

SINTESI TESI SPERIMENTALE MAGISTRALE:

Utilizzo di batteri metallotolleranti per il miglioramento delle capacità fitoestraenti di *Lemna minor* L.

Come evidenziato nei capitoli introduttivi di questa tesi il mondo deve affrontare tantissime problematiche e tra queste spiccano notevolmente quelle inerenti all'inquinamento da parte dei metalli pesanti. Di conseguenza i paesi industrializzati stanno studiando nuovi metodi per cercare di tamponare il più possibile questo tipo di problema tramite varie tecniche che permettono anche di utilizzare i servizi ecosistemici offerti dalla natura stessa. Il presente elaborato propone uno di questi sistemi che sfrutta la fitodepurazione con una tecnica di rizodegradazione. In questo modo dei batteri in combinazione con le piante permettono di biodegradare sostanze più complesse come i metalli pesanti, in sostanze più semplici che possono essere successivamente assimilate e distrutte all'interno della pianta, senza circolare liberamente nell'ambiente ed inizializzare processi di biomagnificazione ecologica che portano a perdita di biodiversità. Per le sperimentazioni è stata utilizzata la macrofita *Lemna minor* che si può trovare ovunque essendo una specie invasiva. In questo modo ci si potrebbe servire della sua capacità riproduttiva molto veloce e la sua resistenza agli stress biotici e abiotici, rendendola un potenziale strumento per la fitodepurazione a lungo termine. Tutte le sperimentazioni effettuate per lo sviluppo della seguente tesi hanno evidenziato questi risultati:

- Dalla macrofita *Phragmites australis* raccolta presso Roio Piano sono stati ricavati, tramite un isolamento, 16 ceppi batterici.
- Di tutti i ceppi batterici considerati, soltanto 5 sono stati selezionati dopo il test di metallotolleranza e l'analisi dei tratti PGPB e la colorazione di Gram per la sperimentazione *in planta*. Quest'ultimi erano F1, F3, F7, F8, R2.

Dopodichè è stato fatto un disegno sperimentale con le seguenti condizioni sperimentali per 3 repliche ciascuna, organizzato in questo modo:

1. CTL 1: H₂O + *Lemna minor*
2. CTL 2: H₂O + *Lemna minor* + metalli pesanti mix
3. TRT 1: H₂O + *Lemna minor* + inoculo
4. TRT 2: H₂O + *Lemna minor* + inoculo + metalli pesanti mix

Di conseguenza ogni 5 giorni per 15 giorni di attesa totali si potevano osservare e registrare cambiamenti morfologici della lenticchia d'acqua.

Dall'analisi dei parametri biometrici effettuati durante la sperimentazione *in planta* si evidenzia:

- una produzione di clorofilla a, b, TOT maggiore nelle condizioni sperimentali dove la *Lemna minor* è a contatto con i metalli pesanti rispetto alle condizioni sperimentali dove quest'ultimi non sono presenti sia per quanto riguarda i controlli e sia per quanto riguarda i trattati, suggerendo uno sforzo maggiore da parte della pianta per sopravvivere alle condizioni di stress abiotico a cui è stata sottoposta nella sperimentazione.
- Non si riscontrano differenze significative per quanto riguarda la %biomassa tra tutte le condizioni sperimentali, suggerendo una differenza di peso esigua tra il peso secco della macrofita morta e il peso fresco della macrofita viva, necessari per il calcolo finale del parametro indicato.

- Dall'analisi della lunghezza delle radici si evidenzia uno sviluppo maggiore della *Lemna minor* a contatto con il consorzio batterico rispetto a quella che era solamente a contatto con i metalli pesanti. Questo significa che c'è una resistenza fisiologica maggiore a livello radicale, grazie alla combinazione con i 5 ceppi batterici selezionati, dimostrando un effetto positivo nei confronti di *Lemna minor*.

Inoltre, esaminando la percentuale di sopravvivenza della lenticchia d'acqua nelle varie condizioni sperimentali ogni 5 giorni per 15 giorni di osservazione, si evince un decremento significativo della condizione sperimentale *Lema minor* + metalli pesanti (L HM) rispetto a tutte le altre condizioni sperimentali che rimangono, nel susseguirsi dei giorni di osservazione, molto simili tra loro. Questo suggerisce un effetto benefico da parte del consorzio batterico su *Lemna minor* per poter permettere a quest'ultima una tolleranza maggiore allo stress abiotico considerato con relativa sopravvivenza fino all'ultimo giorno sperimentale. Infine, le analisi preliminari svolte attraverso la metodica ICP MASSA hanno permesso di evidenziare come all'interno delle acque trattate con *Lemna minor* + metalli pesanti (L HM) ci sia stato un decremento rispetto alla concentrazione iniziale. Tuttavia, i migliori decrementi sono stati registrati nella condizione sperimentale *Lemna minor* + metalli pesanti+ consorzio batterico (L HM B) che ha permesso di ottenere dei valori finali molto più bassi, tanto da arrivare al limite di quantificazione permesso attraverso lo strumento ($< 0,01$).

Dai risultati ottenuti tramite questo lavoro di tesi sperimentale sono stati pertanto raccolti importanti evidenze scientifiche relative al miglioramento del fitorisanamento da parte di *Lemna minor* in associazione con batteri metallo tolleranti. Esistono altri aspetti da valutare e da approfondire maggiormente che rendono *Lemna minor* un potenziale strumento nel biorisanamento delle acque reflue. Per avvalorare i risultati ottenuti da questo lavoro di tesi, sono necessari maggiori approfondimenti relativi a:

- Caratterizzazione dei ceppi batterici selezionati.
- Verifica della presenza di una simbiosi mutualistica che possa prolungare l'effetto benefico della combinazione analizzata a lungo termine.
- comportamento della combinazione tra *Lemna minor* e il consorzio batterico utilizzato per questa tesi, in condizioni completamente naturali come, ad esempio, all'interno di vasche di fitorisanamento possedute da molte aziende come la Gran Sasso Acqua o l'Arta Abruzzo.

Si potrebbe, infatti, utilizzare questa combinazione analizzata in laboratorio, per scopi prettamente depurativi, andando a recuperare, proteggere o ripristinare delle matrici ambientali contaminate da metalli pesanti, evitando in questo modo una biomagnificazione ecologica molto pericolosa per la biodiversità. Ad ogni modo, i risultati ottenuti centrano a pieno i propositi descritti nell'obiettivo 15 dell'Agenda 2030 che mirano a proteggere, ripristinare e promuovere un uso sostenibile degli ecosistemi.

Vittorio Marzano