

Contributo alla conoscenza degli effetti dell'inquinamento atmosferico su foglie di *Eucalyptus camaldulensis* ed *E. globulus* (Myrtaceae)

M.G. ALAIMO e D. VIZZI

ABSTRACT - *Contribution to the knowledge of air pollution effects on Eucalyptus camaldulensis and E. globulus (Myrtaceae) leaves* - This study deals with the metal storage found in *Eucalyptus camaldulensis* and *E. globulus* leaf structures. The cytological and chemical analysis were carried out on samples from the city of Agrigento and its surroundings. The investigation pointed out that the the most evident alterations are phenolic storage and distinctive cellular modification. These features appear related to the greater presence of trace elements within the sites that are more exposed to intense vehicular traffic. Winter samples, moreover, have more evident structural modifications due to a bigger concentration of polluting agents compared to summer.

Key words: *Eucalyptus*, leaves, pollutants, urban areas

Ricevuto il 31 Maggio 2011
Accettato il 22 Giugno 2012

INTRODUZIONE

Le aree urbane sono esposte a numerosi contaminanti atmosferici emessi da sorgenti antropogeniche sotto forma di particelle solide o liquide. Le fonti principali di questi inquinanti sono le zone industriali, i sistemi di riscaldamento domestico e i veicoli a motore (NRIAGU, PACYNA, 1988), gli ultimi due particolarmente predominanti nelle aree urbane.

Negli ultimi anni il biomonitoraggio delle deposizioni contaminanti, in particolar modo per gli elementi in traccia, ha avuto un incremento favorevole rispetto ai metodi convenzionali. Le analisi fogliari, infatti, sono di particolare aiuto per determinare elementi presenti in atmosfera in piccole concentrazioni o solo temporaneamente (ALFANI *et al.*, 2000).

I metalli in traccia, presenti nell'atmosfera delle aree metropolitane, si depositano sulle foglie delle piante superiori; nonostante l'azione impermeabilizzante della cuticola, possono raggiungere il mesofillo fogliare attraverso gli stomi e le frammentazioni della cuticola stessa, quindi essere assorbiti dalla foglia direttamente per via stomatica o anche attraverso le radici. Dopo la penetrazione, i metalli in traccia, adesi al particolato pesante, fine ed ultra fine, diffondono attraverso la soluzione acquosa che bagna le pareti cellulari del mesofillo fogliare; la corrente traspiratoria determina il trasporto ed il successivo accumulo

in parti diverse della foglia e vengono eliminati soltanto con la decomposizione di parti o dell'intera pianta. Il particolato che si accumula sulla superficie fogliare dipende dalla sua dimensione, dalla velocità di sedimentazione e dalle proprietà della superficie fogliare (DE NICOLA *et al.*, 2008).

La solubilità in acqua dei vari elementi dipende dalle loro proprietà chimiche, dalla natura, dalle dimensioni delle particelle a cui gli elementi sono associati (VOUSTA, SAMARA, 2002; DESBOEUF *et al.*, 2005). In generale, gli elementi legati all'aerosol carbonioso dissolvono in mezzo acquoso più facilmente di quelli legati ad una matrice allumino-silicatica (DESBOEUF *et al.*, 2005; KARTHIKEYAN *et al.*, 2006).

Lo studio degli effetti fitotossici degli inquinanti riveste notevole importanza per vari motivi; innanzi tutto le specie vegetali sottoposte all'azione degli inquinanti possono subire cospicui danni con conseguenti ripercussioni di tipo economico ed estetico ed in secondo luogo le modificazioni e le risposte di tipo morfologico, strutturale, genetico e fisiologico, sia a livello di organismo che di popolazione, possono fornire notevoli informazioni per una valutazione dello stato di salute dell'ambiente (LORENZINI, 1981; BARGAGLI, 1998; MONACI *et al.*, 2000).

Nei centri abitati urbani, tra i quali ben si colloca la

città di Agrigento e dintorni, i valori delle concentrazioni di inquinanti atmosferici sono, ancora oggi, elevati, pur con oscillazioni riguardanti alcuni inquinanti primari e secondari nelle diverse ore del giorno e nei diversi periodi dell'anno.

In tale contesto si inserisce la necessità di controllare i livelli degli inquinanti presenti in atmosfera.

Molti aspetti fisiologici ed ecologici, relativi alle risposte agli inquinanti ambientali, sono in gran parte sconosciuti, per cui gli studi sull'argomento sono ancora necessari ed utili a mettere a fuoco nuove problematiche. Con questo lavoro sperimentale si vuole portare avanti un'indagine di bioindicazione e biomonitoraggio ambientale su *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh e *E. globulus* Labill, piante sempreverdi a rapida crescita, utilizzate spesso come frangivento nelle zone costiere o per rimboschimenti di aree costiere marginali, e diffuse nella città di Agrigento e nei suoi dintorni.

Eucalyptus (*Myrtaceae*), è un genere tropicale nativo della Tasmania, della Nuova Guinea, ma soprattutto dell'Australia, che comprende circa seicento specie con caratteri morfologici piuttosto simili in grado di ibridarsi con facilità. Appartengono a questo genere soprattutto specie arboree, alcune di dimensioni eccezionali; le specie arbustive, invece, sono in numero inferiore e possono raggiungere l'altezza massima di tre metri (FERRARI, MEDICI, 1996).

Le specie che caratterizzano le località di prelievo prese in esame sono *E. camaldulensis* e *E. globulus*, entrambe afferenti al subgenere *Simphiomyrtus* (PIGNATTI 1982; BULLINI *et al.*, 1998).

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di individuare e misurare gli elementi in traccia e determinare il loro impatto su indicatori biologici passivi nell'area di Agrigento (Sicilia) al fine di correlare le proprietà istochimiche con il contenuto di elementi in traccia. Le colorazioni istochimiche per individuare i fenoli, condotti in differenti periodi, hanno permesso di valutare l'accumulo dei metaboliti secondari nei vacuoli del mesofillo e nelle cellule dell'epidermide fogliare.

Inoltre, sono stati verificati i fenoli solubilizzati nel citoplasma, che potrebbero, quando iper-prodotti, impregnare le cellule epidermiche più esterne per essere poi localizzate, come uno strato opaco, nello spazio tra la parete esterna dell'epidermide e la cuticola. (ZOBEL, NIGHSWANDER, 1991; ALAIMO *et al.*, 2000).

L'inquinamento atmosferico frequentemente causa sintomi di danno visibili sulle foglie. Il danno è spesso associato con un aumento delle piante alla esposizione agli elementi tossici (ANGOLETTA *et al.*, 1993). Si è indagata la distribuzione degli elementi in traccia nelle foglie di eucalipto presenti in siti controllo non inquinati e in aree inquinate. La composizione chimica della foglia viene spesso usata per monitorare l'inquinamento ambientale: la clorosi e la necrosi fogliare, l'alterazione strutturale delle cellule e l'aumento del contenuto di fenoli sono osservabili dove esiste un accumulo di elementi tossici (ALAIMO *et al.*, 2003; MELATI *et al.*, 2006).

Questi risultati confermano la convenienza del meto-

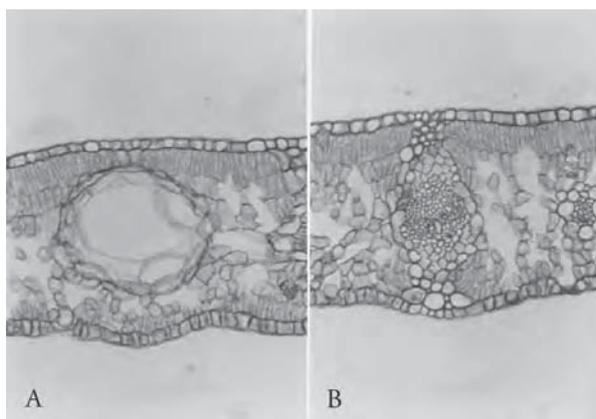
do impiegato per il biomonitoraggio delle aree urbane. I dati ottenuti indicano una differente presenza di inquinanti in dipendenza delle stagioni (inverno/estate) e questo può essere riferito a differenti condizioni meteorologiche e attività antropiche, in particolare al traffico urbano che decresce fortemente in estate.

MATERIALI E METODI

Tutti i metodi di indagine utilizzati hanno avuto come obiettivo l'osservazione della morfologia e della struttura delle foglie. Inoltre, si è voluta verificare sia la presenza di sostanze legate a situazioni metaboliche anomale (metaboliti secondari), sia la presenza di materiale organico ed inorganico correlato in qualche modo all'apparato fogliare.

Microstruttura della foglia di eucalipto

Osservando la foto di una sezione trasversale di una foglia di eucalipto (Figg. A, B) si vede che essa presenta una simmetria dorso-ventrale: si nota infatti un tessuto a palizzata piuttosto compatto, dato da uno, massimo due strati di cellule, ed un tessuto lacunoso sottostante, piuttosto lasso.



Nello spessore della foglia, vicino all'epidermide, si notano le tasche lisigene di forma circolare che contengono oli eteri. L'epidermide è circondata dalla cuticola che risulta più ispessita nella pagina superiore ed ha un margine alquanto ondulato e protruso. Gli stomi sono di piccole dimensioni e quasi infossati, conseguenza degli habitat di crescita dell'eucalipto. Il tessuto meccanico è rappresentato da elementi sclerenchimatici che circondano i fasci conduttori che si estendono sino all'epidermide. Per questa sua architettura possiamo definire tale tessuto a trave longitudinale. Il sistema vascolare della foglia è dato da una nervatura mediana da cui si dipartono nervature secondarie, che si ricongiungono ai margini, costituite da un paio di nervature acrodromali dominanti e molte nervature pennate minori nella parte superiore della foglia. Le nervature intercostali sono scalariformi ossia date da nervature terziarie parallele tra di loro, orientate ad angolo retto rispetto alla nervatura mediana (STRASBURGER, 2001).

Area di studio e modalità di campionamento

Le piante, dalle quali sono stati prelevati randomicamente, lungo tutto il perimetro, i campioni fogliari, sono state fotografate e valutate in pieno campo dal punto di vista delle caratteristiche morfologiche.

Le foglie di eucalipto sono state raccolte da piante cresciute ad Agrigento in diverse stazioni prescelte come rappresentative dei siti urbani e periurbani, più o meno soggette a traffico veicolare.

Le foglie sono state divise in due lotti: uno per le analisi biologiche ed uno per le analisi chimiche. I siti sono indicati in Tab. 1.

TABELLA 1

Siti di campionamento.
Sampling locations.

Sigla campione	Specie	Ubicazione	Siti urbani ed intensità traffico autoveicolare
E1	<i>Eucalyptus globulus</i>	Via Ragazzi del 99	Poco intenso
E2	<i>Eucalyptus globulus</i>	Via Papa Luciani	Poco intenso
E3	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Via Petrarca	Intenso
E4	<i>Eucalyptus globulus</i>	Via Gioeni	Intenso
E5	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Via L.Sciascia (Esso)	Intenso
E6	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Via XXV Aprile	Intenso

Sono state prese in considerazione le caratteristiche fogliari, valutate, dapprima, nella loro morfologia esterna e, successivamente, nella loro organizzazione strutturale, dopo avere eseguito le sezioni trasversali. Un gruppo di foglie è stato utilizzato per il dosaggio dei metalli pesanti ed i valori chimici ottenuti sono stati messi in correlazione con gli adattamenti strutturali delle foglie, esposte al traffico autoveicolare (stazioni trafficate).

I campioni, essiccati alla temperatura di circa 50 °C, per 8 ore, sono stati preparati per le analisi chimiche e sul campione non essiccato sono state eseguite le criosezioni.

Analisi morfologica e citochimica

Queste ultime, eseguite per ricavare informazioni sulla morfologia e citologia, sono state effettuate ad una temperatura di -27 °C, utilizzando un criostato Jung CM3000 (Leika). Le foglie sono state sezionate a 30 µm di spessore e conservate a 0 °C prima di essere utilizzate per le colorazioni citochimiche (GAHAN, 1984). Su tutti i campioni è stata, inoltre, eseguita la colorazione dei polifenoli per mettere in evidenza la presenza ed eventuali accumuli di questi composti all'interno delle foglie (GAHAN, 1984). Sono state colorate le criosezioni della porzione apicale e basale della foglia, sempre con spessore di circa 30 µm, per osservare eventuali differenze.

Per eseguire la colorazione si è preparato il tampone acetato a pH 6.5 e si sono aggiunti il colorante Fast Blue BB 0.08% e il cloruro di magnesio che serve ad intensificare la colorazione.

Contemporaneamente alle colorazioni citochimiche, i

campioni criosezionati sono stati osservati al microscopio ottico per una preliminare descrizione morfologica. Per osservare in dettaglio la struttura di foglie di eucalipto da utilizzare come riferimento per la descrizione e il confronto con altri campioni, sono stati effettuati dei preparati di foglie sane con il metodo della doppia colorazione utilizzando fast green 0.5% e safranina 1%.

Analisi chimiche

Le determinazioni dei metalli pesanti sono state eseguite presso l'Actlab.(Ontario, Canada). Dopo riduzione del campione in piccoli pezzi è stata effettuata una estrazione, alla quale è seguita una opportuna concentrazione. L'analisi è stata effettuata in GC/MS e INAA con uno specifico programma per evitare qualunque interferenza nelle selezioni delle fasi.

Trattamento statistico dei dati

Diverse repliche hanno prodotto una precisione del 20-30% per gli elementi minori e del 5-10% per gli elementi principali (Actlab, Ontario, Canada). Le concentrazioni sono espresse in ppm o µg/g di peso secco (SOTO GONZALES *et al.*, 1996). I test sono stati ripetuti cinque volte. A causa delle variabili biologiche, chimiche e fisiche, omogenee all'interno di ogni classe, ma non tra le classi, i dati in oggetto non sono stati sottoposti ad analisi statistica parametrica, ma alle osservazioni per mappare la presenza o l'assenza di lesioni nelle piante. Data l'uniformità dei risultati ottenuti, e tenuto conto del piccolo numero di campioni, paragonabile alle precedenti osservazioni, non si è ricorso a piani sequenziali che avrebbero fornito la prova inequivocabile della correlazione tra inquinamento e le lesioni.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Dati biologici

Nella valutazione della captazione degli inquinanti, che causano danni morfologici prontamente visibili o danni microscopici, un fattore importante è rappresentato dai cambiamenti stagionali.

Durante la crescita della pianta o nell'evolversi della senescenza, c'è un movimento diverso di nutrienti, che differiscono anche per la loro diversa motilità.

Questi cambiamenti sono molto evidenti nelle foglie con un diverso andamento tra estate e inverno:

in inverno, quando le temperature sono piuttosto basse, si può assistere al fenomeno dell'inversione termica, per cui i normali movimenti convettivi che portano l'aria più calda, dello strato più basso della troposfera, verso l'alto e quella più fredda, degli strati più alti, in basso, si bloccano in quanto l'aria vicina al suolo è più fredda di quella dello strato superiore; in questo modo le sostanze inquinanti rimangono intrappolate in prossimità del suolo; a questo fenomeno naturale si aggiunge l'apporto di inquinanti provenienti dal riscaldamento degli ambienti confinati (LORENZINI, 1983).

Il periodo invernale è generalmente un periodo di stasi per le specie vegetali mentre nel periodo prima-

verile – estivo assistiamo ad una ripresa massiva dell'attività evidenziata dalla produzione di foglie nuove e dalla fioritura, come nel caso degli eucalipti e di altre specie arboree.

Facendo una comparazione tra i due periodi in questione, si può dunque avere una visione completa del comportamento delle piante nei confronti degli inquinanti, sia al variare delle condizioni meteo climatiche sia al variare dell'attività fisiologica.

Le condizioni di stress, relative ai campioni delle stazioni maggiormente coinvolte dal traffico autoveicolare, si evidenziano attraverso i caratteristici accumuli di polifenoli, che appaiono come goccioline di materiale rosso bruno, presente nelle cellule mesofillari e con la presenza di aree necrotiche dovute a fenomeni di plasmolisi delle cellule del mesofillo.

In tutti i campioni le cuticole non si presentano mai colorate, dunque non sono reattive alla presenza del Fast Blue BB, che mette in evidenza la presenza di polifenoli.

Comparando le Figg. 1-6 con le Figg. 7-12 si evidenziano le differenze tra i campioni invernali, che risultano più stressati ed i campioni estivi più armonici.

Nella stazione E1, Via Ragazzi del 99 (Figg. 1a, b), che rappresenta un sito poco inquinato, le cellule mesofillari appaiono integre e con limitati accumuli fenolici, sia nelle porzioni apicali della foglia (a), che nelle porzioni basali(b).

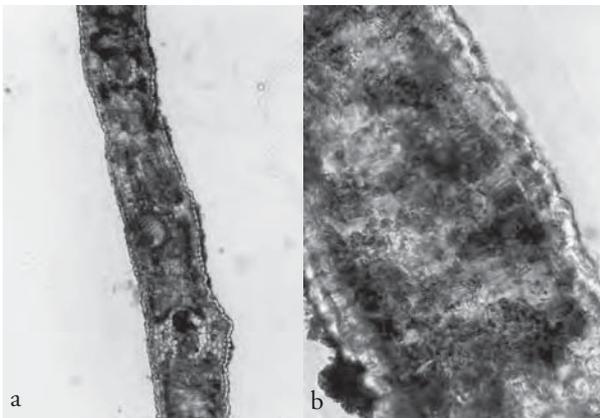


Fig. 1

La presente stazione rappresenta un sito di fondo, ossia la Via Ragazzi del 99 (E1). Le cellule mesofillari appaiono integre e con limitati accumuli fenolici, sia nelle porzioni apicali della foglia (a), che nelle porzioni basali (b).

The station is a comparison site, which is Via Ragazzi del 99 (E1). Mesophyll cells seem to be intact with limited phenolic storage, both in the apical portion of the leaf (a) and in its basal one (b).

Nella stazione urbana poco trafficata di Via Papa Luciani (E2) Figg. 2a,b, le foglie presentano pochi accumuli di metaboliti secondari nel mesofillo e cellule perfettamente integre.

Un carattere particolare è rappresentato nella Fig. 2c, dal denso secreto dentro una tasca. Le tasche secretrici si presentano però, poco numerose. Il denso

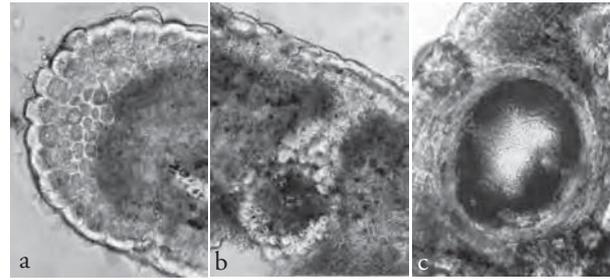


Fig. 2

Campioni di eucalipto di una stazione urbana poco trafficata, la Via Papa Luciani (E2). Le foglie presentano pochi accumuli di metaboliti secondari (a, b) nel mesofillo e cellule perfettamente integre. Un carattere particolare è rappresentato nella Fig. 2c, dal denso secreto dentro una tasca. Le tasche secretrici si presentano però, poco numerose. Il denso secreto rappresenta un segnale di danno in una situazione che non può definirsi in assoluto quella di una stazione pulita.

Samples of Eucalyptus from a few traffic-congested urban station, Via Papa Luciani (E2). Leaves show few secondary metabolites storage (a, b) in the mesophyll and perfectly intact cells. A particular characteristic is shown in Fig. 2c, from a dense secretion inside a cavity. However, secretion cavity are not numerous. The dense secretion represents a damage sign in a situation which cannot absolutely be defined as that of a clean station.

secreto rappresenta un segnale di danno in una situazione che non può definirsi in assoluto quella di una stazione pulita.

Talvolta, si osservano cellule deformate, zone di necrosi e canali secretori più abbondanti del normale (Figg. 3, 4, 5, 6), porzioni mesofillari particolarmente ridotte (Fig. 4), accumuli particolarmente



Fig. 3

Criosezioni della stazione Via Petrarca (E3). La stazione ha un elevato traffico viario, gli accumuli di metaboliti secondari sono meno massivi rispetto, per esempio, alla stazione E6, perché c'è molta ventilazione e la strada è ad ampia carreggiata.

Cryosections from the station of Via Petrarca (E3). This station is surrounded by an high city traffic; secondary metabolites storage is less massive then, for instance, those of station E6. This occurs because the place is highly windy and the street has a wide roadway.



Fig.4

Campioni di eucalipto provenienti dalla stazione urbana di Via Gioeni (E4). Le foglie sezionate a livello apicale presentano numerose tasche particolarmente ricche di denso secreto. Si osservano zone di necrosi e accumuli di metaboliti secondari in sede mesofillare.
 Samples of eucalyptus from Via Gioeni (E4) urban station. Dissected leaves on apical level show many sacs rich of dense secretion. We can observe areas of necrosis and secondary metabolites storage in the mesophyll centre.



Fig. 5

Stazione Viale Leonardo Sciascia nei pressi del rifornimento ESSO (E5). Campioni di eucalipto del periodo invernale con accumuli di metaboliti secondari nei tessuti mesofillari e intorno alle tasche secretorie, che sono molto più numerose nelle stazioni inquinate.
 Viale Leonardo Sciascia station near Esso petrol station (E5). Winter seasons samples of Eucalyptus with secondary metabolites storage in the mesophyll tissue and around secretory cavity. The latter are more numerous in polluted stations.

abbondanti (Fig. 6) corrispondenti alla stazione di Via Petrarca (E3).

Nei campioni estivi della stazione di Via Papa Luciani o Via Ragazzi del '99, le cellule mesofillari si presentano integre e i depositi fenolici in forma di goccioline. Rispetto ai campioni invernali di Via Petrarca, gli accumuli fenolici sono minori, quindi la colorazione appare meno scura (Figg. 9-10), ma

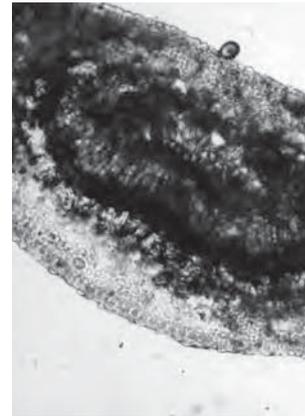


Fig. 6

Sezioni della stazione urbana Via XXV Aprile (E6), stazione molto trafficata. Gli accumuli di metaboliti secondari sono ben evidenti, si tratta di accumuli dal colore molto intenso.
 Sections from the urban station Via XXV Aprile (E6), which is traffic-congested. Secondary metabolites storage are clearly visible, we deal with very intensely coloured storage.

hanno comunque un elevato numero di canali secretori (Figg. 11-12).

Confrontando le criosezioni dei campioni estivi (Figg. 7-12) con i corrispondenti campioni invernali (Figg. 1-6), si evidenzia che gli accumuli fenolici sono meno massivi e si osservano poche aree necrotiche.

I campioni di foglie sono stati raccolti in differenti siti e in due diversi periodi dell'anno. Le caratteristiche istochimiche e la differente concentrazione degli elementi in traccia non sono legate alla tipologia dei siti, ma ai fattori climatici stagionali e alle caratteristiche citoistologiche e fisiologiche delle piante esaminate.

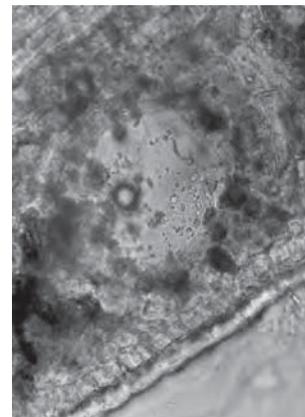


Fig. 7

Campione estivo della stazione di fondo, Via Ragazzi del 99 (E1). Le cellule si presentano integre ed i depositi fenolici sono in forma di goccioline.
 Summer sample from (stazione di fondo), Via Ragazzi del 99 (E1). Cells are intact and phenolic deposits are drop-shaped.

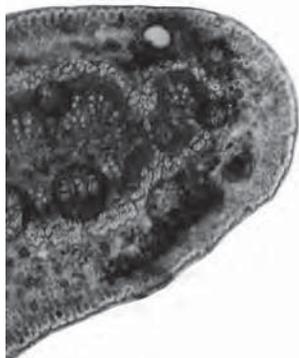


Fig. 8

Campioni estivi della stazione di Via Papa Luciani (E2). Si osservano alcune necrosi, anche se la porzione basale appare ben organizzata.
 Summer samples from the station of Via Papa Luciani (E2). We can observe some necrosis, even if the basal portion seems well organized.

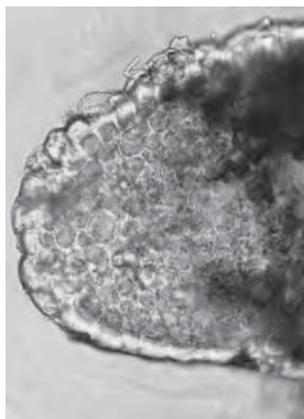


Fig. 9

Campioni estivi della stazione di Via Petrarca (E3), trafficata ma con buona ventilazione. Si osservano numerosi canali, abbastanza vicini tra loro, zone di necrosi, distorsioni cellulari e accumuli fenolici. Rispetto ai campioni invernali, questi presentano accumuli fenolici meno concentrati (meno scuri), ma un alto numero di canali secretori.
 Summer samples from the station of Via Petrarca (E3), traffic-congested but highly windy. We can observe many canals, quite near each other, necrotic areas, cellular distortions and phenolic storage. Compared with winter samples, the summer ones show less concentrated (less dark) phenolic storage, but also a high number of secretory canals.

Dati chimici

Le superfici fogliari di piante contaminate da aerosol contengono numerosi elementi in traccia, la cui quantità è determinata da condizioni ambientali, stagione e caratteristiche della lamina. (SMITH *et al.*, 1978). In particolare l'assorbimento (SMITH, JONES, 2000) è regolato per lo più da fattori climatici e stagionali.

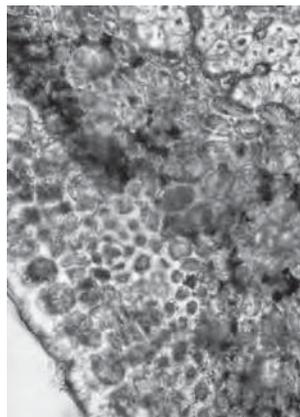


Fig. 10

Stazione di Via Gioeni (E4). I quattro campioni estivi di questa strada trafficata, limitrofa ad una autofficina, si presentano con alcune cellule distorte, zone di necrosi e accumuli fenolici che non riguardano le cuticole ed i tessuti meccanici. Confrontando le criosezioni di questi campioni con i corrispondenti campioni invernali si evidenzia che gli accumuli fenolici sono meno massivi e meno scuri alla colorazioni e si osservano anche meno necrosi.

Via Gioeni station (E4). The four summer samples from this traffic-congested street, which is near to a garage, show some distorted cells, necrotic areas and phenolic storage which doesn't concern cuticles and mechanical tissues. Comparing the cryosections of these samples with the winter ones we can note that phenolic storage is less massive and with less dark coloration; we can also observe a smaller number of necrosis.

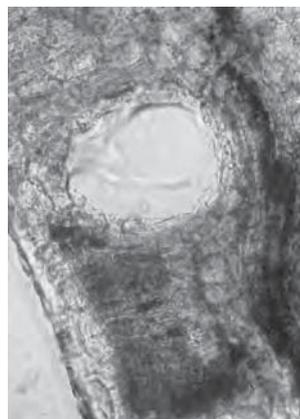


Fig. 11

Campioni estivi della stazione ESSO (E5). Si osservano aree necrotiche e depositi fenolici. Questi depositi sono meno concentrati (quindi meno scuri) rispetto ai campioni invernali e, soprattutto intorno ai canali secretori, l'accumulo di polifenoli è di gran lunga inferiore rispetto a quello dei campioni invernali.
 Summer samples from ESSO station (E5). We can observe necrotic areas and phenolic deposits. The latter are less concentrated (therefore less dark) compared with the winter samples and especially around the secretory canals the polyphenolic storage is much lower than the one we can observe in the winter samples.

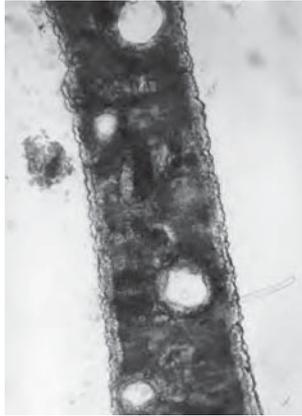


Fig. 12

Campioni estivi della stazione di Via XXV Aprile (E6), molto trafficata. Si osservano numerosi canali e depositi fenolici. I polifenoli, depositati entro le cellule, si presentano meno concentrati rispetto a quelli dei campioni invernali.

Summer samples from the station of Via XXV Aprile (E6), highly traffic-congested. We can observe a lot of channels and phenolic deposits. Polyphenols, stored inside the cells, are less concentrated than those of the winter samples.

Gli elementi in traccia sono facilmente identificabili nei siti urbani e industriali; alcuni aderiscono alla superficie fogliare, mentre altri, come Zn e Cd (LITTLE, MARTIN, 1972), raggiungono i tessuti interni della pianta (HAGHIRI, 1973).

Alcuni autori hanno evidenziato un limitato assorbimento fogliare di alcuni elementi in traccia (SCHUCK, LOCKE, 1970), mentre altri hanno stabilito che alcuni elementi diventano solubili dopo l'impatto, filtrano all'interno dei tessuti della pianta attraverso gli stomi o altre vie d'entrata. Il piombo, per esempio, rimane inizialmente sulla superficie fogliare e soltanto dopo un determinato periodo di tempo (due settimane) penetra attraverso la cuticola (ARVIK, ZIMDAHL, 1974).

Il contenuto dei metalli nelle foglie è influenzato dai processi naturali (spruzzi marini, polveri dei terreni)

e dalle attività antropogeniche (consumo di combustibile fossile, riscaldamento domestico ed industrie). Il livello di Ca indubbiamente è influenzato dagli affioramenti calcarenitici della città; gli altri elementi, come Pb, Cu, Zn e Sb provengono essenzialmente da fonti antropiche (ALAIMO *et al.*, 2000, 2003). Si presentano i dati relativi al contenuto di metalli in traccia in campioni fogliari di eucalipto, prelevati ad Agrigento, in stazioni ubicate in area urbana o nella vicina periferia.

I dati che si riferiscono ai campioni di eucalipto prelevati nel periodo invernale sono più elevati di quelli del periodo estivo, tranne che per alcuni elementi; infatti il periodo invernale generalmente rappresenta quello più stressante per le piante, poiché le attività antropiche, relative al traffico veicolare e al riscaldamento domestico, sono più elevate.

Si sono evidenziate significative concentrazioni di Au, Br, Cr, Cu e talvolta anche di Mo, Sb e Mn, solitamente, ma non sempre, maggiormente presenti nelle aree urbane.

Cu, Mo, Sb e Cr sono elementi di origine antropica, attribuibili al traffico veicolare e al deterioramento meccanico di parti metalliche. Sono anche significativamente presenti quegli elementi definibili come elementi del contributo crostale.

Nell'eucalipto la composizione chimica fogliare risulta elevata per quanto riguarda Sr, Ni, Br, S, Ca, Na, Mg. (Tabb. 2, 3, 4, 5).

In generale, i valori più elevati sono stati riscontrati presso la stazione ESSO (E5), ma anche in Via Papa Luciani (E2) e in Via Ragazzi del 99 (E1), che rappresentano le stazioni con scarso traffico veicolare, paragonabile a quello di vere e proprie aree periurbane. Le concentrazioni di elementi in traccia, nella maggior parte, sono risultate comparabili alle vie urbane ad elevato traffico viario (Tabb. 2, 3, 4, 5). Questi dati fanno ipotizzare che, dalle aree più inquinate, ci sia un massivo movimento di inquinanti verso le aree più pulite.

Complessivamente, risulta meno inquinata la stazione di Via Petrarca (E3), sito trafficato, ma con strada ad ampia carreggiata e molto ventilata, dove, però, si trovano valori elevati riferibili al Br e al K.

In tutti i campioni si è ritrovato un contenuto di Pb

TABELLA 2

Concentrazioni dei macroelementi nelle foglie di Eucalyptus provenienti da stazioni a differente traffico autoveicolare nel periodo invernale. I dati sono espressi in ppm (peso secco).

Macroelement concentrations in Eucalyptus leaves from different road traffic sites in winter. Data are in ppm (dry weight).

	ppm Ca	ppm Fe	ppm K	ppm Na	pmm Mg
E1	36100	200	4600	2600	3100
E2	17400	150	6900	2300	2600
E3	15000	100	8100	4100	3300
E4	17000	100	6800	3000	1800
E5	25900	200	5800	2600	2400
E6	16000	400	6600	4600	2400
media	21233,33333	191,6666667	6466,666667	3200	2600
dev, st	8266,236548	111,4300977	1175,868473	931,6651759	540,3702434

TABELLA 3

Concentrazioni dei microelementi nelle foglie di *Eucalyptus* provenienti da stazioni a differente traffico autoveicolare nel periodo invernale. I dati sono espressi in ppm (peso secco).

Microelement concentrations in *Eucalyptus* leaves from different road traffic sites in winter. Data are in ppm (dry weight). Values < 3 indicate less than the reporting limit.

	ppm Sr	ppm Zn	ppm Ni	ppm Pb	ppm Cu	ppm Mn	ppm Mo	ppm Sb	ppm Br
E1	378	22	6	< 3	5	101	0,54	0,078	20,4
E2	210	23	7	< 3	7	70	0,5	0,05	16,8
E3	228	31	3	< 3	9	96	0,59	0,264	33,6
E4	304	34	4	< 3	9	36	0,74	0,228	14,4
E5	699	75	3	< 3	14	54	0,005	0,312	28,8
E6	297	30	4	< 3	13	55	0,66	1,13	19,2
media	352,6666667	35,83333333	4,5	ND	9,5	68,66666667	23,80111574	0,343666667	22,2
dev, st	179,9729609	19,75263695	1,643167673	ND	3,449637662	25,54734168	0,260481517	0,398965496	7,426439254

TABELLA 4

Concentrazioni dei macroelementi nelle foglie di *Eucalyptus* provenienti da stazioni a differente traffico autoveicolare nel periodo estivo. I dati sono espressi in ppm (peso secco).

Macroelement concentrations in *Eucalyptus* leaves from different road traffic sites in summer. Data are in ppm (dry weight).

	ppm Ca	ppm Fe	ppm K	ppm Na	ppm Mg
E1	21200	148	5130	1900	2700
E2	26200	113	6610	1710	1790
E3	20900	143	10600	2520	2240
E4	22900	180	8420	2050	1190
E5	36000	268	5090	2040	2100
E6	22200	176	7760	3010	1510
media	24900	171,3333333	7268,333333	2205	1921,666667
dev, st	5759,861109	53,27538519	2117,50246	476,770385	540,5706861

TABELLA 5

Concentrazioni dei microelementi nelle foglie di *Eucalyptus* provenienti da stazioni a differente traffico autoveicolare nel periodo estivo. I dati sono espressi in ppm (peso secco).

Microelement concentrations in *Eucalyptus* leaves from different road traffic sites in summer. Data are in ppm (dry weight). Values < 3 indicate less than the reporting limit.

	ppm Sr	ppm Zn	ppm Ni	ppm Pb	ppm Cu	ppm Mn	ppm Mo	ppm Sb	ppm Br
E1	166	16	6	< 3	5	89,9	0,43	0,08	21,6
E2	287	28	6	< 3	6	100	0,67	0,072	14,4
E3	334	24	3	< 3	6	112	0,29	0,028	27,6
E4	373	32	2	< 3	8	60,3	1,24	0,053	14,4
E5	116	60	3	< 3	12	62,6	0,34	0,053	33,6
E6	428	31	4	< 3	8	56,8	0,33	0,033	16,8
media	284	31,83333333	4	ND	7,5	80,26666667	0,55	0,053166667	21,4
dev, st	121,0900491	14,97219645	1,673320053	ND	2,50998008	23,45494973	0,364691651	0,020566153	7,829176202

molto basso (Tabb. 3, 5) e questo si può spiegare valutando che in questi ultimi tempi il contenuto di questo elemento nell'area urbana si è andato riducendo; inoltre il Pb costituisce solitamente un deposito superficiale sulle foglie, le quali, per di più, nel caso dell'eucalipto sono coriacee e, quindi, più difficilmente attraversabili, mentre Cu, Zn, Fe sono elementi a maggiore penetrazione fogliare. Il campionamento estivo ha evidenziato che i valori

più alti in assoluto sono stati quelli di Ca, K, Na ed il Mg (Tabb. 4, 5).

Tra i macroelementi dosati nelle foglie, i valori più elevati si notano per il Ca in Via Ragazzi del 99 (E 1) e vicino al rifornimento di carburante ESSO (E5), che aumentano nel periodo estivo; seguono i valori di K, più elevati in Via Petrarca (E3), Via Papa Luciani (E2), Via Gioeni (E4), quindi i valori di Na e di Mg, con concentrazioni similari più o meno in

tutte le stazioni (Tabb. 2, 4)

Per quanto riguarda i microelementi, i valori maggiori sono quelli di Sr (ESSO E5 e Via Ragazzi del 99 E1), poi quelli di Mn (Via Ragazzi del 99 E1, Via Petrarca E3) e infine quelli di Zn (ESSO E5, Via Gioieni E4) (Tabb. 3, 5).

La concentrazione di Zn nelle piante sta in un range compreso tra 2 e 20 ppm (KABATA-PENDIAS, PENDIAS, 1993).

Il Br ha valori compresi tra 33,6 e 14,4 ppm (le concentrazioni più alte sono in ESSO E5 e Via Petrarca E3) in inverno, ma anche nel periodo estivo presenta valori molto simili per effetto dell'aerosol marino (Tabb. 3, 5).

Il rame è simile allo zinco, cioè è un microelemento essenziale per tutti gli organismi ed è un importante costituente di molti enzimi delle reazioni di ossido riduzione (RAVEN, JOHNSON, 1986). Secondo KABATA-PENDIAS, PENDIAS (1993), la normale concentrazione del Cu nelle piante ha un range che si aggira tra 2 e 20 ppm, ma in molte piante la normale concentrazione di Cu ha un range più stretto tra 4-12 ppm.

Cu e Ni oscillano, il primo tra 14 e 5 ppm e il secondo tra 10 e 2 ppm. Per il Cu i valori più elevati sono in Via XXV Aprile (E6), in Via Gioni (E4) e i valori più bassi in Via Ragazzi del 99 (E1). Per il Ni i valori più elevati sono in Via dei Ragazzi del 99 (E1) e Via Papa Luciani (E2) e quelli più bassi in Via Gioni (E4) (Tabb. 3, 5).

La concentrazione normale di Pb nelle piante è inferiore ai 10 ppm (KABATA-PENDIAS, PENDIAS, 1993). ALLEN *et al.* (1974) considerano un valore ancora più basso, di 3 ppm come livello normale e naturale per le piante. KABATA-PENDIAS, PENDIAS (1993) invece considerano 30 ppm come un eccessivo o tossico livello per questo elemento.

La concentrazione di Pb nelle foglie, in entrambi i periodi stagionali, si è attestata su valori inferiori a 3 ppm in tutti i siti di campionamento (Tabb. 3, 5).

CONCLUSIONI

Gli inquinanti, penetrati nei tessuti fogliari, provocano danni a livello biochimico interferendo nei processi di fotosintesi, respirazione, biosintesi di lipidi e proteine; subentrano poi danni a livello ultrastrutturale (disorganizzazione delle membrane cellulari) e quindi a livello cellulare (collasso delle cellule del mesofillo) con la comparsa di danni visibili (clorosi e necrosi dei tessuti fogliari).

Pb, Cd e Ni, a basse concentrazioni, inibiscono la fotosintesi e la traspirazione, modificando la funzionalità degli stomi.

La severità di questo danno dipende dalle caratteristiche delle foglie (spessore e composizione della cuticola, eventuale presenza di tricomi).

Le lesioni cuticolari portano a una duplice conseguenza: da una parte le sostanze inquinanti diffondono nelle cellule sottostanti e vi esplicano azione tossica, da cui può derivare la formazione di aree necrotiche nelle foglie; dall'altra si hanno perdite di elementi nutritivi minerali, in particolare potassio,

calcio e magnesio. I danni a carico degli stomi determinano poi alterazione degli scambi gassosi tra pianta e ambiente, compromettendo l'equilibrio idrico della pianta e il processo fotosintetico (KABATA-PENDIAS, PENDIAS, 1993; YLARANTA, 1995).

L'integrazione dei dati chimici e dei dati biologici, al fine di analizzare gli effetti dell'inquinamento atmosferico sulle foglie di eucalipto, ci consente di affermare che, nei casi in cui si sono ottenute le più elevate concentrazioni di elementi in traccia, sono stati ottenuti anche i maggiori incrementi in polifenoli, osservati al microscopio ottico dentro le cellule mesofillari. Gli elementi chimici sono stati dosati a concentrazioni relativamente basse, rispetto ad altre piante esaminate nello stesso periodo ed in periodi precedenti, probabilmente per il fatto che le foglie di eucalipto sono coriacee e sclerofille e quindi ben fronteggiano "l'attacco" degli inquinanti. Possiamo, infatti, definire l'eucalipto un genere resistente agli agenti inquinanti e dunque adatto a crescere in aree urbane notevolmente trafficate.

Le piante, in generale, possono essere considerate recettori passivi degli elementi in traccia, ma esse esercitano anche uno specifico controllo sull'assorbimento o l'eliminazione di questi elementi nocivi, mediante appropriate reazioni fisiologiche.

Gli elementi in traccia che entrano nei tessuti vegetali possono risultare attivi nei processi metabolici oppure venire depositati come composti stabili, inattivi, nei vacuoli o sulle membrane e pareti; in questi ultimi due casi finiscono con l'interferire sull'efficienza del processo fotosintetico.

Una frazione di elementi in traccia, adesi alle foglie, viene dilavata dalle piogge e questo accade, in parte, con il piombo e meno con Cu, Zn, Cd, Fe ed Hg che risultano, invece, stabili ed in grado di penetrare profondamente nei tessuti fogliari, risultando, così, riscontrabili tramite i dosaggi chimici.

Estendendo i risultati ottenuti a tutta la popolazione di eucalipti agrigentini possiamo dire che tale pianta risulta essere un buon marcatore delle aree più inquinate della città; essa denota una certa sofferenza, seppur lieve, se si considera che nel periodo settembre - luglio è fiorita due volte ed in maniera notevole e, come è risultato da altre ricerche condotte su differenti specie vegetali, l'iperproduzione di polline è indice di sofferenza per alcune specie vegetali (ALAIMO *et al.*, 1997).

Con la nostra ricerca abbiamo verificato che:

- gli accumuli degli elementi in traccia nelle foglie sono maggiori nel periodo invernale rispetto al periodo estivo e non dipendono da un effetto lineare sommatario, da semplice accumulo, ma da una dinamica variabile di captazione, a causa delle condizioni climatiche che non favoriscono la dispersione;

- non sempre ci sono variazioni significative tra i siti urbani e quelli extraurbani o periferici.

L'eucalipto è risultato essere relativamente tollerante all'inquinamento aerodiffuso, in quanto si modifica citologicamente e non morfologicamente, e può rientrare nelle strategie efficaci di bioindicazione e biomonitoraggio.

LETTERATURA CITATA

- ALAIMO M.G., COLOMBO P., FIRETTO A., TRAPANI S., VIZZÌ D., MELATI M.R., 2003 – *Stress-induced incurie and trace element concentration in vacuolar leaf plants from an urban environment (Palermo, Italy)*. J. Trace Elem. Med. Biol., 17: 65-74.
- ALAIMO M.G., DONGARRÀ G., MELATI M.R., MONNA F., VARRICA D., 2000 – *Recognition of environmental trace metal contamination using pine needles as bioindicators. The urban area of Palermo (Italy)*. Environ. Geol., 39: 14-924.
- ALAIMO M.G., LI VIGNI I., MALATI M.R. 1997 – *Presence of esterases in Pinaceae pollen*. J. Aerbiol., 13: 117-120.
- ALFANI A., BALDANTONI D., MAISTO G., BARTOLI G., VIRZO DE SANTO A., 2000 – *Temporal and spatial variation in C, N, S and trace element contents in the leale of Quercus ilex within the urban area of Naples*. Environ. Pollut., 109: 119-129.
- ALLEN S., GRIMSHAW H.M., PARKINSON J.A., QUARMBY C., 1974 – *Chemical analysis of ecological materials*. Blackwell Scientific Publication, Osney Mead, Oxford, UK. 556 pp.
- ANGOLETTA M., BENTIVOGLIO A., GIUSTO D., 1993 – *Accumulo di metalli pesanti in piante erbacee*. Inquinamento, 5: 74-79.
- ARVIK W.H., ZIMDAHL R.L., 1974 – *Barriers to foliar uptake of lead*. J. Environ. Quality, 3: 369-370.
- BARGAGLI R., 1998 – *Trace Elements in Terrestrial Plants: an Ecophysiological Approach to Biomonitoring and Biorecovery*. Springer-Verlag, Berlin.
- BULLINI L., PIGNATTI S., VIRZO DE SANTO A., 1998 – *Ecologia generale*. UTET, Torino.
- DE NICOLA F., MAISTO G., PRATI M.V., ALFANI A., 2008 – *Leaf accumulation of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) in Quercus ilex L.* Environ. Pollut., 153: 376-383.
- DESBOEUF K.V., SOFIKITIS A., LOSNO R., COLIN J.L., AUSSET P., 2005 – *Dissolution and solubility of trace metal from natural and anthropogenic aerosol particulate matter*. Chemosphere, 58: 195-203.
- FERRARI M., MEDICI D., 1996 – *Alberi e arbusti in Italia*. Edagricole, Bologna.
- GAHAN P.B., 1984 – *Plant histochemistry and citochemistry*. Academic Press, London.
- HAGHIRI F., 1973 – *Cadmium uptake by plants* Jour. Environ. Quality, 2: 93-96.
- KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H., 1993 – *Trace elements in soil and plants*. PWN, Warsaw: 89-319 (in Polish).
- KARTHIKEYAN S., JOSHI U.M., BALASUBRAMANIAN R., 2006 – *Microwave assisted sample preparation for determining water-soluble fraction of trace elements in urban airborne particular matter: evaluation of bioavailability*. Analitica Chimica Acta, 576: 23-30.
- LITTLE P., MARTIN M.H., 1972 – *A survey of zinc, lead and cadmium in soil and natural vegetation around a smelting complex*. Environ. Pollut., 3: 241-254.
- LORENZINI G., 1981 – *I vegetali come indicatori biologici degli inquinanti atmosferici: possibilità applicative*. Inform. Agr., 9: 1719-1720.
- , 1983 – *Le piante e l'inquinamento dell'aria*. Edagricole, Bologna.
- MELATI M.R., ALAIMO M.G., FIRETTO A., VIZZÌ D., MAZZOLA A., 2006 – *Agriculture monitoring the effects of human and various agricultural plants of air pollution by particulate with trace metal*. Recent Res. Develop. Agron. Horticult., 2: 95-115.
- MONACI F., MONNI F., LANCIOTTI E., GRECHI D., BARGAGLI R., 2000 – *Biomonitoring of airborne metals in urban environments: new tracers of veicle emission, in place of lead*. Environ. Pollut., 107: 321-327.
- NRIAGU J.O., PACYNA, 1988 – *Quantitative assessment of world-wide contamination of air, water and soils by trace metals*. Nature, 333: 134-139.
- PIGNATTI S., 1982 – *Flora d'Italia*. Edagricole, Bologna.
- RAVEN P.H., JOHNSON G.B., 1986 – *Biology*. Times Mirror/Mosby collage Publishing St. Louis. 1198 pp.
- SCHUCK E.A., LOCKE J.K., 1970 – *Relationship of automotive lead particulates to certain consumer crops*. Environ. Sci. and Technol., 4: 324-330.
- SMITH K.E.C., JONES K.C., 2000 – *Particles and vegetation: implications for the transfer of particle-bound organic contaminants to vegetation*. Sci. Total Environ., 246: 207-236.
- SMITH W.H., 1981 – *Air pollution and forest*. Springer, New York.
- SMITH W.H., STAKAWICZ B.J., HARKOW R.S., 1978 – *Trace-metal pollutants and urban-tree leaf pathogens*. Trans. Brit. Mycol. Soc., 70: 29-33.
- SOTO GONZALES E., ALONSO RODRIGUEZ E., LOPEZ MAHIA P., MUMIATEGUI L.S., PRADA RODRIGUEZ D., 1996 – *Determination of trace elements in tree leaves*. Ann. Chim., 86: 181-191.
- STRASBURGER E., 2001 – *Trattato di Botanica*. Antonio Delfino Editore.
- VOUSTA D., SAMARA C., 2002 – *Labile and biaccessibile fraction of heavy metals in the airborne particulate matter from urban and industrial areas*. Atmosph. Environ., 36: 3583-3590.
- YLARANTA T., 1995 – *Effect of road traffic on heavy metal concentrations of plants*. Agric. Sci. Finland.
- ZOBEL A., NIGHSWANDER J.E., 1991 – *Accumulation of phenolic compounds in the necrotic areas of Austrian and red pine needles after spraying with sulphuric acid a possible bioindicator of air pollution*. New Phytol., 117: 565-574.

RIASSUNTO - Lo studio prende in esame l'accumulo di metalli in traccia nelle strutture fogliari di *Eucalyptus camaldulensis* e *E. globulus*, mediante analisi citologiche e chimiche su campioni raccolti nella città di Agrigento. Attraverso tale studio possiamo affermare che, tra le alterazioni più evidenti, l'accumulo dei fenoli e le caratteristiche modificazioni cellulari risultano correlate alla maggiore presenza di elementi in traccia nei siti maggiormente sottoposti ad intenso traffico veicolare. Inoltre i campioni prelevati nel periodo invernale, a causa di una maggiore concentrazione di alcuni inquinanti, presentano modificazioni strutturali più evidenti rispetto al periodo estivo.

AUTORI

Maria Grazia Alaimo, Daniela Vizzì, Dipartimento di Biologia ambientale e Biodiversità, Università di Palermo, Via Archirafi 38, 90123 Palermo