# Risultati del Progetto STOPP

## Un approccio multidisciplinare al monitoraggio ambientale multi-scala attraverso bioindicatori vegetali

# Bioindicatori per un monitoraggio multiscala: il ruolo dei tratti funzionali a livello fogliare


*L. Fusaro, CNR - IBE*

*F. Manes - Sapienza*

*S. Parrilli, C. Savarese – CIRA*

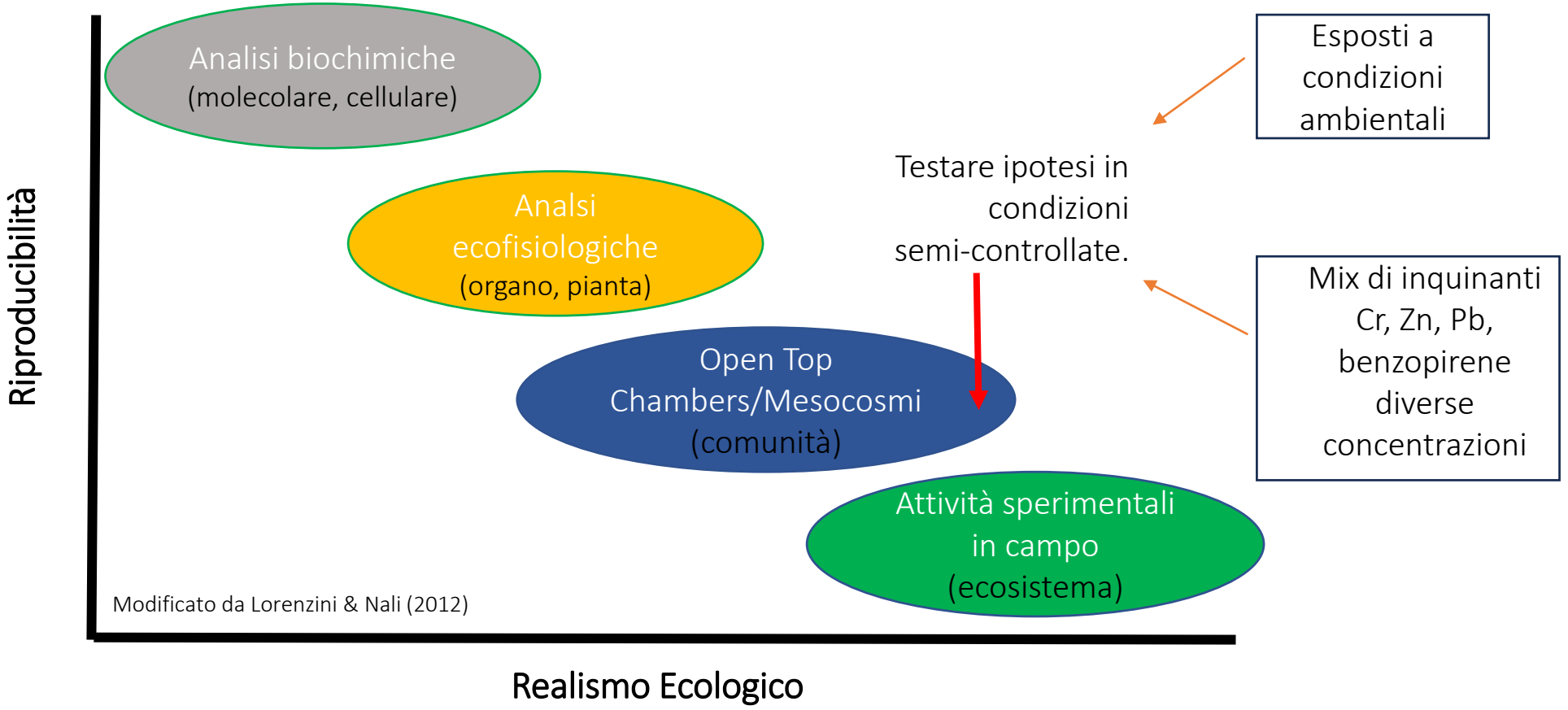
*C. Panigada, R. Colombo – UNIMIB*

*V. Cozzolino - Univ. Federico II*

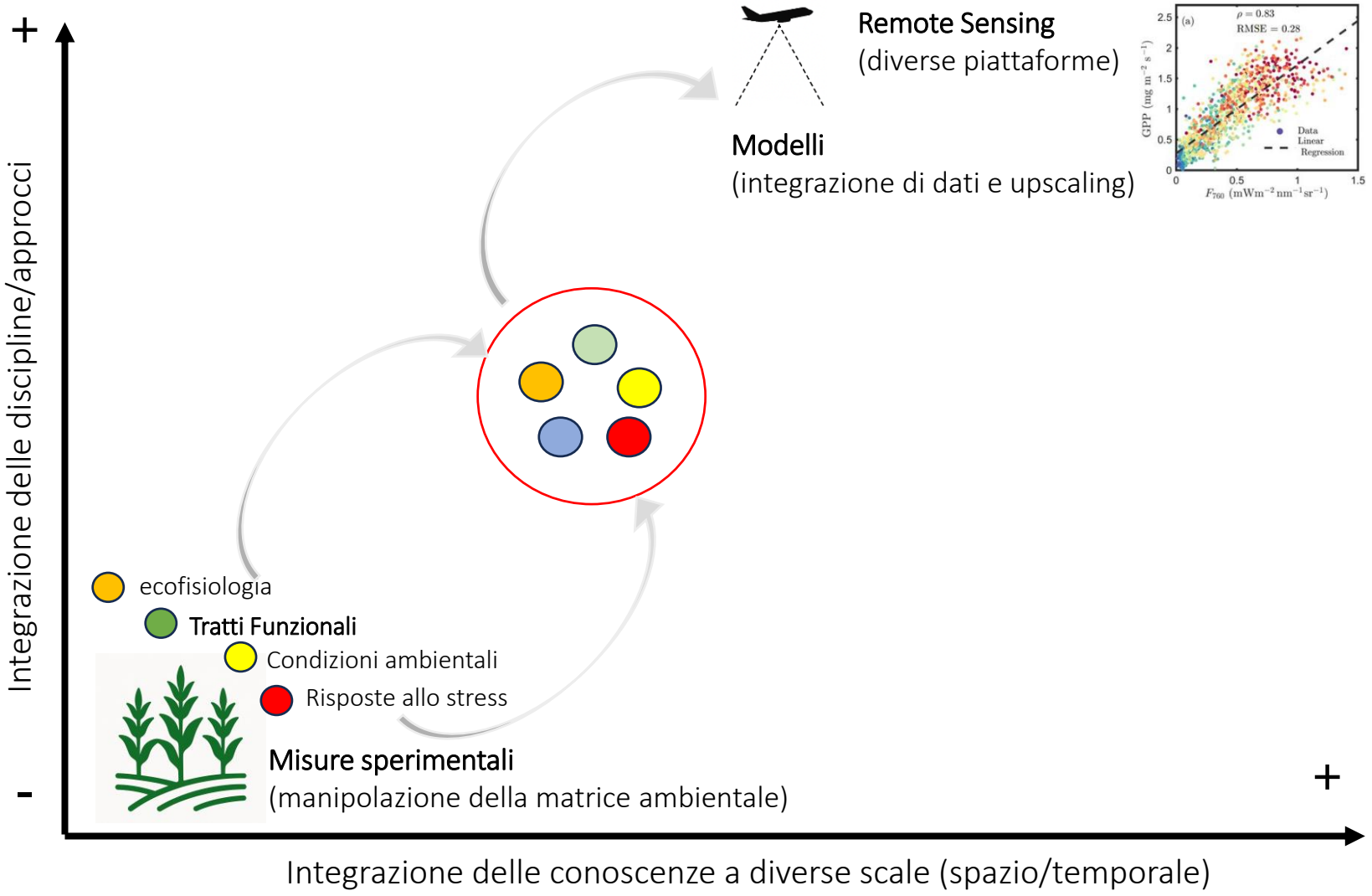

ASI, Roma, 22 maggio 2025

# Framework di riferimento

Monitorare la funzionalità della vegetazione significa intraprendere azioni volte a rilevare condizioni e cambiamenti nei processi funzionali che sono cruciali per la sicurezza e la salvaguardia ambientale (Bussotti and Pollastrini, 2017).



# Framework di riferimento



# Framework di riferimento

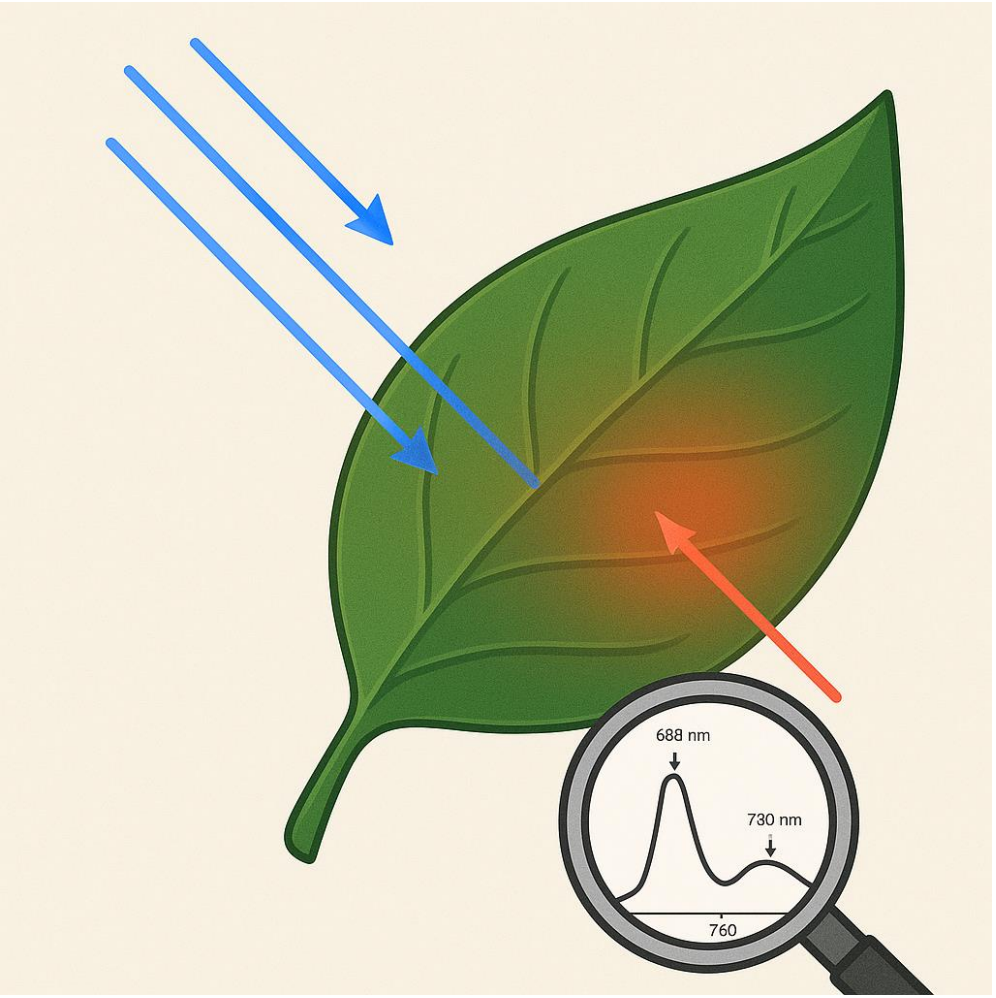
## Tratti Funzionali (FTs)

Sono caratteristiche fisiologiche, morfologiche e chimiche che sono rilevanti per la risposta degli organismi all'ambiente e/o per i loro effetti sulle proprietà dell'ecosistema (Violle et al.,2007).

| caratterizzano le riposte degli organismi a diverse pressioni ambientali | influenzano le proprietà dell'ecosistema e la fornitura di Servizi Ecoistemici |
|---|---|
| **SOFT traits (ST)**: relativamente semplice da misurare e quantificare e ben correlati a | → **HARD traits (HT)**: Indicatori più accurati delle funzioni responsabili delle risposte o degli effetti su scala ecosistemica, ma che non possono essere quantificati per un grande numero di specie o su larga scala. |
| altezza | → Carbon stock |
| LMA | → Tasso di assimilazione |
| SPAD e azoto folgiare | → Tasso di accresciemnto |

Lavorel and Granier, 2002

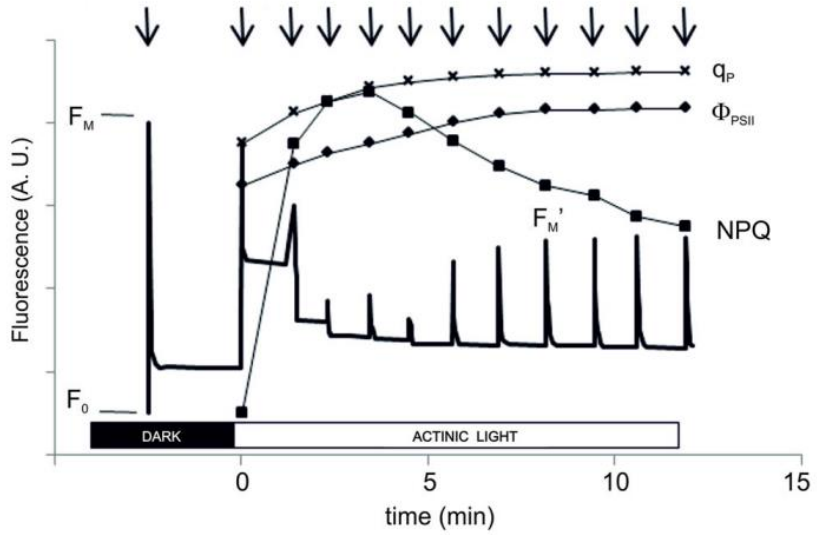
# Fluorescenza della clorofilla (ChlF) e funzionalità dei fotosistemi



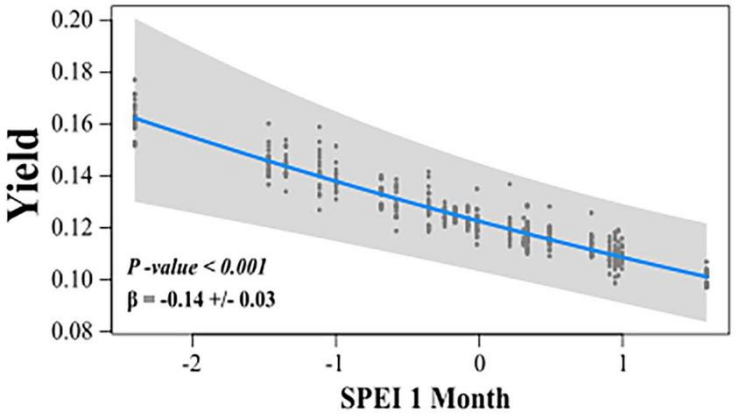

Uno dei principali processi di down-regulation da parte dei pigmenti antenna dopo l'assorbimento della luce è l'emissione di fluorescenza (ChlF) (Aasen et al. 2019).

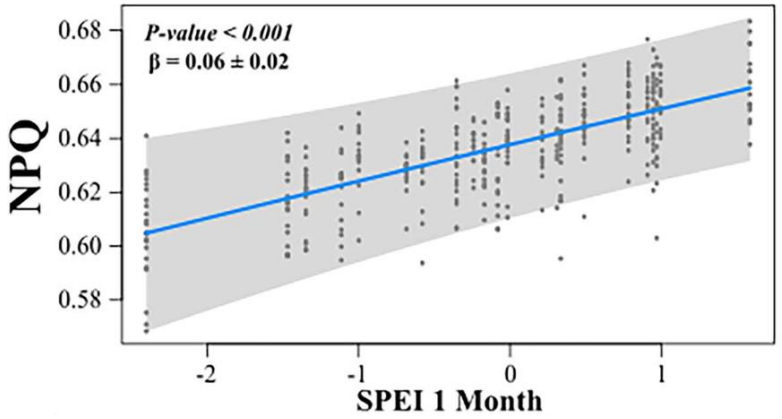
Analizzando le curve della cinetica della fluorescenza, possiamo ottenere numerose informazioni sulla struttura e sulla funzione dei fotosistemi (PSII e PSI) e quindi della fotochimica del processo fotosintetico.

# ChlF e funzionalità dei fotosistemi



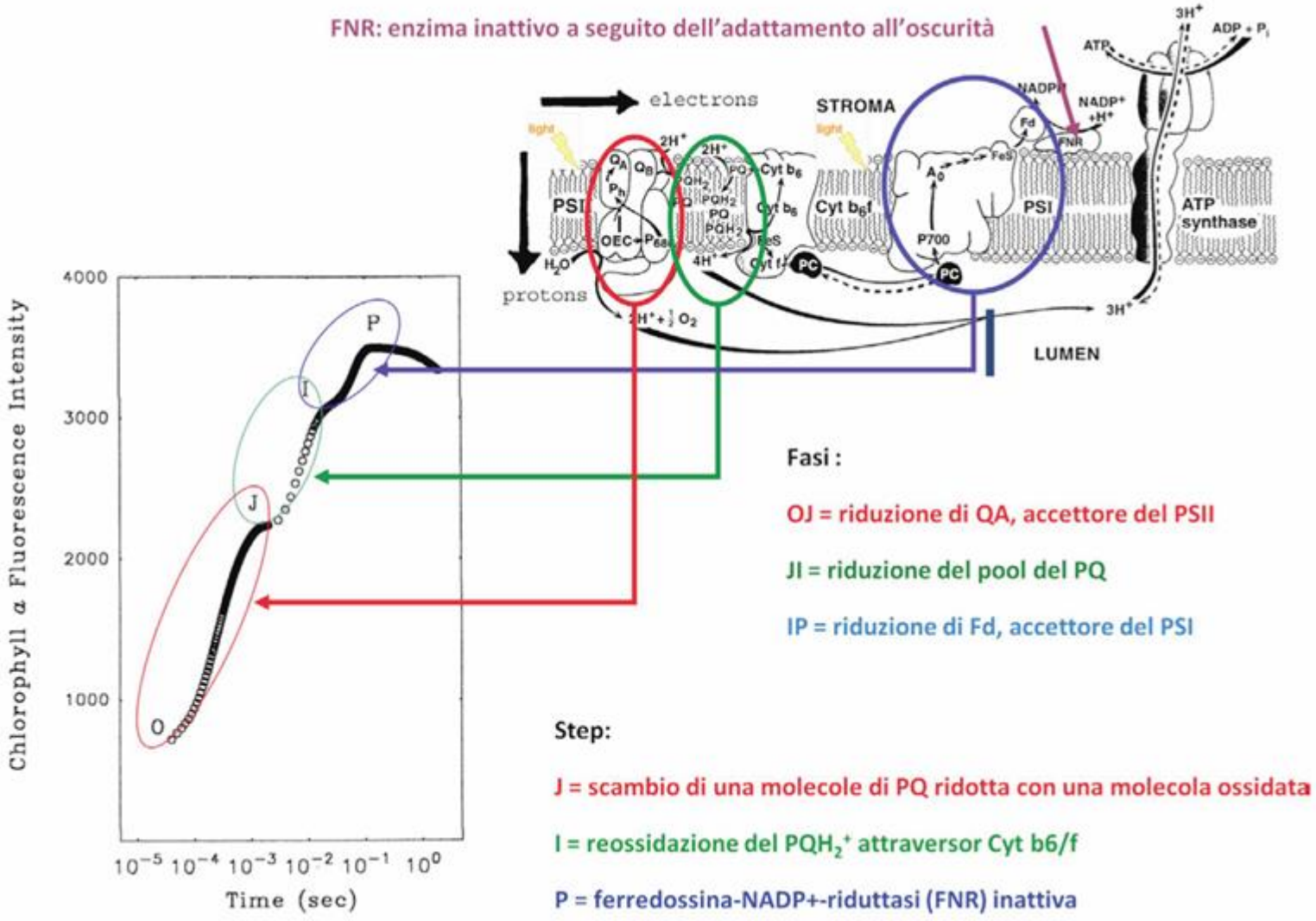

**Fluorescenza modulata:** la foglia adattata al buio viene illuminata con una debole luce modulata di misurazione per determinare il livello di fluorescenza iniziale $F_0$. L'applicazione di un **impulso di saturazione** (SP) permette di misurare il livello massimo di fluorescenza al buio $F_M$.
La fotosintesi viene quindi attivata da una sorgente di luce attinica (in questo caso 250 µmol fotoni $m^{-2}$ $s^{-1}$). Durante la fase luminosa, impulsi di saturazione (SP) sono stati attivati a intervalli di 1 minuto (indicati dalle frecce) per determinare **l'intensità massima di fluorescenza alla luce** $F_{M'}$, e per ciascun SP sono stati calcolati i parametri qP, ϕPSII e NPQ.




Le relazioni negative tra l'efficienza quantica (Yield) e la siccità, mentre NPQ è positivamente associato alla siccità, indicano che i tassi di fotosintesi sono ridotti in condizioni di scarsa disponibilità idrica (Silvestre-Carbonell et al., 2025)
SPEI (Standardized Precipitation Evapotranspiration Index)

# ChlF e funzionalità dei fotosistemi

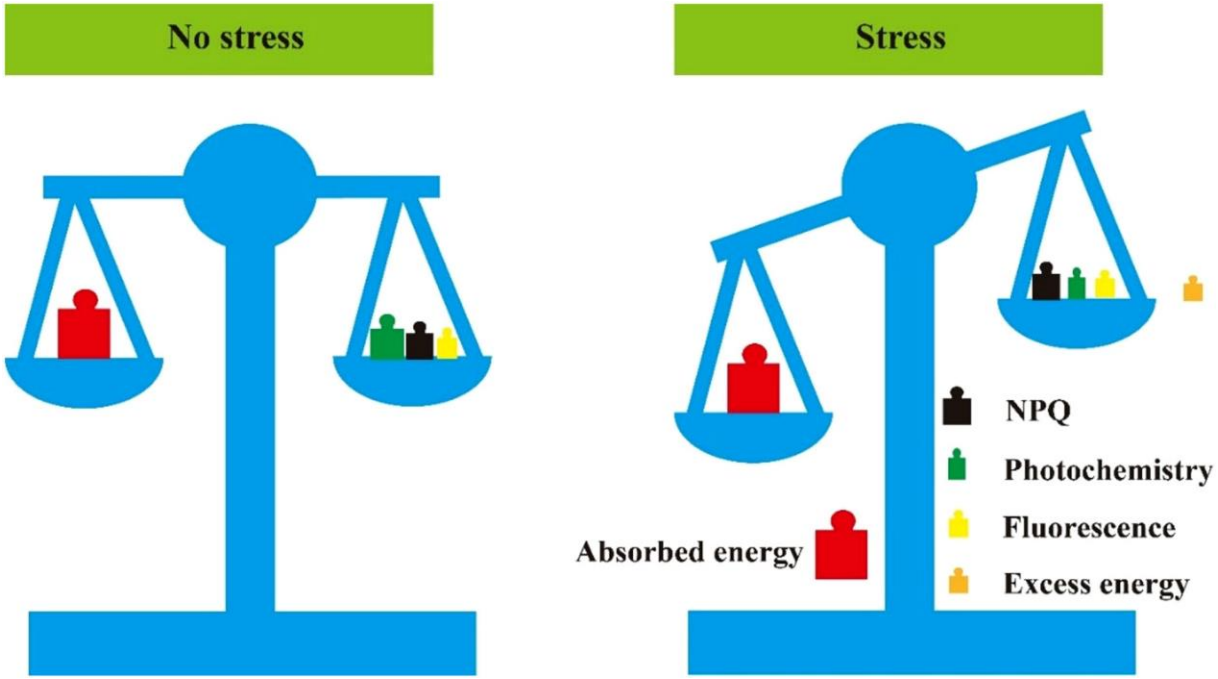



Il **Fast Fluorescent transients** si ottiene da foglie adattate al buio derivando informazioni sulle *prestazioni fotosintetiche potenziali*, permettendo di indagare la risposta e la capacità adattativa dell'apparato fotosintetico lungo la catena di trasporto elettronico (Digrado et al., 2017).

La curva OJIP mostra un aumento polifasico della fluorescenza della clorofilla, che riflette il flusso di elettroni durante la fotochimica primaria.

# ChlF e monitoraggio a diversa scala spaziale

**ChlF** è il **metodo non invasivo** più **efficace per valutare la funzionalità dell'apparato fotosintetico** e per lo **screening precoce di stress ossidativi** (Strasser et al., 2000; Zuo, 2025)




In condizioni di crescita ottimali, una pianta è in grado di mantenere un equilibrio tra l'energia luminosa assorbita e i processi di dissipazione. Tuttavia, la presenza di fattori di stress compromette tale equilibrio.

Diversi indici ricavati dal Remote Sensing possono essere usati per stimare l'attività fotosintetica (PRI, SIF)

↓

Questi indici dipendono fortemente dalla **efficienza di utilizzo della luce**

↓

fotochimica | NPQ

↓

φPSII e NPQ non possono essere derivati su ampie scale spaziali con sensori passivi

↓

Combinare approcci di misura attivi e passivi

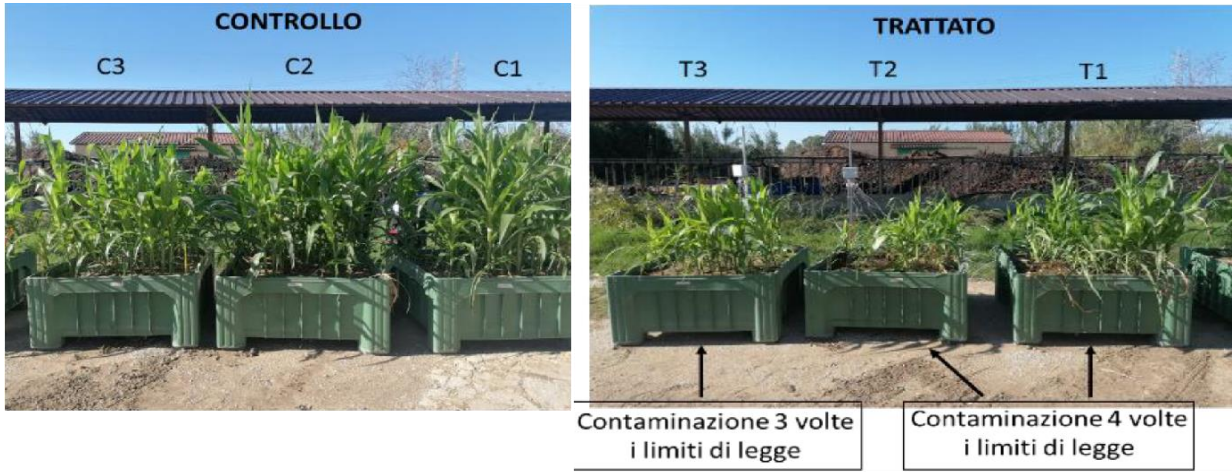
# Set – up sperimentale: integrazione delle competenze

**Novembre 2022 – Portici, Giardino Sperimentale della Facoltà di Agraria, Università Federico II di Napoli.**

Piante trattate con metalli pesanti (Zn, Cr, Pb) e con metalli e sostanze umiche per studiare l'interazione.

**Novembre 2023– Azienda Sperimentale di Castelvolturno, della Facoltà di Agraria, Università Federico II di Napoli.**

Set up sperimentale rivisto in base agli avanzamenti raggiunti nel progetto e l'integrazione tra le varie UR.
Trattamento con mix di metalli pesanti Cr, Zn e Pb
Contaminazione pari a 3 e 4 volte i limiti di legge stabiliti dal Decreto Nazionale (*152/2006, Annex 5, Parte IV, Tabella 1, 2006).*



# Set – up sperimentale: open field lab 2024

**Semina in bin (**1050x1050x445 mm**): 06/05/24 – Contaminazione con Cr, Zn e Pb + Benzopirene**

- Controllo --> C1, C2, C3 ---> Tra la 7° e 8° Foglia – **C** piante non trattate
- Contaminato con dose x4 --> Tra la 6° e 7° Foglia – **T4** piante trattate con un mix di metalli 4 volte superiore al limite di legge Decreto Nazionale (152/2006, Annex 5, Parte IV, Tabella 1, 2006).

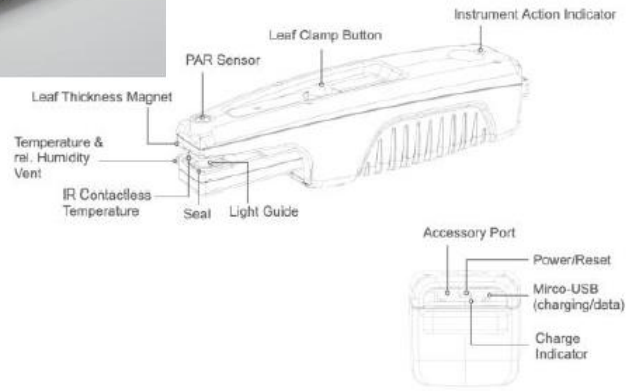
# Metodi

**Monitoraggio** in continuo dei **parametri ambientali** : Tair (°C), RH (%), SWC (%);

**Tratti morfologici**: Altezza (cm) e Area fogliare (LA, $cm^2$);

**Tratti funzionali**: inerenti il processo fotosintetico che è il nostro ***processo target*** per lo screening precoce dello stress indotto dai metalli pesanti e organico;

**MultispeQ V2.0** (PhotosynQ): usato per misurare **SPAD, Spessore fogliare (µm), $F_v/F_M$, $\Phi_{PSII}$, $NPQ_t$, ETR** sia sull'ultima foglia completamente espansa che su quella immediatamente successiva (colletto già visibile) delle 7 piante etichettate per bin. ***TIMECOURSE*** *(26/06/25; 04/07/25; 11/07/25;17/07/25; 25/07/25) – III esperimento.*



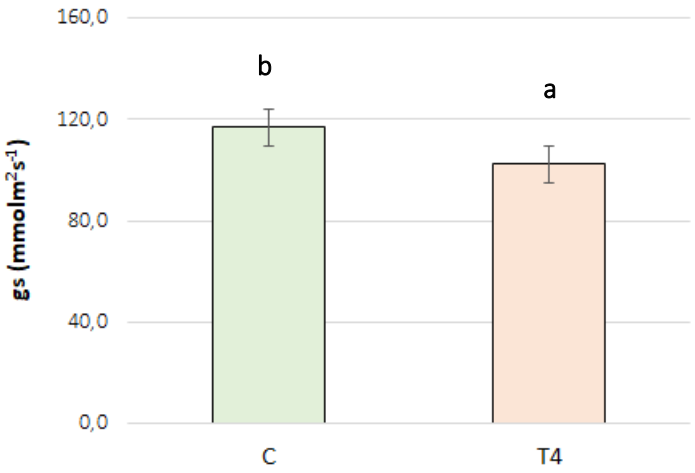
Fluorescenza della clorofilla (ChlF) utilizzando la cinetica veloce e gli impulsi modulati

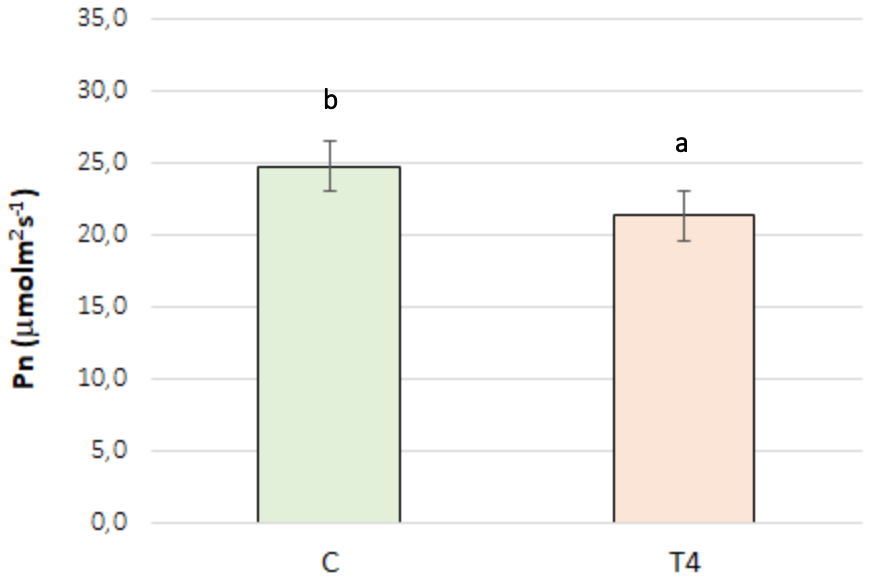
# Effetto del trattamento sugli Scambi Gassosi

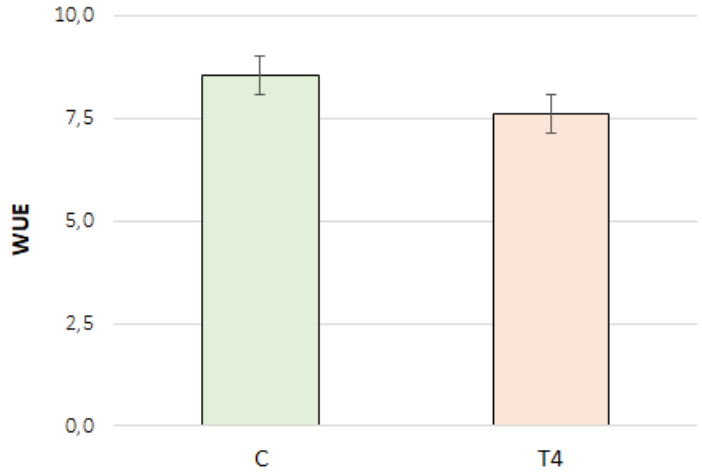
Misure di scambi gassosi a fine esperimento 25/07/2024

$T_{air}$ = 31,8 ± 2,00

RH = 52,4 ± 9,77



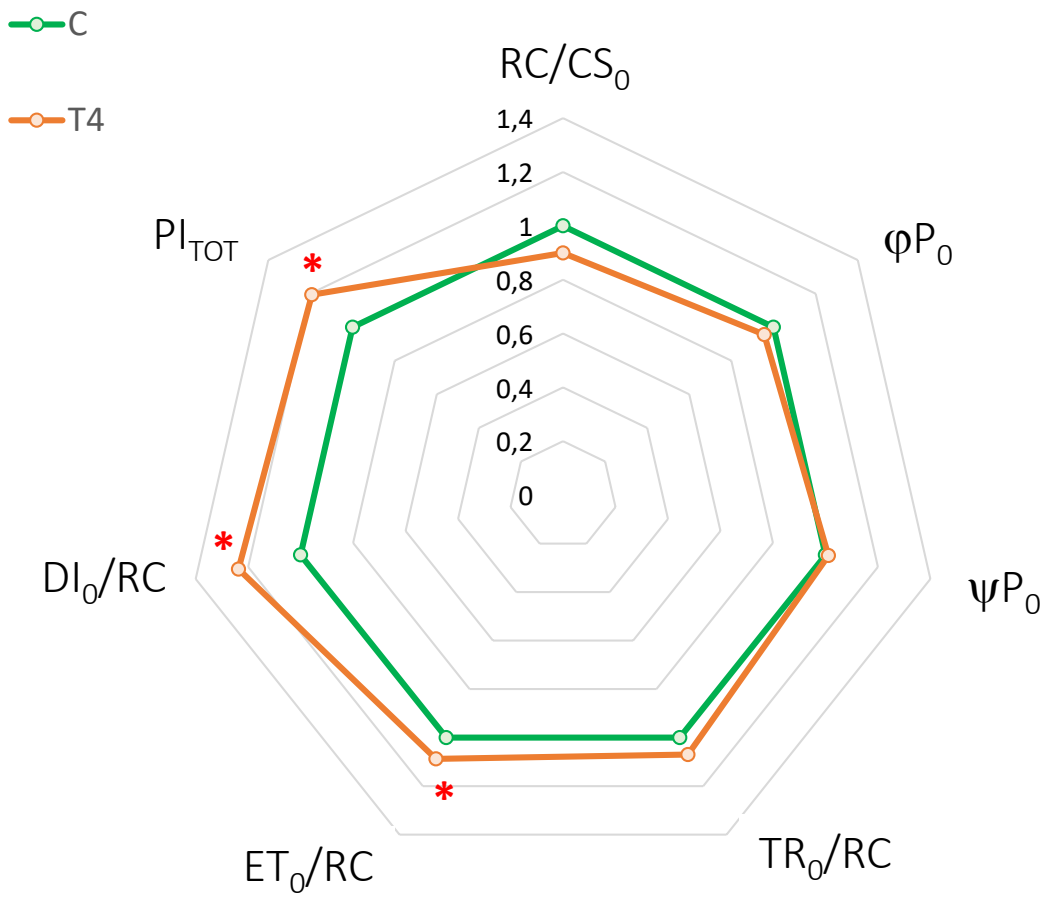



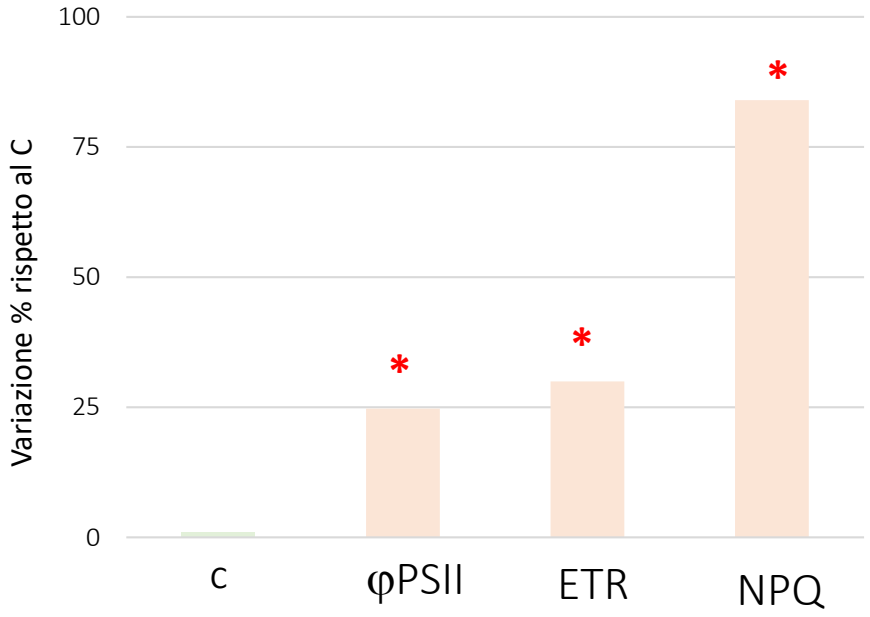




Il trattamento produce una lieve diminuzione degli scambi gassosi.

Ma cosa accade a scala dei fotosistemi?

# Effetto sulla funzionalità dei fotositemi: fase fotochimica




Si evidenzia una **RISPOSTA ATTIVA** allo stress imposto: l'efficienza massima non varia in modo sostanziale e vengono attuati meccanismi di redistribuzione e dissipazione dell'energia processata dai fotosistemi (Fusaro et al., 2019; Salvatori et al., 2015).

# Andamento temporale: adattamento allo stress cronico?

Tratti funzionali struttura

Tratti funzionalità fotosistemi

$$Z = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

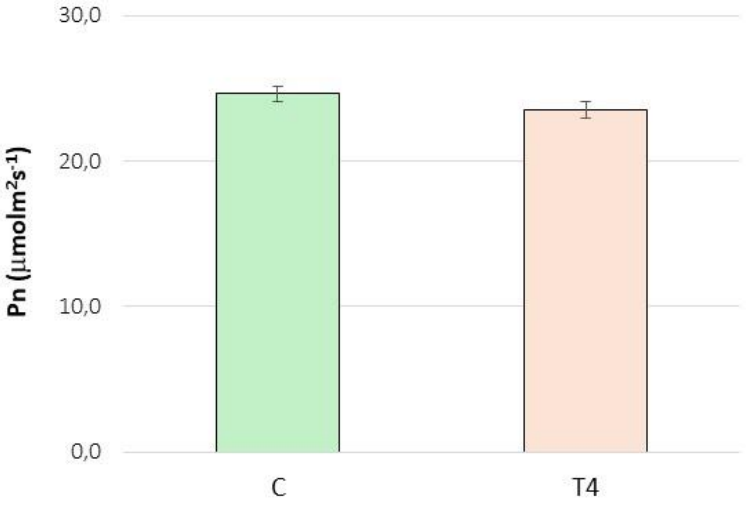
| Date | h | LA | LT | SPAD | Fv/Fm | ΦII | NPQ | ETR |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 26/06/2024 | -1,33 | -0,87 | 0,27 | -1,89 | -2,07 | -2,69 | 2,94 | -2,78 |
| 04/07/2024 | -2,72 | -2,42 | -0,59 | -2,23 | -1,49 | -1,63 | 1,77 | -1,20 |
| 11/07/2024 | -4,00 | - | -1,19 | -1,52 | -0,39 | -0,57 | 0,62 | 0,18 |
| 17/07/2024 | -2,54 | -1,56 | -0,74 | -1,08 | 0,14 | -0,10 | 0,02 | 0,48 |
| 25/07/2024 | -1,62 | -0,73 | -0,40 | 0,58 | -0,21 | 0,63 | 1,15 | 0,80 |

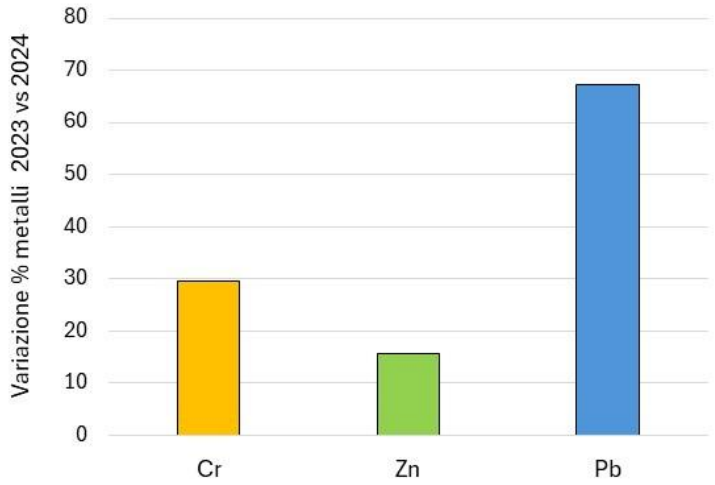
- ✓ Il trattamento ha avuto un effetto evidente sulla struttura e i processi di accrescimento (Lopez-Bucio et al., 2022 );
- ✓ La varietà utilizzata (Lemagrin) denota una tendenziale tolleranza ai metalli e inquinante organico;

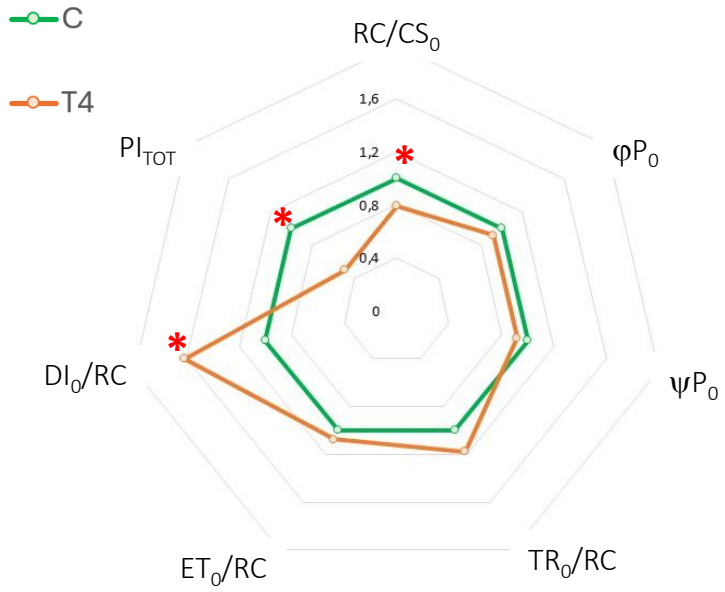
$$\mathbf{TF_{Cr}} = 0{,}088;\ \mathbf{TF_{Zn}} = 0{,}11;\ \mathbf{TF_{Pb}} = 0{,}006$$

- ✓ **Risposta a stress cronico ?** risposte a breve termine per prevenire danni gravi e sviluppo di adattamenti a lungo termine per acquisire tolleranza allo stress a livello dell'intera pianta (Takahashi &Shinozaki, 2019).

# Campagna sperimentale Novembre 2023



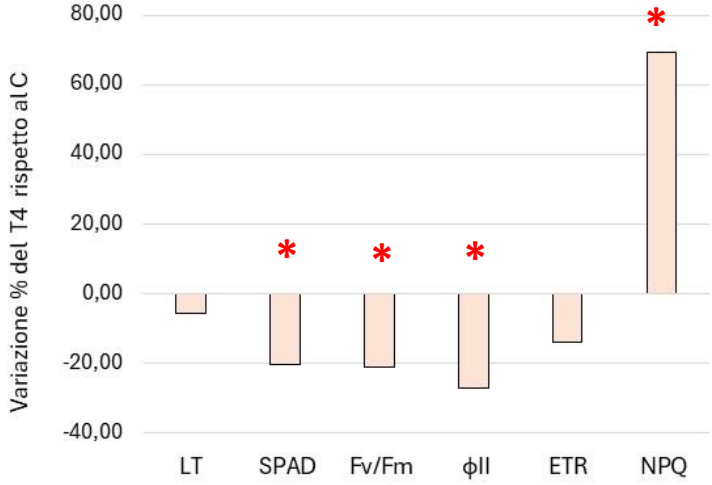




Maggiore traslocazione di metalli a livello fogliare.

$T_{air}$ = 15,6 ± 3,24

RH = 83,6 ± 12,4

Ruolo delle condizioni ambientali nel modulare la risposta funzionale



# Prospettive future

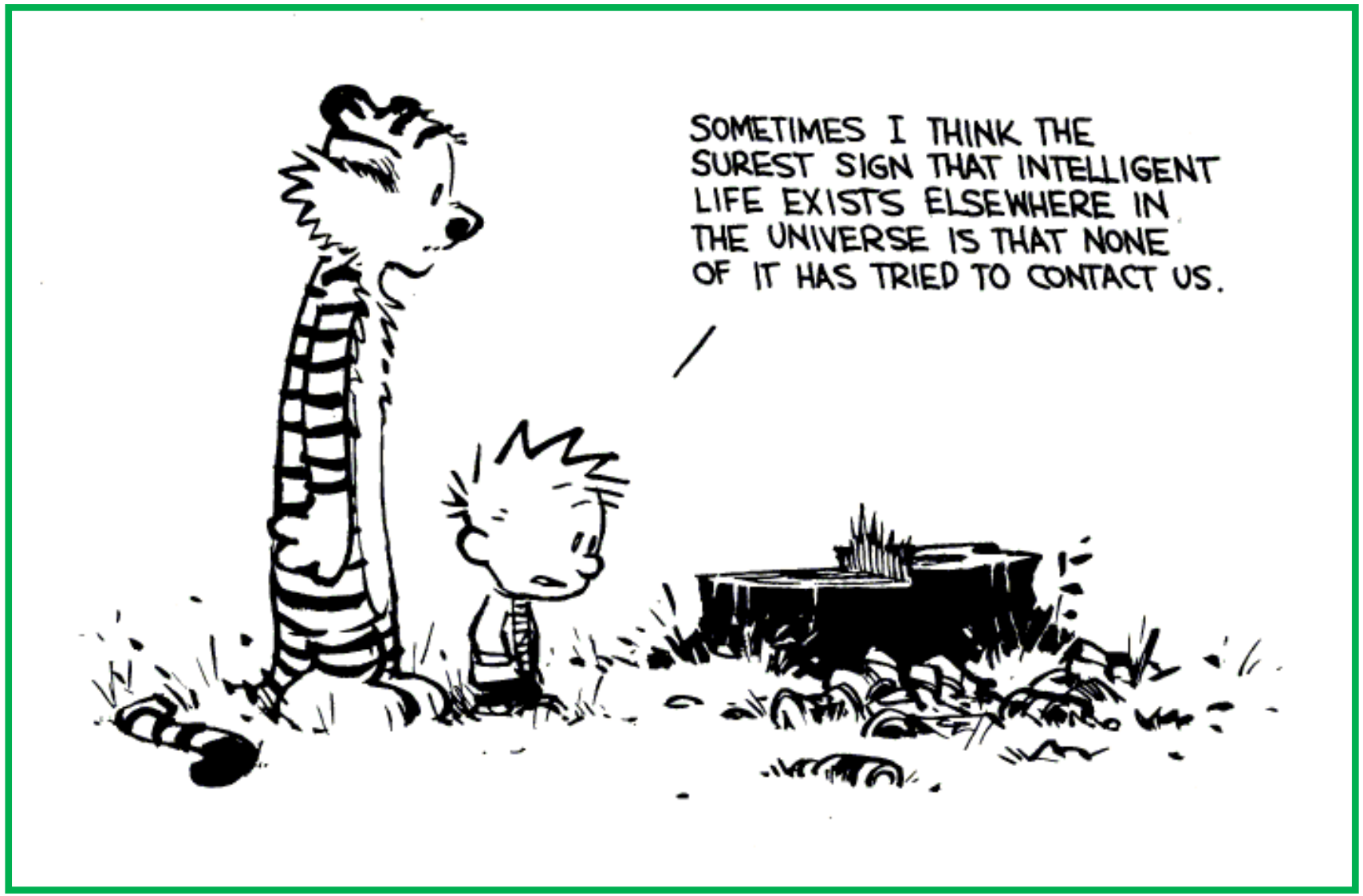
La ChlF si conferma un buon tool per lo screening precoce dello stress ossidativo;

Ottimizzazione del protocollo sperimentale: futuri studi dovrebbero includere più varietà e condizioni sperimentali di campo per analizzare l'effetto combinato di metalli, suolo, clima e genetica; specie target per le osservazioni da piattaforma e bioindicazione

Testare impatto di diverse tipologie di stress (diversi meccanismi di azione) per comprendere al meglio le relazioni tra indicatori misurati sulla foglia e telerilevati;

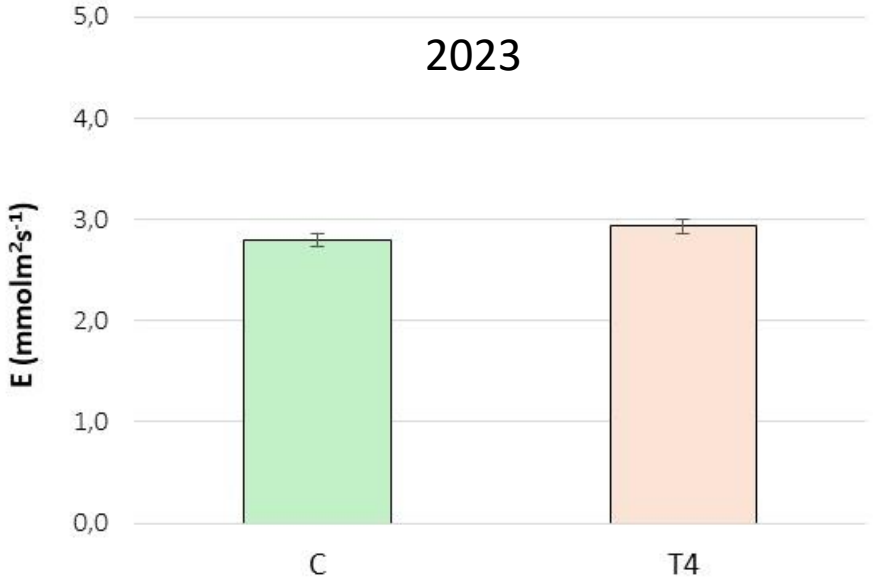
**Complessità ecologica ed indicatori**: importanza di un monitoraggio di prossimità e persistenza (es. piattaforma stratosferica con elevata scansione temporale);

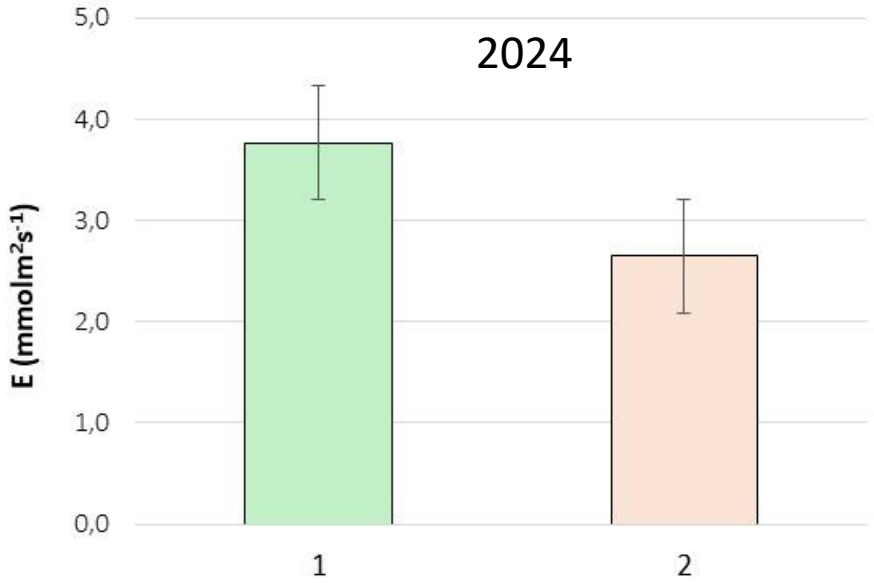
# Q&A




***Grazie per la vostra Attenzione***

# Conclusioni



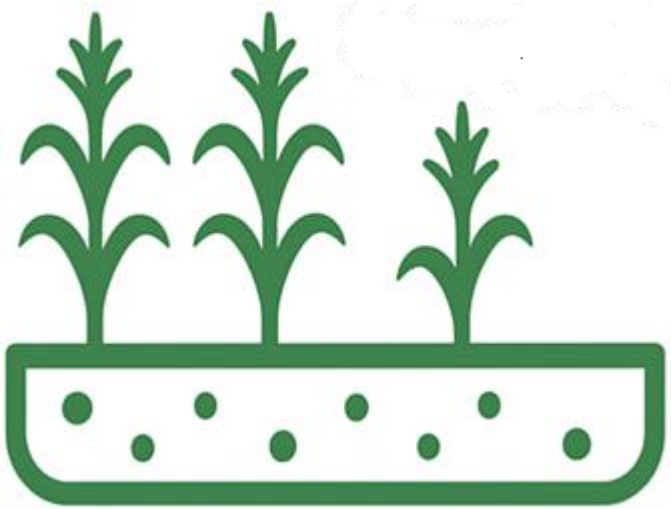

| 2023 | | |
|---|---|---|
| **Foglie** | N=15 | |
| | **Ctr** | **Cont 4x** |
| Cr | 4.7 (0.23) | 11.90 (1.86) |
| Zn | 26.6 (0.62) | 90.25 (5.4) |
| Pb | 0.9 (0.18) | 10.35 (1.05) |
| **Fusto** | | |
| Cr | 3.18 (0.31) | 3.4 (0.21) |
| Zn | 22 (0.62) | 182.9 (21.83) |
| Pb | 0.1 (0.01) | 3.11 (0.29) |

| 2024 | | |
|---|---|---|
| **Foglie** | N=15 | |
| | **Ctr** | **Cont 4x** |
| Cr | 4.4 (0.27) | 8.4 (0.35) |
| Zn | 24.4 (2.31) | 78.1 (4.4) |
| Pb | 0.5 (0.06) | 3.4 (0.15) |
| **Fusto** | | |
| Cr | 2.2 (0.24) | 4.7 (0.51) |
| Zn | 22.7 (1.38) | 205.9 (10.5) |
| Pb | 0.10(0.01) | 2.6 (0.176) |

# Conclusioni

Biomonitoraggio

Tratti Funzionali



Mesocosmo

Calibrazione e
Validazione di modelli
upscaling