

Licheni come bioaccumulatori di elementi in traccia: stato della ricerca in Italia

Stefano Loppi

*Dipartimento di Scienze Ambientali "G. Sarfatti", Università di Siena, Via P.A. Marioli 4, 53100 Siena
Tel 0577 232869, Fax 0577 232896, loppi@unisi.it*

Pervenuto il 25.8.2006, accettato il 11.9.2006

Riassunto

Viene presentato lo stato dell'arte della ricerca svolta in Italia inerente l'utilizzo dei licheni come bioaccumulatori di elementi in traccia. Particolare attenzione viene posta sul ruolo giocato dal particolato atmosferico e dalla contaminazione dei campioni ad opera di particelle di suolo, nonché sull'interpretazione dei dati. Vengono ipotizzate alcune linee di ricerca future.

PAROLE CHIAVE: Biomonitoraggio / Inquinamento atmosferico / Licheni / Metalli pesanti

Lichens as bioaccumulators of trace elements: state-of-the-art of research in Italy

The state-of-the-art of research on the use of lichens as bioaccumulators of trace element carried out in Italy is presented. The role of atmospheric particulate matter and soil contamination of samples, as well as the interpretation of results were especially addressed. Some future research lines are suggested.

KEY WORDS: Atmospheric pollution / Biomonitoring / Heavy metals / Lichens

PREMESSA

Il presente lavoro non vuole passare in rassegna tutti i lavori di bioaccumulo effettuati in Italia, per i quali si rimanda, fino a gennaio 1999, alla review di LOPPI (1999), ma si propone di analizzare criticamente l'attività di ricerca svolta in Italia negli ultimi 20 anni, a partire cioè dal primo lavoro riguardante l'accumulo di elementi in traccia all'interno di talli lichenici effettuato in Italia, risalente al 1985 (BARGAGLI *et al.*, 1985). Si tratta di un'indagine attorno a una sorgente puntiforme, gli impianti cloro-soda dell'area industriale di Rosignano Solvay, nella provincia di Livorno, utilizzando talli di *Xanthoria parietina*. Questo lavoro, pur pionieristico, nella sostanza non si discosta di molto da studi più recenti effettuati in aree ben più estese quali le

province di Livorno (SCERBO *et al.*, 1999) e di Pisa (SCERBO *et al.*, 2002) o la regione del Veneto (NIMIS *et al.*, 2000), che hanno peraltro utilizzato la medesima specie. Quindi, sotto il profilo delle indagini di biomonitoraggio, si rileva una tendenza generalizzata ad ampliare semplicemente l'area di indagine, spostandosi da un livello puntiforme locale verso confini, solitamente amministrativi, più vasti (province, regioni). Tuttavia, una porzione degli studi non si è limitata ad applicare la stessa procedura in aree differenti, ma ha indagato anche vari aspetti metodologici e di base, contribuendo al raffinamento delle tecniche di bioaccumulo.

Per motivi pratici, l'analisi tratterà esclusivamente quei lavori che sono stati effettuati in Italia come area

di studio o come parte sperimentale di laboratorio, escludendo quindi eventuali lavori di autori italiani effettuati però in altre nazioni o in laboratori esteri.

INTRODUZIONE

Le modalità con le quali i licheni accumulano gli elementi in traccia presenti nell'atmosfera sono sostanzialmente riconducibili a tre tipologie: 1) intercettazione di particolato, 2) complessazione ionica extracellulare, 3) complessazione ionica intracellulare. Tutti i licheni presentano gli stessi meccanismi di accumulo, ma il peso che le tre modalità hanno nella capacità di accumulo varia a seconda dell'elemento e della specie (MODENESI, 2003). Inoltre, a parità di specie, l'accumulo degli elementi in traccia nei licheni non dipende soltanto dalla disponibilità ambientale degli elementi, ma anche dalle caratteristiche dei licheni stessi quali età, vitalità, stato metabolico, ecc. e da altri parametri abiotici quali piovosità, temperatura, umidità, caratteristiche del substrato, ecc.

Uno dei principali parametri in grado di influenzare le modalità di accumulo dei singoli elementi è la loro solubilità. Se un elemento è abbondantemente presente nella componente solubile, sia nelle deposizioni umide che secche, come ad esempio Cd e Zn, la sua modalità di assunzione sarà di tipo ionico, mentre per elementi largamente insolubili, come ad esempio Pb e Cr, la via di assunzione principale sarà attraverso il particolato. In quest'ultimo caso risulta estremamente importante l'aspetto dimensionale, in quanto più le particelle saranno fini (ad esempio la maggior parte dell'As e del Pb risulta legato a particelle ultrafini con diametro <1 µm) maggiore sarà la possibilità che vengano intrappolate dai talli lichenici. Inoltre, le particelle più grossolane possono essere facilmente rimosse dai talli lichenici, mentre quelle di dimensioni più piccole, nonostante rappresentino una massa totale minore, contribuiscono all'accumulo della maggior parte dei metalli in traccia e vengono difficilmente rimosse dai talli.

Per i motivi sopra esposti, appare logico che in un paese dell'area del Mediterraneo come l'Italia, il ruolo giocato dal particolato sospeso e dalla contaminazione dei campioni da parte delle particelle di suolo abbia interessato un'ampia fetta delle ricerche sull'uso dei licheni come bioaccumulatori.

CONTAMINAZIONE TERRIGENA DEI CAMPIONI

È stato dimostrato che in campioni di lichene non lavati raccolti in aree non soggette a inquinamento atmosferico, dove cioè la maggior parte del materiale sospeso nell'aria è costituito da particelle di suolo o roccia, o in aree senza fonti dominanti di inquinamen-

to, le concentrazioni di alcuni elementi in traccia aumentano in proporzione al contenuto di Al, Fe o Ti, cioè alla contaminazione terrigena dei campioni (BARGAGLI, 1995). Ciò determina un'elevata variabilità nelle concentrazioni di alcuni elementi in traccia e può causare ampie fluttuazioni in repliche analitiche e mascherare sia eventuali trend che relazioni tra elementi (BARGAGLI, 1990). Questo fatto è ancor più valido per i licheni epilitici (DONGARRÀ *et al.*, 1995).

Analizzando talli di *Parmelia sulcata* e campioni di suolo prelevati in aree non contaminate della Toscana è stato mostrato che, nonostante le forti intercorrelazioni tra le concentrazioni talline di elementi litogeni quali Al, Fe e Ti, i livelli di questi elementi nei licheni non sono correlati con le corrispondenti concentrazioni nel suolo. Ciò evidenzia come la contaminazione terrigena sia estremamente variabile e probabilmente dipendente dalle caratteristiche delle condizioni locali (LOPPI *et al.*, 1999).

Per valutare l'incidenza della contaminazione terrigena nei campioni di lichene vengono generalmente utilizzati due metodi. Il primo, usato comunemente, consiste nel normalizzare le concentrazioni degli elementi nei licheni rispetto a quelle nel suolo attraverso il calcolo di fattori di arricchimento (EF = Enrichment Factor), secondo la formula:

$$EF = (X_L/R_L)/(X_S/R_S)$$

dove: X_L è la concentrazione dell'elemento in questione nei licheni, R_L la concentrazione dell'elemento di riferimento nei licheni, X_S la concentrazione dell'elemento in questione nel suolo e R_S la concentrazione dell'elemento di riferimento nel suolo. Di norma, tanto più l'EF si avvicina all'unità, tanto maggiore è la derivazione terrigena dell'elemento in questione (BARGAGLI, 1990; DONGARRÀ *et al.*, 1995, LOPPI *et al.*, 1999).

Il secondo metodo implica il calcolo di concentrazioni licheniche stimate imputando l'eccesso di un elemento di riferimento a contaminazione terrigena, secondo la formula:

$$X_{LE} = X_L - \{X_S \cdot [(R_L - B_L)/R_S]\}$$

dove: X_{LE} è la concentrazione stimata dell'elemento in questione e B_L il valore di background dell'elemento di riferimento nei licheni (BARGAGLI, 1995; LOPPI *et al.*, 1997a, 1999).

Generalmente, come elemento di riferimento si utilizza l'Al che è estremamente diffuso nella crosta terrestre e ha un limitato valore metabolico nei licheni (BARGAGLI, 1998). Come valore di background dell'Al, per il calcolo delle concentrazioni stimate, si assume che circa 200 µg/g peso secco, grossomodo corrispondenti alle concentrazioni più basse misurate, ammontino alla frazione di Al non legata al particolato (BARGAGLI, 1995).

BERGAMASCHI *et al.* (2004) hanno suggerito l'utilizzo di un elemento scarsamente solubile quale lo Sc come indicatore di contaminazione terrigena. In situazioni non contaminate, le concentrazioni degli elementi litogeni (Al, Fe, Ti, ecc.), se plottate vs. quelle dello Sc dovrebbero mostrare un'intercetta pari a zero e i contributi delle altre fonti eccetto il suolo dovrebbero comunque essere inferiori all'errore standard dell'intercetta. In situazioni di background, per vari elementi (Ce, Cs, Hf, Sm, Th) la correlazione con lo Sc ha mostrato questo tipo di andamento, mentre per altri (As, Pb, V), pur essendo fortemente correlati con lo Sc, l'intercetta è risultata significativamente maggiore di zero, suggerendo che, pur derivando in larga misura dal suolo, una frazione della loro concentrazione è di origine diversa, probabilmente non legata al particolare.

Secondo stime recenti basate su modelli matematici e sullo Sc come elemento normalizzante di origine terrigena (LOPPI e WITTENBACH, dati inediti), un lichene folioso della Toscana contiene in media circa 35 mg di suolo per grammo di massa tallina. In questo modo, moltiplicando tale valore per le concentrazioni medie dei vari elementi nella crosta continentale superficiale (UCC, upper continental crust) si ottengono le concentrazioni dei vari elementi derivanti dal suolo.

Un sistema speditivo per valutare se i campioni di lichene riflettono la naturale composizione della crosta oppure sono interessati da fenomeni di deposizione atmosferica consiste nel confrontare l'ordine di abbondanza degli elementi nei licheni e nel suolo allo scopo di individuare eventuali concentrazioni anomale (LOPPI *et al.*, 1999).

PULIZIA DI CAMPIONI

In talli non lavati, la fase di ripulitura al binoculare dei campioni da impurità, sporcizia, parti morte, rizine, ecc. può introdurre un sostanziale elemento di variabilità, in particolare per licheni foliosi a lobi non troppo grandi.

Per cercare di caratterizzare l'influenza della pulizia di campioni di *X. parietina* sul contenuto totale di alcuni elementi, LOPPI *et al.* (2005) hanno effettuato uno studio utilizzando talli provenienti da una località incontaminata della Sardegna. I talli sono stati suddivisi in due aliquote, una delle quali è stata ripulita accuratamente (4 ore circa per ricavare 150 mg per le analisi) e l'altra in maniera più speditiva (2 ore per 150 mg). I risultati hanno mostrato concentrazioni generalmente più elevate di quasi tutti gli elementi nei campioni puliti superficialmente. Tuttavia, solo per Al e Fe, ovvero per gli elementi di gran lunga più abbondanti nella crosta terrestre, le concentrazioni sono risultate molto più basse nei campioni puliti accuratamente. Da questi

risultati è stato concluso che una pulizia accurata dei campioni di *X. parietina* abbatte le concentrazioni di elementi ampiamente diffusi nel suolo quali Al e Fe, ma che per gli altri elementi, meno diffusi, la variabilità nell'intercettazione delle particelle di suolo non consente di fare previsioni affidabili.

LAVAGGIO DEI CAMPIONI

Allo scopo di verificare se gli elementi in traccia fossero adsorbiti oppure associati stabilmente con i talli di *X. parietina*, questi ultimi sono stati sottoposti a lavaggi sequenziali con H₂O deionizzata e HNO₃ (BARGAGLI *et al.*, 1985). I risultati hanno mostrato che mentre l'H₂O deionizzata asporta soltanto una minima parte degli elementi, il trattamento con HNO₃ è molto più efficace, soprattutto nei confronti di metalli quali Pb, Zn, Fe e Mn, suggerendo cioè che molti elementi in traccia non sono semplicemente adsorbiti alla superficie dei talli lichenici. Risultati simili sono stati ottenuti utilizzando talli di *P. sulcata* (TRETIACH *et al.*, 1999). I risultati sembrano tuttavia essere sito- o specie-specifici in quanto per campioni di *Evernia prunastri* esposti per un anno in un'area industriale è stato notato che il lavaggio con H₂O deionizzata generalmente induce una riduzione nelle concentrazioni di tutti i metalli in traccia, causando però una notevole variabilità sito-specifica (CANIGLIA *et al.*, 1994).

Studiando l'effetto del lavaggio dei campioni con H₂O deionizzata su talli di *P. sulcata* è stato riscontrato che questa operazione comporta una sensibile diminuzione delle concentrazioni di tutti gli elementi analizzati (BETTINELLI *et al.*, 1996). Tuttavia, la scarsa riproducibilità dei dati dopo il lavaggio, determinata dalle caratteristiche della specie utilizzata, dall'elemento analizzato e dalla durata del ciclo di lavaggio, induce a ritenere che per un'accurata e completa caratterizzazione elementare dei licheni sia consigliabile non procedere al lavaggio dei campioni (BETTINELLI *et al.*, 1996).

SOLUBILIZZAZIONE DEI CAMPIONI

La fase di determinazione analitica è soggetta ad ampie possibilità di generare errori, che possono essere anche dell'ordine del 300%. Infatti, durante la digestione acida dei campioni sono possibili contaminazioni da polveri, acidi impuri, contenitori sporchi, volatilizzazione, assorbimento nelle pareti del contenitore, digestione incompleta, ecc. Inoltre, per alcuni elementi a bassa solubilità, quali Al, Ti, Sc, ecc. anche la scelta dell'acido da utilizzare nella digestione può influenzare sensibilmente i risultati finali. Generalmente per matrici biologiche viene utilizzato l'HNO₃ concentrato che non agisce sulle particelle minerali come invece accade usando l'HF, che consente una digestione completa dei campioni (BARGAGLI e GASPARO, 1995).

Confrontando due differenti miscele acide ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ vs. $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{HF}$) per la solubilizzazione di un campione di lichene dotato di certificazione delle concentrazioni degli elementi (CRM 482 *Pseudevernia furfuracea*), BAFFI *et al.* (2002) hanno riscontrato che l'aggiunta di 200 μL di HF alla miscela 7:1 v/v di HNO_3 e H_2O_2 garantisce una maggiore accuratezza in termini di percentuali di recupero e una maggiore precisione in termini di ripetibilità e riproducibilità per numerosi elementi quali Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Ti, V e Zn. Dal momento che Al e Ti sono elementi comunemente utilizzati per il calcolo degli EF, è evidente che, a parità di contenuto di particelle minerali dei campioni, la procedura utilizzata per la solubilizzazione dei campioni può influenzare i valori degli EF e la loro interpretazione (BETTINELLI *et al.*, 2002).

Alcune tecniche analitiche, quali ad esempio l'attivazione neutronica (INAA), non necessitando di eccessivo pretrattamento specifico dei campioni, consentono di poter ovviare a questo tipo di inconvenienti (BETTINELLI *et al.*, 1996).

ACCUMULO ZONALE

Indagando l'accumulo degli elementi secondo una precisa zonazione del tallo è stato evidenziato che la parte più interna ha generalmente concentrazioni maggiori per diversi elementi rispetto a quella esterna (BARGAGLI *et al.*, 1987). Ciò trova spiegazione nel fatto che la porzione più interna del tallo è più vecchia di quella esterna e quindi soggetta ad un maggior tempo di esposizione. Tuttavia, in talli di *Flavoparmelia caperata* raccolti in aree remote della Toscana, le concentrazioni di vari elementi (As, Cr, Fe, Hg, Mn, Ni, Sb) sono risultate simili sia nella parte esterna che in quella interna del tallo, mentre alcuni elementi di limitato valore metabolico (Al, Cd, Pb) sono risultati più concentrati nelle porzioni centrali del tallo e altri elementi essenziali per il metabolismo (Co, Cu, Mo, Zn) hanno mostrato concentrazioni maggiori nelle porzioni esterne (LOPPI *et al.*, 1997b).

L'accumulo zonale di alcuni elementi è di importanza cruciale negli studi di biomonitoraggio in quanto, indipendentemente dall'età e quindi dalle dimensioni, suggerisce di utilizzare sempre porzioni di tallo confrontabili. In questo caso la cosa migliore è analizzare sempre una porzione esterna di circa 3-5 mm che, nel caso di specie foliose come *F. caperata* e *P. sulcata*, corrisponde grossomodo alla biomassa prodotta nell'ultimo anno di accrescimento.

CONFRONTI TRA SPECIE

La possibilità di utilizzare più specie licheniche allo scopo di rendere più versatile e maggiormente applicabile il metodo del bioaccumulo è stata oggetto di alcune

indagini, i cui risultati sono stati spesso controversi.

In uno studio effettuato in Toscana, le concentrazioni di Hg, Pb, Zn, Cu, Cr, Mn, Fe, Se, Al in talli di *F. caperata*, *P. sulcata* e *P. saxatilis* sono risultate confrontabili (BARGAGLI *et al.*, 1987). Un'indagine simile effettuata in Liguria, analizzando talli di *F. caperata*, *P. sulcata*, *P. saxatilis* e *Parmelina pastillifera*, ha invece mostrato che le concentrazioni di vari elementi (Pb, Zn, Mn, V) sono specie-specifiche e quindi non direttamente confrontabili (MINGANTI *et al.*, 2003).

Confrontando le capacità di accumulo di *F. caperata*, *P. sulcata*, *P. furfuracea*, *Physcia tenella* e *Cladonia parasitica* tramite il confronto dei fattori di arricchimento con quelli del particolato sospeso, RIZZIO *et al.* (2001) hanno concluso che *F. caperata* è la specie che meglio si presta ad essere utilizzata negli studi di biomonitoraggio.

In uno studio simile riferito alle deposizioni totali, CERCASOV *et al.* (2002) hanno riscontrato che i trapianti di *E. prunastri* sono da preferirsi rispetto a quelli di *Ramalina farinacea* e *Cetraria islandica*.

Nonostante gli attuali protocolli per il bioaccumulo tramite licheni (NIMIS e BARGAGLI, 1999) non escludano l'utilizzo di specie differenti (ad esempio *Parmelia* spp s. lat. e *X. parietina*), in un'indagine effettuata su talli di *F. caperata* e *X. parietina*, NIMIS *et al.* (2001) hanno riscontrato differenze significative nelle modalità di accumulo di Cd e Zn e sconsigliano l'uso congiunto di queste due specie, almeno per quanto concerne questi due elementi. Anche TRETIAK e BARUFFO (2001) hanno riscontrato differenze significative tra le concentrazioni di Ca, Cd, Ni e Zn, più elevate in talli di *Punctelia borrieri*, e quelle di Cr, più elevate in talli di *X. parietina*, suggerendo che le differenze fisiologiche e morfo-anatomiche tra le due specie possono influenzare la loro capacità di accumulo.

CONFRONTI TEMPORALI

L'utilizzo dei licheni come bioaccumulatori consente di effettuare confronti non soltanto spaziali, ma anche temporali. Le variazioni del contenuto di elementi in traccia nei talli lichenici possono fornire utili informazioni sui trend dei carichi di inquinamento ambientale e consentono di seguire l'andamento dei fenomeni di contaminazione nel tempo.

Il confronto tra il contenuto di elementi in traccia in talli di *F. caperata* raccolti nei pressi di Montieri (Grosseto) nel 1978 e nel 1993 ha mostrato una situazione sostanzialmente immutata a 15 anni di distanza, con valori generalmente bassi per tutti gli elementi indagati (LOPPI e DE DOMINICIS, 1996). Analogamente, paragonando campioni di *F. caperata* raccolti nel Chianti (Siena) nel 1980 e nel 1996, la maggior parte degli elementi (As, B, Cd, Co, Cr, Fe, Hg, Mo, Pb, Sr,

Zn) ha mostrato una decisa diminuzione, con punte del 77% per il Pb (LOPPI *et al.*, 1998).

A La Spezia sono stati confrontati i risultati di due campagne di campionamento (1989 e 1992) effettuate utilizzando *F. caperata*: a distanza di tre anni, a seguito della chiusura di grossi complessi industriali, le concentrazioni dei metalli pesanti erano sensibilmente diminuite (BELLIO e GASPARO, 1995). Confrontando gli stessi risultati su di una scala temporale più ampia (1989-2003), BENCO *et al.* (2003) hanno mostrato una generale situazione di naturalità in gran parte del territorio indagato, confermando però la contaminazione da Pb e Cd localizzata nella zona industriale a est della città.

Confrontando i risultati di due campagne di biomonitoraggio tramite *F. caperata* effettuate a Pistoia negli anni 1988-1991 (LOPPI *et al.*, 1994) e nel 1999 (LOPPI e CORSINI, 2003) è stato riscontrato un generale decremento delle concentrazioni di Pb, Cd, Cu e Zn.

Nella città di Montecatini Terme (PT) sono state confrontate le concentrazioni di vari metalli pesanti accumulati all'interno di talli di *F. caperata* raccolti nel 1993 (LOPPI *et al.*, 1995) e nel 1999 (LOPPI *et al.*, 2004). Nonostante i risultati abbiano mostrato decrementi per tutti i metalli indagati (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn), le concentrazioni medie del Pb (35 µg/g peso secco) sono risultate elevate anche dopo l'introduzione delle benzine verdi.

CORRELAZIONI CON I DATI ATMOSFERICI

Anche se al momento non esistono fattori di conversione affidabili per trasformare i dati lichenici in valori di concentrazioni atmosferiche, le indagini di bioaccumulo sono utilissime per individuare i pattern di deposizione e localizzare le aree a rischio da tenere eventualmente sotto controllo attraverso le centraline. Un esempio pratico è dato dal mercurio, un metallo che alle normali condizioni ambientali si presenta allo stato elementare (Hg⁰) sotto forma gassosa. La contaminazione da Hg nell'ex area minero-metallurgica di Abbadia S. Salvatore (M. Amiata, Toscana meridionale) è stata indagata con la tecnica analitica diretta del lidar e tramite il bioaccumulo in foglie di *Robinia pseudacacia* e in talli di *X. parietina*, mostrando un ottimo accordo nei rispettivi andamenti spaziali delle concentrazioni sia in aria che nelle due matrici biologiche (BARGAGLI, 1993).

Uno studio effettuato in un'area rurale della provincia di Vercelli ha mostrato un'ottima correlazione tra le concentrazioni di una serie di metalli pesanti (Cd, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn) accumulati in trapianti di *P. furfuracea* esposti da uno a dodici mesi, raccolti e analizzati con cadenza mensile e gli stessi elementi determinati nel

particolato atmosferico, cambiando i filtri di raccolta ogni 24 ore (BARI *et al.*, 2001). Da notare che la solubilizzazione dei campioni, sia biologici che abiotici, è stata effettuata con una miscela di HNO₃, HF e H₂O₂ e che i confronti sono stati effettuati tenendo presente le concentrazioni cumulative degli elementi nel particolato.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Per l'interpretazione dei risultati delle indagini di bioaccumulo risulta estremamente importante poter disporre di valori di riferimento con i quali effettuare dei confronti che consentano di individuare eventuali fenomeni di inquinamento. Definendo come "naturali" le aree non antropizzate e non interessate da ricadute (importanti) di contaminanti, è possibile ottenere dei valori di riferimento (VR) per i dati di bioaccumulo a partire da talli raccolti in tali aree. In questo modo non è necessaria una mole elevata di dati e risulta poi agevole calcolare per ogni elemento la deviazione dalle condizioni di "naturalità" (LOPPI e BRUNIALTI, 2004): <VR (inquinamento trascurabile), <2VR (inquinamento debole), <3VR (inquinamento moderato), <4VR (inquinamento forte), >4VR (inquinamento molto forte).

Tuttavia, nonostante la composizione elementare dei licheni rifletta generalmente il chimismo del loro ambiente circostante (aria, suolo), tale relazione si manifesta in maniera estremamente variabile ed è influenzata da una moltitudine di fattori. Per questi motivi, anche le "normali" concentrazioni degli elementi in traccia di licheni raccolti in aree non contaminate mostrano ampie fluttuazioni.

In uno studio sui valori di background in varie parti d'Italia (BARGAGLI *et al.*, 1997), è stato riscontrato che le concentrazioni medie di alcuni metalli in traccia (Cr, Hg, Ni, Pb, Zn) in licheni epifiti raccolti in aree remote della Toscana e del Veneto sono dal 24% al 59% più elevate rispetto a quelle misurate in licheni raccolti in aree incontaminate della Calabria.

Per ovviare a questo tipo di inconveniente, è stato suggerito di utilizzare i valori minimi misurati in una certa area di studio per effettuare dei confronti; in questo modo il tasso di contaminazione di ogni stazione può essere espresso in funzione del rapporto tra il valore misurato e quello di background per l'area indagata (NIMIS *et al.*, 1993). Tuttavia, questo tipo di approccio presenta due punti deboli opposti, sia nel caso di fenomeni di inquinamento massiccio diffuso, sia di valori estremamente bassi su tutta l'area indagata.

Combinando i due approcci sopra riportati, BERGAMASCHI *et al.* (2004) hanno indagato il contenuto elementare di vari licheni (*Hypogymnia physodes*, *Letha-*

ria vulpina, *P. sulcata*, *P. furfuracea*, *Usnea* sp.) raccolti nelle Alpi, cioè in aree a quote elevate e quindi potenzialmente prive di inquinamento, e hanno suggerito di utilizzare come background le concentrazioni più basse per limitare l'influenza della contaminazione terrigena dei campioni.

Per valutare le concentrazioni di vari elementi nei talli lichenici (*Parmelia* spp. s. lat., *X. parietina*) NIMIS e BARGAGLI (1999) hanno proposto una scala di naturalità/alterazione elaborata in base ai risultati analitici di diverse centinaia di campioni raccolti in Italia in aree con diverse situazioni geomorfologiche e con diversi tassi di inquinamento. Tale scala si basa su un'analisi statistica della distribuzione di frequenza dei valori relativi a diversi percentili per metalli con almeno 100 misure in almeno tre aree diverse del Paese.

L'utilizzo di questa scala è stato tuttavia criticato per vari motivi. Secondo TRETIAK e BARUFFO (2001), in uno studio di biomonitoraggio ambientale non è possibile utilizzare più specie contemporaneamente; i pattern distributivi dei metalli non sono infatti necessariamente congruenti, e pertanto non è corretto nemmeno utilizzare una scala percentile unica per esprimere il grado di naturalità/alterazione. Secondo BETTINELLI *et al.* (2002) il valore della scala è inficiato dal fatto che le concentrazioni sono state misurate con procedure analitiche differenti e pertanto concentrazioni più o meno elevate ad esempio di alcuni elementi poco solubili potrebbero dipendere, oltre che dalla località e quindi dalla litologia, dalla quantità di precipitazioni, dal tasso di particellato presente nell'aria, ecc., anche dal tipo di procedura utilizzata per la solubilizzazione.

NIMIS *et al.* (2000), sulla base delle concentrazioni riportate nella scala di NIMIS e BARGAGLI (1999), hanno proposto l'utilizzo di due indici, di naturalità e di alterazione, da calcolarsi tenendo conto delle due classi ai due estremi della scala interpretativa. In questo modo si possono ricavare due mappe, una mostrante la distribuzione degli elementi prossimi al background italiano secondo NIMIS e BARGAGLI (1999) e l'altra mostrante la distribuzione degli elementi che più si discostano da situazioni "normali". Nonostante le loro potenzialità sintetiche, questi indici non hanno avuto seguito.

Nel caso dei trapianti, le concentrazioni iniziali dei campioni raccolti nelle aree di riferimento possono influire anche significativamente sulle concentrazioni finali dei talli trapiantati a causa della possibile influenza della contaminazione terrigena dei campioni. Nel caso di studi ripetuti nel tempo, quando cioè i "bianchi" vengono prelevati ex novo ad ogni campagna di monitoraggio, tale aspetto può essere talmente pronunciato da oscurare i trend di deposizione. Per ovviare a questo inconveniente, FRATI *et al.* (2005) hanno pro-

posto l'utilizzo del rapporto tra talli esposti e talli di riferimento (exposed-to-control ratio, EC ratio), utilizzando poi un'opportuna scala per l'interpretazione di tali valori.

Utilizzando le parti marginali del tallo, grossomodo corrispondenti all'accrescimento dell'ultimo anno, e ancora più semplicemente utilizzando i trapianti, è possibile risalire ai tassi deposizione degli elementi indagati (espressi in kg/km²/anno) attraverso una stima della biomassa per unità di superficie (LOPPI e PIRINTSOS, 2003; LOPPI e FRATI, 2006; LOPPI *et al.*, 2006).

RECENTI SVILUPPI DELLA RICERCA IN ITALIA

Nel 2002 è stato finanziato dal Ministero per l'Università un importante progetto di ricerca volto allo "sviluppo di metodologie per il monitoraggio biologico dell'inquinamento atmosferico da metalli in traccia nelle aree urbane ed industriali italiane" che ha visto coinvolte varie sedi universitarie italiane (Genova, Napoli, Siena, Trieste). Tale progetto, la cui parte sperimentale ha interessato gli anni 2003 e 2004, ricorrendo ad approcci di tipo chimico, biochimico, istochimico, ecofisiologico e di microscopia elettronica, ha avuto lo scopo di definire e ottimizzare le procedure per il monitoraggio delle deposizioni atmosferiche di metalli in aree urbane e industriali, basate su trapianti di muschi e licheni esposti in reticelle di nylon (bags). In particolare il progetto ha indagato: 1) l'importanza dei meccanismi attivi e passivi di assorbimento e di accumulo dei metalli, presenti nelle deposizioni atmosferiche in forma solubile, gassosa e nella frazione inalabile del particellato atmosferico (PM10); 2) gli effetti delle diverse condizioni ambientali sulla vitalità delle crittogame trapiantate; 3) i reali vantaggi offerti da muschi e licheni rispetto a materiali sintetici inerti o a scambio ionico, quando questi ultimi vengono esposti negli stessi siti e nelle stesse condizioni (BARGAGLI *et al.*, 2004).

L'accumulo di metalli in traccia in campioni vivi e devitalizzati mediante trattamento termico (120° per 24 h) o lavaggio in HNO₃ 1M, di *P. furfuracea* e del muschio *Hypnum cupressiforme* trapiantati a Trieste e Napoli ha mostrato che i trattamenti di devitalizzazione e di depectinizzazione (mediante lavaggio in ossalato d'ammonio a 70° per 12 h) influenzano in maniera diversa le due matrici biologiche. Il trattamento in ossalato d'ammonio determina un pronunciato deterioramento del lichene, con una conseguente forte perdita in peso, mentre il muschio mantiene il suo caratteristico aspetto, con una perdita contenuta in peso. Lavaggi ripetuti in acqua distillata non hanno modificato significativamente la composizione elemen-

tare dei campioni vivi, probabilmente a causa dei bassi valori di contaminazione, prossimi, se non addirittura inferiore, ai valori di background delle due specie. Il trattamento termico di devitalizzazione è risultato preferibile a quello mediante lavaggio in HNO_3 , in quanto non modifica la composizione elementare delle matrici, mentre il trattamento acido determina una pronunciata flessione nel contenuto di Ca, Cd, Cu, K, Mg, Mn, V, Zn. In seguito all'esposizione, i due organismi, indifferentemente se vivi o morti, hanno mostrato dei trend di contaminazione molto simili (AGNORELLI *et al.*, 2004).

In considerazione del ruolo dei meccanismi di accumulo attivo, che sono ovviamente legati alla vitalità degli organismi, BARUFFO *et al.* (2004) hanno indagato la vitalità dei trapianti di *P. furfuracea* e *H. cupressiforme* a Trieste e Napoli tramite misure di scambi gassosi, fluorescenza della clorofilla e contenuto di clorofille e feofitine. I risultati hanno mostrato che *P. furfuracea* è un organismo particolarmente resistente, mentre *H. cupressiforme* ha fatto registrare drastiche diminuzioni medie sia dei valori di fotosintesi (-75%), che di fluorescenza (-47%) e di concentrazione delle clorofille (-63%).

Per una valutazione comparativa tra materiali biologici (*P. furfuracea* e *H. cupressiforme*) e sintetici (filtro a fibre di quarzo Whatman QMA 1851047 e filtro a scambio cationico Pall ICE 450) le concentrazioni dei metalli in traccia sono state espresse in base all'area, stimando la superficie di intercettazione dei vari materiali (ADAMO *et al.*, 2005). I risultati hanno mostrato che le concentrazioni sono simili per muschi e licheni, ma sono invece sensibilmente inferiori nei materiali sintetici. Viene concluso che il principale meccanismo di accumulo di metalli in traccia è la cattura passiva di particolato aerodiffuso.

L'utilizzo di tecniche istochimiche ha consentito di indagare la localizzazione di alcuni metalli pesanti all'interno di talli di *P. furfuracea* immersi per tre giorni in una soluzione contenente i cationi di riferimento (BOMBARDI *et al.*, 2005). I risultati hanno mostrato che i diversi ioni metallici indagati differiscono caratteristicamente nella loro distribuzione all'interno del tallo lichenico. Al^{3+} e Hg^{2+} si localizzano intracellularmente in ogni distretto tallino (medulla, alghe, cortex superiore, cortex inferiore e isidi). Pb^{2+} e Zn^{2+} si localizzano invece extracellularmente nella porzione scleroplectenchimica degli strati corticali bistratificati superiore e inferiore. Gli altri metalli (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+}) si localizzano sia extra- che intracellularmente. Viene inoltre mostrato il ruolo dei pigmenti melaninici come siti di legame per Cu^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} . I modelli di localizzazione mostrati possono contribuire a giustificare la differente tossicità dei metalli pesanti per le cellule del simbionte algale e fungino.

Negli ultimi anni sono stati indagati i meccanismi di detossificazione da metalli pesanti messi in atto da specie licheniche epifite foliose quali *X. parietina*, *Physcia adscendens* e *Physconia grisea*. In generale è stato dimostrato che tali specie, in particolare *X. parietina*, esposte a diversi metalli pesanti in varie concentrazioni, non si autoprotettono ricorrendo ad un unico meccanismo di risposta, ma al contrario mettono in atto una serie di strategie di "contenimento" dello stress basate su un modello integrato "a ventaglio", in maniera simile alle piante superiori (SANITÀ DI TOPPI, 2005).

PAWLIK-SKOWRONSKA *et al.* (2002) hanno mostrato la biosintesi di fitochelatine nei talli, nei micobionti e nei fotobionti di *X. parietina*, *P. adscendens* e *P. grisea* in risposta a cationi bivalenti quali Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} . Grazie ai gruppi tiolici della cisteina, le fitochelatine possono formare dei complessi con vari metalli pesanti, chelandoli e sottraendoli così dalla libera circolazione all'interno del citosol delle cellule, prima che possano esercitare effetti tossici.

In talli di *X. parietina* trattati con Cd e Cr(VI), SANITÀ DI TOPPI *et al.* (2004) hanno evidenziato la biosintesi di metaboliti (glutazione e ascorbato) e l'attivazione di enzimi antiossidanti quali guaiacolo perossidasi, superossido dismutasi, catalasi, deidroascorbato reductasi, monodeidroascorbato reductasi, ascorbato perossidasi e glutazione reductasi. Gli stessi autori hanno anche mostrato perossidazioni lipidiche di membrana Cd- e Cr(VI)-indotte, con conseguente produzione di prodotti di degradazione quali la malondialdeide e una distribuzione differenziale del Cd e del Cr(VI) nel micobionte e nel fotobionte di *X. parietina*, valutata in termini di immobilizzazione di parete, accumulo intracellulare e compartimentazione vacuolare dei due metalli.

RICERCA FUTURA

Nonostante l'ampio numero di pubblicazioni inerenti le interazioni dei licheni con i metalli pesanti, è necessario acquisire una conoscenza più approfondita circa gli aspetti ecofisiologici in relazione alla specie chimica e alla localizzazione cellulare dei metalli stessi prima che i licheni possano essere utilizzati in maniera estensiva nel monitoraggio dei pattern di deposizione dei metalli in traccia. Questo in considerazione del fatto che le concentrazioni totali hanno una scarsa rilevanza per gli studi ecofisiologici ed ecotossicologici in quanto solo le concentrazioni intracellulari influiscono direttamente sui processi fisiologici e possono quindi avere un ruolo tossicologico.

Nel futuro gli studi dovranno pertanto tener presente le tre diverse modalità di accumulo dei licheni, associata al particellato, ionica extracellulare e ionica intracellulare, favorendo le indagini volte a quantificare

queste tre componenti, ad esempio attraverso tecniche di lavaggi sequenziali.

Particolare importanza rivestirà lo studio dei meccanismi chimici, di membrana e biochimici che regolano i processi di biodisponibilità, accumulo, tossicità e detossificazione dei metalli nei licheni.

L'analisi della diversità genetica infraspecifica consentirà un ulteriore approfondimento della variabilità delle concentrazioni di alcuni elementi nella stessa specie in condizioni ambientali diverse.

L'utilizzo dei rapporti isotopici di alcuni elementi, quali ad esempio il Pb, potrà risultare un valido indice di contaminazione terrigena dei campioni e, più in generale, un tracciante della provenienza dell'elemento in questione.

Infine, l'applicazione di test di genotossicità, abbinati allo studio dei meccanismi di biodisponibilità e biotossicità degli elementi, potrà consentire di espandere ulteriormente le potenzialità del biomonitoraggio tramite licheni.

BIBLIOGRAFIA

- ADAMO P., AGNORELLI C., BARGAGLI R., BARUFFO L., GIORDANO S., MODENESI P., ORLANDO S., PITTAAO E., TRETIACH M., 2005. Lichen e moss bags nel monitoraggio della qualità dell'aria: accumulo attivo o passivo di elementi in traccia? *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **18**: 18.
- AGNORELLI C., BARGAGLI R., CARLETTI L., MODENESI P., MONACI F., PITTAAO E., TRETIACH M., 2004. Accumulo di metalli in traccia in campioni vivi e devitalizzati di *Pseudevernia furfuracea* e *Hypnum cupressiforme* trapiantati in ambiente urbano. *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **17**: 31-32.
- BAFFI C., BETTINELLI M., BEONE G.M., SPEZIA S., 2002. Comparison of different analytical procedures in the determination of trace elements in lichens. *Chemosphere*, **48**: 299-306.
- BARGAGLI R., 1990. Assessment of metal air pollution by epiphytic lichens: the incidence of crustal materials and of the possible uptake from substrate bark. *Studia Geobotanica*, **10**: 97-103.
- BARGAGLI R., 1993. Plant leaves and lichens as biomonitors of natural or anthropogenic emissions of mercury. In: Markert B. (ed.), *Plants as biomonitors. Indicators for heavy metals in the terrestrial environment*, VCH, Weinheim: 293-308.
- BARGAGLI R., 1995. The elemental composition of vegetation and the possible incidence of soil contamination of samples. *Science of the Total Environment*, **176**: 121-128.
- BARGAGLI R., 1998. *Trace elements in terrestrial plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery*. Springer, Berlin.
- BARGAGLI R., GASPARO D., 1995. Considerazioni sulle strategie di campionamento ed analisi negli studi sul bioaccumulo di inquinanti atmosferici persistenti (Workshop - Siena, 13-14 Giugno 1994). *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **8**: 25-32.
- BARGAGLI R., IOSCO F.P., D'AMATO M.L., 1987. Zonation of trace metal accumulation in three species belonging to the genus *Parmelia*. *Cryptogamie Bryologie et Lichénologie*, **8**: 331-337.
- BARGAGLI R., IOSCO F.P., LEONZIO C., 1985. Monitoraggio di elementi in tracce mediante licheni epifiti. Osservazioni nell'area industriale di Rosignano Solvay. *Inquinamento*, **2**: 33-37.
- BARGAGLI R., NIMIS P.L., MONACI F., 1997. Lichen biomonitoring of trace element deposition in urban, industrial and reference areas of Italy. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **11**: 173-175.
- BARGAGLI R., ADAMO P., GIORDANO S., MINGANTI V., MODENESI P., TRETIACH M., 2004. Progetto COFIN 2002 "Sviluppo di metodologie per il monitoraggio biologico dell'inquinamento atmosferico da metalli in traccia nelle aree urbane ed industriali italiane": lo stato dell'arte. *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **17**: 38-39.
- BARI A., ROSSO A., MINCIARDI M. R., TROIANI F., PIERVITTORI R., 2001. Analysis of heavy metals in atmospheric particulates in relation to their bioaccumulation in explanted *Pseudevernia furfuracea* thalli. *Environmental Monitoring and Assessment*, **69**: 205-220.
- BARUFFO L., CRISAFULLI P., TRETIACH M., 2004. Monitoraggio della vitalità di "moss" e "lichen bags" in esperimenti di trapianto mediante misure di scambio gassoso, fluorescenza e contenuto di pigmenti fotosintetici. *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **17**: 32-33.
- BELLIO M.G., GASPARO D., 1995. Lichens as bioindicators of air quality: spatial and temporal variation. La Spezia case study. *Agricoltura Mediterranea*, special volume: 224-232.
- BENCO C., GRILLO C., ROSSI E., PALMIERI F., 2003. Biomonitoraggio di metalli mediante licheni epifiti nel territorio della Spezia. *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **16**: 35.
- BERGAMASCHI L., RIZZIO E., GIAVARI G., PROFUMO A., LOPPI S., GALLORINI M., 2004. Determination of baseline element composition of lichens using samples from high elevations. *Chemosphere*, **55**: 933-939.
- BETTINELLI M., PEROTTI M., SPEZIA S., BAFFI C., BEONE G.M., ALBERICI F., BERGONZI S., BETTINELLI C., CANTARINI P., MASCETTI L., 2002. The role of analytical methods for the determination of trace elements in environmental biomonitors. *Microchemical Journal*, **73**: 131-152.
- BETTINELLI M., SPEZIA S., BIZZARRI G., 1996. Trace element determination in lichens by ICP-MS. *Atomic Spectroscopy*, **17**: 133-141.
- BOMBARDI V., CRISAFULLI P., GIORDANI P., MODENESI P., MONACI F., RININO S., TRETIACH M., 2005. Tecniche istochimiche di localizzazione di metalli pesanti nel tallo lichenico. *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **18**: 19.

- CANIGLIA G., CALLIARI I., CELIN L., TOLLARDO A.M., 1994. Metal determination by EDXRF in lichens. A contribution to pollutants monitoring. *Biology and Trace Element Research*, **46**: 213-221.
- CERCASOV V., PANTELICA A., SALAGEAN M., CANIGLIA G., SCARLAT A., 2002. Comparative study of the suitability of three lichen species to trace-element air monitoring. *Environmental Pollution*, **119**: 129-139.
- DONGARRÀ G., OTTONELLO D., SABATINO G., TRISCARI M., 1995. Use of lichens in detecting environmental risk and in geochemical prospecting. *Environmental Geology*, **26**: 139-146.
- FRATI L., BRUNIALTI G., LOPPI S., 2005. Problems related to lichen transplants to monitor trace element deposition in repeated surveys: a case study from central Italy. *Journal of Atmospheric Chemistry*, **52**: 221-230.
- LOPPI S., 1999. Licheni come bioaccumulatori di elementi in traccia: stato dell'arte in Italia. In: Atti del Workshop *Biomonitoraggio della qualità dell'aria sul territorio nazionale*, Roma, 26-27 novembre 1998. ANPA-Serie Atti, 1999: 123-143.
- LOPPI S., CORSINI A., 2003. Diversity of epiphytic lichens and metal contents of *Parmelia caperata* thalli as monitors of air pollution in the town of Pistoia (C Italy). *Environmental Monitoring and Assessment*, **86**: 289-301.
- LOPPI S., BRUNIALTI G., 2004. Scale interpretative per i dati di bioaccumulo: un esempio per *Evernia prunastri*. In: Giordani P. & Brunialti G. (eds.), *XVII° Convegno Annuale della Società Lichenologica Italiana*, Libro dei Riassunti, Genova.
- LOPPI S., DE DOMINICIS V., 1996. Lichens as long-term biomonitors of air quality in central Italy. *Acta Botanica Neerlandica*, **45**: 563-570.
- LOPPI S., FRATI L., 2006. Lichen diversity and lichen transplants as monitors of air pollution in a rural area of central Italy. *Environmental Monitoring and Assessment*, **114**: 361-375.
- LOPPI S., PIRINTSOS, S.A., 2003. Epiphytic lichens as sentinels for heavy metal pollution at forest ecosystems (central Italy). *Environmental Pollution*, **121**: 327-332.
- LOPPI S., CHITI F., CORSINI A., BERNARDI L., 1994. Lichen biomonitoring of trace metals in the Pistoia area (central-northern Italy). *Environmental Monitoring and Assessment*, **24**: 17-27.
- LOPPI S., CORSINI A., BRUSCOLI C., ROSSETTI C., 1995. Lichen biomonitoring of heavy metals in Montecatini Terme (central-northern Italy). *Micologia e Vegetazione Mediterranea*, **10**: 122-128.
- LOPPI S., FRATI L., PAOLI L., BIGAGLI V., ROSSETTI C., BRUSCOLI C., CORSINI A., 2004. Biodiversity of epiphytic lichens and heavy metal contents of *Flavoparmelia caperata* thalli as indicators of temporal variations of air pollution in the town of Montecatini Terme (central Italy). *Science of the Total Environment*, **326**: 113-122.
- LOPPI S., NELLI L., ANCORA S., BARGAGLI R., 1997a. Passive monitoring of trace elements by means of tree leaves, epiphytic lichens and bark substrate. *Environmental Monitoring and Assessment*, **45**: 81-88.
- LOPPI S., NELLI L., ANCORA S., BARGAGLI R., 1997b. Accumulation of trace elements in the peripheral and central parts of a foliose lichen thallus. *Bryologist*, **100**: 251-253.
- LOPPI S., PAOLI L., GAGGI C., 2006. Diversity of epiphytic lichens and Hg contents of *Xanthoria parietina* thalli as monitors of geothermal air pollution in the Mt. Amiata area (central Italy). *Journal of Atmospheric Chemistry*, **53**: 93-105.
- LOPPI S., PUTORTI E., SIGNORINI C., FOMMEI S., PIRINTSOS S.A., DE DOMINICIS V., 1998. A retrospective study using epiphytic lichens as biomonitors of air quality: 1980 and 1996 (Tuscany, central Italy). *Acta Oecologica*, **19**: 405-408.
- LOPPI S., PAOLI L., FRATI L., BARGATTI E., 2005. Influenza della pulizia di campioni di *Xanthoria parietina* sul contenuto totale di alcuni elementi. *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **18**, 45-46.
- LOPPI S., PIRINTSOS S. A., DE DOMINICIS V., 1999. Soil contribution to the elemental composition of epiphytic lichens (Tuscany, central Italy). *Environmental Monitoring and Assessment*, **58**: 121-131.
- MINGANTI V., CAPELLI R., DRAVA G., DE PELLEGRINI R., BRUNIALTI G., GIORDANI P., MODENESI P., 2003. Biomonitoring of trace metals by different species of lichens (*Parmelia*) in North-West Italy. *Journal of Atmospheric Chemistry*, **45**, 219-229.
- MODENESI P., 2003. Meccanismi di bioaccumulo nei licheni. *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **16**: 81-85.
- NIMIS P. L., ANDREUSSI S., PITTAO E., 2001. The performance of two lichen species as bioaccumulators of trace metals. *Science of the Total Environment*, **275**: 43-51.
- NIMIS P. L., BARGAGLI R., 1999. Linee-guida per l'utilizzo di licheni epifiti come bioaccumulatori di metalli in traccia. In: Atti del Workshop *Biomonitoraggio della qualità dell'aria sul territorio nazionale*, Roma, 26-27 novembre 1998. ANPA-Serie Atti, 1999: 279-289.
- NIMIS P. L., CASTELLO M., PEROTTI M., 1993. Lichens as bioindicators of heavy metal pollution: a case study at La Spezia (N Italy). In: Markert, B. (ed.) *Plants as Biomonitors. Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment*. VCH, Weinheim: 265-284.
- NIMIS P. L., LAZZARIN G., LAZZARIN A., SKERT N., 2000. Biomonitoring of trace elements with lichens in Veneto (NE Italy). *Science of the Total Environment*, **255**: 97-111.
- PAWLIK-SKOWROŃSKA B., SANITÀ DI TOPPI L., FAVALI M.A., FOSSATI F., PIRSZEL J., SKOWROŃSKI T., 2002. Lichens respond to heavy metals by phytochelatin synthesis. *New Phytologist*, **156**: 95-102.
- RIZZIO E., BERGAMASCHI L., VALCUVIA M. G., PROFUMO A., GALLO-RINI M., 2001. Trace elements determination in lichens and in the airborne particulate matter for the evaluation of the atmospheric pollution in a region of northern Italy. *Environmental International*, **26**: 543-549.
- SANITÀ DI TOPPI L., 2005. Danni e strategie di disintossicazione dei metalli pesanti nei licheni fogliosi. *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **18**: 15-16.
- SANITÀ DI TOPPI L., MUSETTI R., MARABOTTINI R., CORRADI M.G., VATTUONE Z., FAVALI M.A., BADIANI M., 2004. Responses of *Xanthoria parietina* thalli to environmentally relevant concentrations of hexavalent chromium. *Functional Plant Biology*, **31**: 107-117.
- SCERBO R., POSSENTI L., LAMPUGNANI L., RISTORI T., BARALE R., BARGHIGIANI C., 1999. Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Livorno Province (Tuscany, Italy). *Science of the Total*

- Environment*, **241**: 91–106.
- SCERBO R., RISTORI T., POSSENTI L., LAMPUGNANI L., BARALE R., BARGHIGIANI C., 2002. Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Pisa Province (Tuscany, Italy). *Science of the Total Environment*, **286**: 27-40.
- TRETIACH M., BARUFFO L., 2001. Contenuto di elementi in traccia in talli di *Parmelia borrieri* e *Xanthoria parietina* raccolti sullo stesso forofita. *Notiziario della Società Lichenologica Italiana*, **14**: 70.
- TRETIACH M., MONACI F., BARUFFO L., BARGAGLI R., 1999. Effetti dell'H₂S sul contenuto di elementi in tracce nel lichene epifita *Parmelia sulcata*. *Bollettino della Società Adriatica di Scienze*, **78**: 365-387.