



# Il biomonitoraggio

I macroinvertebrati, i licheni, le api ...

# Indice



Introduzione: il biomonitoraggio

I bioaccumulatori: gli iperaccumulatori, i licheni

I bioindicatori: i licheni e il rettangolo di Amman, i macroinvertebrati, le api

Il biomonitoraggio del suolo

Test di tossicità

Photo credits - Sitografia

# Introduzione

BioTechnologiesSanitarie.it

# Introduzione

La pressione antropica e il relativo degrado ambientale è più o meno rilevante nei diversi ecosistemi.

In questo ruscello in cui confluiscono le acque acide di una miniera di rame (vicino alla città di Amlwch - Irlanda) è ben evidente.



# Introduzione

In altri casi invece il degrado non è visibile concretamente.

Una batteria abbandonata in un prato non sembra pericolosa. In realtà rilascia sostanze corrosive e metalli pesanti che sono invece altamente inquinanti e che nel tempo andranno ad incidere sulla matrice ambientale.



Il controllo di un ecosistema non può essere affidato soltanto a test fisici e chimici. Da soli non bastano a svolgere un controllo ambientale. Le difficoltà sono tante:

- scarsa conoscenza sulle migliaia di molecole sintetiche presenti nelle tre matrici ambientali
- difficoltà nel misurare concentrazioni spesso molto basse

# Introduzione

Riprendiamo il primo punto.

Scarsa conoscenza sulle migliaia di molecole sintetiche presenti nelle tre matrici ambientali.

Spesso non si conosce neanche il nome, l'origine e la formula chimica. Tanto meno, quindi, la loro pericolosità e la biodisponibilità (se una molecola non è biodisponibile non ha effetti dannosi su un organismo vivente). Difficile trovare strumenti e mezzi per rilevarle.

# Introduzione

E questo succede sia direttamente nelle matrici ambientali, dove sono diffuse, quanto negli organismi viventi quando non si conoscono le modalità di assunzione, la loro biotrasformazione, il meccanismo d'azione e l'escrezione.



Il cielo notturno visto dalla palude di Luhasoo, in Estonia, con l'inquinamento luminoso sullo sfondo.

# Introduzione

Secondo punto.

*Difficoltà nel misurare concentrazioni spesso molto basse.*

Oltre a questa difficoltà abbastanza comprensibile si deve aggiungere anche che le emissioni di contaminanti possono essere puntiformi o diffuse, continue o discontinue. E soprattutto soggette a trasformazioni ignote, ignote come le molecole protagoniste.

Per superare tutte queste difficoltà si ricorre a organismi che sono sensibili alle variazioni di molti parametri dell'ambiente in cui vivono: quindi si parla di biomonitoraggio

Questa pratica si affida a due tipi di organismi:

- bioaccumulatori
- bioindicatori

# Bioaccumulatori

BioTechnologiesSanitarie.it

# Bioaccumulatori

I **bioaccumulatori** sono organismi in grado di sopravvivere in presenza di un inquinante e accumularlo.

In questo modo monitorando la presenza della sostanza al loro interno si ottengono molti dati quantitativi e qualitativi su diverse sostanze xenobiotiche e se ne può seguire l'evoluzione nel tempo.

BioTecnologieSanitarie.it

# Bioaccumulatori

Il mondo vegetale è pieno di esempi di accumulatori dinamici. Il più conosciuto è il **trifoglio** che grazie ai batteri simbiotici nelle sue radici riesce a sottrarre all'atmosfera una grande quantità di azoto gassoso.



Genere: Trifolium

# Bioaccumulatori

Ma quando si parla di accumulatori nel biomonitoraggio si intendono per lo più gli iperaccumulatori. Per esempio piante in grado di crescere in terreni altamente inquinati dai metalli. Esse sono in grado di assorbirli attraverso le radici e accumularli in diversi tessuti, anche a notevoli concentrazioni, senza ricavarne alcun danno a differenza di piante simili.

# Bioaccumulatori

La spiegazione è legata ad una differente espressione e regolazione genica.

Tali piante sono molto utili anche nel fitorisanamento.

La foto di lato mostra una specie del genere *Alyssum* che vive nelle fessure delle rocce.



*Alyssum montanum*

# Bioaccumulatori

L'Alisso è stato studiato perché in alcune sue foglie è stato trovato fino all'1% di nichel. Quantità letale per la maggior parte di altre piante.



Alyssum montanum

# Bioaccumulatori

Un'altra famiglia che offre grandi speranze è quella delle Brassicacee a cui appartiene la **Senape indiana** (*Brassica juncea*, nella foto). Viene utilizzata nel fitorisanamento soprattutto del cadmio. Metodo più economico e facile rispetto ad altri.



# Bioaccumulatori

Molto interessanti sono i **licheni** che possono essere usati nella doppia veste di bioaccumulatori e bioindicatori. I licheni sono organismi derivati dalla simbiosi tra un autotrofo (cianobatterio o alga) e un fungo (Basidiomicete o Ascomicete).



Rhizocarpon geographicum  
Lichene crostoso

# Bioaccumulatori

Il vantaggio di questa associazione è reciproco in quanto il fungo sfrutta le sostanze nutritive organiche prodotte dall'organismo autotrofo mentre quest'ultimo riceve in cambio acqua, protezione e sali minerali.



Usnea  
Lichene fruticoso

# Bioaccumulatori

I licheni sono ubiquitari e spesso sono considerati pionieri in quanto si insediano in ambienti rocciosi dove si aprono delle microfessurazioni in cui si possono depositare sostanze organiche. Aprono la strada, quindi, ad altre specie.



Pamelia - Lichene foglioso

# Bioaccumulatori

I licheni hanno un metabolismo strettamente associato all'ambiente in cui vivono per tutto il loro ciclo vitale. Non avendo stomi assorbono dall'aria diverse molecole, anche inquinanti, tramite scambi gassosi di superficie.



Cladonia portentosa  
Lichene composto

# Bioaccumulatori

È tramite questa modalità che riescono ad accumulare diverse sostanze inquinanti e a poter essere utilizzati come bioindicatori o bioaccumulatori. Cominciamo da questo ultimo ruolo.



Lobaria pulmonaria  
Lichene foglioso sensibile  
all'inquinamento dell'aria

# Bioaccumulatori

I metalli pesanti sono liberati in atmosfera dai processi di estrazione e lavorazione, dalla combustione di petrolio e derivati e di carbone e come prodotto di rifiuto nell'incenerimento di rifiuti. Possono aderire al microparticolato e in questo modo essere trasportati anche a grande distanza dal vento. Per questi motivi bisogna stare molto attenti alla scelta dei licheni da esaminare come bioaccumulatori.

# Bioaccumulatori

La tecnica è questa. In Italia si lavora in particolare su Flavoparmelia caperata, lichene foglioso che colonizza essenzialmente le cortecce degli alberi. I campioni vengono raccolti, essiccati, ripuliti, polverizzati, omogeneizzati.



Flavoparmelia caperata  
Lichene foglioso

# Bioaccumulatori

Dopo questa fase iniziale vengono sottoposti a spettrofotometria di assorbimento atomico per cercare i metalli pesanti.

In particolare si ricercano: cadmio, cromo, nichel, piombo e zinco. Spesso si segue nel tempo una particolare attività come l'apertura di una discarica per cui attraverso i licheni si può registrare la situazione dal punto zero in avanti.

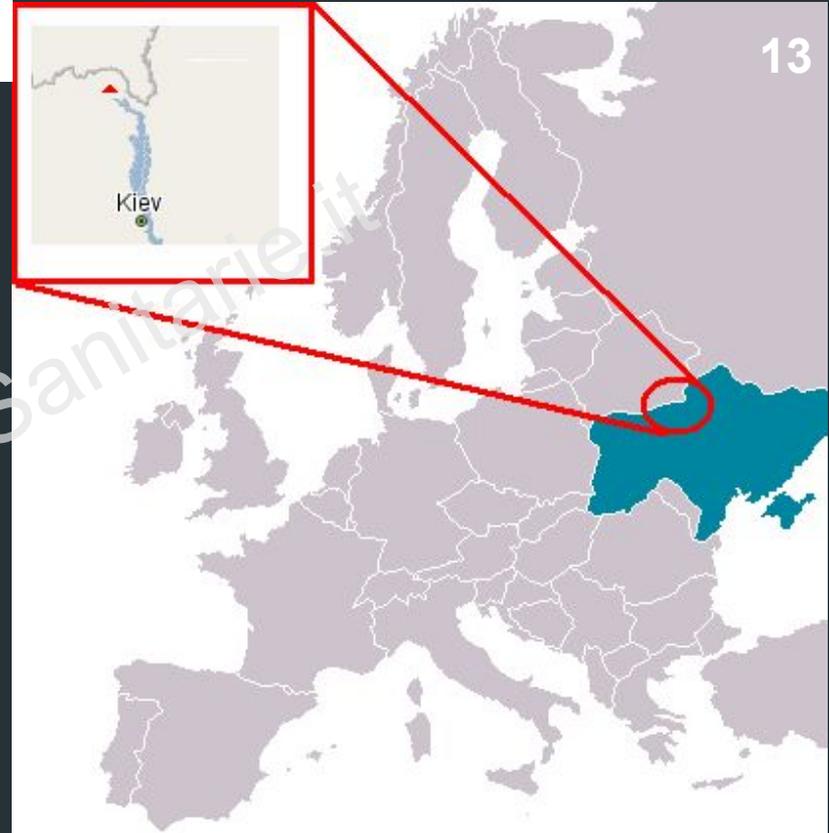
# Bioaccumulatori

I dati ottenuti devono però essere interpretati tenendo conto della sinergia che si può avere tra diversi metalli presenti anche in concentrazioni molto piccole.

I licheni possono essere utilizzati per testare aree industriali persino nel caso in cui si verifichi il “deserto lichenico”, cioè l’assoluta loro assenza nell’ambiente. In questo caso vengono prelevati da altre aree, trapiantati ed esposti all’aria. I risultati terranno conto del disagio del trapianto e degli effetti sulla bioaccumulazione.

# Bioaccumulatori

I licheni assorbono anche i radionuclidi come testimonia l'episodio delle renne artiche che si è verificato dopo Černobyl' nel 1986, il più grave disastro in una centrale nucleare.



Cartina geografica dell'Est europeo con l'indicazione dell'Ucraina

# Bioaccumulatori

Infatti nella regione artica e subartica è stato osservato un elevato trasferimento di radiocesio dai licheni alla carne di renna (i licheni sono la principale fonte di cibo delle renne) e, dunque, all'uomo.



Renna - Alaska

# Bioaccumulatori

Ciò si è verificato in Finlandia, Norvegia, Russia e Svezia. I governi interessati sono stati costretti ad imporre restrizioni alla caccia e ad obbligare a sostituire il cibo abituale delle renne con foraggio non contaminato.



Renna che si alimenta con mangime

# Bioindicatori

BioTechnologyeSanitarie.it

# Bioindicatori

I **bioindicatori** sono organismi che al, contrario dei precedenti, presentano evidenti anomalie nella morfologia, fisiologia, presenza e distribuzione nell'habitat sotto l'influenza degli inquinanti.

I bioindicatori però devono presentare determinate caratteristiche.

I bioindicatori devono essere:

- facilmente campionabili e quindi accessibili anche nelle varie stagioni (con scarsa mobilità)
- ampiamente distribuiti nell'area di studio
- di facile identificazione
- di lungo ciclo vitale
- con uniformità genetica
- facilmente utilizzabili per operazioni di quantificazione

# Bioindicatori

Se ripartiamo dai **licheni** possiamo capire bene qual è la differenza nel biomonitorare un'area usando un organismo vivente come bioindicatore o bioaccumulatore.

I licheni per esempio sembrano essere molto sensibili all'anidride solforosa, all'ossido di azoto, al piombo, rame, zinco e al particolato.

# Bioindicatori

È possibile notare quindi:

- variazioni nel colore tipico delle specie
- presenza di macchie o zone necrotiche
- tendenza al distacco del lichene dal substrato
- la diminuzione numerica degli individui e delle specie

Tutto ciò si esprime con un Indice di Purezza Atmosferica o I.A.P. Il metodo è stato messo a punto dall'Università di Berna e riconosciuto a livello internazionale.

# Bioindicatori

Non dissimile è l'Indice di Biodiversità Lichenica che invece è stato messo a punto da un gruppo di lavoro italiano. In pratica si tratta di calcolare il numero, la frequenza e la tolleranza dei licheni.



Licheni fruticosi e fogliosi

# Bioindicatori

La tecnica è semplice. Vediamo il metodo svizzero. Si usano licheni epifiti, che si sviluppano sul tronco degli alberi. Gli alberi devono avere un tronco dritto, di diametro non maggiore di 80 cm, senza ferite e appartenenti a due specie rappresentative dell'area in esame e che non abbiano subito trattamenti antiparassitari o colorazioni. Inoltre non ci devono essere muschi.

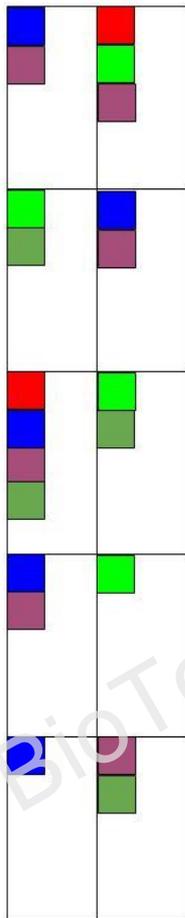
# Bioindicatori

Si poggia poi un reticolo (reticolo di Amman) di dimensione predefinita (50X40 cm), a 120 cm di terra, sull'area di maggiore presenza di licheni. Il reticolo a sua volta deve essere suddiviso in 10 rettangoli (10X20 cm).

Si contano le specie di licheni in ognuno dei dieci rettangoli. La somma di ciascuna specie è la frequenza. La frequenza dell'albero è la somma delle frequenze dei licheni. La frequenza dell'area esaminata la media aritmetica delle frequenze. Così viene definito lo I.A.P.

# Bioindicatori

R  
E  
T  
T  
A  
N  
G  
O  
L  
O  
  
D  
I  
  
A  
M  
M  
A  
N



Specie 1:



Specie 2:



Specie 3:



Specie 4:



Specie 5:



La specie 1 è presente in 2 rettangoli, la sua frequenza è quindi 2.

La specie 2 è presente in 4 rettangoli, la sua frequenza è quindi 4.

La specie 3 è presente in 5 rettangoli, la sua frequenza è quindi 5.

La specie 4 è presente in 6 rettangoli, la sua frequenza è quindi 6.

La specie 5 è presente in 4 rettangoli, la sua frequenza è quindi 4.

La frequenza dell'albero è la somma delle frequenze delle varie specie di licheni.

**I.A.P. dell'albero.** Lo I.A.P. della stazione è data dalla media aritmetica del calcolo eseguito su ogni pianta.

# Bioindicatori

Ovviamente un valore elevato di I.A.P. è a favore di un'alta biodiversità e quindi di un'aria meno inquinata. Il metodo è ormai sufficientemente standardizzato e si integra con i dati analitici delle centraline di rilevamento sparse su tutto il territorio nazionale.



# Bioindicatori

Passando dall'aria all'acqua bisogna citare i [macroinvertebrati](#) che sono i bioindicatori più utilizzati.

Gli organismi viventi presenti nelle acque naturali sono suddivisi in maniera molto superficiale in pelagici e bentonici. I primi sono quelli che galleggiano in prossimità della superficie. I secondi vivono a contatto con il fondale, anche molto basso, o fissati ad un substrato. A questi due gruppi bisogna aggiungere anche il necton formato dai nuotatori attivi.

# Bioindicatori

I macroinvertebrati sono tutti organismi invertebrati delle dimensioni maggiori di 1 mm in media, quindi visibili ad occhio nudo. Vivono a contatto con il fondo di torrenti, ruscelli, fiumi e sono dei veri e propri indicatori biologici.



Larva di tricottero

# Bioindicatori

Infatti se l'ambiente in cui vivono non è molto degradato formano delle comunità molto ampie. Vi si trovano insetti (tricotteri, coleotteri, ditteri ...), crostacei (gamberi ...), molluschi (bivalvi e gasteropodi), anellidi, platelminti (planarie) ...



Planaria

Queste comunità sono molto sensibili alle variazioni ambientali e quindi alle immissioni di sostanze inquinanti che alterano il pH, l'ossigeno disciolto, la temperatura.

Le variazioni in queste comunità sono dei segnali indicatori di notevole importanza. Il metodo è stato messo a punto dopo attente analisi ripetute nel tempo ed è diventato un protocollo della CE - 2000/60.

# Bioindicatori

Le **api** sono un altro indicatore biologico di grande importanza.

In questo momento sono al centro di una grande problema, una vera e propria emergenza ecologica per la moria di cui soffrono da anni.



# Bioindicatori

Le api muoiono per una serie di concause: cambiamento climatico, inquinamento, uso indiscriminato di fitofarmaci, la varroa ed altri antagonisti naturali.



Varroa destructor



V. destructor su una pupa

# Bioindicatori

Le api sono ottimi indicatori biologici per una serie di motivi: coprono con il volo aree estese, hanno un corpo peloso che intrappola molte sostanze, sono facili da allevare e non hanno particolari esigenze nutritive, si riproducono molto.



Ape che impollina un fiore

# Bioindicatori

I pesticidi sono le sostanze a cui le api sono più sensibili.

La prova è la loro presenza nelle api morte trovate davanti all'alveare.

Ma sono indicatori anche della presenza di metalli pesanti e radionuclidi.



Un'ape mostra la sua proboscide

# Biomonitoraggio del suolo

BioTechnologySanitarie.it

# Biomonitoraggio nel suolo

Il suolo intrappola gli inquinanti in modo maggiore, specialmente quelli costituiti da molecola apolari e da ioni bi-trivalenti carichi positivamente.

In Italia si sta studiando l'argomento, anche se siamo indietro rispetto ad altre nazioni, e come bioindicatori vengono presi in considerazione microartropodi e nematodi

# Test di tossicità

BioTechnologiesSanitarie.it

# Test di tossicità

Prima di tutto bisogna introdurre il concetto di **ecotossicologia**.  
É stato introdotto da René Truhaut (un professore di tossicologia all'università di Parigi presso la facoltà di Medicina) nel 1969.  
Integra la tossicologia con l'ecologia e si prefigge di studiare gli effetti tossici causati da inquinanti naturali e sintetici su tutti i costituenti degli ecosistemi (animali, vegetali e microbi).

# Test di tossicità

A questo scopo vengono scelti organismi viventi (piante o animali) che sono collocati a diversi livelli della scala trofica e che sono molto sensibili a determinate sostanze inquinanti.

La scelta è ovviamente ben ponderata per consentire analisi di routine che siano affidabili. Tra questi organismi ci sono:

*Daphnia magna*, *Vibrio fischeri*, *Lepidium sativum*,  
*Pseudokirchneriella subcapitata* ...

# Test di tossicità

**Daphnia magna** è un piccolo crostaceo cladocero di acqua dolce, molto sensibile ai metalli pesanti. I neonati di meno di 24 ore vengono messi nel campione da analizzare e lasciati lì per 24 - 48 ore.



# Test di tossicità

Trascorso questo tempo si contano i sopravvissuti. I risultati vengono dati come percentuale di individui morti/immobilizzati oppure come valori  $EC_{50}$  cioè come concentrazione efficace della sostanza in esame che ne determina la morte/immobilizzazione nel 50% dei casi.

Il metodo applicato è l'UNI EN ISO 6341:2012 che sta ad indicare che segue normative ben precise.

# Test di tossicità

Test con batteri luminescenti.

Anche questo test è molto semplice e sfrutta la capacità che hanno alcuni batteri marini di emettere luce in condizioni ottimali.

Stiamo parlando di Vibrio fischeri che in genere vive in simbiosi con i sepiolidi.



Sepiolide che ospita Vibrio fischeri

# Test di tossicità

La bioluminescenza si riduce in presenza di sostanze tossiche in modo proporzionale alla loro concentrazione.

Il contatto con i campioni viene fatto a intervalli di 5, 15 e 30 minuti. La misura, eseguita con un luminometro, viene fornita in base alla dose efficace ( $EC_{50}$ ) che è in grado di far diminuire la luminescenza del 50%.

# Test di tossicità

Il **test di tossicità algale** è un test tossicologico in cui viene usata un'alga unicellulare verde: la Pseudokirchneriella subcapitata. Il test dura 4 giorni.

L'esito positivo per la presenza di una sostanza tossica è determinato da una diminuzione della normale proliferazione algale.

Se il campione testato non è tossico ma ricco di sostanze organiche il risultato è opposto.

# Test di tossicità

I test di fitotossicità.

I semi del **crescione** (*Lepidium sativum*) o del **cetriolo** (*Cucumis sativus*) presentano anch'essi una certa sensibilità a sostanze tossiche che si misura, dopo 72 ore di esposizione, in relazione alla germinazione e alla lunghezza della radichetta.



# Photo credits (slide 1 - 22)

Foto in copertina da pixnio.com

1 By Cls14 - Own work, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8860538>

2 CC BY-SA 2.0 it, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=164877>

3 By Martin Mark - Own work, CC BY-SA 4.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=45591215>

4 CC BY-SA 2.5, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=196821>

5 Di Enrico Blasutto at it.wikipedia, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8827734>

6 By thebittenword.com - Clagett Farm CSA Week 19, CC BY 2.0,  
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4179352>

7 CC BY-SA 1.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=222143>

8 Di Nessun autore leggibile automaticamente. Taka presunto (secondo quanto affermano i diritti d'autore). -  
Nessuna fonte leggibile automaticamente. Presunta opera propria (secondo quanto affermano i diritti d'autore).,  
CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=237940>

9 CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=222146>

10 CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=209480>

11 By Bernd Haynold - selbst fotografiert - own picture, CC BY-SA 3.0,  
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=3320107>

# Photo credits (slide 23 - 45)

- 12** By Jason Hollinger - This image is Image Number 240112 at Mushroom Observer, a source for mycological images. This tag does not indicate the copyright status of the attached work. A normal copyright tag is still required. See Commons:Licensing for more information., CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=22772824>
- 13** CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1712193>
- 14** Di Dean Biggins (U.S. Fish and Wildlife Service) - US FWS, DIVISION OF PUBLIC AFFAIRS, WO3772-023, Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=1214764>
- 15** By Chris 73 / Wikimedia Commons, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=25786>
- 16** Di Son of Groucho da Scotland - Flickr, CC BY 2.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=690279>
- 17** Immagine di mia proprietà
- 18** Immagine nel Pubblico Dominio
- 19** Di MyForest - Opera propria, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=11679443>
- 20** Di H. Krisp - Opera propria, CC BY 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=15010898>
- 21** Di Jon Sullivan - <http://pdphoto.org/PictureDetail.php?mat=pdef&pg=8202>, Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=35795>
- 22** Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=140969>

# Photo credits (slide 45 - 59)

**23** Di Pollinator (own work) - English Wikipédia, CC BY-SA 3.0,

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2652591>

**24** Pubblico dominio, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=200970>

**25** Di Louise Docker - <http://www.flickr.com/photos/aussiegall/6105263553>, CC BY 2.0,

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=16416445>

**26** Public Domain, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=116935>

**27** Di Hajime Watanabe - PLoS Genetics, March 2011, CC-BY 2.5,

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=14755961>

**28** By Jamie Foster - Direct email from the author for the purpose of posting the image on Wikimedia/Wikipedia, CC

BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=29613423>

**29** Di de:Benutzer:Rainer Zenz - Foto propria, CC BY-SA 3.0,

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=592995>

# Sitografia

<http://www.isprambiente.gov.it/it/temi/aria/qualita-dellaria/biomonitoraggio>

[http://www.cisba.eu/images/rivista/biologia\\_ambientale/Ba2006-2\\_VENTENNALE/02- Biagini et al-Bioindicatori suolo.pdf](http://www.cisba.eu/images/rivista/biologia_ambientale/Ba2006-2_VENTENNALE/02- Biagini et al-Bioindicatori suolo.pdf)

<http://www.aip-suoli.it/suolo/biomonitoraggio/bioindicazione.htm>

[https://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_hyperaccumulators](https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_hyperaccumulators)

<https://it.wikipedia.org/wiki/Lichene>

[http://www.arpat.toscana.it/temi-ambientali/aria/biomonitoraggio-lichenico/ar\\_bioaccumulo.html](http://www.arpat.toscana.it/temi-ambientali/aria/biomonitoraggio-lichenico/ar_bioaccumulo.html)

<http://www.epicentro.iss.it/temi/ambiente/SintesidatiChernobyl.pdf>

<http://www.provincia.bz.it/agenzia-ambiente/acqua/test-ecotossicologici.asp>

<http://www.provincia.bz.it/agenzia-ambiente/acqua/test-ecotossicologici.asp>