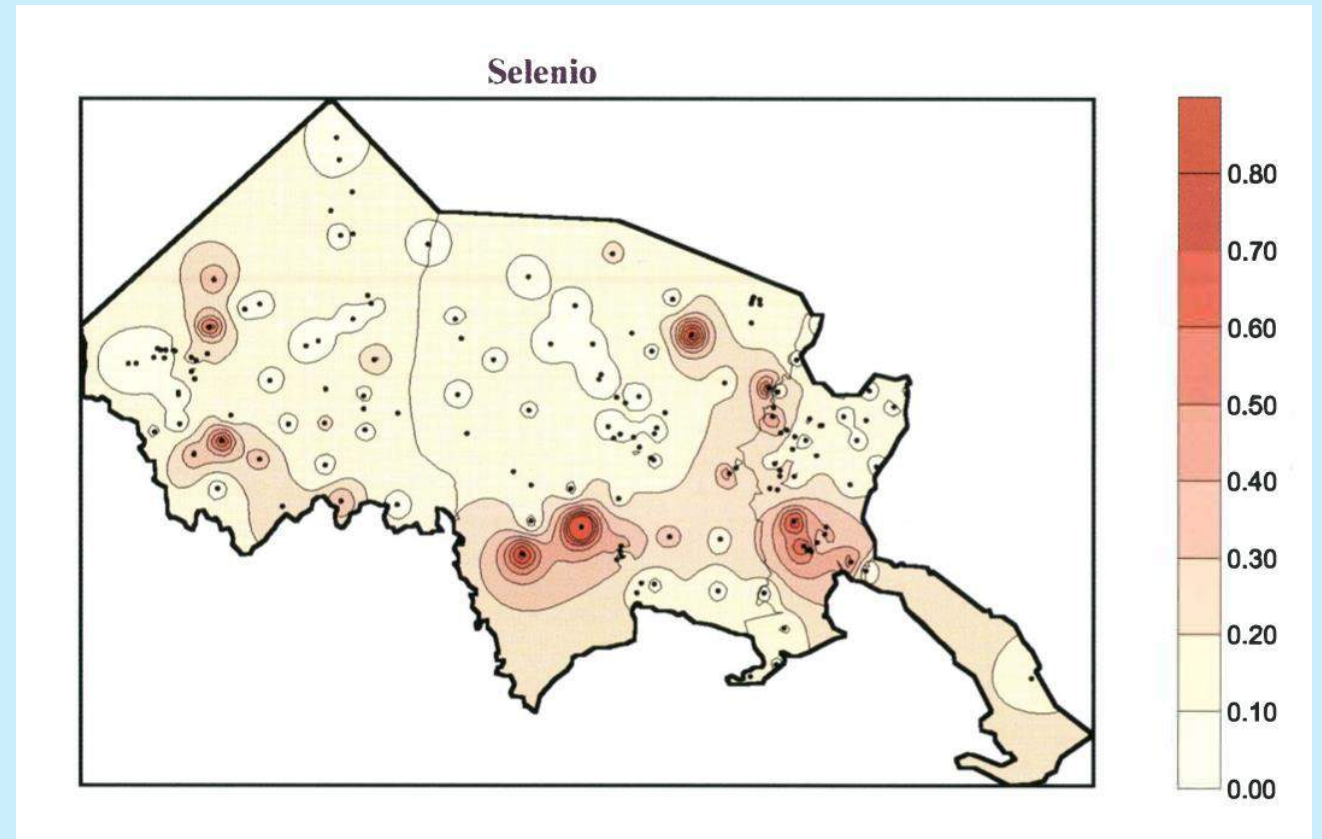


# SELENIO

Il Selenio, non necessario per le **piante**, viene però assorbito sia dalle radici che dalle foglie, e può avere un'azione fitotossica, influenzata da fattori come: specie di pianta (alcune piante lo accumulano senza subire danni), forma chimica (solita mente le piante lo assumono come selenato, selenito o composti organici), presenza di ioni competitivi come solfati e fosfati.

La tossicità per gli **animali** è inferiore, ma alte concentrazioni possono causare malattie.

I dati hanno rilevato **concentrazioni minori** nella parte settentrionale, **maggiori** in quella meridionale dell'area di studio. Nelle parti sudoccidentale e nordorientale della **Provincia di Udine** ed in quella centro-meridionale della **Provincia di Gorizia** si hanno chiari fenomeni diffusionali che necessitano controllo





# BIOMONITORAGGIO DEGLI INQUINATI PRESENTI IN ARIA

Umbria 2004-2014

**ARPA** : Agenzia regionale per la protezione dell'ambiente che si occupa della protezione e prevenzione dell'ambiente, ha monitorato, tramite i licheni, i cambiamenti dell'aria dell'Umbria dal 2004 al 2014.

Come metodo è stato utilizzato l' **I.B.L.** (Indice di Biodiversità Lichenica) ed è stata utilizzata la tabella di **Naturalità/Alterazione** proposta da GIORDANI (2004)

Sono state utilizzate **25 stazioni denominate Unità di Campionamento Primario (UCP)** nelle quali sono stati rilevati in totale 75 alberi (3 per ciascuna stazione). Cinque stazioni ricadono in provincia di Terni e venti in provincia di Perugia.



Valore	Classe di naturalità/alterazione	Colore
>186	Naturalità molto alta	Blue
156-186	Naturalità alta	Cyan
125-155	Naturalità media	Green
94-124	Naturalità bassa/ Alterazione bassa	Bright Green
63-93	Alterazione media	Yellow
32-62	Alterazione alta	Orange
0-31	Alterazione molto alta	Red

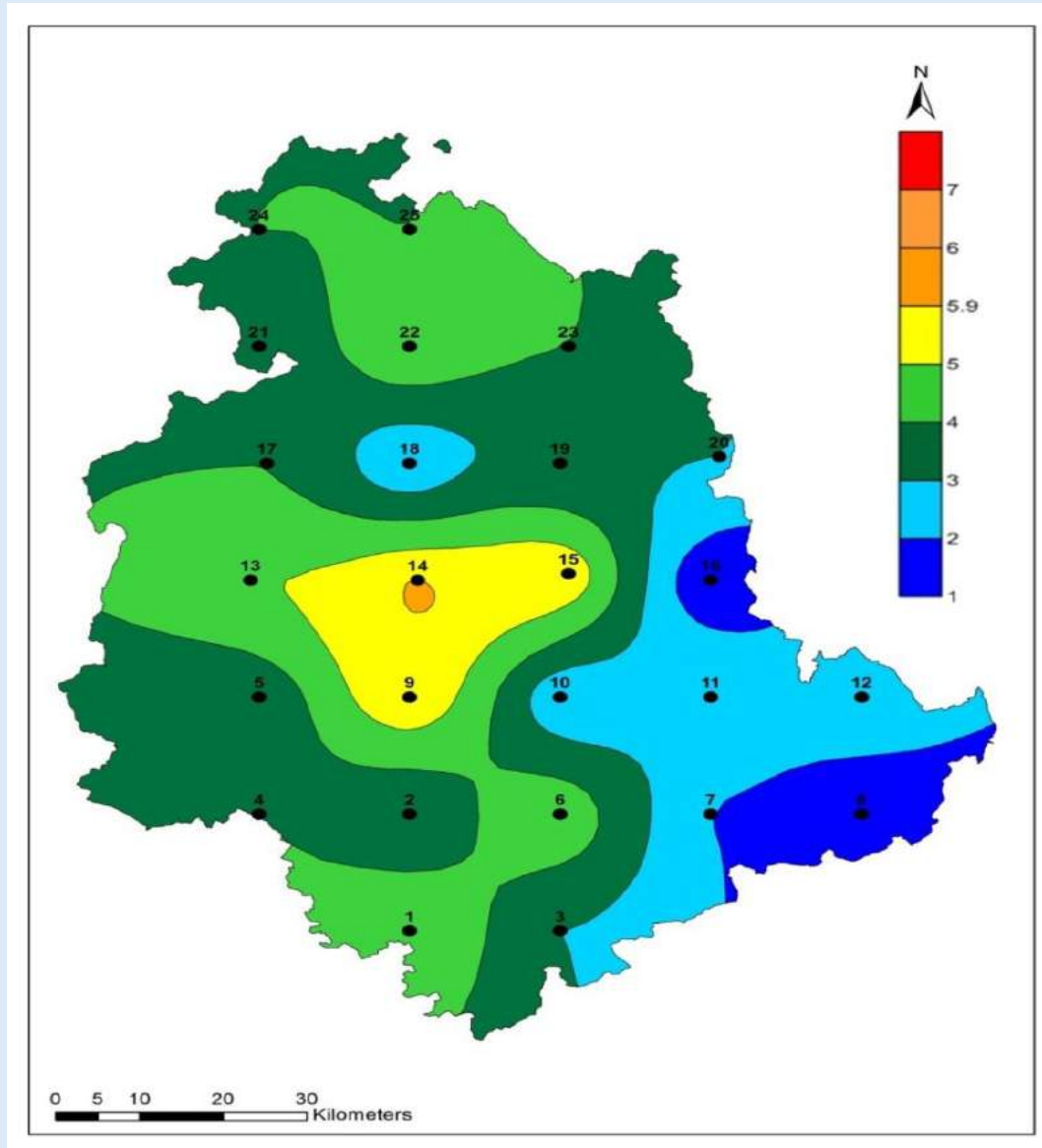
# RISULTATI CAMPAGNA DI MONITORAGGIO

2004-2009

Le stazioni che hanno subito un cambiamento di classe nel confronto tra la prima (2004) e la seconda campagna (2009) sono evidenziate in rosso qualora il cambiamento sia stato in classe peggiore, e in blu qualora sia stato in classe migliore.

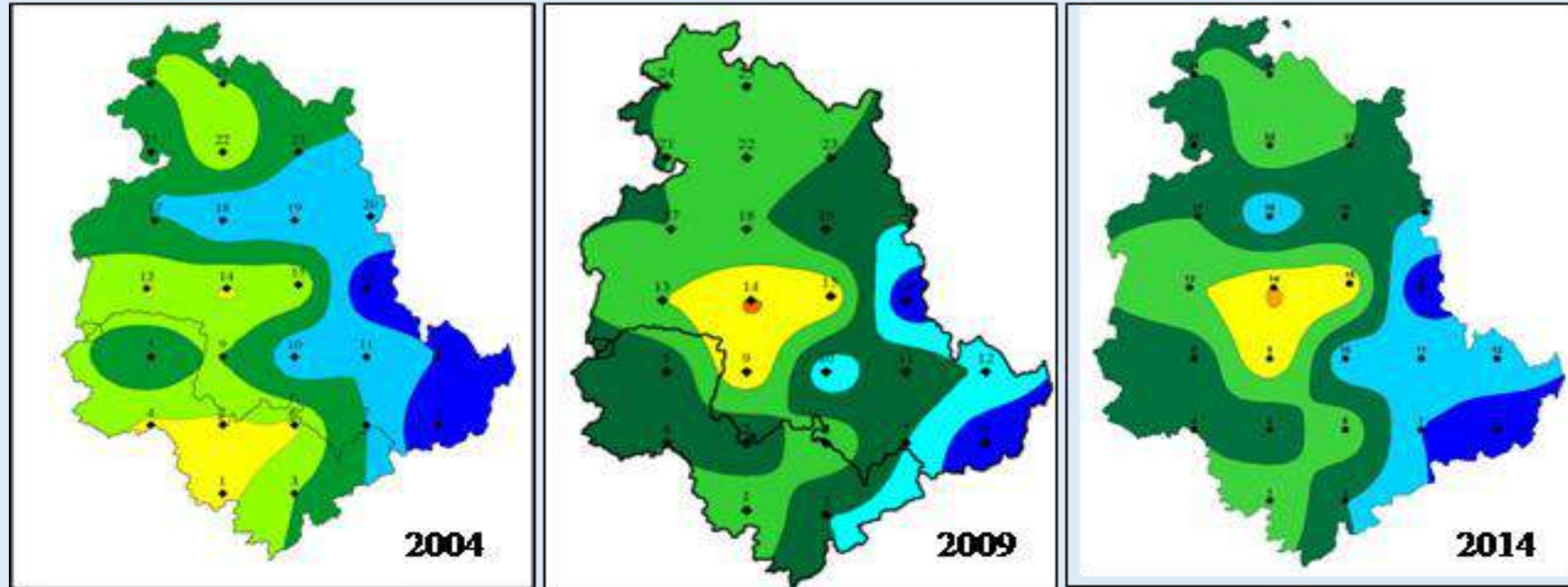
UCP		Valore	Classe di naturalità/alterazione	Colore
2004	2009			
8, 16	8, 16	>186	Naturalità molto alta	Blue
10, 12, 18, 19	10	156-186	Naturalità alta	Cyan
5, 7, 11, 17, 20, 21, 23	2, 3, 5, 7, 12, 19, 20	125-155	Naturalità media	Green
3, 9, 24, 25	4, 11, 17, 18, 21, 23, 24	94-124	Naturalità bassa / Alterazione bassa	Light Green
1, 2, 4, 6, 13, 14, 15, 22	1, 6, 13, 22, 25	63-93	Alterazione media	Yellow
	9, 14, 15	32-62	Alterazione alta	Orange
		0-31	Alterazione molto alta	Red

E' stata effettuata una terza campagna di monitoraggio nel triennio 2012-2014. I risultati della terza campagna di monitoraggio evidenziano valori positivi , confermando ulteriormente il trend di miglioramento già evidenziato nella campagna precedente del 2009; mentre per la provincia di Perugia, sono state rilevate delle variazioni lievemente negative.





## Variazioni di IBL nel decennio di monitoraggio (2004-2014)



- Nel 2014 si evidenzia **un ristabilirsi delle condizioni di naturalità alta nella zona sud-est della regione**
- Nel 2014 resta costante la **situazione di miglioramento nella zona sud ovest** già riscontrata nel 2009, non presente invece nel 2004
- La **sparizione nel settore nord-orientale dell'area con naturalità alta**, registrata già nel 2009, rimane costante anche nel 2014 , insieme ad un **miglioramento localizzato** nella zona a nord di Perugia
- Si conferma nel corso del decennio la **presenza di un'area con alterazione media/alta relativa alla zona centrale della regione**, nella valle del Tevere.

## CONCLUSIONI

l'ARPA Umbria ad oggi è l'unica Agenzia Regionale ad aver effettuato il controllo della rete di biomonitoraggio lichenico regionale in un arco temporale di dieci anni applicando l'Indice di Biodiversità Lichenica (IBL) per tre campagne di monitoraggio (2004-2009-2014). Tale periodo di tempo rappresenta un congruo intervallo per apprezzare variazioni in senso positivo e/o negativo dei licheni, qualora vengano sottoposti a stress da parte di inquinanti atmosferici.

# LE BRIOFITE



- Le Briofite sono un gruppo di piante di oltre 25.000 specie: 1200 in Italia.
- Si dividono in: **epatiche**, **muschi** e **anthocerote**.
- Le più semplici piante fotosintetizzanti che hanno conquistato la terra emersa (alcune forme sono rimaste acquatiche).
- Generalmente caratterizzate da tessuti vascolari non lignificati: l'assorbimento ed il trasporto dell'acqua e dei soluti necessari avviene generalmente per capillarità e interessa tutta la superficie della pianta.
- La mancanza di un sistema di conduzione impedisce lo sviluppo in altezza: le briofite sono piante di dimensioni piuttosto ridotte e con crescita generalmente orizzontale.



- *muschi*



- *anthocerote*



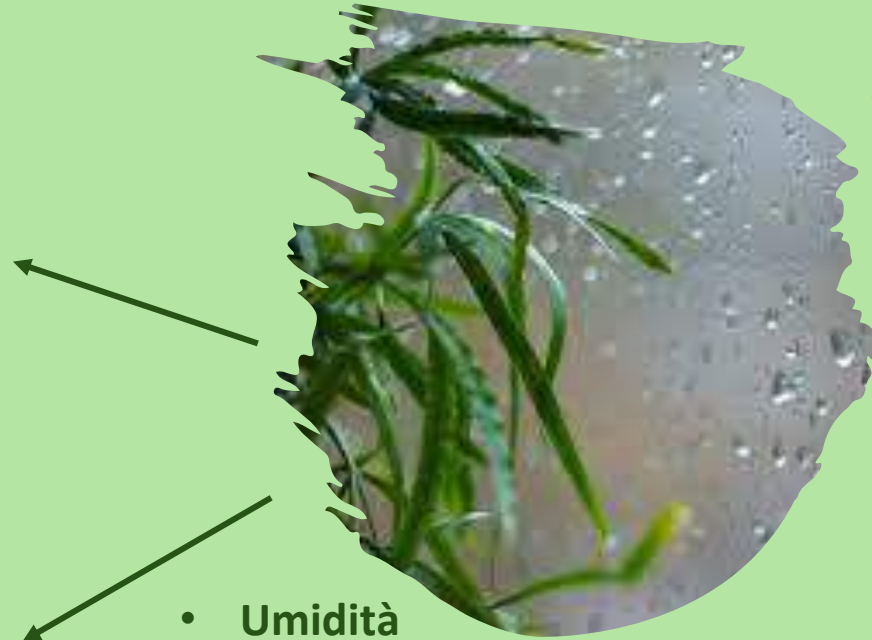
- *epatiche*

- La distribuzione di questi vegetali dipende da fattori ecologici come :

**L'umidità rappresenta uno dei fattori principali di sopravvivenza delle briofite, anche se la maggior parte di esse può resistere a periodi più o meno prolungati di siccità.**

**Allo stesso tempo, nei periodi di aridità i muschi, pur assumendo un aspetto disidratato, mantengono la loro vitalità.**

- illuminazione



- Umidità

- Interazione con gli altri esseri viventi



La vegetazione briofitica è condizionata anche dai caratteri fisici e chimici del substrato su cui vive:

La struttura fisica del substrato permette più o meno facilmente la circolazione dell'aria e la ritenzione di acqua

La ritenzione di acqua dipende dalla sua natura chimica: un suolo calcareo granuloso è in genere più secco e più caldo del suolo argilloso.

lo sviluppo della piantina è condizionato dal pH del substrato :



Gli **sfagni** prediligono ambienti acidi (pH 3-4)



Le specie del genere **Cratoneuron** si sviluppano in acque basiche e calcaree (pH 6,8-8).



# BRIOFITE NEL BIOMONITORAGGIO

Le briofite vengono considerate degli ottimi indicatori biologici in quanto, al variare dell'inquinamento dell'aria e dell'acqua, non solo cambia il loro aspetto esteriore, ma variano anche il numero e le specie presenti.

Numerose caratteristiche biologiche fanno di questi organismi degli ottimi bioindicatori:

- Hanno elevata capacità di assorbimento e di accumulo delle sostanze prelevate dall'acqua e dall'atmosfera. Questo permette un assorbimento di elementi nutritivi e contaminanti che si protrae per lungo tempo.
- In condizioni di stress ambientali le briofite rallentano inoltre le proprie attività metaboliche, per cui aumenta la loro resistenza agli inquinanti.
- Le basse temperature, permettono loro una attività continua anche nel periodo invernale, quando i livelli di inquinamento atmosferico sono più elevati.
- Persistenza delle parti vecchie o intossicate per accumulo delle sostanze tossiche.
- Il lento accrescimento e la grande longevità sono infatti la causa della resistenza, nei centri abitati, di numerose specie di muschi ed epatiche e ciò permette di attuare una stima dell'inquinamento su tempi lunghi.

# Definizioni e metodi

Le briofite, in base alle loro caratteristiche fisiologiche ed ecologiche, possono essere utilizzate per il biomonitoraggio secondo due principali strategie:

- Come bioaccumulatori, utilizzando la loro capacità di assorbire sostanze dall'atmosfera e analizzando le concentrazioni di queste nelle piantine.

**APPROCCIO  
DIRETTO**

C come bioindicatori, correlando la ricchezza floristica, l'aspetto esteriore e la copertura alla presenza o assenza di inquinanti.

**APPROCCIO  
INDIRETTO  
FLORISTICO**



# APPROCCIO DIRETTO

## *Come bioaccumulatori*

Negli ultimi anni questi organismi sono stati impiegati nel monitoraggio di metalli pesanti, di solfuri e fluoruri e di idrocarburi clorurati.

I metalli pesanti sono componenti intrinseci della crosta terrestre e quindi possono essere naturalmente presenti nell'aria, nell'acqua e nel suolo in quantità molto basse.

Tuttavia, il progressivo aumento delle attività umane che utilizzano i metalli, ha incrementato la concentrazione di questi elementi negli ecosistemi naturali, minacciando la vita degli organismi viventi.

- Può essere di due tipi: **PASSIVO** e **ATTIVO**



- **Utilizza organismi naturalmente presenti nell'ecosistema indagato**





- ***Metodo attivo***
- Mediante il trapianto, immette l'indicatore biologico negli ambienti in cui è assente.



## **METODO PASSIVO**

- **Questo tipo di studio è possibile solo se la specie in esame possiede un'alta tolleranza alle sostanze tossiche permettendo così di rilevare le punte massime di inquinamento.**
- **La piantina accumula le sostanze in maniera dipendente dalla concentrazione di queste nell'atmosfera o nell'acqua, e dal tempo di esposizione; quindi, a parità di concentrazione nell'ambiente, la contaminazione è più alta nel tallo più vecchio.**



## Procedimento:

1. Il tallo viene prelevato dal substrato, ripulito dai materiali estranei e analizzato.



2. Il campione viene essiccato in stufa per 24 ore a una temperatura di circa 80-100°C.



3. successivamente viene polverizzato mediante un mortaio di ceramica.

4. infine mineralizzato a caldo utilizzando acido nitrico al 65% e acido perclorico al 70%.



5. A questo punto è possibile determinare nei campioni le diverse concentrazioni di metalli pesanti per mezzo della spettrofotometria ad assorbimento atomico con sistema di atomizzazione a fornetto di grafite.



---

Una specie frequentemente utilizzata come bioindicatore di accumulo di metalli pesanti in ambiente terrestre, mediante biomonitoraggio passivo, è il muschio *Hypnum cupressiforme*.

Questa specie, oltre a essere facilmente reperibile sia in ambiente naturale che urbano, mostra una notevole capacità di resistenza agli agenti inquinanti, in particolare ai metalli pesanti.



In una ricerca condotta nella provincia di Macerata, nella fascia di territorio compresa fra le valli dei fiumi Chienti e Potenza, è stato effettuato un monitoraggio mediante *Hypnum cupressiforme* in dieci stazioni dislocate dalla zona interna collinare fino alla costa, allo scopo di valutare la concentrazione di cadmio, piombo, cromo e rame.

Stazioni		Cd	Pb	Cr	Cu
<b>Camerino</b>		0,11	15,64	3,99	15,10
<b>S. Gregorio</b>	0,08	7,55	1,07	7,32	
<b>Fiungo</b>		0,09	3,91	0,82	9,44
<b>Belforte</b>		0,08	1,24	1,10	9,26
<b>Tolentino</b>		0,07	1,08	1,18	9,65
<b>Abbazia di Fiastra</b>	0,07	2,09	0,81	8,52	
<b>Pieve di Macerata</b>	0,09	18,47	1,35	12,22	
<b>Civitanova Marche</b>	0,08	18,77	0,89	9,22	
<b>Gole S. Eustachio</b>	0,08	1,41	0,71	6,13	
<b>Castello Lanciano</b>	0,04	0,97	0,51	4,97	



# METODO ATTIVO

Questo tipo di monitoraggio si diversifica da quello passivo nelle prime fasi:

il muschio da trapiantare viene raccolto in zone possibilmente incontaminate.



viene lavato con acqua distillata e posto in appositi contenitori di forma cubica costruiti con una rete di plastica rigida.



Questi campioni vengono posizionati in acqua e fissati con delle corde sulla riva del fiume, lasciando sempre da parte, in laboratorio, un campione di muschio non contaminato come "testimone".

Dopo 4 settimane trascorse nel fiume, i campioni di muschio vengono prelevati e risciacquati con la stessa acqua del fiume in cui sono stati trapiantati, per liberarli da eventuali detriti depositati.



A questo punto le fasi metodologiche successive sono le stesse del biomonitoraggio passivo.



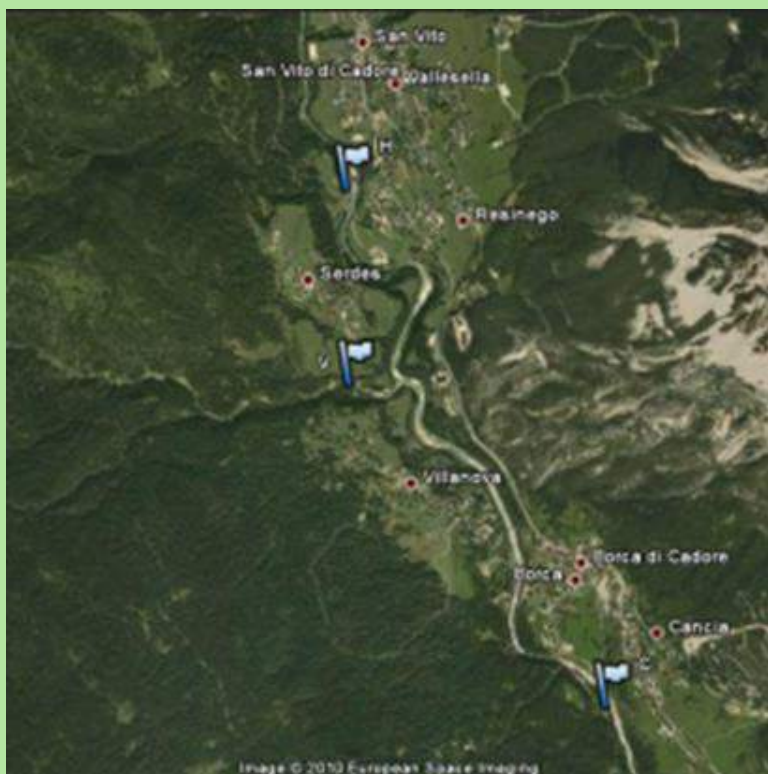
# CASO STUDIO:

- Lo studio qui presentato riporta i risultati di una di quelle esperienze pilota, che l'Università di Trieste ha condotto in provincia di Belluno con l'appoggio di ARPAV - Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione Ambientale del Veneto. Gli obiettivi del lavoro sono:
- Verificare l'affidabilità dei materiali e dei metodi di trapianto nei torrenti di montagna.
- Osservare la capacità di accumulo di una comune specie di muschio (**Platyhypnidium riparioides**) trapiantata in corsi d'acqua dove le condizioni chimiche, fisiche ed idrologiche ne limitano l'insediamento spontaneo.
- Rilevare e descrivere eventuali fenomeni di alterazione ambientale da elementi in traccia.

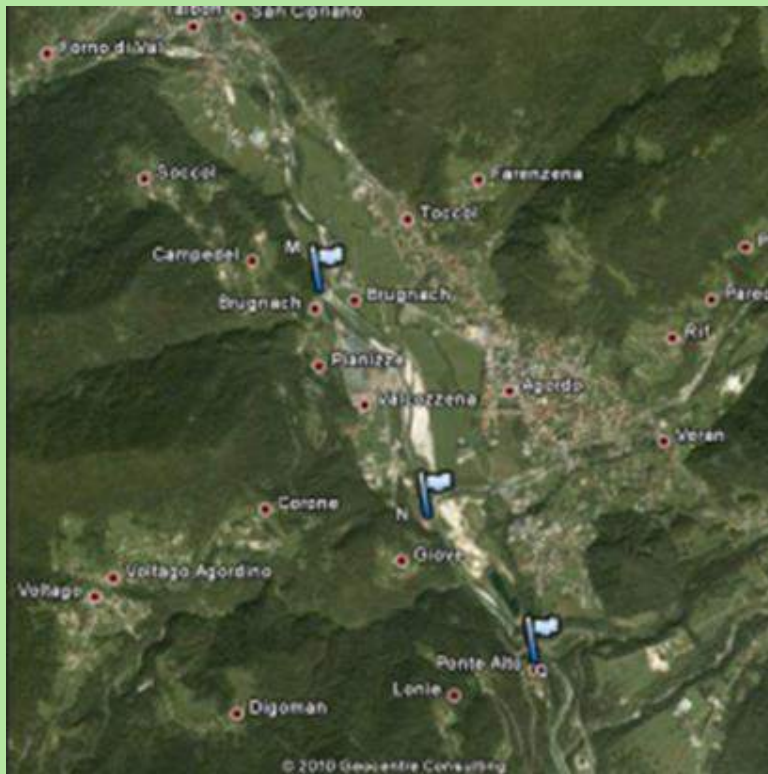




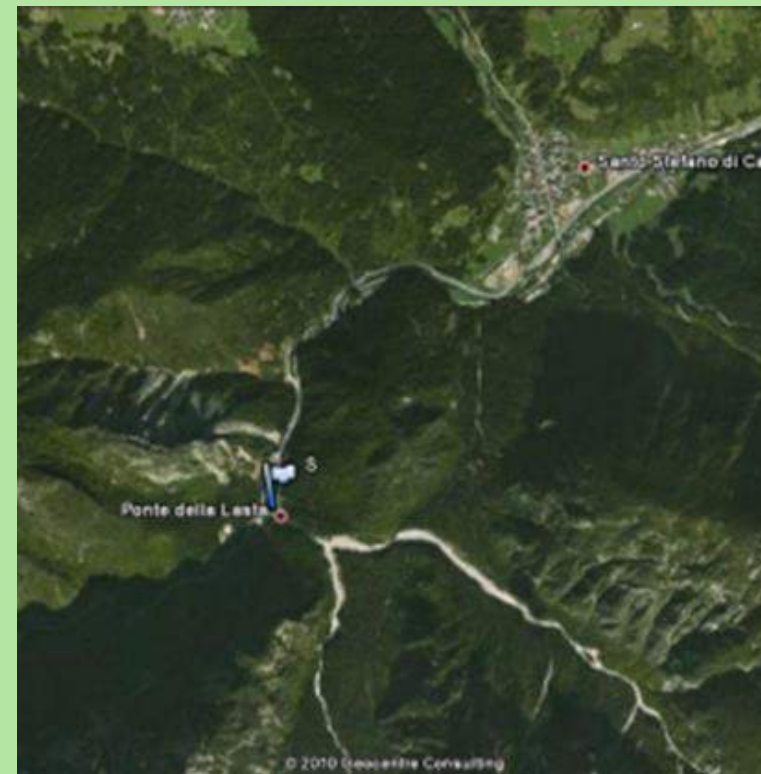
- La sperimentazione si è svolta fra i mesi di marzo e maggio 2003 in 15 stazioni di biomonitoraggio:
- **Cinque** di esse, collocate lungo **piccoli affluenti**, fungevano da punti di controllo e dovevano fornire le concentrazioni di metalli in siti non influenzati da attività antropiche (background).
- Le altre **dieci**, collocate lungo il corso d'acqua principale del **Boite**, del **Cordevole** e del **Piave**, registravano gli eventuali effetti di fonti di pressione antropica, sia domestiche che industriali.



*Stazioni moss bags lungo il Fiume Boite (H, C) ed il Torrente Orsolina (V).*



*. Stazioni moss bags lungo il Fiume Cordevole (M, N, Q) ed il Torrente Tegnas (T).*



*Stazione moss bags nel Fiume Piave a S. Stefano di Cadore.*





*Stazione moss bags nel Fiume Piave a Perarolo di Cadore.*



*Stazioni moss bags lungo il Fiume Piave (L, E) ed il Torrente Deseda (F).*



*Stazioni moss bags nel Fiume Piave (A), nel Rio Salere (R) e nel Torrente Gallina (G)*

# MATERIALI E METODI

- I muschi necessari alla sperimentazione sono stati prelevati dalle sorgenti del Gorgazzo in Comune di Polcenigo (PN) .
- Il materiale, una volta reso omogeneo, è stato suddiviso in 47 aliquote del peso di qualche grammo: 2 di queste sono state destinate all'analisi in pre-esposizione, le altre sono state collocate in appositi sacchetti di rete di nylon (dimensioni 30x30 cm, larghezza dei fori 7 mm) confezionando così i **moss bags**.
- Ciascuna stazione di biomonitoraggio era costituita da un palo di ferro infisso nell'alveo, opportunamente ricoperto con un tubo di plastica, e da un cordino la cui estremità liberamente flottante recava un galleggiante e 3 moss bags.
- Questi sono stati recuperati dopo 13, 26 e 59 giorni di esposizione, rispettivamente.



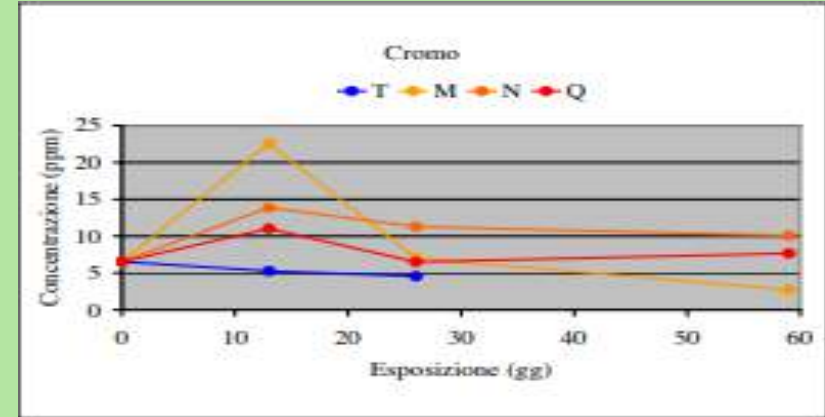


- Il materiale recuperato veniva accuratamente sciacquato sul posto, nell'acqua corrente, per asportare sedimento, alghe ed animali, e successivamente in laboratorio, con acqua bidistillata, per rimuovere eventuali metalli non fissati sulla parete cellulare.
- Dopo questo passaggio, si selezionavano gli apici più folti (1-3 cm) e li si riponeva in stufa termostata per l'essiccazione (3 giorni a 40 °C).
- Ciascun campione veniva quindi pesato (200 mg circa di apici secchi) e **mineralizzato** sottoponendolo a digestione acida mediante un forno a microonde.
- Le concentrazioni di 9 elementi in traccia sono state determinate mediante spettrofotometria in assorbimento atomico: Mn e Zn con fiamma aria/acetilene, Cd, Cr, Cu, Ni e Pb con fornetto di grafite, As e Hg con la tecnica degli idruri.
- La concentrazione di ciascun elemento è stata infine rapportata alla massa secca del campione di muschio e quindi espressa in  $\mu\text{g/g}$  (o ppm).

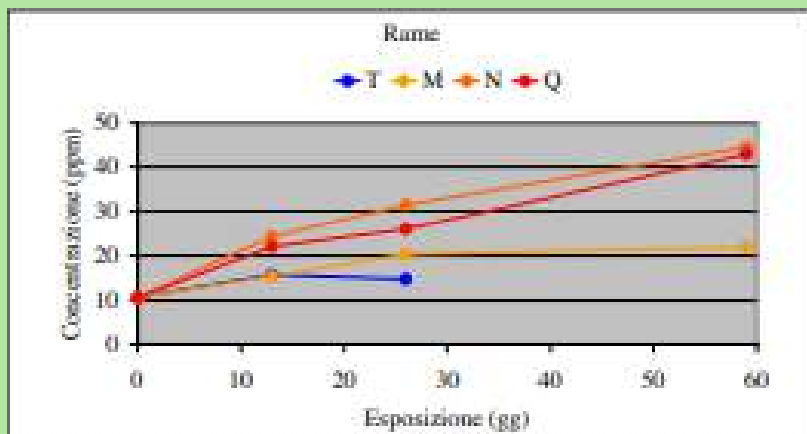


## CURVE DI ACCUMULO

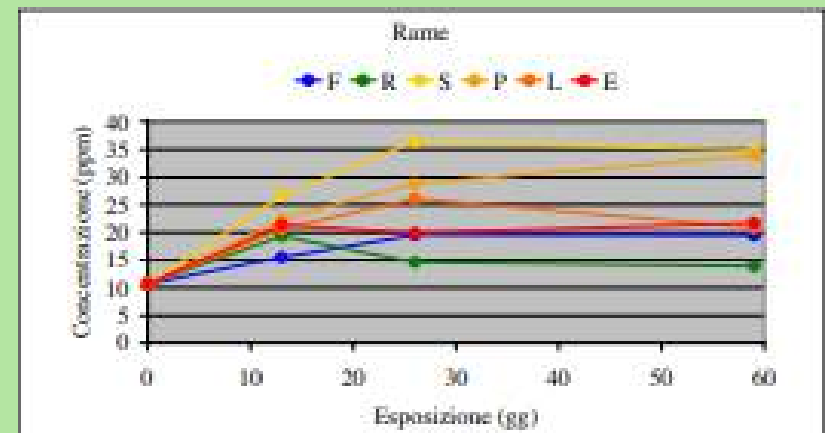
- L'andamento spaziale (da monte a valle) o temporale (da 13 a 59 giorni) delle concentrazioni è stato rappresentato mediante curve di accumulo.
- Valori inferiori a 2 indicano condizioni di naturalità per quel dato elemento colore **BLU**.
- Valori compresi fra 2 e 4 indicano condizioni incerte, sospette, colore **VERDE**.
- Fra 4 e 12 accertano invece una condizione di alterazione ambientale colore **GIALLO**.
- Fra 12 e 24 l'alterazione è forte colore **ARANCIONE**.
- Oltre 24 l'alterazione è estrema colore **ROSSO**.



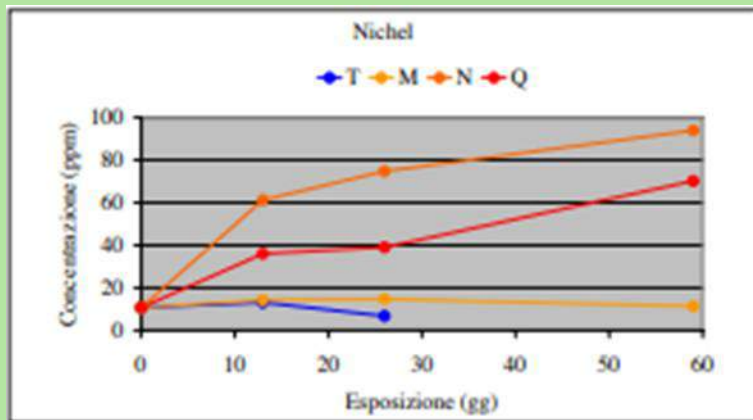
Curva di accumulo del Cromo lungo il Fiume Cordevole.



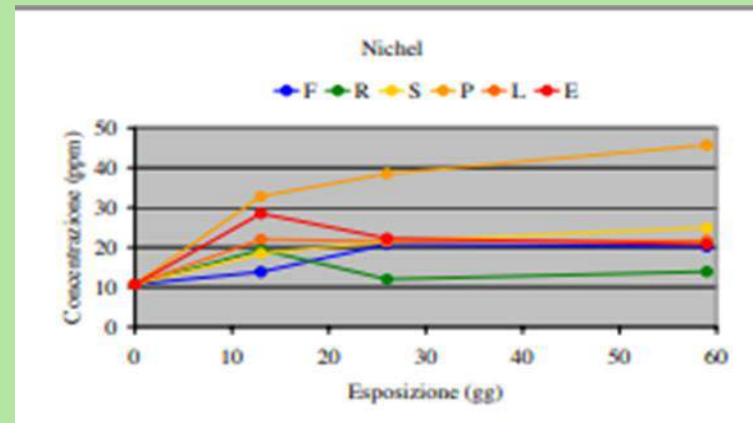
Curva di accumulo del Rame lungo il Fiume Cordevole.



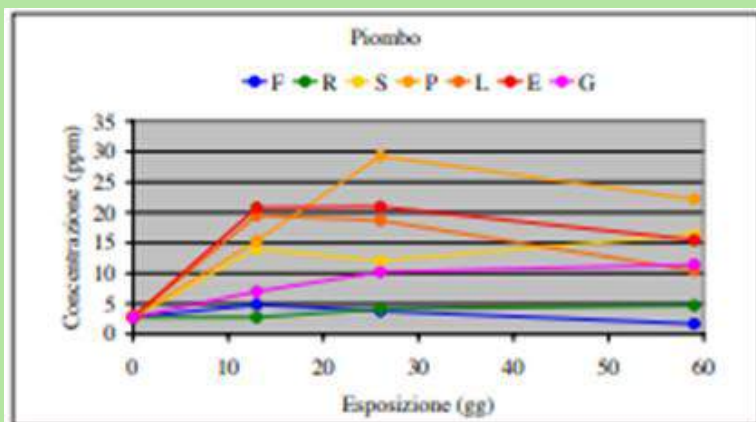
Curva di accumulo del Rame nella valle del Piave.



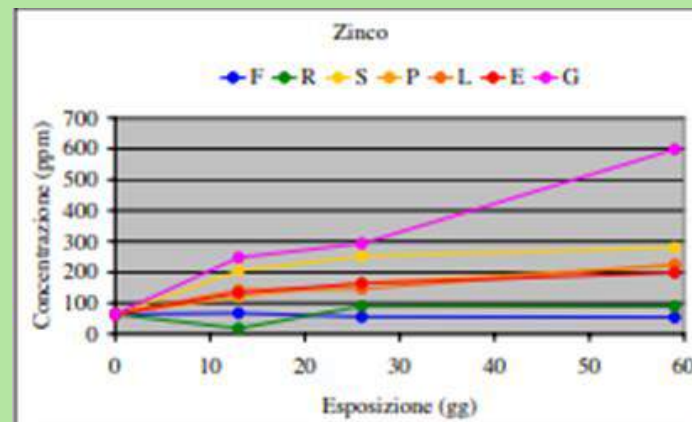
Curva di accumulo del Nichel lungo il Fiume Cordevole.



Curva di accumulo del Nichel nella valle del Piave.



Curva di accumulo del Piombo nella valle del Piave ed in Val Gallina.



Curva di accumulo dello Zinco nella valle del Piave ed in Val Gallina.

# APPROCCIO INDIRETTO FLORISTICO

## *Come Bioindicatori*

- Le briofite presentano tutte le caratteristiche di un buon indicatore e numerosi studi hanno permesso di identificare i più evidenti tipi di risposta a situazioni di inquinamento:

*Riduzione della fotosintesi e della respirazione per danneggiamento della clorofilla.*

L'anidride solforosa è il principale inquinante che interessa su larga scala le briofite. I processi più colpiti sono la fotosintesi e la respirazione.



# DANNI

- **Danni indiretti si verificano a causa dell'azione acidificante delle piogge e delle nebbie; la SO<sub>2</sub> infatti determina la riduzione della capacità tamponante e di conseguenza del pH del substrato; infine altera gli equilibri delle forme ioniche generate dall'anidride solforosa in soluzione acquosa, con danni alla clorofilla.**
- **I danni diretti riguardano l'azione diretta della SO<sub>2</sub> sui muschi, che causa una riduzione dell'attività fotosintetica, danneggiando la clorofilla.**
- **Anche i metalli pesanti, come il piombo, riducono fortemente la fotosintesi.**

## ***Riduzione della vitalità e fertilità della specie.***

- È causata prevalentemente dai metalli pesanti.
- Man mano che ci si avvicina alle sorgenti inquinanti, si assiste a un progressivo peggioramento delle condizioni di salute della specie, e in particolare a una diminuzione della sua fertilità, in funzione del tempo di esposizione e dell'avvicinamento alla fonte inquinante.

## ***Riduzione della copertura e del numero totale delle specie nel tempo e nello spazio.***

- L'inquinamento da metalli pesanti ha anche effetti nocivi sulla copertura della specie e sul numero totale delle specie.
- Studi floristici, effettuati a distanza di anni sullo stesso territorio, mostrano una riduzione netta del numero delle specie riscontrate.
- Anche nello spazio tale variazione si avverte in maniera sensibile: per esempio, passando dal centro cittadino alla periferia, si può notare un aumento del numero di specie, indipendentemente dal tipo di substrato considerato.



# L'Indice di Purezza Atmosferica (IAP)

- Quantificare l'informazione fornita dai bioindicatori sulla qualità dell'aria e dell'acqua. In particolare, nella valutazione del grado di inquinamento atmosferico.
- Metodica che è in grado di fornire una valutazione quantitativa del livello di inquinamento dell'aria.
- Proposto da De Sloover nel 1964 in uno studio da lui effettuato sulla città di Montreal (Canada).
- Tale metodo viene applicato utilizzando come bioindicatori sia i licheni che le briofite epifite.
- La formula originale messa a punto nel 1970:

$$IAP = \frac{1}{n} \frac{Q \times f}{10}$$

- $n$  : numero di specie epifite presenti in una stazione.
- $Q$ : fattore di resistenza di ciascuna specie all'inquinamento.
- $f$ : valore risultante dalla combinazione di frequenza, ricoprimento e abbondanza.
- La somma dei prodotti è divisa per dieci allo scopo di ottenere valori più facilmente comparabili.



## La scelta della specie arborea su cui effettuare il rilevamento è molto importante:

---

- Molte sono le specie arboree che sono colonizzate dalle briofite.
- Mancano: su alberi la cui corteccia si sfoglia in placche sottili come nel platano.
- Con ritidoma che si stacca in scaglie come nelle conifere.
- Con corteccia levigata e difficilmente alterabile a opera dell'acqua meteorica, per cui le spore non riescono a germinare, come nel caso della betulla.



• **platano**



• **betulla**



• **conifere**





- Normalmente, negli studi fino a oggi effettuati in varie località italiane ed estere, sono stati utilizzati il *tiglio* o il *frassino*, che si trovano nelle città per la realizzazione di viali alberati e giardini, e la *quercia*, presente prevalentemente nelle aree periferiche intorno ai centri abitati. Oltre alla loro ampia distribuzione, la scorza di questi alberi presenta una reazione subacida (pH 4,5-5) che favorisce l'attecchimento delle specie muscicole.



# Altre caratteristiche importanti nel condizionare l'insediamento delle briofite:



- **L'età:** influisce sullo spessore degli strati periferici del sughero, sulle condizioni di asperità e di fessurazione delle cortecce e di conseguenza sulla maggiore possibilità di trattenere l'acqua meteorica, il terriccio e i vari detriti che vanno a formare un deposito, sia pur modesto, di humus.
- Diversi fattori ambientali come la **luce**, **l'esposizione**, **l'umidità**, la **temperatura**.



# Stazioni di rilevamento

- Per ognuna di esse viene effettuata una quantità variabile di rilievi, su alberi diversi, in rapporto al loro numero e alla loro dislocazione sul territorio.
- Mediamente ciascuna stazione deve essere costituita da almeno 5 alberi. Si tratta di esemplari isolati, inevitabilmente più esposti all'inquinamento, posti in città, lungo strade e viali e, in periferia, al margine delle colture e dei pascoli.

**Gli alberi devono rispondere a determinate caratteristiche affinché i rilievi possano avere i requisiti di validità:**

- **Inclinazione del tronco non superiore ai 10° per eliminare variazioni microclimatiche dovute a zone di scolo preferenziale dell'acqua.**
- **Circonferenza superiore ai 70 cm, scartando quindi gli alberi giovani che possono presentare condizioni ecologiche diverse rispetto agli individui adulti.**
- **Assenza di fenomeni evidenti di disturbo come verniciatura, capitozzatura, o applicazione di anticrittogamici.**

## *Come avviene il rilevamento:*

---

- Applicando sul tronco, a una altezza compresa fra i 50 e i 200 cm, nella zona di massima densità briofitica, una griglia delle dimensioni di 30x100 cm, suddivisa in 10 rettangoli di 30 x 10 cm .
- Vengono quindi annotate le **specie** e la loro **frequenza** intesa come numero di rettangoli in cui ogni specie è presente (min 1, max 10).
- Calcolate la **frequenza**, il **ricoprimento** e l'**abbondanza** di tutte le specie presenti entro la griglia, rapportandole a delle tabelle standard; a questo punto si calcola la **frequenza totale f** del rilievo.
- L'indice IAP relativo a una stazione è dato dalla **media delle frequenze totali degli n rilievi** nella medesima stazione. Valori elevati indicano una migliore qualità dell'aria, mentre valori bassi segnalano situazioni di degrado.
- Tale metodo permette di predire i tassi di inquinamento con una certezza pari al 98% rispetto ai dati ottenuti mediante l'uso di centraline automatiche di rilevamento.
- **L'alta predittività, facilità di esecuzione, l'alta riproducibilità dei dati e, l'alto contenimento dei costi di realizzazione .**



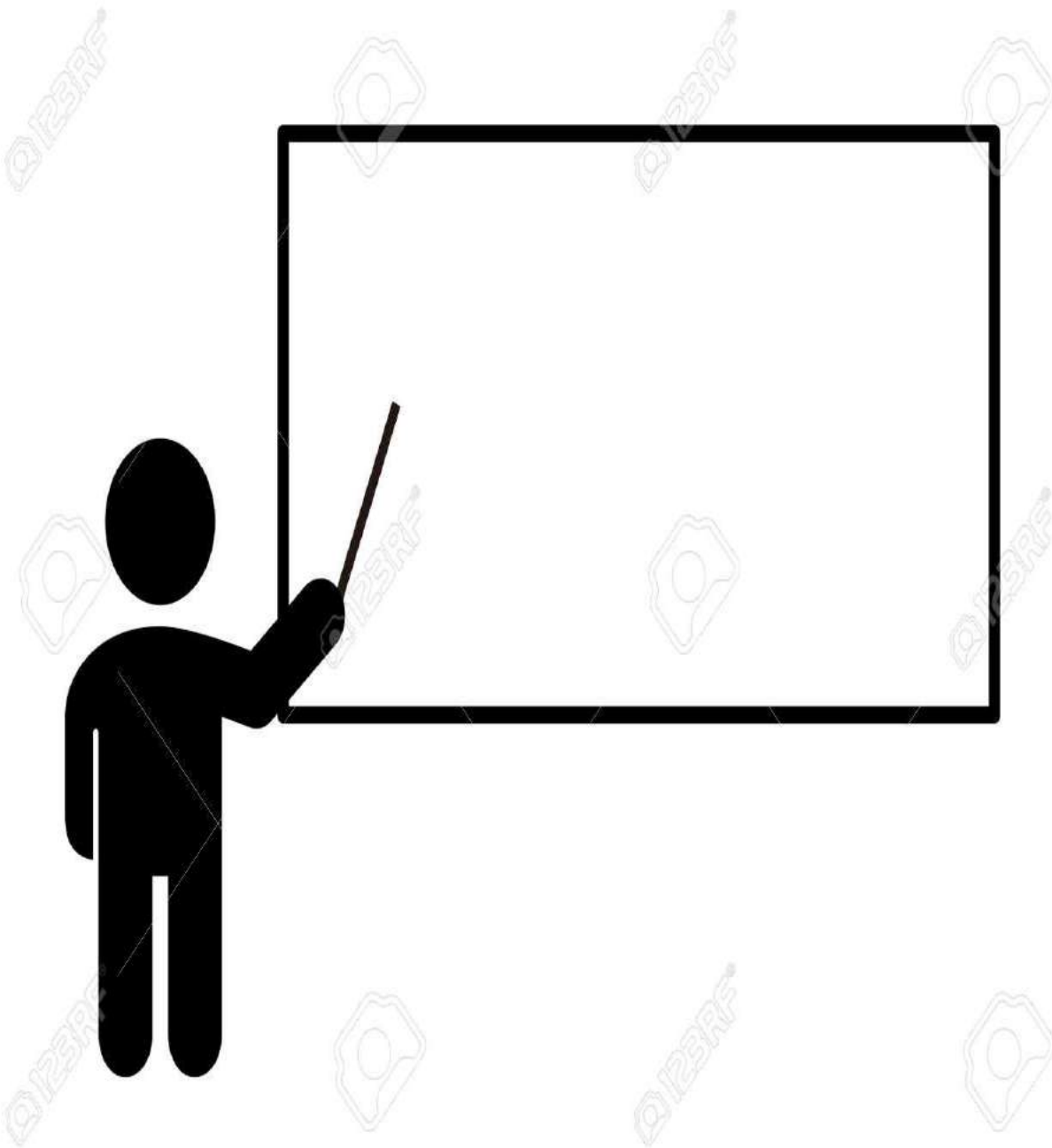
*Una griglia di misurazione dell'IAP applicata su un esemplare isolato di **Fraxinus sp.** in uno studio effettuato sulla città di Camerino (MC)*



# BIOMONITORAGGIO ANIMALE







## DEFINIZIONE:

- Il biomonitoraggio animale è una metodologia utilizzata per valutare lo stato di salute dell'ambiente attraverso l'analisi degli organismi viventi, principalmente animali, che fungono da indicatori della presenza e dell'entità dell'inquinamento.

### UTILIZZA ORGANISMI VIVENTI:

si basa sull'uso di animali come **sensori biologici** dell'ambiente circostante. Gli animali, grazie alla loro esposizione agli inquinanti presenti nell'ambiente, possono accumulare nel loro tessuto sostanze chimiche, **metalli pesanti o altre sostanze nocive**.

I loro tessuti, come **il tessuto adiposo o i muscoli**, possono essere analizzati per determinare la presenza e la concentrazione di inquinanti.



## PERCHÉ È IMPORTANTE IL BIOMONITORAGGIO ANIMALE:

- Possiamo valutare l'inquinamento ambientale
- Si può monitorare la salute dell'ecosistema
- Valutare l'efficacia delle politiche ambientali
- Identificare fonti di inquinamento
- Proteggere la salute pubblica

	BIONDICATORI	BIOACCUMULATORI
QUALI SONO? (esempi) Sono:	Rapaci, anfibi , insetti, pesci d'acqua dolce	Pesci predatori, molluschi, mammiferi marini, mammiferi terrestri
In cosa si differenzia il loro utilizzo?	Vengono utilizzati per <b>valutare lo stato di salute dell'ecosistema</b> , o di un ambiente specifico	Vengono analizzati i loro tessuti, per quantificare le sostanze inquinanti presenti nell'ambiente
In che modo gli animali forniscono informazioni?	Questi animali possono mostrare <b>segni di stress, malattia o alterazioni comportamentali</b> a causa dell'esposizione a sostanze inquinanti nell'ambiente.	Questi animali accumulano attivamente inquinanti nel loro organismo attraverso <b>l'alimentazione, l'assorbimento cutaneo o altre vie.</b>



## TECNICHE DI BIOMINITORAGGIO

**Biopsie:** Prelevare piccoli campioni di tessuto dall'animale per analizzare la presenza di sostanze chimiche o metalli pesanti.

**Analisi del sangue:** Valutare la presenza di inquinanti nel sangue dell'animale, che può fornire informazioni sul grado di esposizione e gli effetti sulla salute.

**Analisi delle feci:** Esaminare le feci per rilevare la presenza di contaminanti o metaboliti che possono indicare l'esposizione a sostanze inquinanti.

**Bioaccumulo:** Misurare la concentrazione di sostanze inquinanti nei tessuti degli animali che si accumulano nel corso del tempo attraverso la catena alimentare.

**Biomagnificazione:** Analizzare come le sostanze inquinanti aumentano in concentrazione man mano che si spostano attraverso i livelli trofici della catena alimentare

**Monitoraggio del comportamento:** Osservare le alterazioni nel comportamento degli animali che potrebbero essere causate dall'esposizione a sostanze inquinanti.

**Biomarcatori:** Identificare indicatori biologici o molecolari che possono essere usati per valutare l'esposizione agli inquinanti e i relativi effetti sulla salute degli animali



## Animali bioindicatori come ad esempio gli uccelli

- Perché sono bioindicatori gli uccelli?

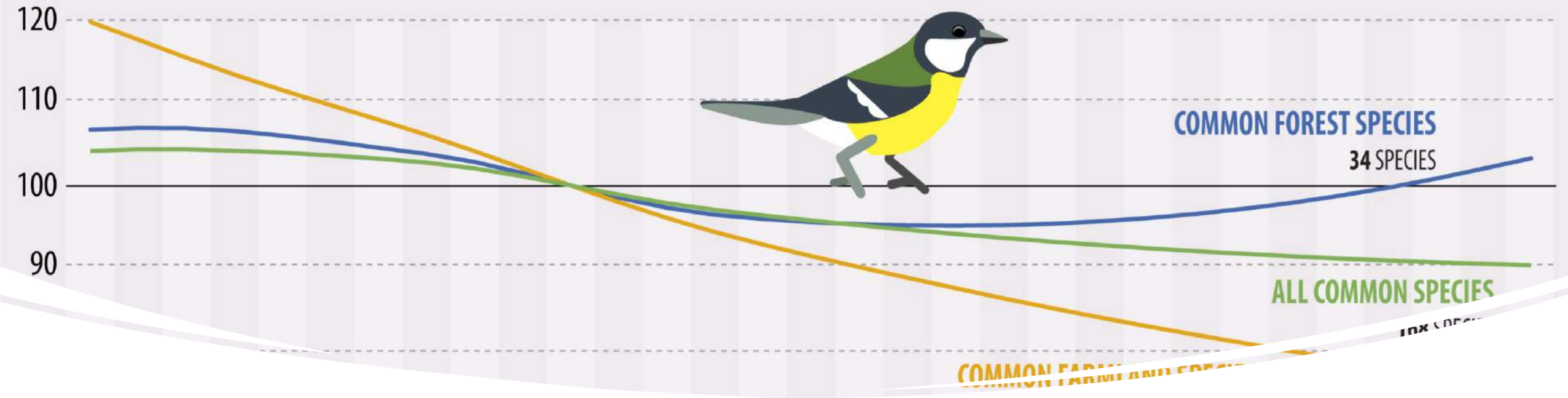
Risultano quindi essere non solo un oggetto di protezione, ma anche un valido strumento di misura dello stato di salute del territorio, con applicazioni pratiche che vanno dalla **pianificazione paesistica alla valutazione di impatto ambientale**

Perché risultano tra i migliori indicatori biologici?

- PER LA LORO MOBILITÀ
- PER IL RAGGIO CHE RIESCONO A COPRIRE

# EU common bird indices, 1990 – 2020

(index 2000 = 100)



- Dati statistici che fanno capire in 30 anni l'andamento delle diverse specie



# PERCHÉ USIAMO GLI UCCELLI COME INDICATORI BIOLOGICI?

- **RESIDUI DI PESTICIDI:** Gli uccelli possono accumulare residui di pesticidi nei loro tessuti attraverso **l'ingestione di prede contaminate** o di alimenti trattati con pesticidi. Questi residui possono essere analizzati per valutare l'esposizione degli uccelli e l'entità della contaminazione ambientale.
- **METALLI PESANTI:** Gli uccelli possono accumulare metalli pesanti come **piombo, mercurio, cadmio e arsenico** attraverso l'ingestione di acqua, suolo, cibo o prede contaminate. L'analisi dei tessuti degli uccelli può rilevare la presenza di metalli pesanti e fornire informazioni sull'inquinamento ambientale.
- **INQUINANTI ATMOSFERICI:** Gli uccelli possono essere esposti **agli inquinanti atmosferici come gli ossidi di azoto, l'anidride solforosa e i composti organici volatili** attraverso la respirazione e l'ingestione di particelle sospese nell'aria. L'analisi dei tessuti degli uccelli può fornire indicazioni sull'esposizione agli inquinanti atmosferici e sui potenziali effetti sulla salute.
- **INQUINANTI ORGANICI PERSISTENTI (POP):** Gli uccelli possono accumulare inquinanti organici persistenti come i **policlorobifenili (PCB)**, i **bifenili polibromurati (PBDE)** e i pesticidi organoclorurati attraverso l'ingestione di prede contaminate o di alimenti trattati con tali sostanze. L'analisi dei tessuti degli uccelli può essere utilizzata per valutare l'esposizione agli inquinanti organici persistenti e i potenziali effetti sulla salute.
- **BIOMARCATORI DI ESPOSIZIONE E EFFETTO:** Gli uccelli possono essere utilizzati come indicatori biologici per monitorare l'esposizione agli inquinanti e gli effetti sulla salute attraverso l'analisi dei biomarcatori come metaboliti, enzimi e proteine nel loro sangue, tessuti o feci.

Gli uccelli più usati come bioindicatori sono i **passeriformi**:

- ESSENDO UNA SPECIE MOLTO **COMUNE E NUMEROSA**
- ESSENDO UCCELLI **CANORI**, QUINDI FACILE RITROVAMENTO

A tal proposito è possibile attraverso questa specie avere una vasta gamma di informazioni sull'ambiente in cui vi si trovano



LE SPECIE DI UCCELLI VENGONO O SUDDIVISE IN DUE GRUPPI, IN BASE AL LORO STILE DI VITA SONO DENOMINATE SPECIE BERSAGLIO E SI DIVIDONO IN DUE TIPI:

SPECIE POCO SELETTIVE	SPECIE SELETTIVE
Danno informazioni approssimative sull'habitat disponibile	Danno informazioni più dettagliate sull'habitat compresa la qualità

## CATTURA DEGLI UCCELLI E INDAGINE STATISTICA

**METODO DELLA CATTURA E RICATTURA:** un metodo assoluto che richiede che vengano attuate due **sessioni di catture successive** in rapida sequenza, evitando che nel frattempo si possa verificare qualsiasi fenomeno di natalità, mortalità, immigrazione, emigrazione in misura tale da potere invalidare i risultati. l'estrapolazione viene effettuata catturando in un'area determinata un certo numero di animali che vengono poi marcati e quindi rilasciati in libertà. Dopo pochi giorni si cattura nuovamente e quindi si desume il numero totale di animali presenti nell'area studiata con una semplice proporzione.

**METODO DEL MAPPAGGIO:** metodo di tipo assoluto in quasi tratta di un nto si prefigge il **conteggio totale di tutti gli individui, appartenenti a una o più specie**, presenti su un'area definita con lo scopo di determinare densità assolute (numero di coppie per unità di superficie). Condizione indispensabile è la presenza stabile degli uccelli nell'area di studio. Utilizzato a partire dal 1964 dal British Trust for Ornithology nel Regno Unito per il monitoraggio dell'avifauna nidificante; il progetto, chiamato Common Bird Census (CBC)

**METODI RELATIVI (TRANSETTI E PUNTI DI ASCOLTO) :** Ciò consente di raccogliere informazioni sui cambiamenti nell'abbondanza osservabile **passando da un ambiente all'altro o da un periodo all'altro dell'anno.**





## ANIMALI BIOACCUMULATORI

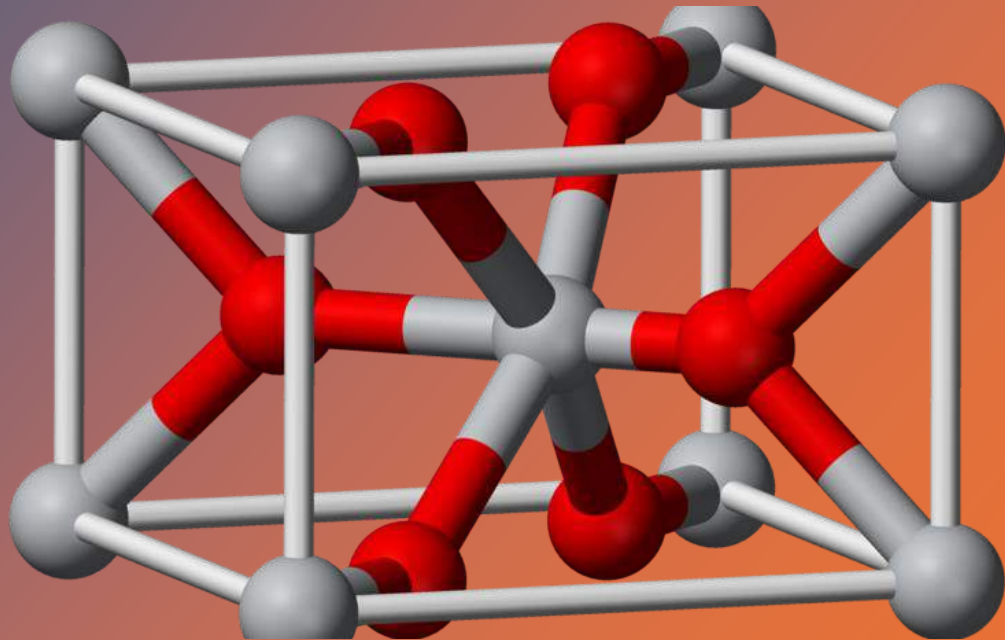
I MOLLUSCHI BIVALVI DENOMINATI «**SENTINELLE DELLE NANOPARTICELLE**»

ricercatori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle  
Venezie (IZSve)



- Gli studi effettuati sui **molluschi bivalvi**, soprattutto su cozze (*Mytilus galloprovincialis*) e vongole veraci (*Ruditapes philippinarum*), hanno valutato gli **effetti delle TiO<sub>2</sub>NPs** in termini di alterazioni fisiologiche e riproduttive e di tossicità per l'ospite. La valutazione del bioaccumulo è stata limitata alla misurazione della **concentrazione totale di titanio utilizzando metodi analitici classici** (spettroscopia di assorbimento atomico – AAS, spettrometria di massa al plasma accoppiata induttivamente – ICP-MS, **spettroscopia di emissione atomica al plasma accoppiata induttivamente – ICP-OES**), senza tuttavia distinguere le NPs dagli ioni.





- La difficoltà di differenziazione dello **ione di titanio**, rispetto ad un nanomateriale è piuttosto alta
- poiché **le tecniche analitiche classiche non sono in grado di definire contemporaneamente tutti quei parametri che caratterizzano un nanomateriale**, ovvero non solo la composizione chimica, ma anche la dimensione e la forma. Un nanomateriale, infatti, presenta la **stessa composizione chimica del materiale in scala normale**
- Di conseguenza, mancano dati sull'effettiva concentrazione di  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  (biossido di titanio nanomateriale) nei tessuti e del loro potenziale di trasformazione *in vivo* nel mollusco.



# TRATTAMENTO DEI MOLLUSCHI SECONDO TECNICHE INNOVATIVE

- I ricercatori, una volta presi i molluschi dalla laguna veneta procedevano **in due fasi di controllo**:
- **Fase 1**: SUDDIVISIONE IN GRUPPI TRATTATI (con NPs e/o tatanio ionico)
- **Fase 2** Suddivisione in gruppi di controllo
- Al termine del trattamento, alcuni venivano sottoposti a depurazione per valutarne l'efficacia; successivamente, tutti i mitili venivano **analizzati dal punto di vista chimico e istologico**.







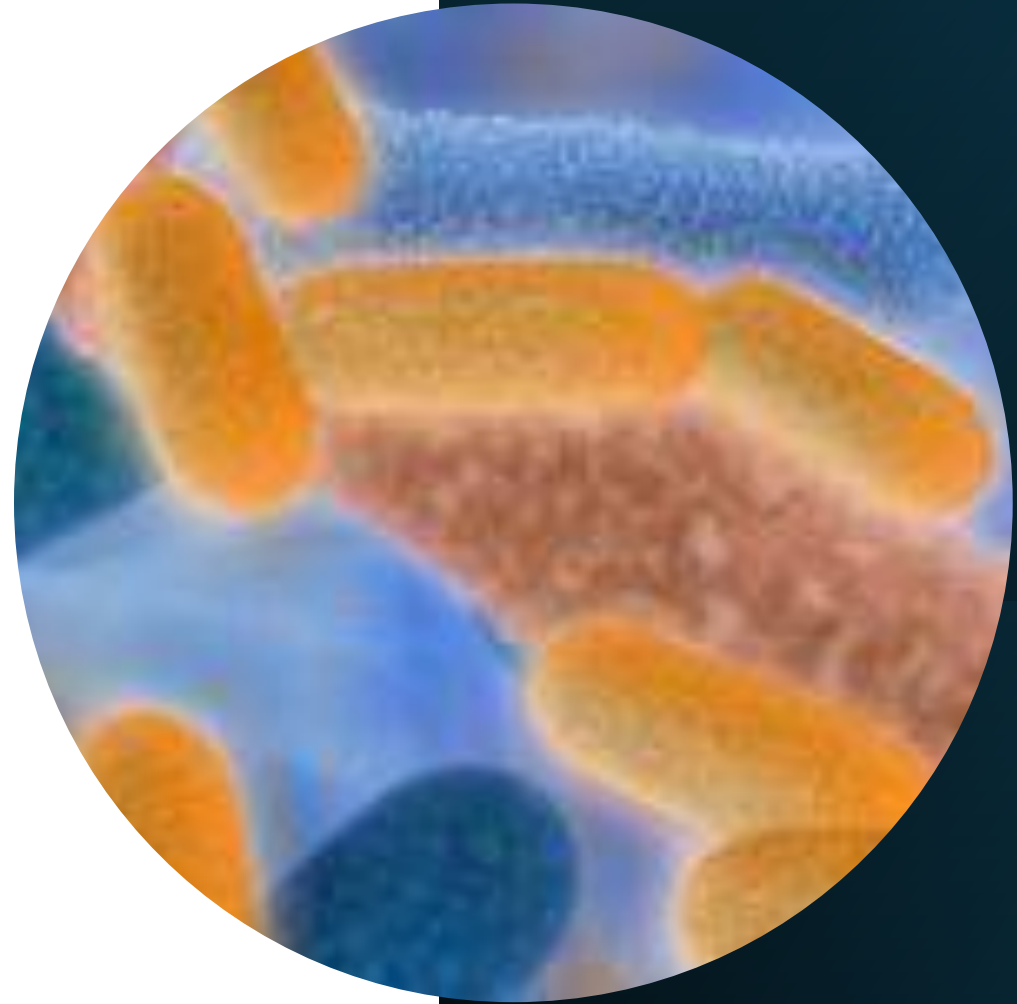
## IN COSA COSTITUEVA L'ANALISI CHIMICA?

- **digestione con acido nitrico del mollusco** (valve escluse) per determinare il livello di titanio totale
- **spettrometria di massa**
- Inoltre per fare un'indagine più accurata si ricorreva ad un'analisi più specifica ovvero **digestione enzimatica e spettrometria di massa a plasma**, capace di individuare bassissime concentrazioni di nanoparticelle

## QUALI SONO STATI I RISULTATI DI QUESTE ANALISI?

L'analisi in ICP-MS ha mostrato **la presenza di titanio in tutti i gruppi trattati**, in livello proporzionale all'esposizione stessa. L'analisi in spICP-MS ha rivelato che tutto il titanio presente nelle cozze trattate con **TiO<sub>2</sub>NPs era sotto forma di NPs** con distribuzione dimensionale simile alle nanoparticelle somministrate, **evidenziando sia l'effettiva capacità dei mitili di bioaccumulare TiO<sub>2</sub>NPs sia l'assenza di eventuali biotrasformazioni delle NPs.**

**IN CONCLUSIONE** la potenziale formazione di NPs nel mollusco in vita partiva dal titanio ionico. Questi risultati sono stati successivamente confermati anche mediante microscopia elettronica a trasmissione (TEM) accoppiata a un rivelatore a dispersione di energia (EDS).







- IL RISULTATO DELLO STUDIO EFFETTUATO:
- Concludendo l'ultima fase, ovvero quella di depurazione si è visto che:
- **già dopo 3 giorni dalla somministrazione i mitili siano stati in grado di auto-depurarsi,** con una diminuzione delle NPs presenti in tutti i gruppi sottoposti a trattamento.
- Dopo 3 giorni di depurazione, le cozze contaminate hanno infatti eliminato oltre il **70% delle NPs di biossido di titanio,** suggerendo una possibile esposizione dei consumatori all'ingestione di  $\text{TiO}_2$  NPs, qualora vengano consumate cozze non sottoposte a un **adeguato processo di depurazione.**



A photograph of three crocodiles in a dark, murky pond. The crocodiles are positioned in a loose circle, with their heads and tails visible above the water. The water is dark and reflects some light, creating a somber and mysterious atmosphere. The crocodiles' scales are detailed and textured. The text 'Anfibi e rettili' is overlaid in the center in a white, sans-serif font.

# Anfibi e rettili



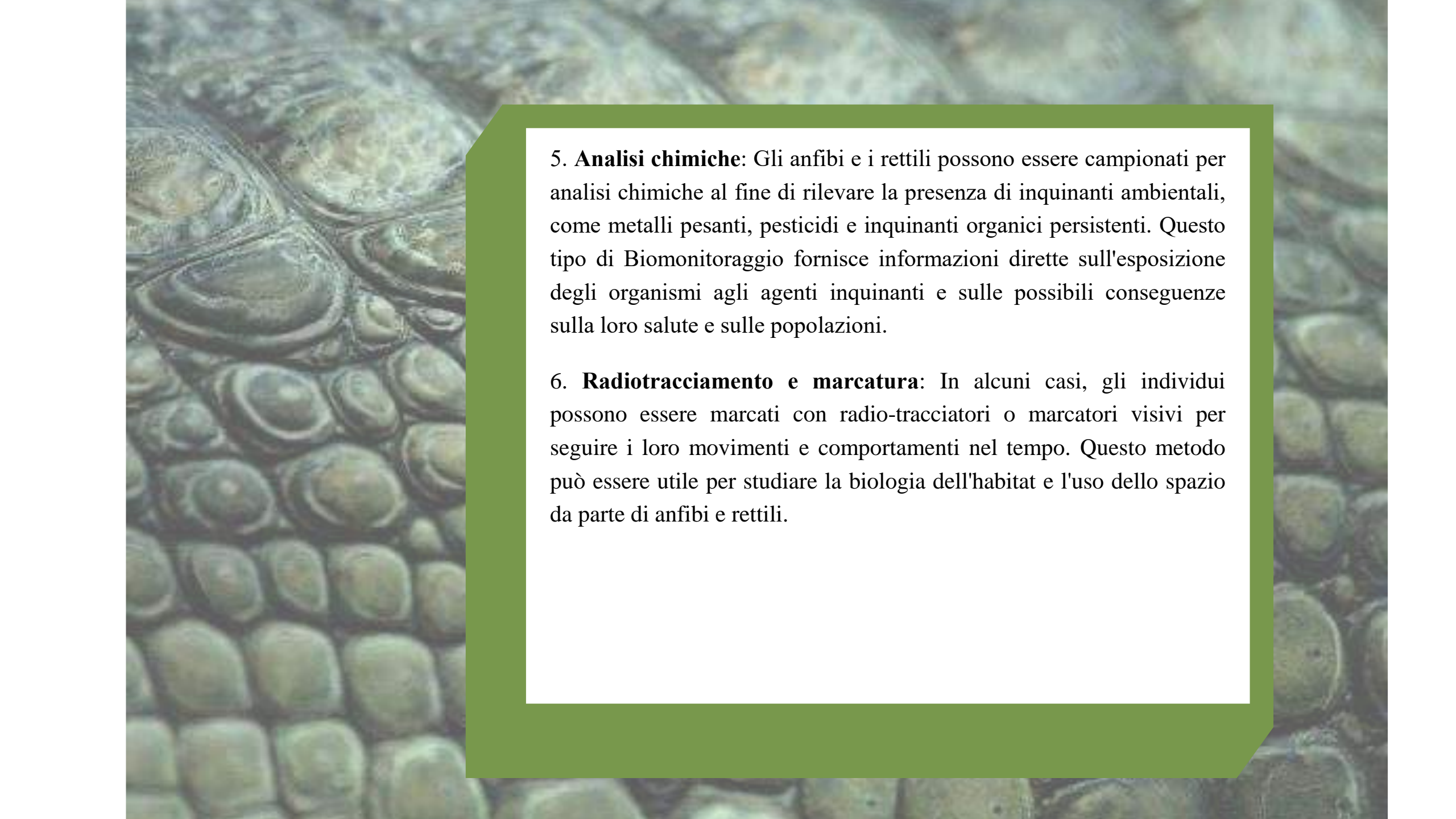


Il Biomonitoraggio attraverso anfibi e rettili è una pratica utilizzata per valutare lo stato di salute di un ecosistema. Questi animali sono considerati indicatori ambientali poiché sono sensibili agli agenti inquinanti e alle variazioni ambientali. Gli anfibi, come le rane e le salamandre, e i rettili, come le lucertole e i serpenti, possono accumulare sostanze tossiche nel loro corpo, fornendo quindi informazioni sulla qualità dell'ambiente circostante.



# Ci sono diverse metodologie utilizzate per il Biomonitoraggio sia degli anfibi che dei rettili. Ecco alcune delle principali:

1. **Osservazione diretta:** Gli studiosi possono condurre osservazioni sul campo per registrare la presenza, l'abbondanza e il comportamento degli anfibi e dei rettili in un determinato habitat. Questo fornisce informazioni di base sulle eventuali anomalie.
2. **Trappolaggio:** Le trappole possono essere utilizzate per catturare temporaneamente gli anfibi e i rettili per scopi di studio.
3. **Rilevamento acustico:** Per gli anfibi, specialmente le rane, il rilevamento acustico può essere un metodo efficace per monitorare la presenza e la distribuzione delle specie. Le registrazioni dei richiami degli anfibi possono essere utilizzate per identificare le specie presenti in un'area e valutarne l'abbondanza.
4. **Monitoraggio genetico:** Il campionamento di tessuti biologici, come la pelle o il sangue, può essere utilizzato per analizzare il DNA degli anfibi e dei rettili. Questo fornisce informazioni sulla diversità genetica, sulla struttura delle popolazioni e sulla parentela tra individui, utili per valutare lo stato di conservazione e la risposta agli stress ambientali.



5. **Analisi chimiche:** Gli anfibi e i rettili possono essere campionati per analisi chimiche al fine di rilevare la presenza di inquinanti ambientali, come metalli pesanti, pesticidi e inquinanti organici persistenti. Questo tipo di Biomonitoraggio fornisce informazioni dirette sull'esposizione degli organismi agli agenti inquinanti e sulle possibili conseguenze sulla loro salute e sulle popolazioni.

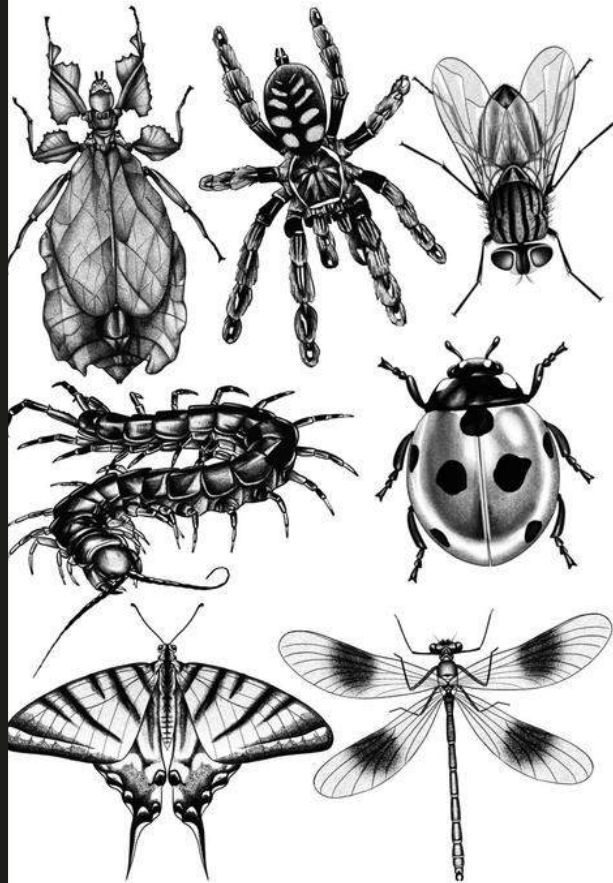
6. **Radiotracciamento e marcatura:** In alcuni casi, gli individui possono essere marcati con radio-tracciatori o marcatori visivi per seguire i loro movimenti e comportamenti nel tempo. Questo metodo può essere utile per studiare la biologia dell'habitat e l'uso dello spazio da parte di anfibi e rettili.

A hand wearing a white glove is shown reaching out against a clear blue sky. Numerous small, dark flying insects, likely mosquitoes, are scattered throughout the sky, some appearing to be landing on or near the glove. The background includes the dark silhouettes of tree branches in the upper left and lower right corners.

INSETTI



## GLI INSETTI:

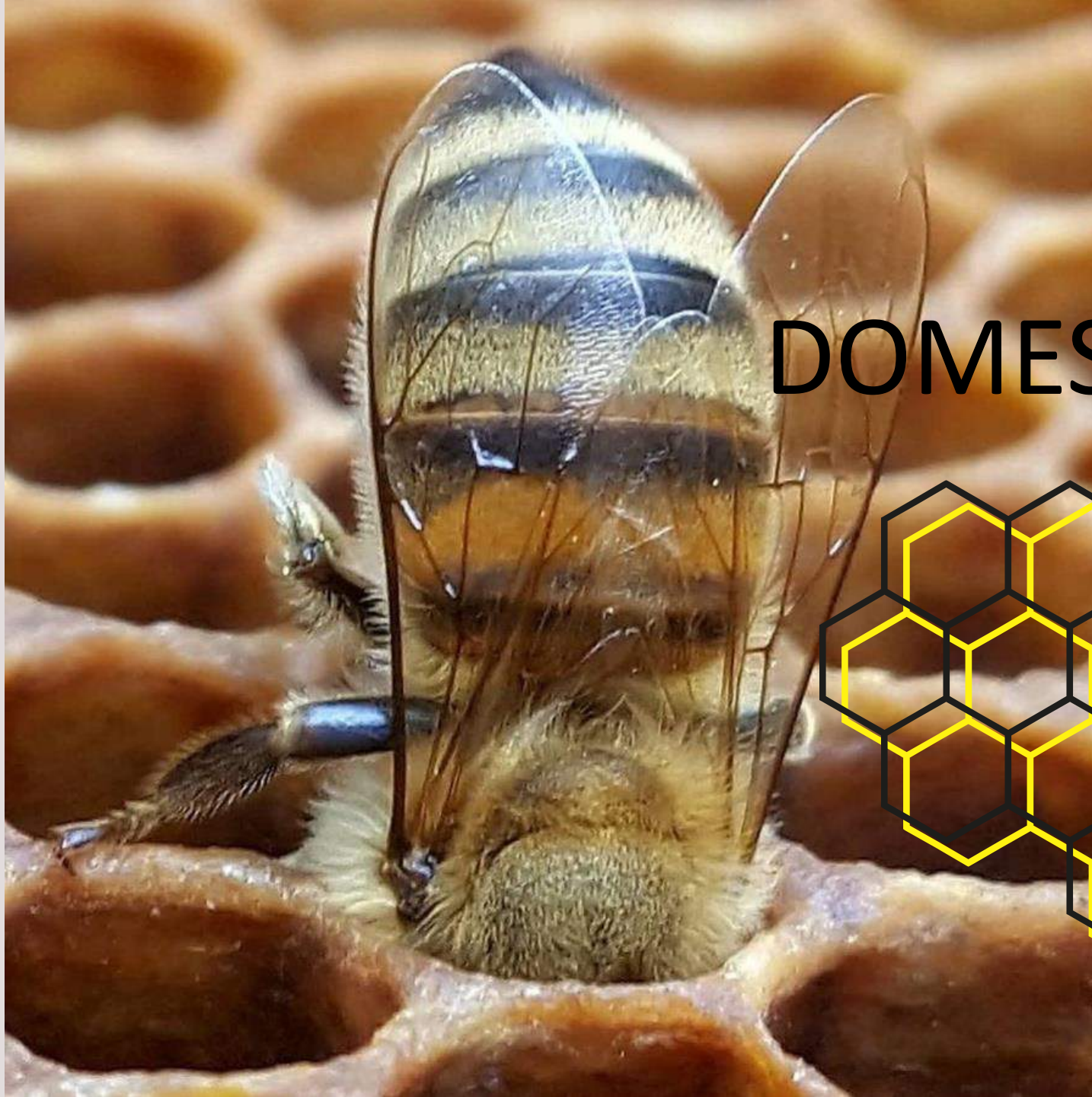


Molti insetti possono essere utilizzati come indicatori ambientali. Può sembrare banale ricordare come la proliferazione della mosca domestica sia un indice di abbondante presenza di residui organici.

L'osservazione di alcune specie di zanzare in un parco cittadino segnala che gli alberi hanno vistose "carie" entro le quali si evolvono le forme giovanili.

Tutti gli insetti dispongono di una sensibilità sicuramente superiore a quella degli altri animali; hanno la possibilità di spostarsi, attivamente o favoriti dalle correnti d'aria, anche a distanze considerevoli.

È importante risalire all'etologia degli insetti per ottenere un'analisi più accurata.

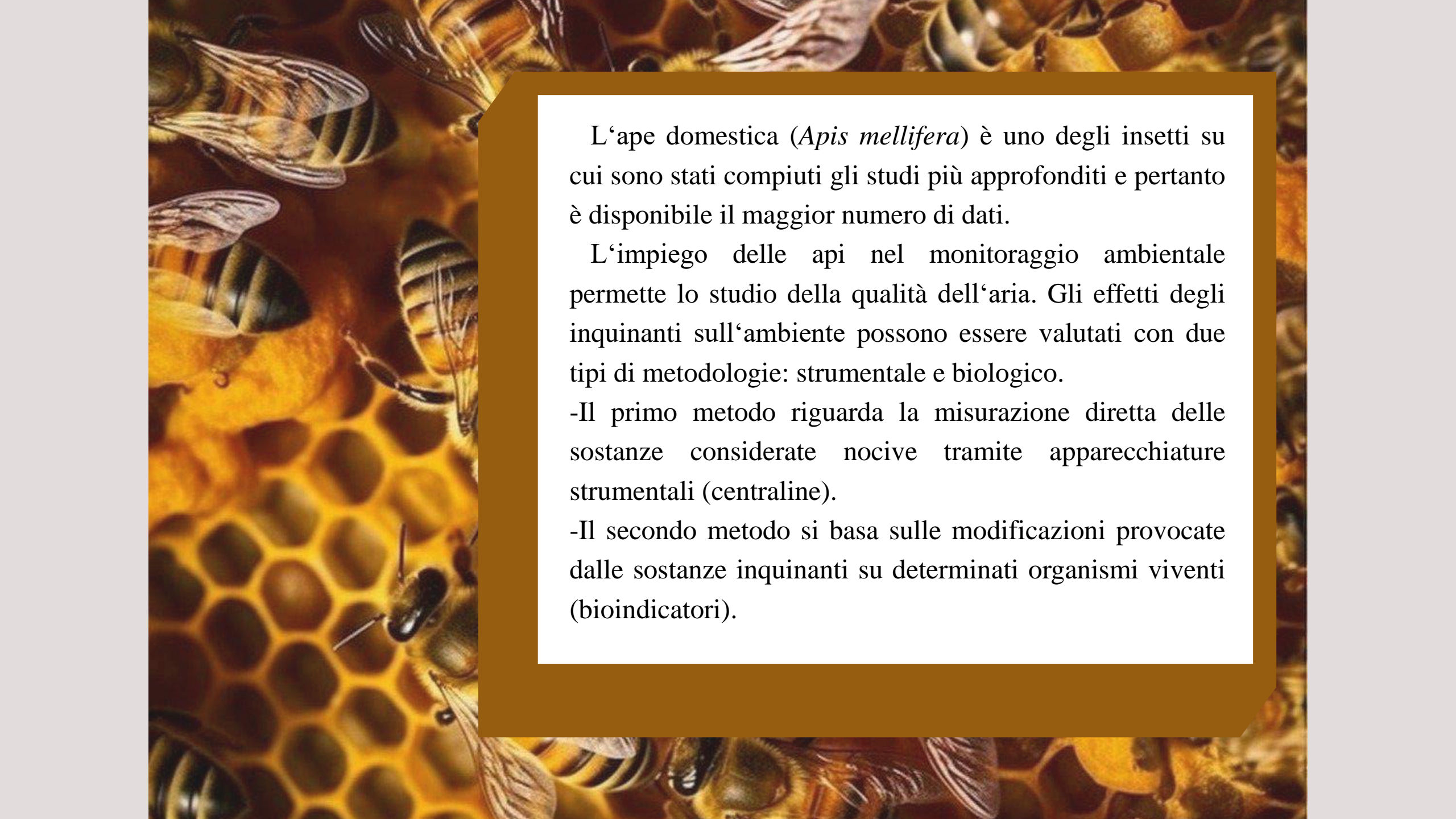


# API

## DOMESTICHE







L'ape domestica (*Apis mellifera*) è uno degli insetti su cui sono stati compiuti gli studi più approfonditi e pertanto è disponibile il maggior numero di dati.

L'impiego delle api nel monitoraggio ambientale permette lo studio della qualità dell'aria. Gli effetti degli inquinanti sull'ambiente possono essere valutati con due tipi di metodologie: strumentale e biologico.

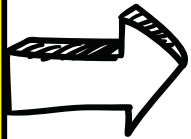
-Il primo metodo riguarda la misurazione diretta delle sostanze considerate nocive tramite apparecchiature strumentali (centraline).

-Il secondo metodo si basa sulle modificazioni provocate dalle sostanze inquinanti su determinati organismi viventi (bioindicatori).

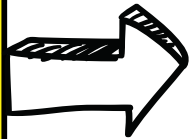




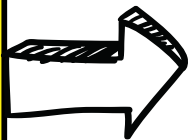
🔍 **Api domestiche come bioindicatori?**



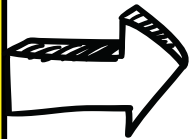
È un organismo di facile allevamento e poco esigente in fatto di alimentazione.



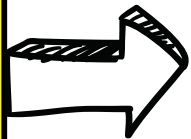
Il corpo, rivestito di peli, si presta particolarmente a trattenere materiali e sostanze con cui viene in contatto.



Ha un tasso di riproduzione molto elevato permettendo così un rinnovamento rapido e continuo della colonia.



Campiona quasi tutte le componenti ambientali: suolo, vegetazione, acqua, aria.



Ha la capacità di riportare in alveare materiali esterni di varia natura e di immagazzinarli secondo criteri controllabili.





L'ape si può definire un "sensore viaggiante". Nei suoi viaggi di andata e ritorno dall'alveare, che coprono un'area di circa 7 chilometri quadrati, è instancabile nella sua attività di raccolta di svariate sostanze come nettare, polline, acqua. Se consideriamo che in un alveare in buono stato vi sono circa 10 000 bottinatrici e che ognuna visita giornalmente un migliaio di fiori, si può facilmente stimare che una colonia di api effettui 10 milioni di microprelievi ogni giorno.

Il territorio è tenuto costantemente sotto controllo da parte dell'ape, ecco perché si può considerare un buon "indicatore biologico".





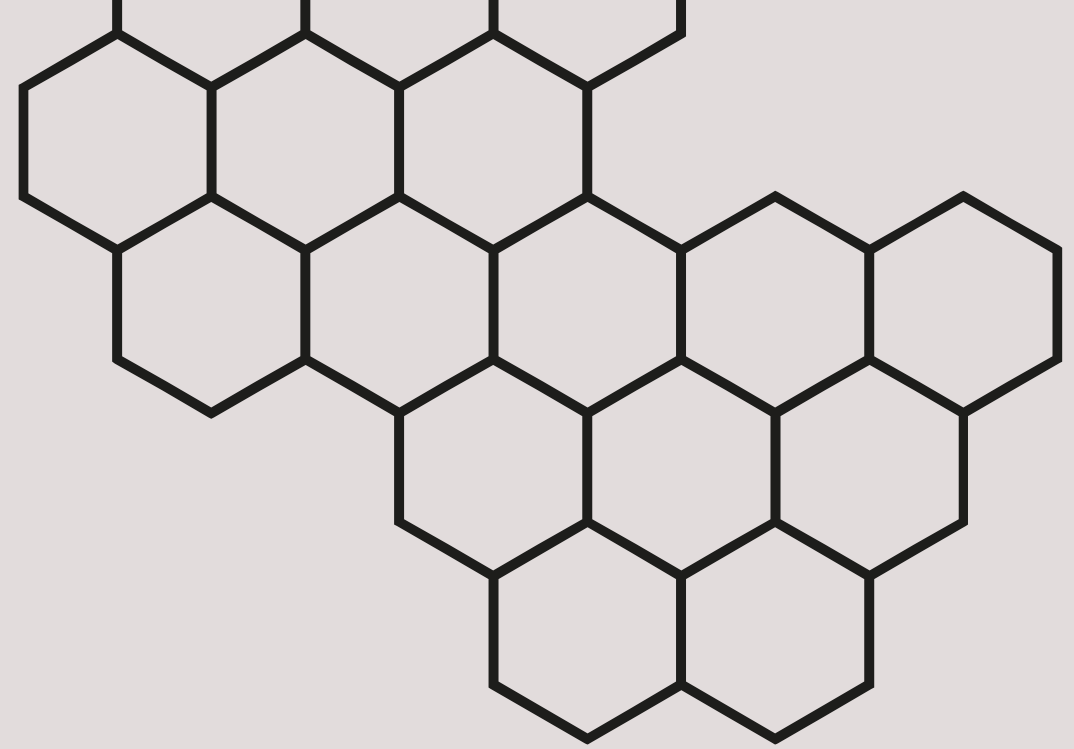
# METODO D'USO





### **Biomagnificazione:**

amplificazione di un contaminante/inquinante per l'incapacità di eliminare la sostanza in oggetto, che non viene degradata dal normale metabolismo cellulare.



La metodologia proposta è stata messa a punto dall'Istituto Nazionale di Apicoltura di Bologna allo scopo di valutare in campo gli effetti dei fitofarmaci sulle api ma può fornire anche utili indicazioni per il monitoraggio dell'inquinamento agricolo.

Questo protocollo sperimentale prevede l'impiego di alveari come unità di rilevamento e si basa sull'osservazione, nell'arco di 15 giorni, di numerose variabili, al fine di:

- seguire il tragitto della molecola indagata;
- conoscere i tempi e le cause di degradazione e di biomagnificazione nelle varie matrici per correlarle poi con le osservazioni riguardanti la forza della famiglia, l'attività di volo e di bottinamento.



Ogni stazione di rilevamento è costituita da almeno 4 alveari (il numero minimo per applicare i metodi di analisi statistica). Gli alveari devono essere introdotti nell'apezzamento all'inizio della fioritura ed equipaggiati con speciali gabbie raccoglitrice di api morte (quelle più diffuse sono le gabbie di Gary). Il trattamento antiparassitario è eseguito verso sera, quando la coltura presenta una fioritura intorno al 30-35% .





La ricerca dei residui si effettua su: api morte, polline, miele, cera, nettare e larve, ma è indispensabile anche la valutazione soggettiva dell'attività di volo, di bottinamento e della forza della famiglia.

**Api.** Il conteggio giornaliero delle api morte deve essere intrapreso una settimana prima del trattamento. I prelievi per le analisi chimiche si effettuano a 1, 3, 5 e 7 giorni dall'intervento chimico.

**Polline.** I campionamenti sono eseguiti mediante una trappola detta "pigliapolline", in una determinata unità di tempo nell'arco della giornata e in coincidenza con i prelievi di api. In seguito i campioni sono pesati e sottoposti all'analisi chimica per l'accertamento dei residui e all'analisi melissopalinologica per la determinazione dell'origine botanica.







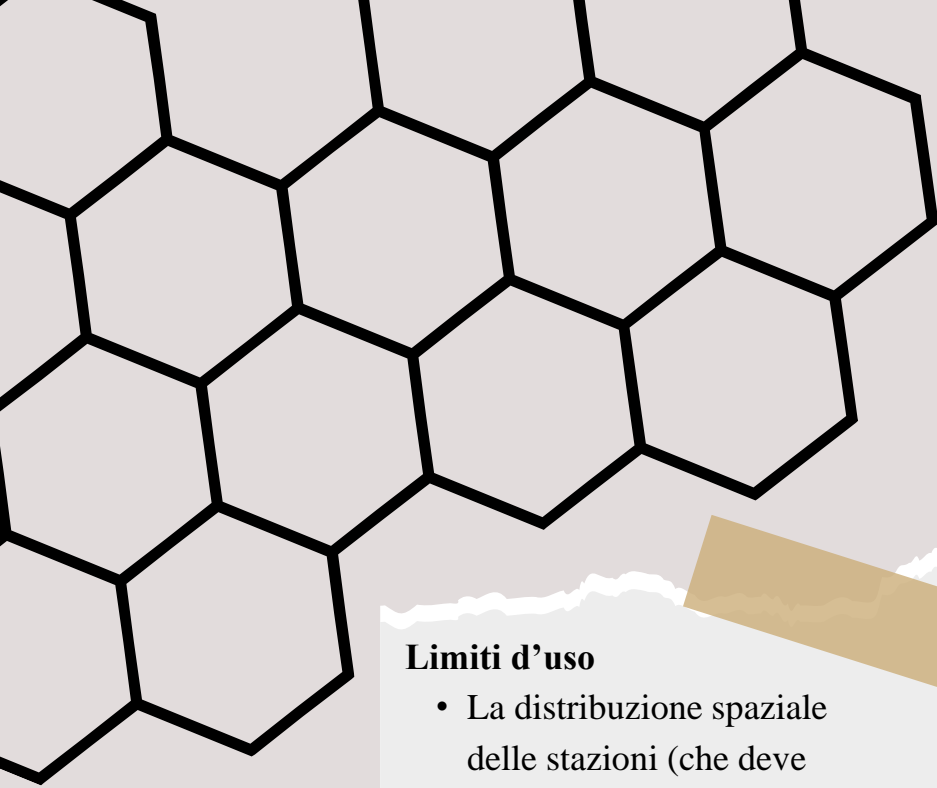
**Miele e cera.** Il prelievo si esegue il giorno prima del trattamento e al termine della sperimentazione, assicurandosi che il miele sia di recente importazione. Sui campioni di miele viene effettuata oltre all'analisi chimica anche quella melissopalnologica.

**Nettare.** È aspirato dai fiori utilizzando particolari micropipette, dal giorno antecedente l'intervento chimico fino alla settimana successiva, sia di mattina che di pomeriggio.

**Larve.** Si prelevano quelle di 4a età, il giorno precedente al trattamento e il settimo successivo.

**Attività di volo.** Consiste nel conteggio delle api in uscita dall'alveare per 30" consecutivi, in momenti diversi della giornata (alle ore 10.00, 12.00, 14.00 e 16.00).

**Attività di bottinamento.** Consiste nel conteggio delle api che visitano i fiori della coltura in esame per 5 minuti in diversi momenti della giornata (alle ore 10.00, 12.00, 14.00 e 16.00).



#### **Limiti d'uso**

- La distribuzione spaziale delle stazioni (che deve essere comunque continua) dipende dall'uso del territorio e dall'orografia.
- Si segnala l'assenza di una tecnica standard per l'allestimento delle colonie.
- La determinazione della mortalità delle api è sempre approssimata per difetto

**Forza della famiglia.** La sua valutazione si effettua mediante accurate visite agli alveari prima e dopo l'intervento chimico, anche se è consigliabile seguirne l'evoluzione pure dopo il periodo della sperimentazione.

In questi controlli si registrano su apposite schede alcune importanti osservazioni come:

- l'attività delle bottinatrici di fronte all'alveare;
- l'età della regina;
- il numero di telaini occupati dalle api;
- il numero di telaini di covata, nonché la sua compattezza o discontinuità;
- la percentuale di covata vecchia e nuova;
- la presenza di celle di fuchi e celle reali;
- il numero di telaini con provviste;
- la percentuale di miele vecchio e nuovo;
- la quantità di polline presente;
- eventuali malattie e interventi effettuati per prevenirle o curarle.

La registrazione dei dati meteorologici è indispensabile per tutto il periodo della sperimentazione (2 settimane), perché influenza sia l'attività di bottinamento delle api che la stabilità e la diffusione del principio attivo nell'ambiente.



AMBIENTE

## "Api sentinella": il biomonitoraggio permanente

*Metalli sotto i limiti, le api sono il più completo biosensore in grado di fornire i dati sullo stato di salute del territorio.*

08/03/2023 Lorenzo Gambatesa, montaggio di Celeste Picciano

Le api rappresentano uno dei principali indicatori dello stato di salute dell'ambiente del Molise. I metalli pesanti, come atteso, sono presenti nel territorio sempre al di sotto dei limiti consentiti (situazione estremamente positiva). Dal punto di vista dei dati la cosa più interessante ottenuta è che alcuni elementi presentavano stesso valore sull'intero territorio.

L'ape sentinella dunque non è solo bioindicatore ma è direttamente coinvolta nel fornire preziose informazioni attraverso i prodotti dell'alveare (miele, nettare) sulle sostanze inquinanti presenti in natura, sui metalli pesanti, sugli agrofarmaci.



08 NOVEMBRE 2022 16:06

## 100 mila api sentinelle per il bio-monitoraggio della qualità dell'aria

All'aeroporto Marconi di Bologna sono state "ingaggiate" 100 mila api per contribuire al costante controllo della qualità dell'aria in un raggio di 7 chilometri attorno allo scalo



All'Aeroporto di Bologna ora “lavorano” anche 100 mila api che, dislocate in otto arnie poste intorno all'area aeroportuale, contribuiranno al costante controllo della qualità dell'aria, favorendo la salvaguardia dell'ecosistema. L'iniziativa promossa lo scorso aprile dal Marconi vede il coinvolgimento del Dipartimento di Scienze e tecnologie agro-alimentari dell'Università di Bologna e del Consorzio nazionale apicoltori. In aggiunta ai sistemi tradizionali di monitoraggio, attivi da tempo al Marconi e con dati regolarmente elaborati da ARPAE e pubblicati sul sito internet dell'Aeroporto, la qualità dell'aria verrà ora controllata anche tramite l'analisi del miele prodotto dalle api che “lavorano” attorno allo scalo.

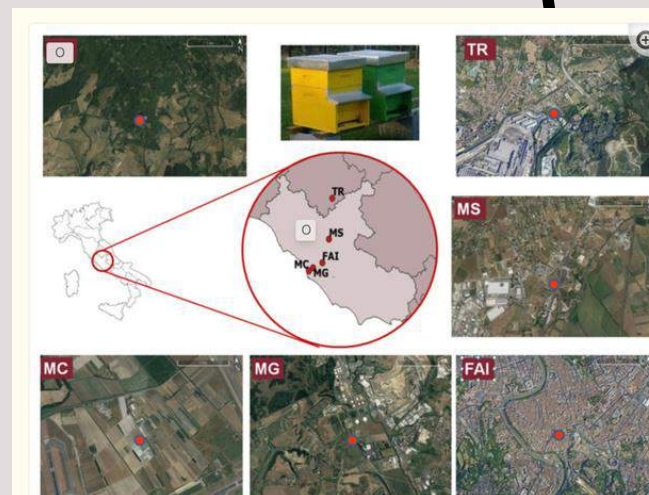
# Un metodo analitico per il biomonitoraggio del mercurio nelle api e nei prodotti dell'alveare mediante spettrometria a fluorescenza atomica a vapore freddo

[Maria Luisa Astolfi](#),<sup>1,\*</sup> [Marcelo Enrique Conti](#),<sup>2</sup> [Martina Ristorini](#),<sup>3</sup> [Maria Agostina Frezzini](#),<sup>4</sup> [Marco Papi](#),<sup>5</sup> [Lorenzo Massimi](#),<sup>4</sup> e [Silvia Canepari](#)<sup>4</sup>

Gavino Sanna, Academic Editor, Marco Ciulu, Academic Editor, Yolanda Picò, Academic Editor, Nadia Spano, Academic Editor, Carlo I. G. Tuberoso, redattore accademico, e James Barker, redattore accademico

Publicato online il 21 agosto 2021

Il metodo analitico proposto è stato applicato a campioni di api, miele, cera d'api, polline e propoli raccolti da sei aree dell'Italia centrale sono stati caratterizzati da una diversa esposizione all'inquinamento ambientale.



L'effetto della matrice è stato valutato confrontando le pendenze delle curve di calibrazione ottenute da standard acquosi e il metodo di addizione standard.

Confronto dei parametri della curva di calibrazione per la determinazione di Hg mediante spettrometria di fluorescenza atomica a vapore freddo (CV-AFS).

Standard di calibrazione	Parametro <sup>a</sup>				
	a	s(a)	b	s(b)	R <sup>2</sup>
Standard acquosi	$9.68 \times 10$	$9.68 \times 10$	$1.86 \times 10^4$	$1.16 \times 10^3$	0.999
Standard di aggiunta di api	$1.32 \times 10^2$	$3.14 \times 10$	$1.64 \times 10^4$	$2.30 \times 10^3$	0.999
Standard di aggiunta di cera d'api	$7.65 \times 10$	$1.05 \times 10$	$1.71 \times 10^4$	$2.22 \times 10^3$	0.999
Standard di aggiunta di miele	$1.07 \times 10^2$	$1.34 \times 10^2$	$1.61 \times 10^4$	$2.05 \times 10^3$	0.999
Standard di aggiunta di Honeydew	$1.38 \times 10^2$	$8.58 \times 10$	$1.65 \times 10^4$	$1.78 \times 10^3$	0.999
Standard di aggiunta di polline	$1.30 \times 10^2$	$3.73 \times 10$	$1.62 \times 10^4$	$2.07 \times 10^3$	0.998
Standard di aggiunta di propoli	$3.85 \times 10^2$	$2.50 \times 10^2$	$1.76 \times 10^4$	$1.40 \times 10^3$	0.999
Standard di aggiunta di gelatina reale	$7.65 \times 10$	$1.05 \times 10$	$1.80 \times 10^4$	$9.19 \times 10^2$	0.998

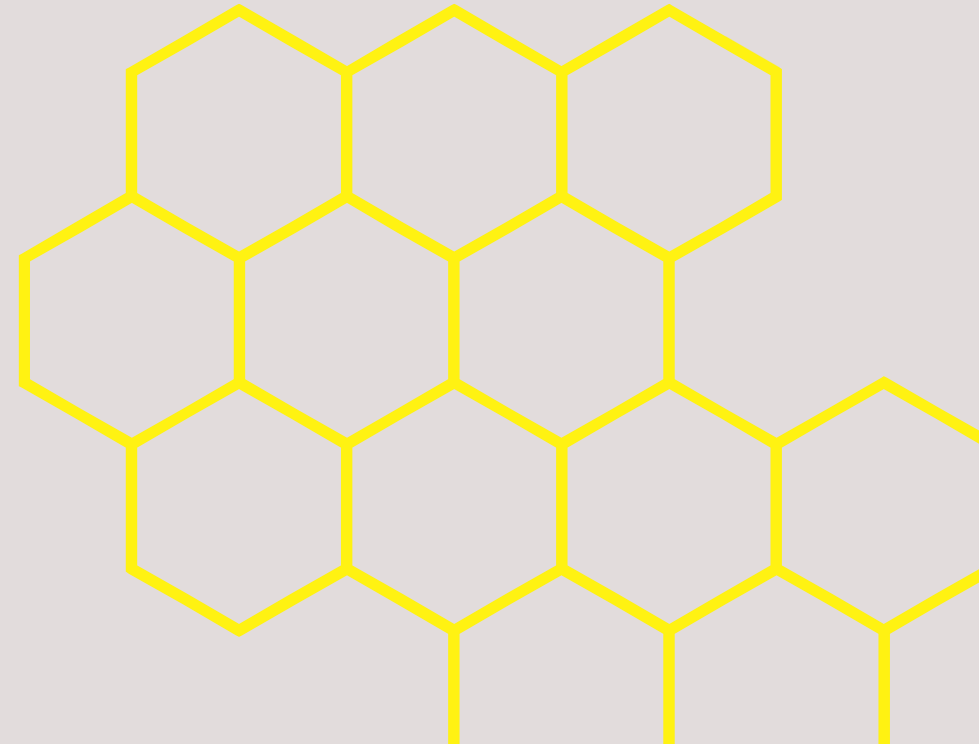




## Conclusion

Il metodo proposto è adatto per piccole masse (fino a 0,02 g) di tutte le matrici selezionate e può essere utilizzato per il biomonitoraggio e il controllo della qualità degli alimenti. In particolare, i risultati dell'applicazione nel campo del metodo proposto hanno mostrato una concentrazione di Hg più elevata nelle api rispetto alle altre matrici considerate e in aree con un impatto antropogenico più elevato rispetto al sito di fondo.

In futuro, sarà interessante valutare se l'ape e i prodotti dell'alveare possano effettivamente essere utilizzati per valutare i cambiamenti spaziali ambientali nei livelli di Hg. Tuttavia, la determinazione delle concentrazioni di Hg nei prodotti dell'alveare è importante anche per la potenziale esposizione alimentare umana. Le concentrazioni di Hg nei campioni analizzati di miele, melata e gelatina reale non sono motivo di preoccupazione per gli effetti sulla salute dei consumatori.





# BIOMONITORAGGIO UMANO

Human biomonitoring (HBM)

Angelina Caldarelli

# MONITORAGGIO BIOLOGICO

è la **valutazione dell'esposizione** a  
sostanze pericolose  
(utile a conoscere **lo stato di salute** di  
una popolazione)

attraverso la misura di  
**biomarcatori**

cioè

La misura della  
**concentrazione di**  
**una sostanza**

di **effetti biologici**  
riferibili alla  
sostanza stessa

# BIOMONITORAGGIO UMANO

è uno strumento di ricerca  
scientifica usato per **misurare**  
**ed analizzare l'esposizione**  
**umana** a sostanze chimiche e  
a inquinanti.



# IN ORIGINE



- il HBM era stato introdotto nell'ambito della **medicina del lavoro** per proteggere la salute dei lavoratori



- 1960 primi studi sulla **concentrazione del piombo nel sangue** su larga scala



i **livelli di piombo** interni all'organismo sono sensibilmente e molto rapidamente calati dopo l'introduzione della **benzina senza piombo**.

per un adulto, i **valori di piombo nel sangue** che possono essere ingeriti ogni giorno per chilo di peso corporeo senza avere effetti significativi sulla pressione arteriosa e sulla funzionalità del rene sono:

**0,36 e 0,15 microgrammi** per decilitro di sangue (corrispondenti a **1,50 e 0,63 microgrammi di piombo**)

# SOSTANZE MAGGIORMENTE MONITORATE NELLA POPOLAZIONE

QUALI SONO?

**INQUINANTI ORGANICI PERSISTENTI  
(POP)**

sostanze diffuse nell'ambiente

**Pesticidi**

- DDT
- Aldrin
- Clordano
- Insetticidi
- Fungicidi
- Diserbanti

**Prodotti di uso industriale**

- Policlorobifenili (PBC)
- Esaclorobenzene
- Polibromodifenileteri
  - Bisfenolo A

**Sottoprodotti di reazioni di  
combustione**

- Diossine



# DOVE SI TROVANO LE SOSTANZE NOCIVE PER L'UOMO?

Nei prodotti fabbricati a partire da  
sostanze chimiche o che le  
contengono a loro interno



**VERNICI E PITTURE**



**COSMETICI**



**DETERGENTI**



**ALIMENTI**

- Additivi
- Conservanti
- coloranti



**OGGETTI IN PLASTICA**



# LA CONCENTRAZIONE DI UN INQUINANTE NEL CORPO UMANO

È il risultato di cosa?

**Esposizione attraverso diverse fonti**  
(alimenti e bevande, aria, acqua e suolo, prodotti di consumo)

**Differenti vie di assorbimento:**  
inalatorio, orale e cutaneo

**Comportamenti o stili di vita,** alimentazione, uso di alcol o fumo di sigaretta, attività fisica

**ESEMPIO:**  
il malfunzionamento del rene diminuisce la possibilità di eliminare alcune sostanze

**Fattori individuali,** inclusi età, genere, condizioni generali di salute

**Caratteristiche genetiche dell'individuo**  
↓  
alcuni individui **assorbono e trasformano** le sostanze e le eliminano diversamente da altri



# COME ENTRANO NEL NOSTRO CORPO LE SOSTANZE TOSSICHE?

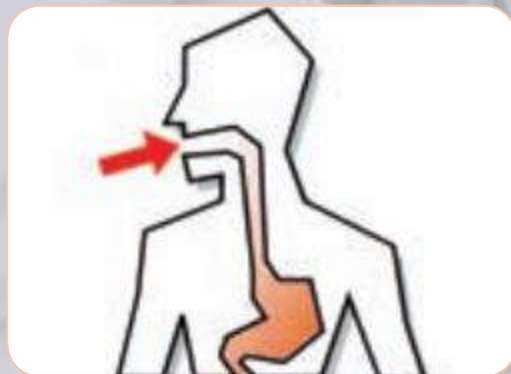
Vie di assorbimento:

PER INALAZIONE



(polmoni)

ORALE



(tratto gastro-intestinale)

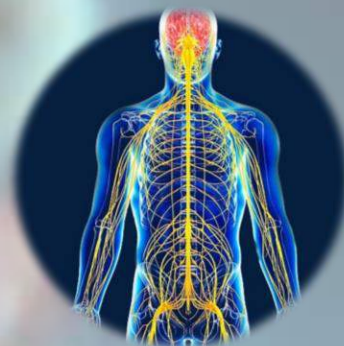
CUTANEO



(pelle)

# CHE DANNI POSSONO CAUSARE QUESTE SOSTANZE?

A seconda delle **caratteristiche** della sostanza e della sua concentrazione, possono manifestarsi **effetti negativi**



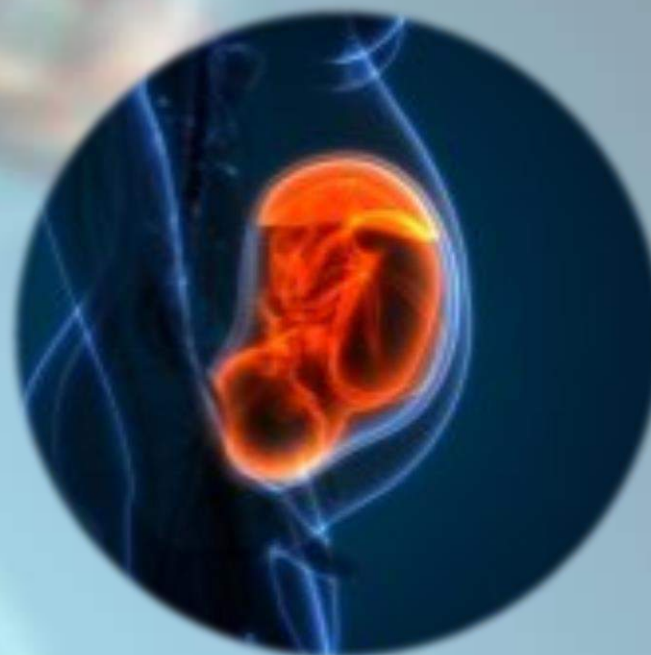
SISTEMA NERVOSO



SISTEMA IMMUNITARIO

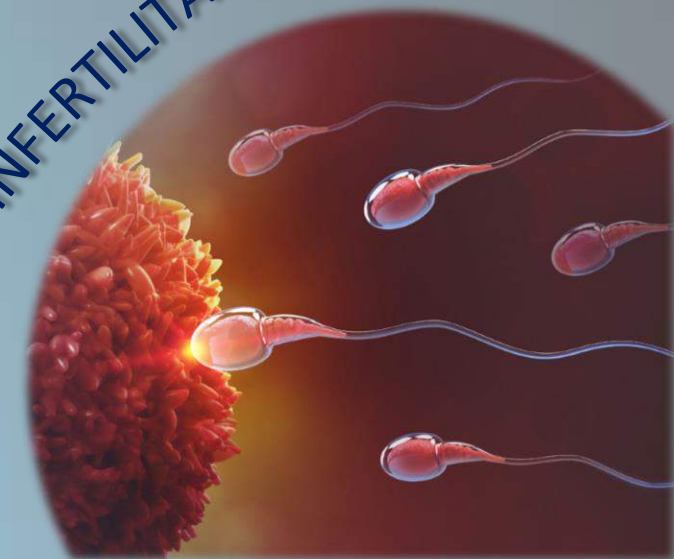


SISTEMA ORMONALE



SVILUPPO DEL FETO

INFERTILITÀ





# SCOPO DEL BIOMONITORAGGIO UMANO

Il biomonitoraggio permette di:

1.

Determinare la dose interna di alcune sostanze nella popolazione generale

2.

Comparare i livelli di esposizione in diverse popolazioni

3.

Identificare le sostanze, e limitarne l'esposizione per proteggere la salute pubblica

4.

Valutare l'efficacia delle misure, messe in atto per ridurre l'esposizione

5.

Fornire informazioni sull'esposizione determinare una relazione tra l'esposizione ed alcuni effetti sulla salute

# METODOLOGIA

1. Selezione di un **gruppo di individui** in base alle loro caratteristiche (ad esempio, età, genere)

Dei **volontari** acconsentono a partecipare allo studio firmando il *consenso informato*

Gli **operatori** intervistano le persone volontarie con questionari che indagano su una serie di fattori che possono rivelare fonti di esposizione

2. Selezione del **tipo di campione da prelevare**

i **fluidi biologici**

**Urine, sangue, saliva, latte materno, tessuti, capelli, liquido seminale**

**ESEMPIO: stile di vita** (ambiente di vita, fumo, uso di prodotti per la cura personale, etc.), **dieta** (preferenze alimentari) e **altre caratteristiche personali**



An hourglass with golden sand is positioned on the left side of the slide, serving as a background for the text. The top bulb is partially filled with sand, and it is slowly trickling into the bottom bulb.

# METODOLOGIA

## 3. Tempo di prelievo

rispetto alla **possibile esposizione** (ad esempio, alla fine della giornata lavorativa)

l'**assenza di una sostanza** in un fluido biologico non significa che un individuo non sia **mai stato esposto ad essa**, ma che probabilmente l'organismo l'avrà eliminata velocemente

Per questo motivo è necessario conoscere quale sia il **momento giusto per prelevare** il campione da analizzare.

# METODOLOGIA



## 4. Procedure da documentare

per la **raccolta**, il trasporto, la **conservazione**, l'**analisi** e l'**eliminazione** di campioni biologici

## 5. Metodi analitici

per **determinare la sostanza** o i suoi metaboliti nel sangue, urina, capelli o saliva

## 6. Metodi statistici

utilizzati per **analizzare i dati**



# VANTAGGI E SVANTAGGI

The background of the slide is a blurred laboratory scene. On the right, a microscope is visible. In the center, a gloved hand is holding a pipette tip. On the left, there are several test tubes in a rack. The overall lighting is soft and professional.

## Vantaggi:

- Costi moderati
- Esame degli effetti biologici (dovuti all'azione sinergica di più sostanze)
- Rilevamento di **effetti cronici sub-letali**
- Rendono possibili **verificare i risultati delle misure di politica ambientale**

## Svantaggi:

- **Tempi lunghi**
- **Personale specializzato**
- **Difficoltà nell'isolare gli effetti di una sola sostanza**

# CASO STUDIO

## ECO FOOD FERTILITY

Un progetto, che ha coinvolto il **CNR** e l'**Istituto Superiore di Sanità**, nato in Campania



al fine di individuare **un nesso** tra i **tassi di inquinamento ambientale** nella "terra dei fuochi" e il preoccupante **incremento di patologie cronic-degenerative**

Allo scopo di indicare **strategie di prevenzione** per danni futuri





# ECO FOOD FERTILITY OBIETTIVI

Grazie i primi risultati sta delineando un **nuovo modello** per la valutazione dell'**impatto ambientale sulla salute umana**

Il progetto mette al centro della ricerca gli **spermatozoi**, per la facile reperibilità e alta sensibilità agli inquinanti ambientali.

Questi possono essere considerati dei **biomarcatori "ideali"** del danno ambientale e **sentinelle** dello stato di salute dell'uomo.

Verificare **come e quanto l'inquinamento ambientale influenza** negativamente e direttamente **la qualità del liquido seminale**

Quale **prevenzione e approcci di detossificazione** bisogna attuare per evitare possibili danni futuri.

# ECO FOOD FERTILITY SELEZIONE DEI SOGGETTI

Vengono presi in considerazione dei **maschi sani**  
dai **18 ai 40 anni**

**Non fumatori, non bevitori abituali, non consumatori di droghe, residenti da almeno 5 anni nelle aree coinvolte e non esposti abitualmente a sostanze inquinanti**

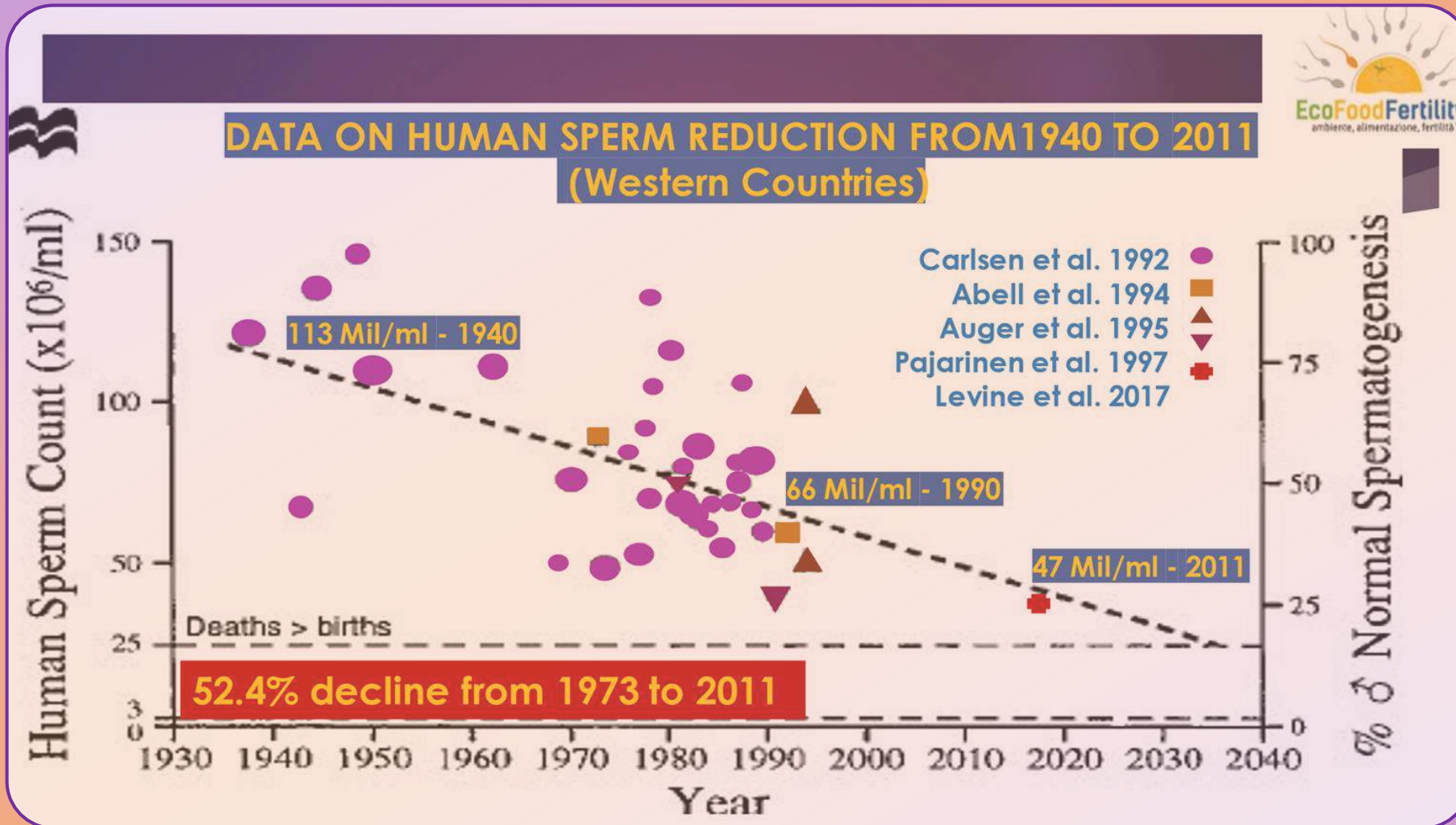
## LE VISITE CUI VENGONO SOTTOPOSTI I SOGGETTI:

- Visite uro-andrologica
- Valutazione delle abitudini di vita
- Alimentari (valutazione di intolleranze alimentari)
- Approfondite analisi in laboratorio
- Analisi tossicologica del sangue e nel seme di metalli pesanti (PCB, Diossine, policiclici aromatici...)



# DATI STATISTICI RISCONTRATI NEGLI ANNI

Il drammatico declino spermatico nei paesi occidentali dal 1940 al 2011



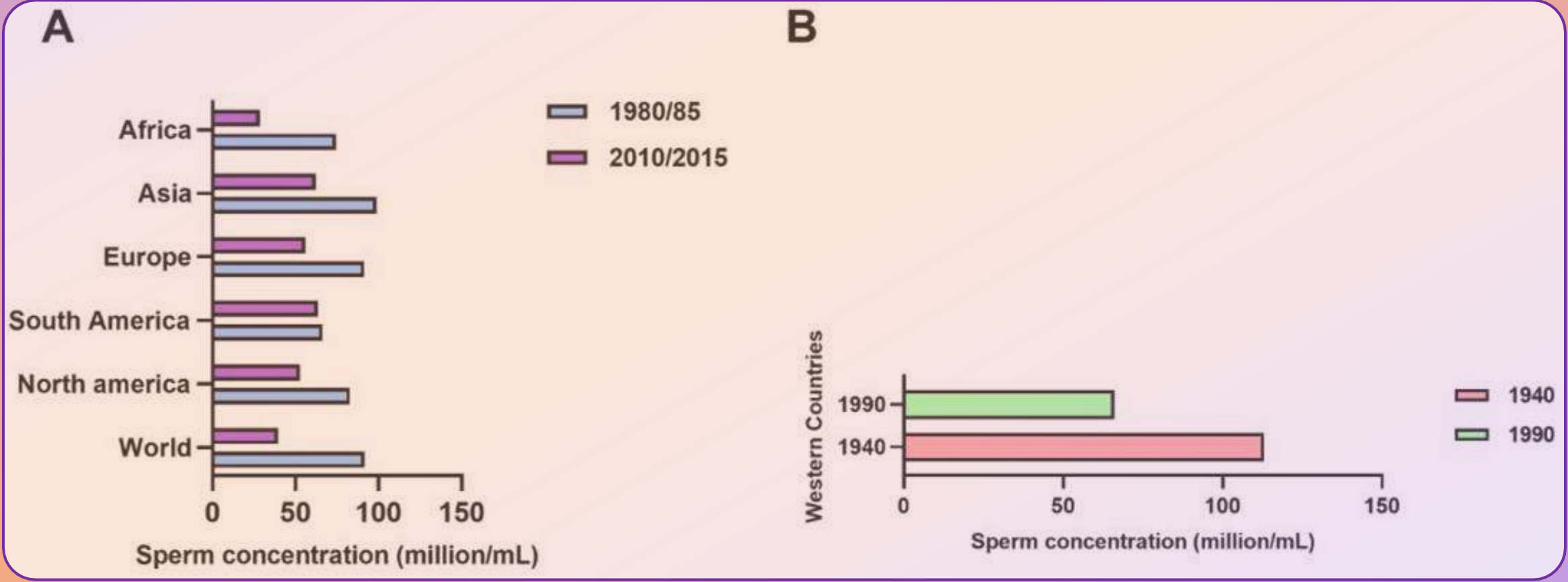
Nel grafico si evince che la **qualità del liquido seminale** dal 1973 al 2011 è calata del 52.4%.

Nel **1973** venne segnalato per la prima volta il **problema degli spermatozoi in calo**.

Ogni anno nei paesi occidentali abbiamo un calo del 1.6%.

# DATI STATISTICI RISCONTRATI NEGLI ANNI

Il **declino della qualità seminale** nei diversi continenti ed in particolare in **India, Cina, Iran, Brasile** dal 1980 al 2015





# Esposizione del latte materno a diossine e PCB

L' esposizione ad agenti tossici e inquinanti è molto pericolosa in particolare durante la vita intrauterina

Poiché, quando gli inquinanti arrivano all'embrione e al feto attraverso il **sangue placentare** e il **cordone ombelicale** interferiscono con le fasi più critiche e delicate dello sviluppo.

Inoltre, ciò incide anche sulla **fase di allattamento**

Il latte materno è un **mezzo** particolarmente **idoneo** per la valutazione dell'inquinamento a cui è sottoposta una popolazione.

L'**esposizione pre- e post- natale** a PCB e diossine può contribuire ad un ritardo nella crescita sia del feto sia del neonato

# Latte materno, diossine e PCB

Queste sostanze si accumulano soprattutto **nel tessuto adiposo** e, in particolare, **nel sesso femminile** che ne ha una percentuale maggiore.

Le diossine e PCB sono **molecole lipofile** e, in quanto tali, si concentrano maggiormente **nella componente grassa del latte materno**

Le diossine sono **trasferite** dalla madre al feto sia durante la **gestazione** sia con **l'allattamento**

Oltre a diossine e PCB, sono **oltre 300 le sostanze tossiche**, di cui molte cancerogene, che possono essere trasferite alla prole sia durante la vita intrauterina che attraverso il latte materno.

**In Italia** i dati sulla contaminazione del latte materno sono particolarmente carenti.



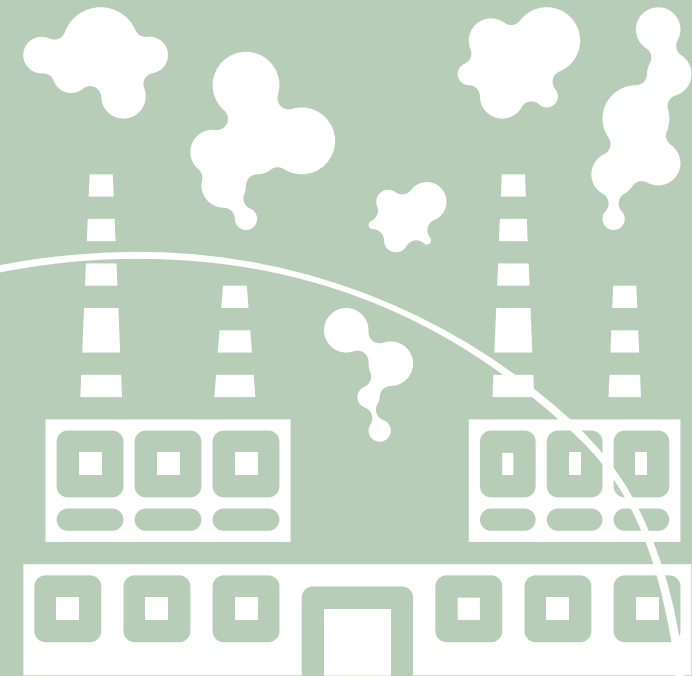
# BIOMONITORAGGIO DELLA POPOLAZIONE

# Cos'è ?

i concetti di bioindicatore e biomonitoraggio assumono dei significati differenti a seconda del contesto di utilizzo.



I termini bioindicatore e bioaccumulatore hanno guadagnato rilevanza nell'ambito dell'inquinamento





Le piante sono  
bioindicatori generici

Ma studiando le comunità vegetali è  
possibile avere una risposta lineare  
sugli effetti dell' inquinamento



# ANALISI FLORISTICA

Eseguita da un  
geobotanico



## Delimitazione delle aree

- Esigenze pratiche
- criteri di omogeneità ecologica
- Due scale di indagine



## Censimento delle piante

- Rilevamenti su quadrati permanenti o transetti lineari



## Elaborazione dei dati

- Tecnologia informatica
- Indici

# ESEMPI



Habitat umidi



Habitat sinantropici



# Limiti

- complessità dei dati
- lunghe tempistiche
- modifiche delle aree di studio



# comunità animale

“è un insieme di popolazioni di specie che coabitano in uno spazio e tempo definiti”

# Caratteristiche comunità animale

-Specie in competizione limitate

-Organizzazione catena  
alimentare

-Biomassa totale

-Produttività



# Corporazione di specie

Stretta corrispondenza tra  
comunità e ambiente:

- stesso gruppo tassonomico ( uccelli, insetti, rettili...)
- specie con caratteristiche simili nella catena alimentare (erbivori , carnivori...)
- specie che sfruttano le stesse risorse ambientali in modo simile

# Diversità specifica

---

## Ricchezza specifica

È il numero di specie presenti in una comunità o in un campione di essa

## Eterogeneità

Distribuzione degli individui tra le diverse specie all'interno della comunità

## Uniformità

Quantificazione della disomogenea ripartizione della rarità delle specie



# Comunità animale come bioindicatori

Non indicano una sostanza inquinante specifica , ma evidenziano i cambiamenti ambientali attraverso l'alterazione dei tre parametri prima citati.



# Ricchezza specifica come bioindicatore



Diversità strutturale del paesaggio

indicatore di naturalità degli habitat o di  
manipolazione umana



Riduzione diretta e indiretta del  
numero di specie

indicatore di agenti inquinanti

# Eterogeneità e uniformità come bioindicatori

Essi variano in seguito a cambiamenti dell'habitat e in base alla diversità di esso; ma non sempre sono correlati alla qualità dell'ambiente.



# Scelta delle comunità come bioindicatori

## Caratteristiche da soddisfare:

- Facilmente identificabili
- Delimitabili nello spazio
- Campionabili con metodi standard e poco costosi



# Tipi di comunità animali



## Macroinvertebrati

- Monitoraggio corsi d'acqua minori
- Intensa attività di campionamento



## Anfibi

- Sensibili alle condizioni dell'habitat
  - Facili da campionare



## Micromammiferi

- Indicatori ambientali
- Campionamento quantitativo problematico

# Stato delle ricerche

In Italia l'uso delle comunità animali come bioindicatori è scarsamente sviluppato, e lo stato delle ricerche non è molto avanzato.

Dalle ricerche estere è emerso che le comunità più mobili sono imprecise poiché permettono solamente di mettere in evidenza situazioni di stress non identificando i fattori specifici.

# Bibliografia bioindicatori subcellulari

<http://www.fratticci.com/varie/bioindicatori.pdf>

<https://ambiente.provincia.bz.it/acqua/ecotossicologia.asp>

<https://prezi.com/ls1slnalnaci/bioindicatori/>

<https://core.ac.uk/reader/38615540>

[https://www.arpa.vda.it/images/stories/ARPA/acquesuperficiali/pubblicazioni/tesi/tesispecializz\\_piovano.pdf](https://www.arpa.vda.it/images/stories/ARPA/acquesuperficiali/pubblicazioni/tesi/tesispecializz_piovano.pdf)

<https://www.slideshare.net/SilviaPiovano1/e-coli-come-bioindicatore-della-qualit-delle-acque-superficiali-caso-studio-della-valle-daosta-82959210>



## BIBLIOGRAFIA

- <https://www.arpa.umbria.it/pagine/monitoraggio-licheni>
- [http://sira.arpat.toscana.it/sira/documenti/manuale\\_ibl.pdf](http://sira.arpat.toscana.it/sira/documenti/manuale_ibl.pdf)
- <https://www.openstarts.units.it/bitstreams/302666bc-f25e-4eec-93ef-4666cf95b5a0/download>
- <https://www.openstarts.units.it/handle/10077/15314>
- <http://hdl.handle.net/10077/15314>
- <http://www.fratticci.com/varie/bioindicatori.pdf>

# BIBLIOGRAFIA BIOMONITORAGGIO ANIMALE

[https://moodle2.units.it/pluginfile.php/212773/mod\\_resource/content/1/Bozza%20Biomonitoraggio%20animale%20Sinuello.pdf](https://moodle2.units.it/pluginfile.php/212773/mod_resource/content/1/Bozza%20Biomonitoraggio%20animale%20Sinuello.pdf)

[https://it.wikipedia.org/wiki/Indicatore\\_biologico#:~:text=Con%20il%20termine%20indicatore%20biologico,valutare%20la%20qualit%C3%A0%20dell'acqua.](https://it.wikipedia.org/wiki/Indicatore_biologico#:~:text=Con%20il%20termine%20indicatore%20biologico,valutare%20la%20qualit%C3%A0%20dell'acqua.)

<https://www.nationalgeographic.it/alcuni-animali-ci-offrono-indizi-chiave-sul-cambiamento-climatico->

<https://www.anms.it/upload/rivistefiles/355.PDF>

[https://it.wikipedia.org/wiki/Mercurio\\_nei\\_pesci](https://it.wikipedia.org/wiki/Mercurio_nei_pesci)

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620307032>

<https://www.vegolosi.it/news/gli-uccelli-ci-dicono-che-lambiente-sta-soffrendo-dobbiamo-inquinare-meno/>

<https://www.izsvenezie.it/molluschi-bivalvi-sentinelle-bioaccumulo-nanoparticelle/>

# Bibliografia biomonitoraggio umano

<https://www.issalute.it/index.php/la-salute-dalla-a-alla-z-menu/b/biomonitoraggio-umano#che-cosa-%C3%A8-il-biomonitoraggio>

[https://www.bag.admin.ch/bag/it/home/gesund-leben/umwelt-und-gesundheit/chemikalien/chemikalien-im-alltag/human-biomonitoring/was-ist-human-biomonitoring.html#:~:text=Con%20biomonitoraggio%20umano%20\(human%20biomonitoring,il%20latte%20materno%20e%20i%20capelli.](https://www.bag.admin.ch/bag/it/home/gesund-leben/umwelt-und-gesundheit/chemikalien/chemikalien-im-alltag/human-biomonitoring/was-ist-human-biomonitoring.html#:~:text=Con%20biomonitoraggio%20umano%20(human%20biomonitoring,il%20latte%20materno%20e%20i%20capelli.)

<https://www.isde.it/wp-content/uploads/2015/06/2011-8-Medico-e-Bambino-Latte-materno-diossine-e-PCB-GentiliniBurgioBolognini-e-al..pdf>

<https://www.ecofoodfertility.it/>