

Dieci anni di ricerche sul perché i licheni sono ozono tolleranti

Mauro TRETACH

Università degli Studi di Trieste –
Dipartimento di Scienze della Vita, Via L.
Giorgieri 10 - Trieste
tretiach@units.it

Pisa, 24 novembre 2016

Stato dell'arte (2)

Le informazioni degli effetti dell'O₃ sui licheni erano scarse e contraddittorie:

- meno di una decina di articoli su fumigazioni
- pochi di più su lavori di "campo"

Scheidegger & Schroeter (1995)

Fluorescenza F_v/F_m	Species	Fumigated	Control	Red.
	<i>A. ciliaris</i>	0.619 ± 0.014 ^a	0.686 ± 0.009	9.7
	<i>C. nigrescens</i>	0.271 ± 0.012 ^a	0.330 ± 0.011	17.6
	<i>E. prunastri</i>	0.453 ± 0.023 ^a	0.566 ± 0.012	20.0
	<i>H. bitteri</i>	0.535 ± 0.014 ^b	0.583 ± 0.007	8.2
	<i>L. pulmonaria</i>	0.325 ± 0.045 ^a	0.579 ± 0.016	43.8
	<i>P. furfuracea</i>	0.526 ± 0.029 ns	0.579 ± 0.024	9.0
	<i>U. rigida</i>	0.542 ± 0.012 ns	0.565 ± 0.016	4.2

- Diminuzione della fotosintesi
- Danni a livello ultrastrutturale
- Danni morfologici

Nash & Sigal (1979)

Ross & Nash (1983) →

Tarhanen *et al.* (1997)

Effetti limitati

Rosentreter & Ahmadjian (1977)

Calatayud *et al.* (2000) →

**NO
effetti**

Estrema variabilità nelle metodiche di trattamento:

- Concentrazioni
- Tempi di esposizione
- Modalità di idratazione

Progetto PRIN 2008

Tre unità operative

Trieste



Pisa



Genova



In collaborazione con

**Imperial College
London**

- Lo stato di idratazione modifica la tolleranza del lichene agli inquinanti aerodiffusi
- Trapianti artificialmente idratati non mostrano effetti negativi a livello di emissione di fluorescenza clorofilliana, contenuto di glutazione ridotto, integrità delle membrane cellulari

Tretiach M., Pavanetto S., Pittao E., Sanità di Toppi L., Piccotto M., **2012** Water availability modifies tolerance to photo-oxidative pollutants in transplants of the lichen *Flavoparmelia caperata*. *Oecologia* 168: 589-599.

Obiettivi

1. Esposizioni in Open Top Chambers (OTCs)



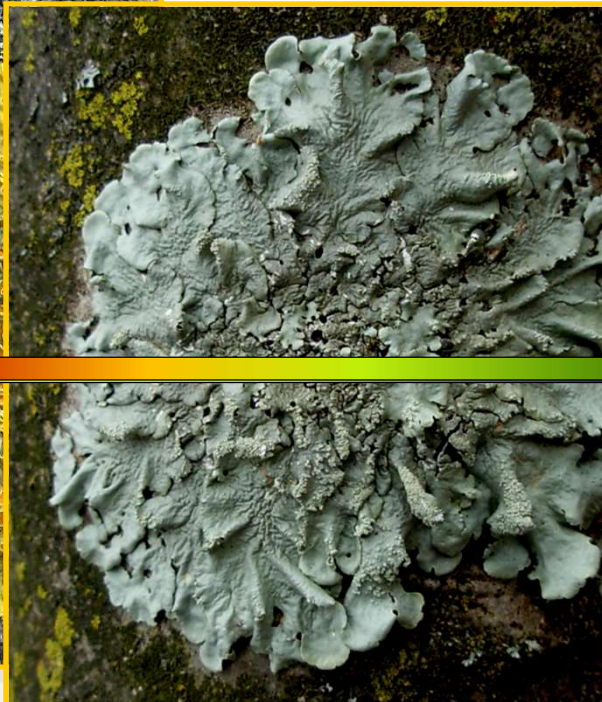
Verificando la fattibilità di trapianti lichenici in OTCs

2. Esposizioni in camere di fumigazione

Le specie-campione



*Xanthoria
parietina*



*Flavoparmelia
caperata*



*Parmotrema
perlatum*

Queste specie sono state selezionate per le loro differenti caratteristiche ecologiche e di resistenza agli inquinanti

OTCs

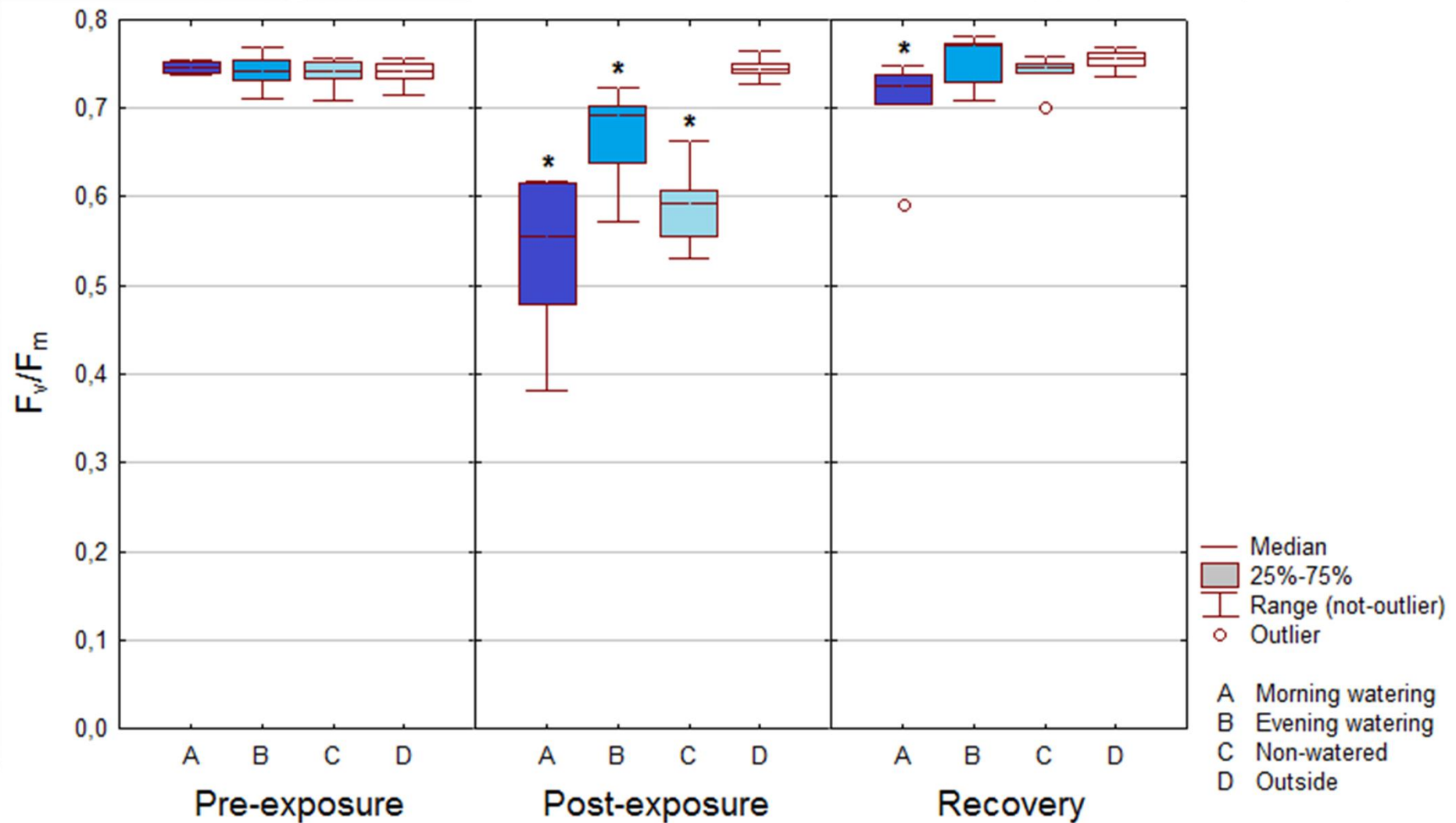
- Esposizione a nord (per evitare l'illuminazione diretta dei campioni)



- 3 diversi regimi di idratazione
+ un gruppo di controllo all'esterno
- 4 diverse concentrazioni "teoriche"
- 6 settimane di esposizione

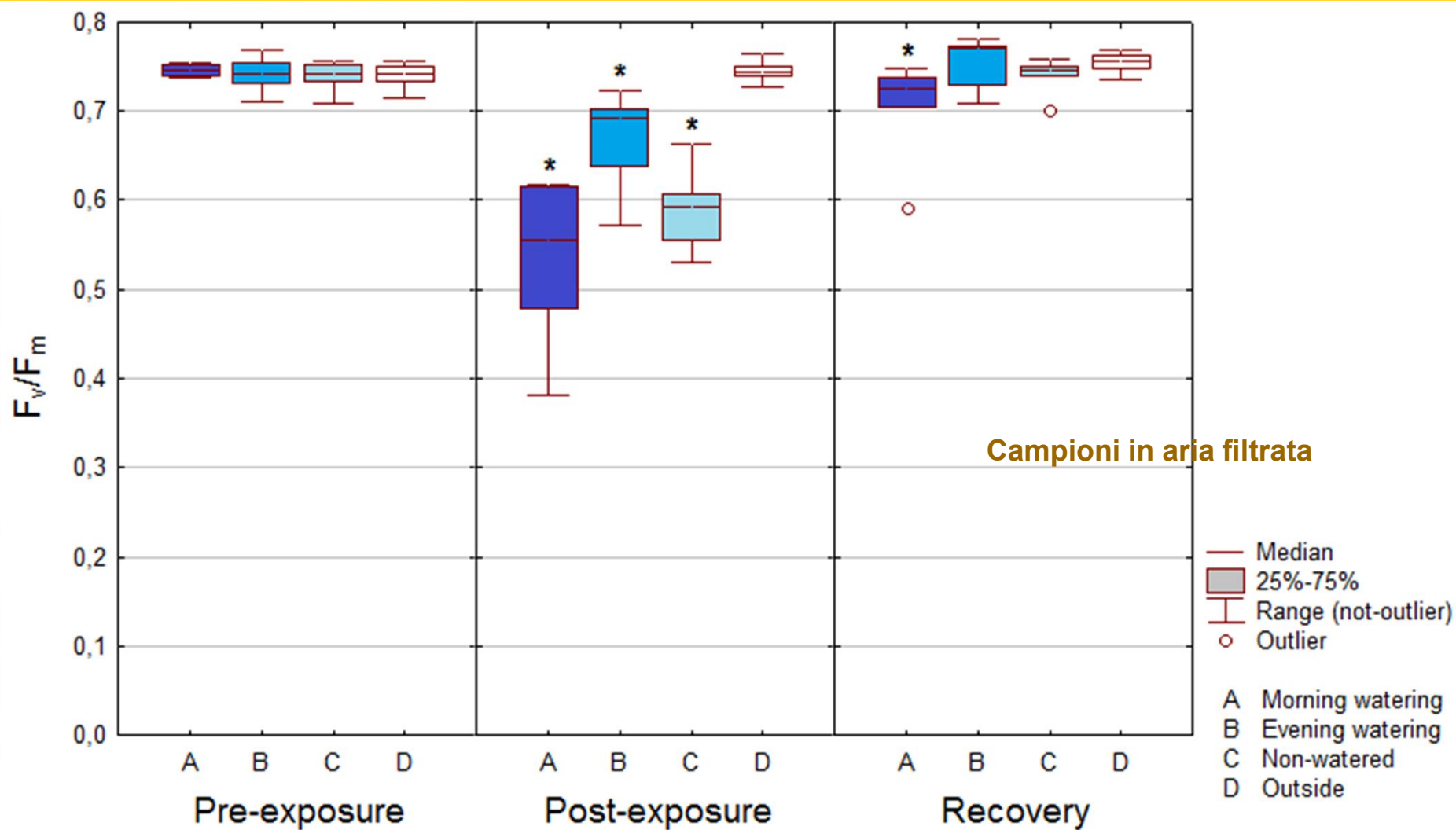
➤ Registrazione costante dei dati climatici



F. caperata in aria filtrata

Differenze significative rispetto alle misure dei campioni esposti nel bosco: * = $p < 0,01$ (Test U di Mann-Whitney)

F. caperata trattata con ozono



Differenze significative rispetto alle misure dei campioni esposti nel bosco: * = $p < 0,01$ (Test U di Mann-Whitney)

OTCs: Conclusioni

- I parametri di fluorescenza clorofilliana sono modificati significativamente dal protrarsi della disidratazione e dalle tempistiche di idratazione.
- L'ozono alle condizioni utilizzate non esercita alcun effetto significativo

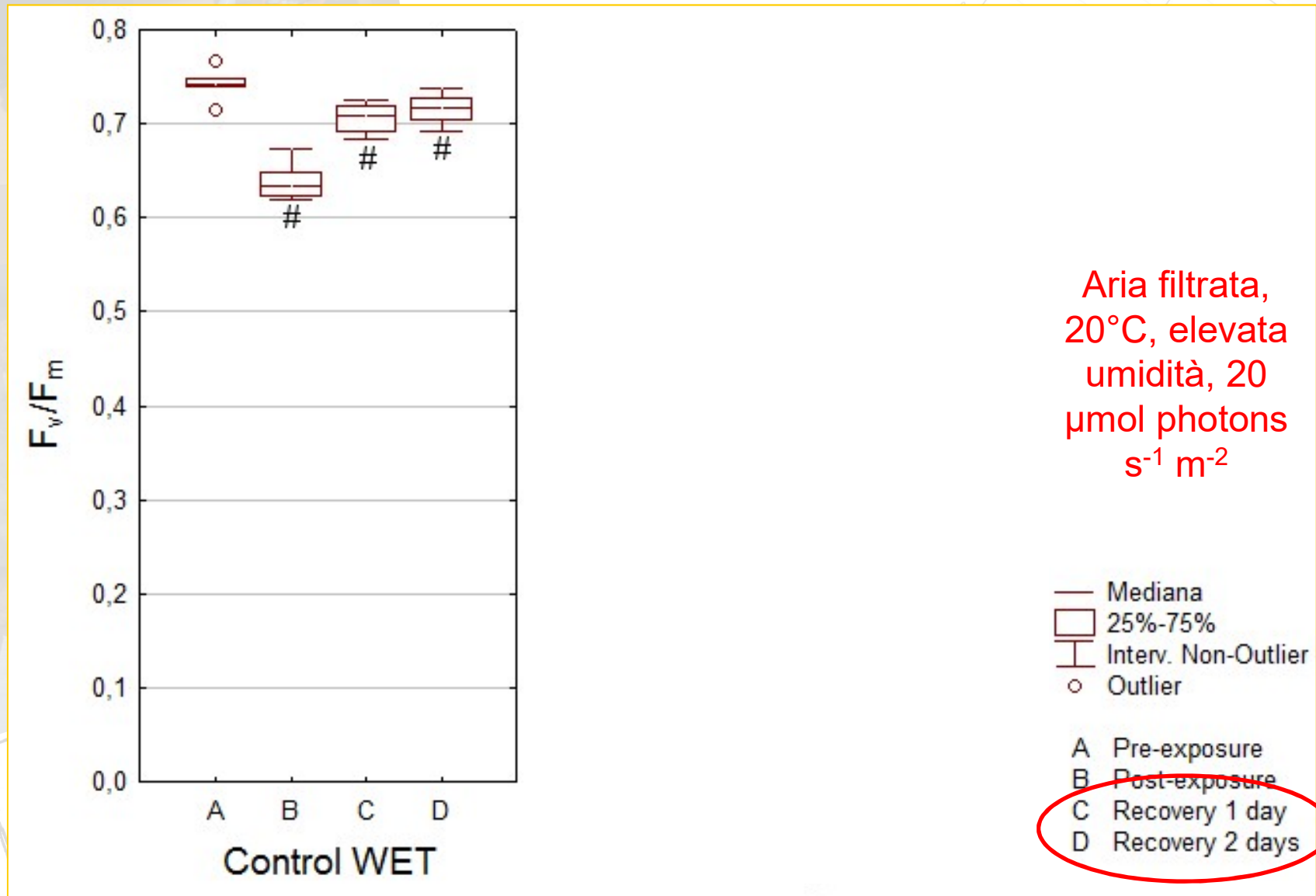
Bertuzzi S., Davies L., Power S. A., Tretiach M., **2013**. Why lichens are bad monitors of ozone pollution? *Ecological Indicators*, 34: 391-397.

Camere di fumigazione

- I campioni venivano esposti in una cella a temperatura (20°C), due valori di umidità (20 e 80%RH) e luminosità controllate
- Per ciascun trattamento i campioni sono stati divisi in due gruppi:
 1. Idratato ogni mattina
 2. Non idratato
- I campioni sono stati esposti per 14 giorni e sottoposti a 0 (controllo) o 250 ppb di O₃ per 5 ore al giorno

Pellegrini E., Bertuzzi S., Candotto Carniel F., Lorenzini G., Nali C., Tretiach M., **2014**. Ozone tolerance in lichens: a possible explanation from biochemical to physiological level using *Flavoparmelia caperata* as test organism. *Journal of Plant Physiology* 171: 1514-1523.

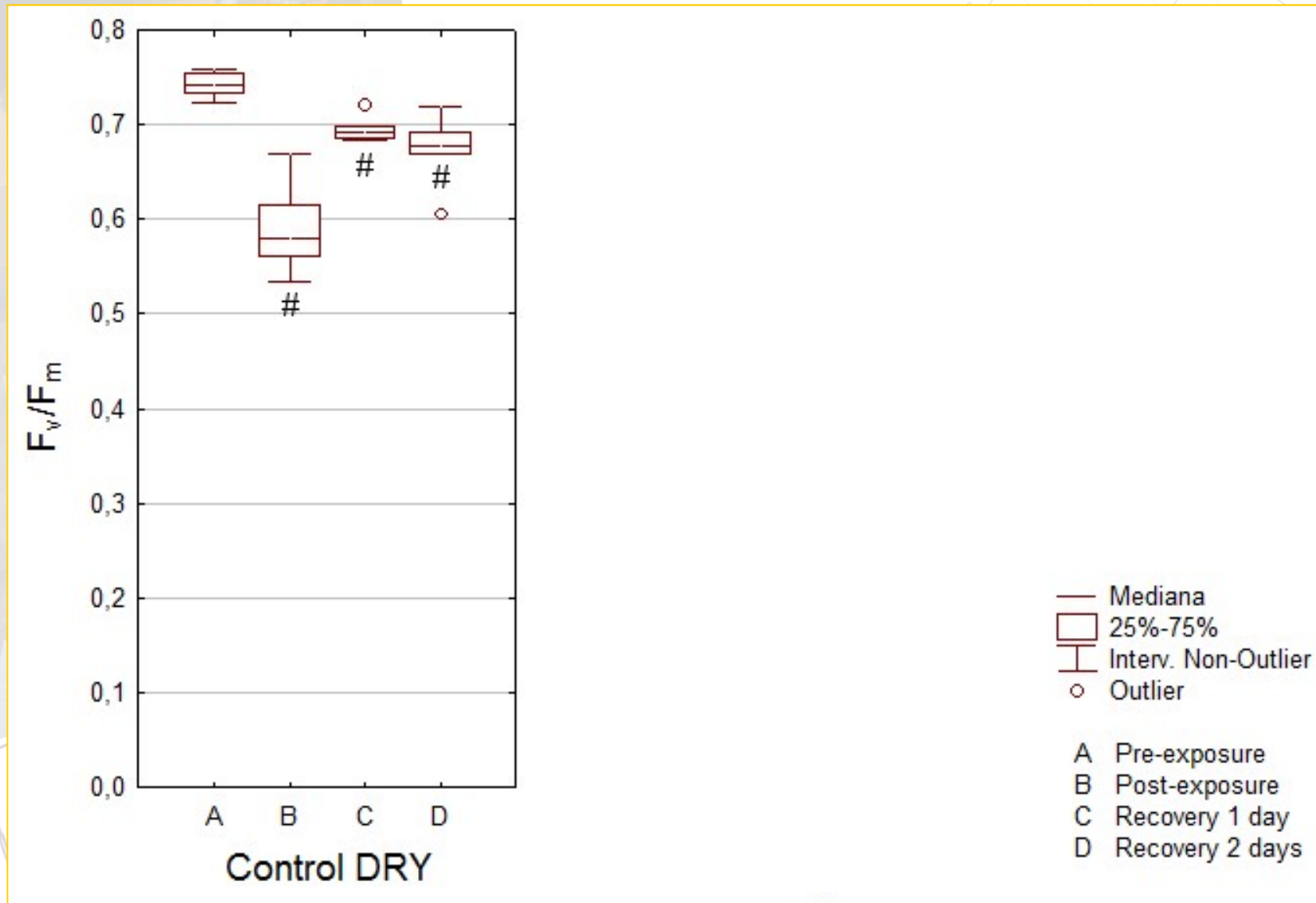
Fluorescenza: campioni idratati



Differenze significative rispetto alle misure dei campioni di controllo: * = $p < 0,01$ (Test U di Mann-Whitney)

Differenze significative rispetto alle misure pre-esposizione: # = $p < 0,01$ (Test di Wilcoxon)

Fluorescenza: campioni non idratati

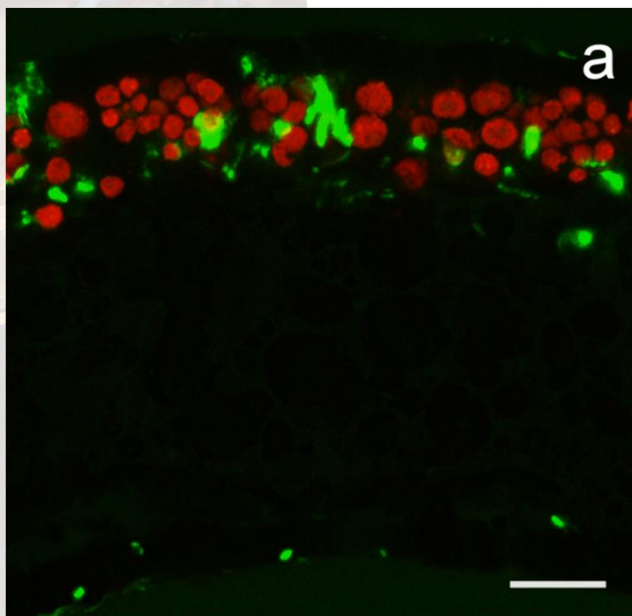


Differenze significative rispetto alle misure pre-esposizione: # = $p < 0,01$ (Test di Wilcoxon)

ROS: localizzazione

Ozono e licheni

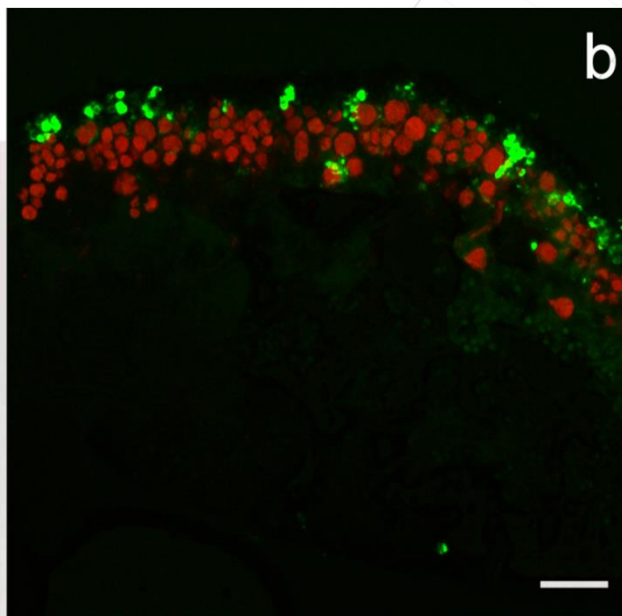
Cont.
DRY



a

b

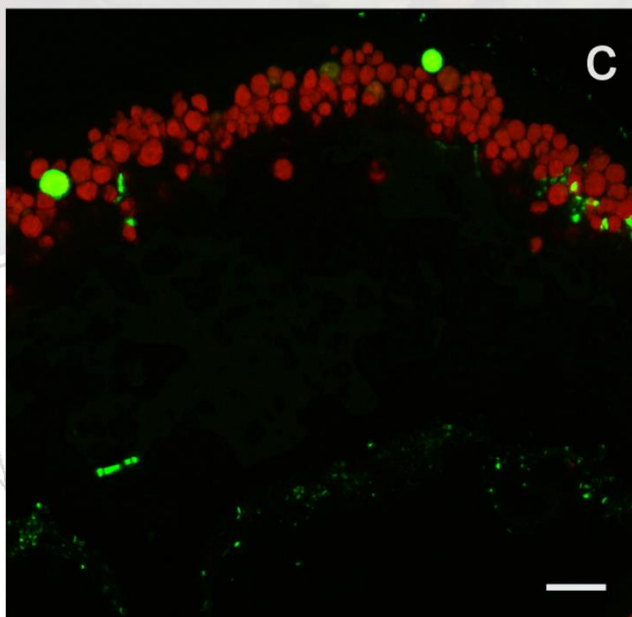
O₃
DRY



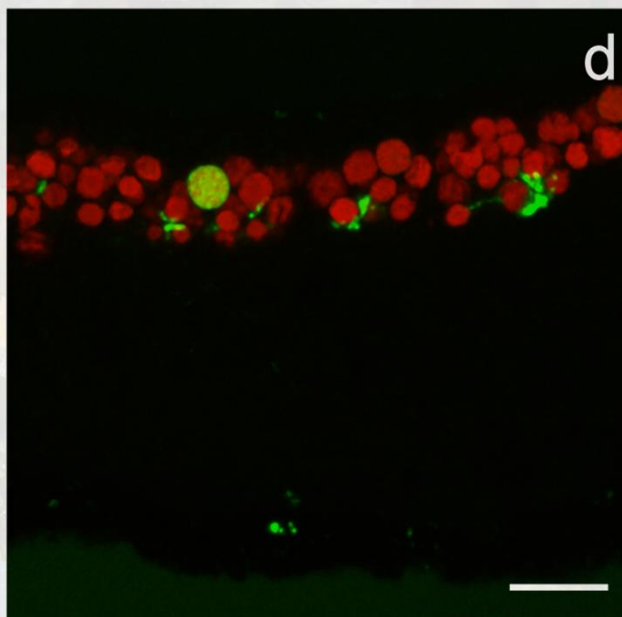
c

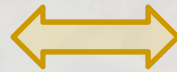
d

Cont.
WET



O₃
WET





Bertuzzi S., Pellegrini E., Candotto Carniel F., Incerti G., Lorenzini G., Tretiach M., Nali C., **2016**. Ozone and desiccation tolerance in chlorolichens are intimately connected: a case study based on two species with different ecology. *Environmental Science and Pollution Research*, submitted [23/09/2016].

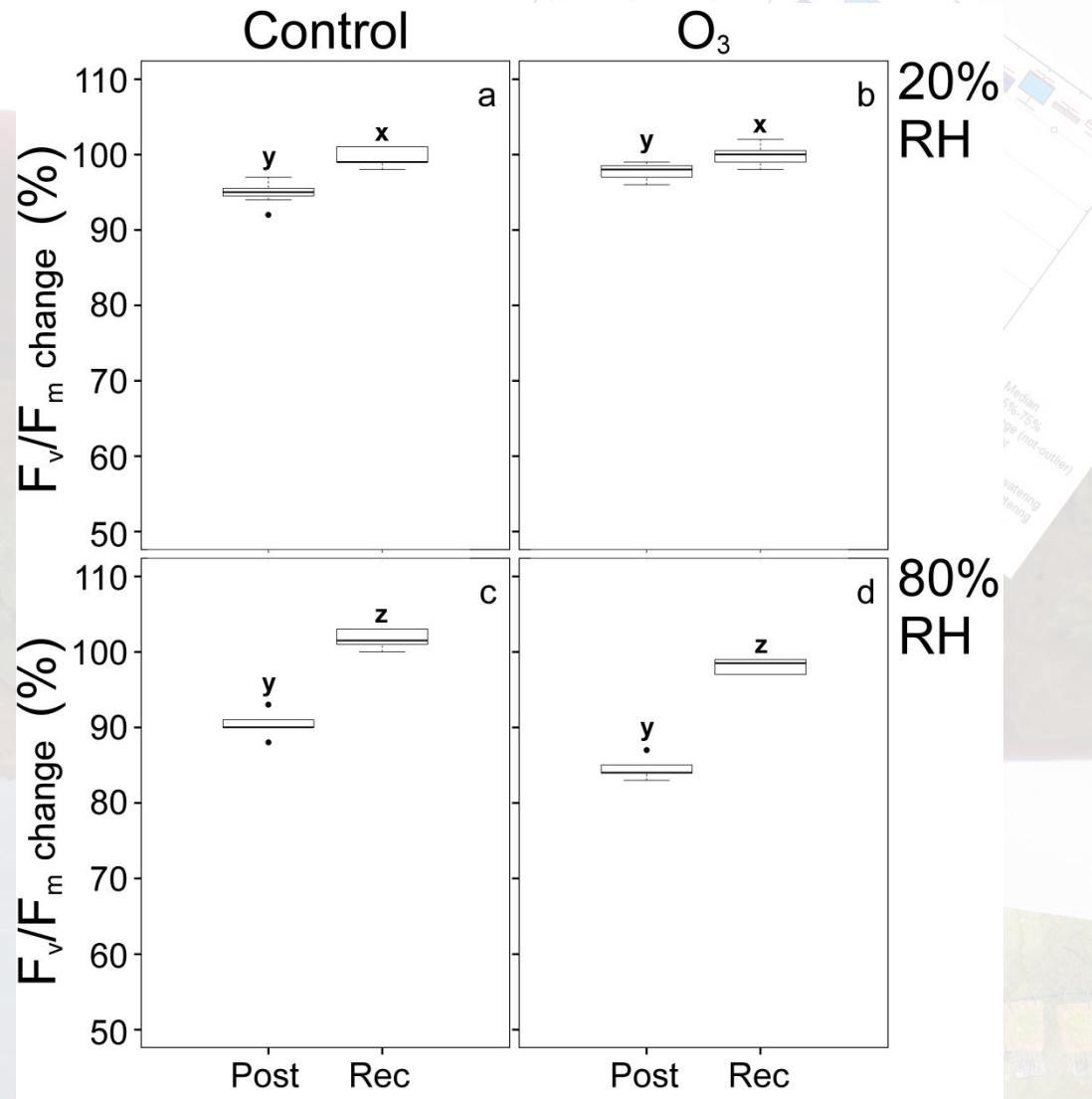
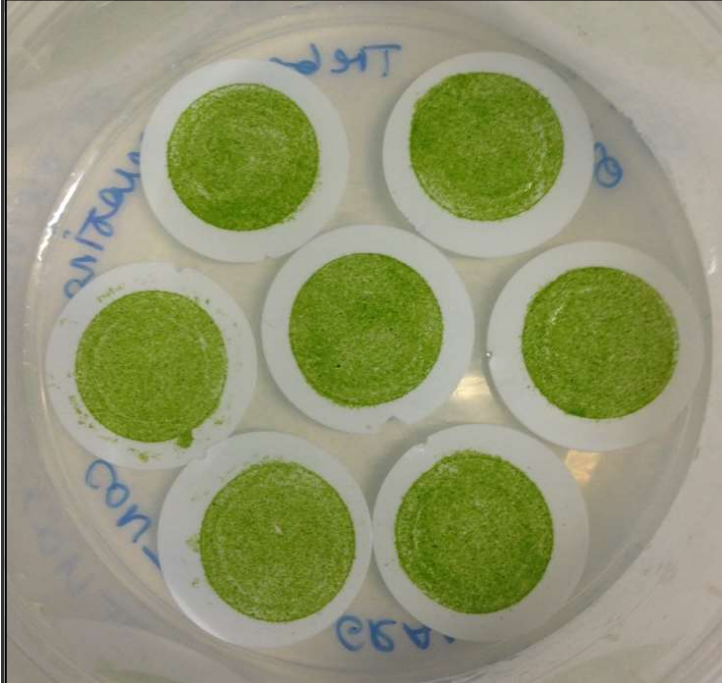
Values of the F statistics from the general linear mixed model (GLM) testing for main and interactive effects of species (*Parmotrema perlatum* / *Xanthoria parietina*: P vs. X), air relative humidity (20/80 %RH: 20 vs. 80), watering (no/yes: 0 vs. 1), and O₃ treatment (no/yes: 0 vs. 1)

	Species		RH		WR		O ₃		Sp. × RH	Sp. × WR	Sp. × O ₃	RH × WR	RH × O ₃	WR × O ₃
	P vs. X		20 vs. 80		0 vs. 1		0 vs. 1							
ROS														
O ₂ ⁻	114.641	>	73.55	>	-	-	-	-	32.33	17.78	18.62	8.93	5.47	-
H ₂ O ₂	-		7.10	>	-	-	91.42	>	-	-	-	-	7.15	5.45
Enzyme activity														
APX	90.56	>	66.28	>	11.51	>	17.81	>	10.62	-	10.78	-	-	4.24
DHAR	1096.79	>	265.66	>	20.04	>	12.63	>	103.72	23.06	-	4.32	-	-
GR	14.15	>	82.81	>	120.91	>	-	-	16.59	-	4.71	5.21	-	17.05
SOD	311.09	>	6.94	>	50.10	>	31.76	>	8.98	17.24	5.65	9.01	-	-
Antioxidants														
AsA	171.52	>	144.42	>	-	-	-	-	36.40	4.45	-	-	-	-
DHA	1030.07	>	-	-	-	-	-	-	6.67	-	-	-	-	-
AsA+DHA	927.28	>	11.12	>	-	-	-	-	8.82	-	-	-	-	-
AsA/DHA	240.17	>	103.75	>	-	-	-	-	17.75	-	-	-	-	-
GSH	7.33	>	18.13	>	12.21	>	11.85	>	91.43	4.37	168.60	-	72.46	-
GSSG	234.12	>	159.95	>	-	-	181.30	>	148.69	-	-	9.91	23.45	-
GSH+GSSG	31.62	>	118.82	>	10.53	>	98.46	>	210.01	6.38	79.83	8.91	4.67	-
GSH/GSSG	75.45	>	-	-	-	-	-	-	20.04	-	61.82	-	37.35	-

The symbol > indicates the level of each factor having the highest value of that specific variable. Significant values are printed in bold ($p < 0.001$), italic ($0.001 \leq p < 0.01$) or normal ($0.01 \leq p < 0.05$) character.

Gli effetti dell'O₃ sui due licheni sono stati nel complesso trascurabili, ma per la prima volta è stato possibile documentare:

- La perturbazione di alcuni parametri fluorimetrici, in particolare il coefficiente di estinzione fotochimica (qP);
- Variazioni significative nel contenuto di H₂O₂ (ma non di O₂⁻), GSH e GSSG e Asa+DHA, sebbene molti di questi parametri siano più profondamente modificati dalla disponibilità idrica e particolarmente dall'umidità atmosferica.
- È stata osservata una evidente differenza specie-specifica, con l'igrofilo *P. perlatum* molto più reattivo della meso-xerofila *X. parietina*.



Conclusioni generali

I nostri risultati dimostrano che i licheni sono definitivamente O₃-tolleranti.

Perchè? fondamentalmente questo inquinante non impatta eccessivamente il complesso, efficiente controllo dello stress ossidativo che permette ai licheni (e ai loro fotobionti) di comportarsi da organismi peciloidrici.

Questi risultati sarebbero stati irrealizzabili senza il lavoro dedicato di molti collaboratori di valore



THE END THE END THE END THE END THE END THE END THE END THE END