

## **FUNGAL BIOREMEDIATION**

### **Nuove Esperienze nell'Utilizzo di Microfunghi per il Miglioramento Ambientale**



**Marinella Rodolfi**

**Dipartimento di Ecologia del Territorio**

**Sezione di Micologia**

**Università di Pavia**



# Dal 1969 i Funghi sono il QUINTO REGNO

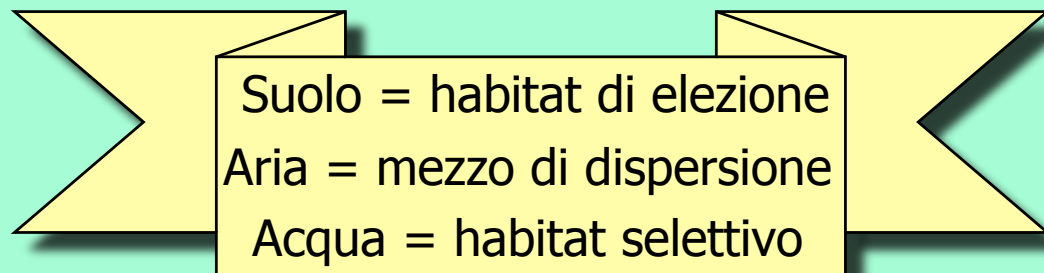
Kingdoms of Organisms



- **Eucarioti**
- **Eterotrofi**
- **Si nutrono per assorbimento**
- **Biosintetizzano la chitina**
- **Possiedono ergosterolo nella membrana cellulare**

Funghi = assorbono  
Piante = fotosintetizzano  
Animali = ingeriscono

- **Colonizzano tutti gli ambienti naturali**
  - **Crescono in tutte le direzioni**
  - **Invadono l'interno di un substrato mediante strutture specializzate**
  - **Dotati di estrema versatilità metabolica**
- 
- **Organismi robusti, sopportano condizioni ambientali estreme (pH, temperatura, umidità, metalli,...), più tolleranti gli stress e le tossicità di qualsiasi altro microrganismo**
  - **Demoliscono e assimilano detriti e residui ad elevato contenuto di sostanze organiche, anche altamente polimerizzate (macromolecole)**







**Unici mineralizzatori della lignina !**



**...i più interessanti candidati per efficaci ed innovative azioni di BIOREMEDIATION**

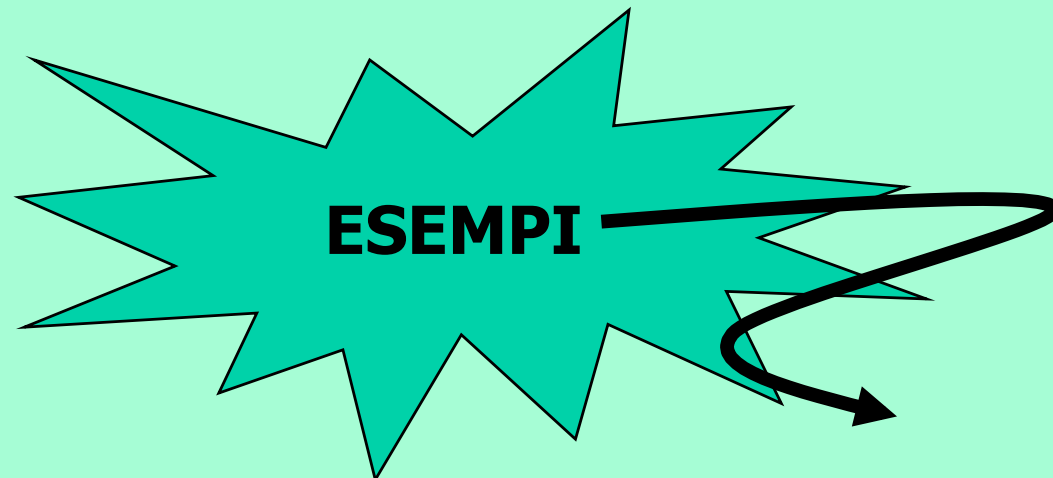


# **BIOREMEDIATION**

**“l'applicazione di processi biologici per il trattamento dell'inquinamento”**

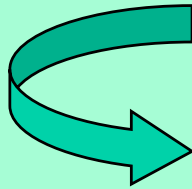
## **FUNGAL BIOREMEDIATION (Eaton, 1985)**

**“l'applicazione che si avvale dei funghi per ristabilire l'equilibrio in habitat naturali contaminati da un ampio spettro di inquinanti”**



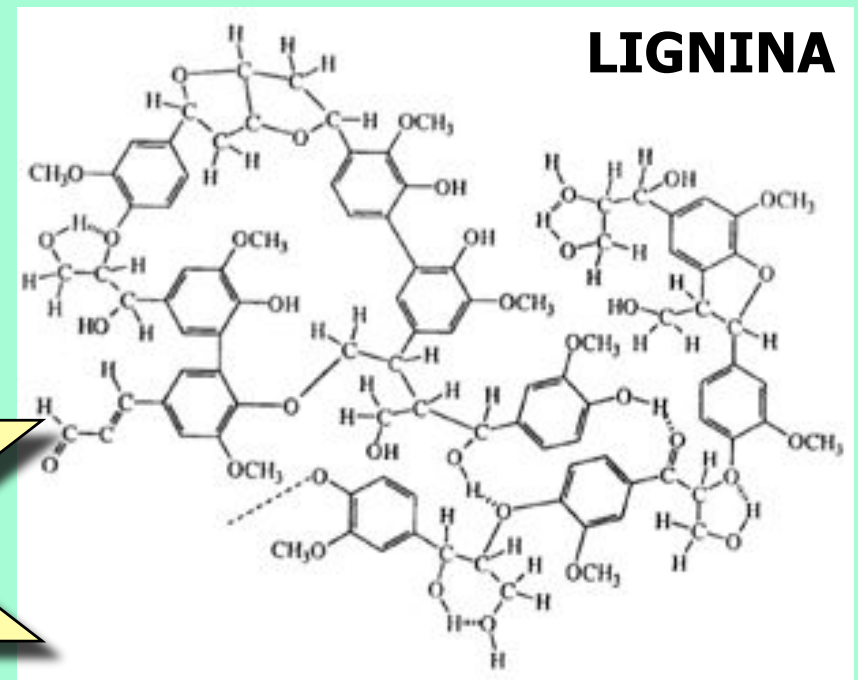
# BIOREMEDIATION con FUNGHI LIGNINOLITICI

- **Degradazione dei polimeri della parete cellulare dei vegetali** (lignina, cellulosa, emicellulosa ligninoidi, ...)



**Industria della carta** (biopulping, biobleaching)  
**Bioconversione dei rifiuti vegetali**  
**Biofarming** (bio-fertilizers, bio-pesticides, ...)

Polimero fenilpropanoico altamente ramificato con almeno 12 diversi legami chimici che connettono i differenti anelli aromatici



# **INQUINANTI AMBIENTALI degradati dai FUNGHI LIGNINOLITICI**

**PAHs - Idrocarburi Policiclici Aromatici**

**Diossine (PCDD, PCDF, PCDE)**

**PCBs**

**Clorofenoli e PentaClorofenoli (PCP)**

**Ammine aromatiche**

**Coloranti sintetici**

**Pesticidi**

**Composti BTEX (Benzene-Toluene-Etilbenzene-Xileni)**

- 22 differenti PAHs vengono degradati in 27 giorni da *Phanerochaete chrysosporium*
- *Bjerkandera* sp. rimuove il 38,5% di benzopirene da suolo inquinato in 56 giorni
- *Coriolopsis polyzona* e *Trametes versicolor* degradano rispettivamente il 41 e 50% del PCB presente in "Delor 106"

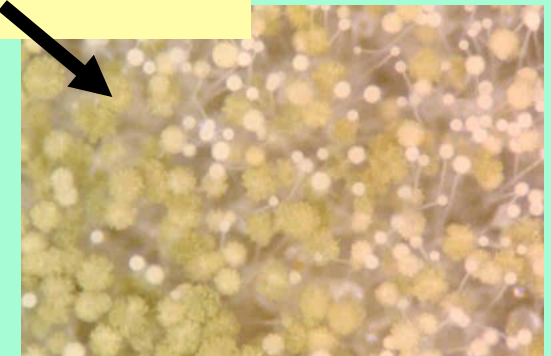
# BIOREMEDIATION con FUNGHI non LIGNINOLITICI

**La maggior parte dei funghi non produce enzimi ligninolitici e cresce su substrati differenti dal legno**

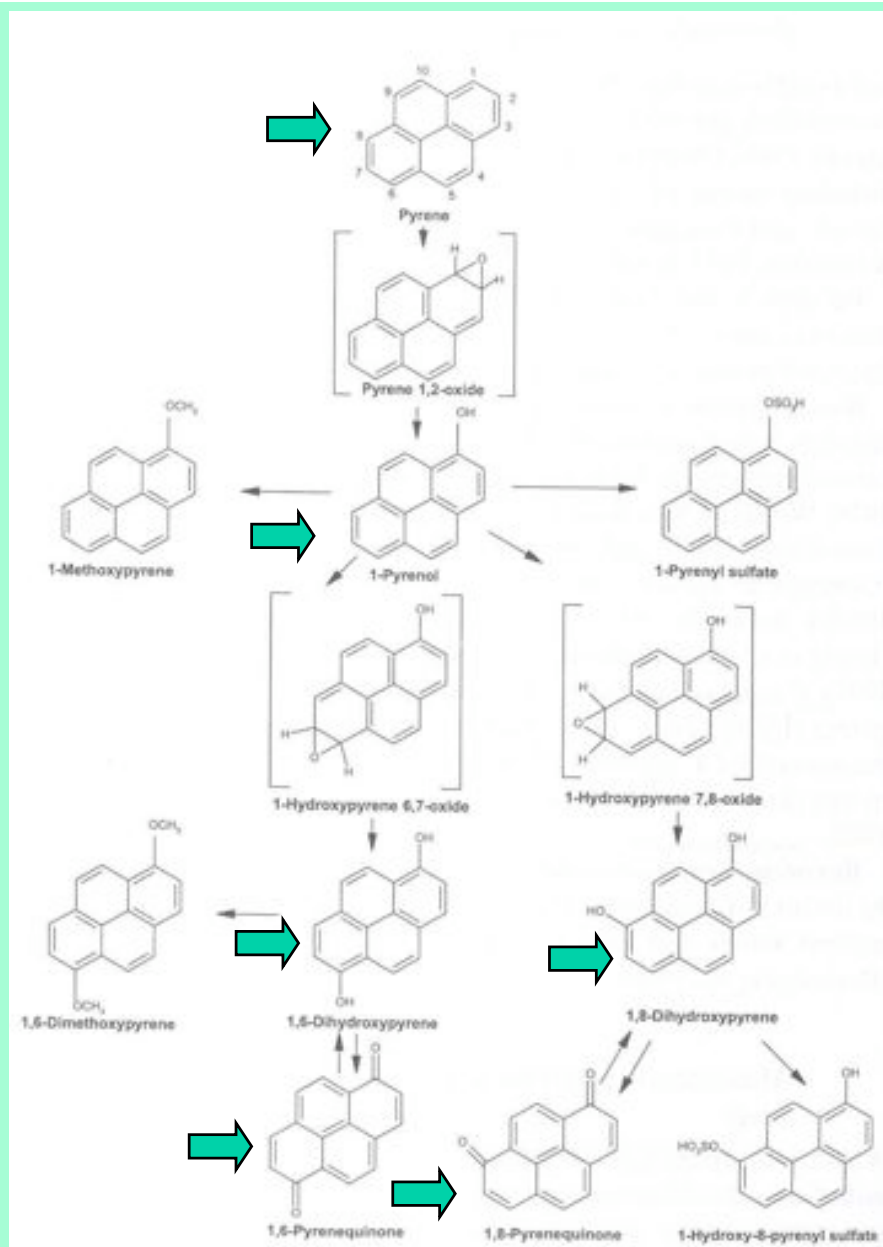
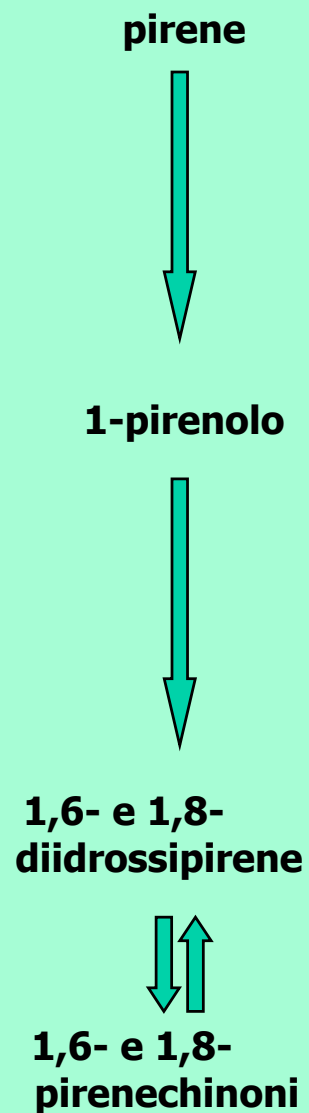
**Alcuni di essi, tuttavia, possono co-metabolizzare gli inquinanti, permettendo una riduzione delle proprietà tossiche, mutagene o cancerogene dei medesimi**

- *Cunninghamella* spp.
- *Rhizoctonia solani*
- *Rhizopus* spp.
- *Cladosporium herbarum*
- *Candida* spp.
- *Botrytis cinerea*
- *Penicillium* spp.
- *Curvularia* spp.

- *Doratomyces stemonitis*
- *Bipolaris spicifera*
- *Fusarium* spp.
- *Saccharomyces cerevisiae*
- *Trichoderma* spp.
- *Verticillium lecanii*
- *Beauveria alba*
- *Aspergillus* spp.







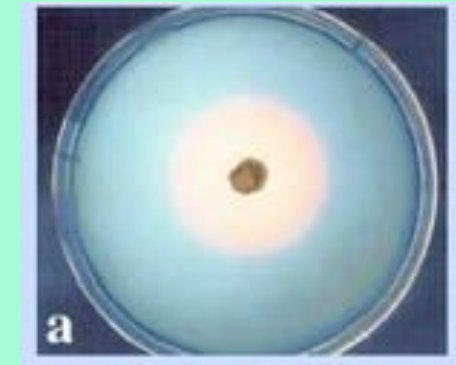
## OSSIDAZIONE DEL PIRENE

svolta da *Aspergillus niger*, *Cunninghamella elegans*, *Penicillium janthinellum*

# TRASFORMAZIONE DEI METALLI

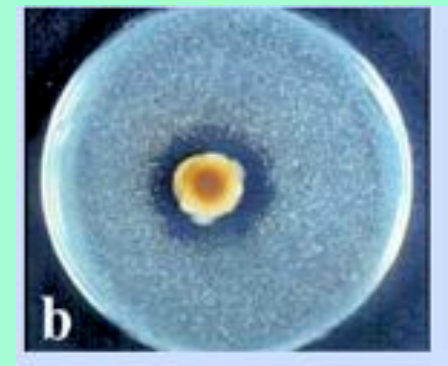
**I funghi possono interagire con metalli e loro composti** (derivati e radionuclidi), **causando alterazioni di mobilità e tossicità** (immobilizzazioni e solubilizzazioni)

**Alcune specie fungine rilasciano potenti chelanti** (siderofori, acidi policarbossilici, ..) **che catturano atomi metallici dalle particelle del suolo, rendendoli solubili**



(a) Produzione di siderofori (chelanti del ferro)

(b) Solubilizzare dell'ossido di zinco

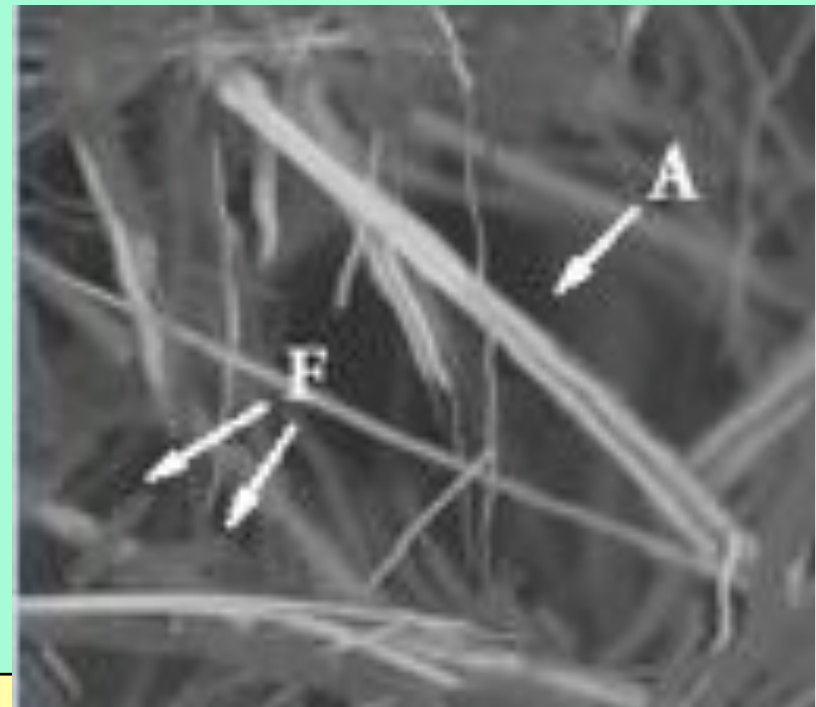


I funghi necessitano di ferro per vivere.  
Alcune specie possiedono strategie  
efficaci per recuperare il metallo  
dall'ambiente

## **Sulla superficie delle fibre di amianto, il ferro svolge un ruolo fondamentale in termini di tossicità:**

le forme di amianto maggiormente cancerogene (crocidolite) contengono fino al 29% di ferro, che origina centri altamente reattivi in grado di provocare la formazione di radicali liberi (danno al DNA e induzione di forme tumorali)

Esperimenti *in vitro* dimostrano che **alcuni funghi possono rilasciare considerevoli quantità di ferro dalla crocidolite**, riducendo la pericolosità dell'amianto



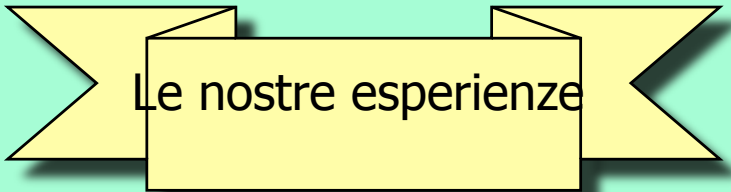
*Fusarium oxysporum*, *Mortierella hyalina*  
e *Oidiodendron maius* estraggono  
ferro per periodi di oltre 7 settimane

## **In situ bioremediation**

- **Biostimulation** (stimolazione delle popolazioni indigene)
- **Bioaugmentation** (inserimento controllato di microrganismi selezionati che aumentano, ma non sostituiscono, le popolazioni indigene)

## **Phytoremediation + Biostimulation & Bioaugmentation**

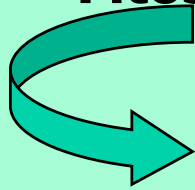
- **Utilizzo di piante e della loro "microbiota" associata per efficaci azioni di biorisanamento in suoli impoveriti o inquinati**

A yellow ribbon graphic with a 3D effect, featuring a central rectangular box and two flared ends. The text "Le nostre esperienze" is written in black on the central box.

Le nostre esperienze

# Phytoremediation

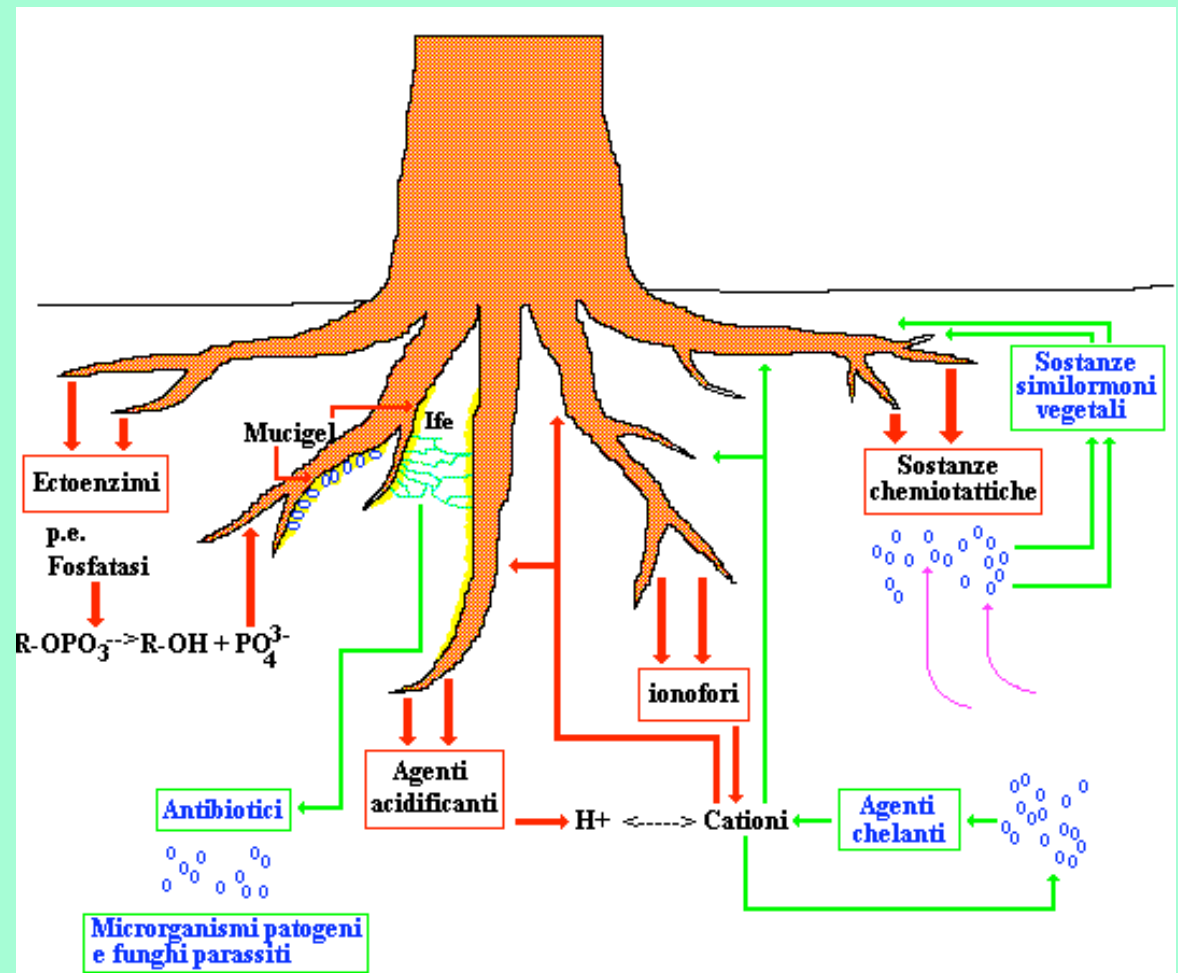
- **Fitoestrazione** (con piante iperaccumulatrici di metalli)
- **Fitovolatilizzazione** (trasformazione di Hg e Se in composti volatili)
- **Fitostabilizzazione** (trasformazione di metalli in ioni non biodisponibili)



## “Effetto Rizosfera”

Le radici delle piante stimolano la crescita microbica nelle loro vicinanze

Il numero dei microrganismi del suolo attorno a loro aumenta di 50-100 volte







Nella **rizosfera** di una pianta vivono circa:

**$10^6$  funghi**

**$10^7$  attinomiceti**

**$10^9$  batteri**

**$10^3$  protozoi**

per g di suolo!

**Micorrize**  
(vegetali terrestri  
+ funghi)



# “Seguire il leader”

La maggioranza dei microrganismi di un habitat ha un comportamento opportunistico, cioè mostra la propensione a “seguire il leader”

Il gruppo di microrganismi dominante determina se l’atteggiamento di tutti i microrganismi presenti sarà rigenerativo o distruttivo

(Teruo Higa, 2006)



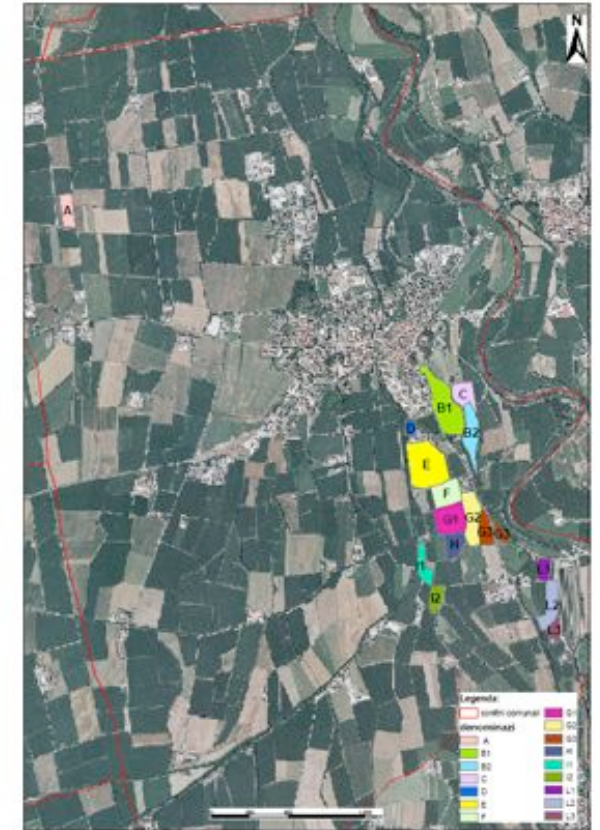


## 1. FREPCB (LIFE 03 / ENV / IT/000321)

Eliminazione di PCBs (bifenili policlorurati)  
dalla catena alimentare con tecniche di  
Bioremediation applicate a superfici agricole

## 2. TRELAGH (LIFE 02/ENV/IT/000079)

Interventi per la riduzione dell'eutrofizzazione  
nelle acque di tre piccoli laghi italiani



## 3. Indagini di suoli contaminati da IDROCARBURI

Le nostre  
esperienze



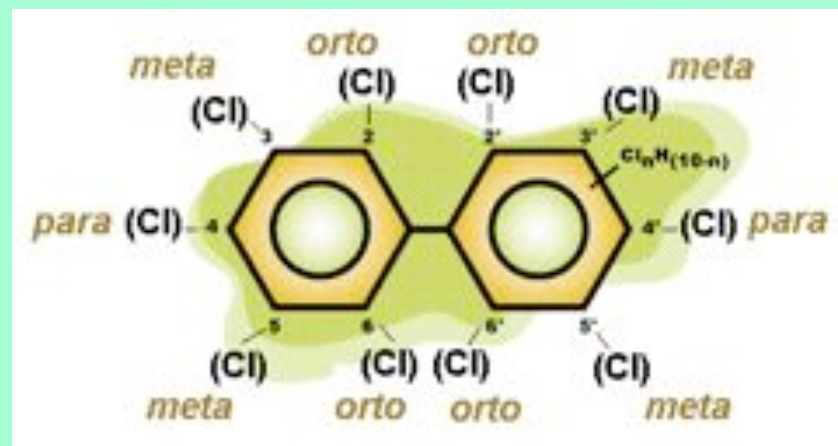
## PCBs (bifenili policlorurati)

**Classe di composti organici (209 congeneri) eccezionalmente stabili e persistenti**

**Ritenuti tra gli inquinanti più pericolosi per gli organismi viventi (classificati dall'EPA come probabili sostanze cancerogene per l'uomo)**

**Possono venire assorbiti sotto forma di vapori attraverso l'apparato respiratorio, per contatto attraverso la cute, per via gastroenterica**

**Altamente lipofili, si bioaccumulano nei tessuti lipidici e si trasmettono attraverso la rete trofica**



## **Provenienza dei PCBs**

**Fluidi dielettrici in apparecchiature elettriche  
(perdite, incendi, incidenti, scarichi illeciti, smaltimento  
inadeguato)**

**Additivi per antiparassitari, ritardatori di fiamma, isolanti,  
vernici, ..  
(discariche, migrazione di particelle, emissione nell'atmosfera  
per evaporazione)**

**Incenerimento dei rifiuti, ingrassamento dei terreni con fanghi  
provenienti da acque di scarico, combustione di oli usati**



**PRELIEVI DI:**

**Suoli**

**Acqua**

**Cannette acquatiche**

**Alghe**

**Ninfee**



isolamento

identificazione



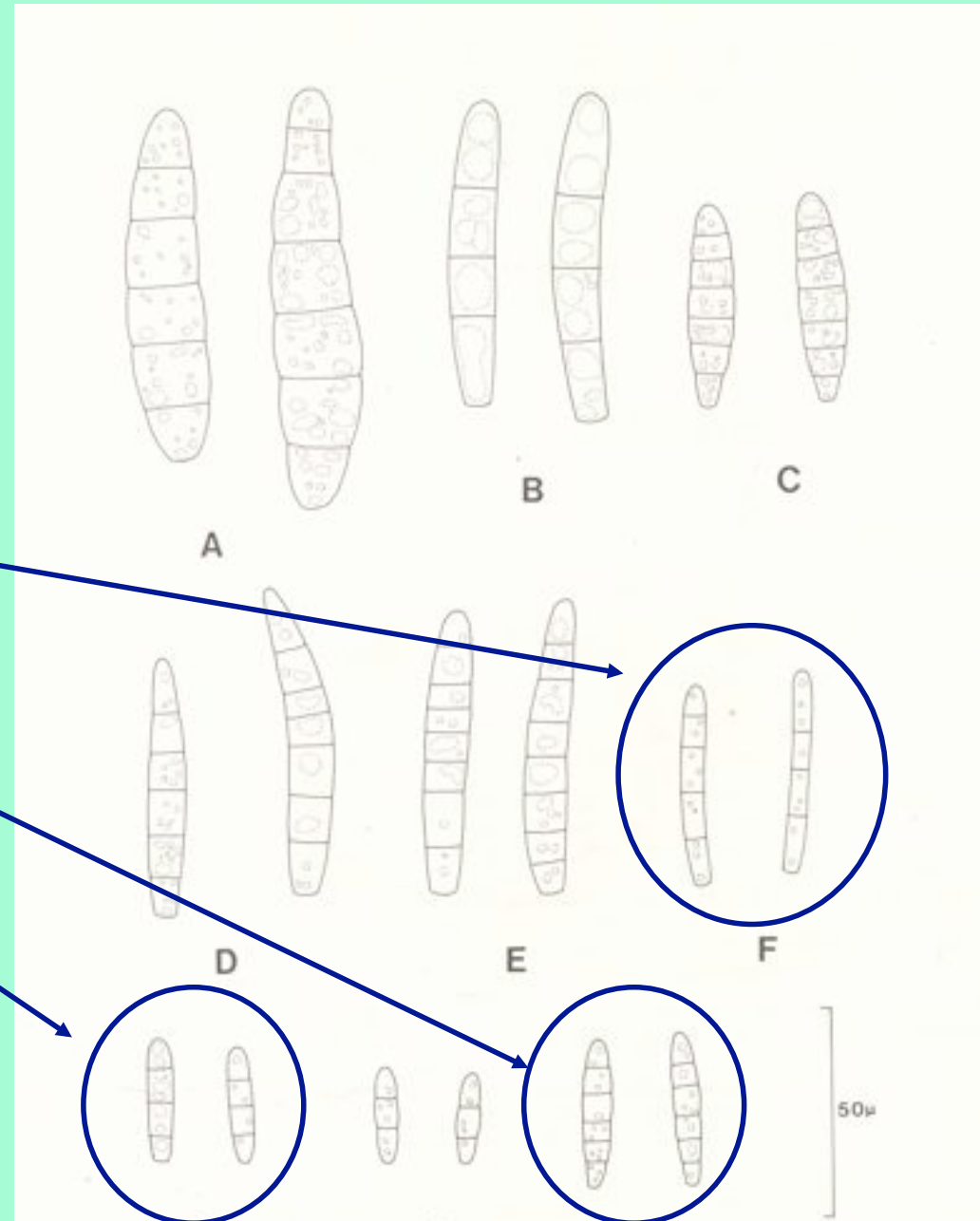
## RISULTATI di interesse micologico

### ***Stagonospora*:**

**-*S. macropicnidica***

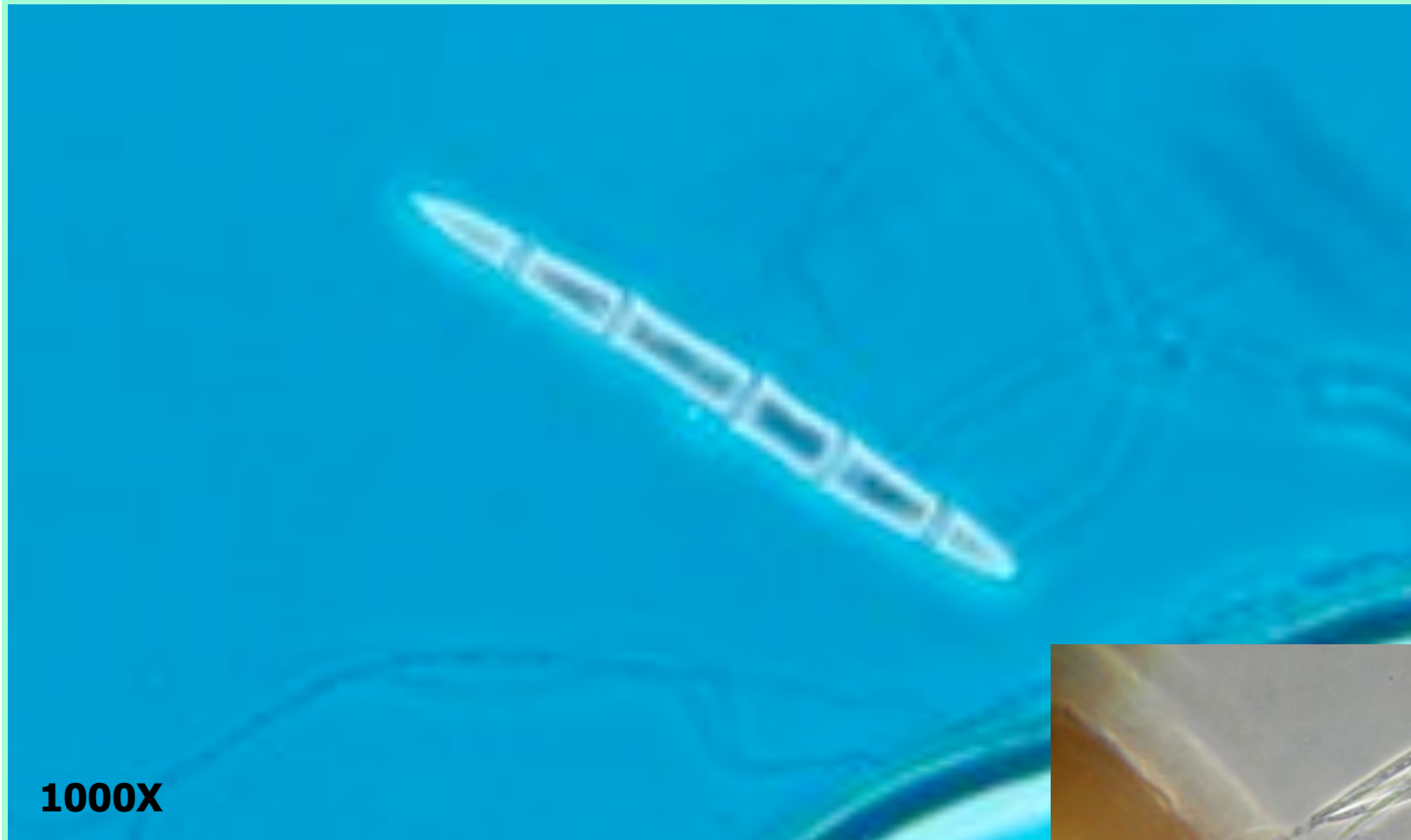
**-*S. caricis***

**-*S. vitensis***

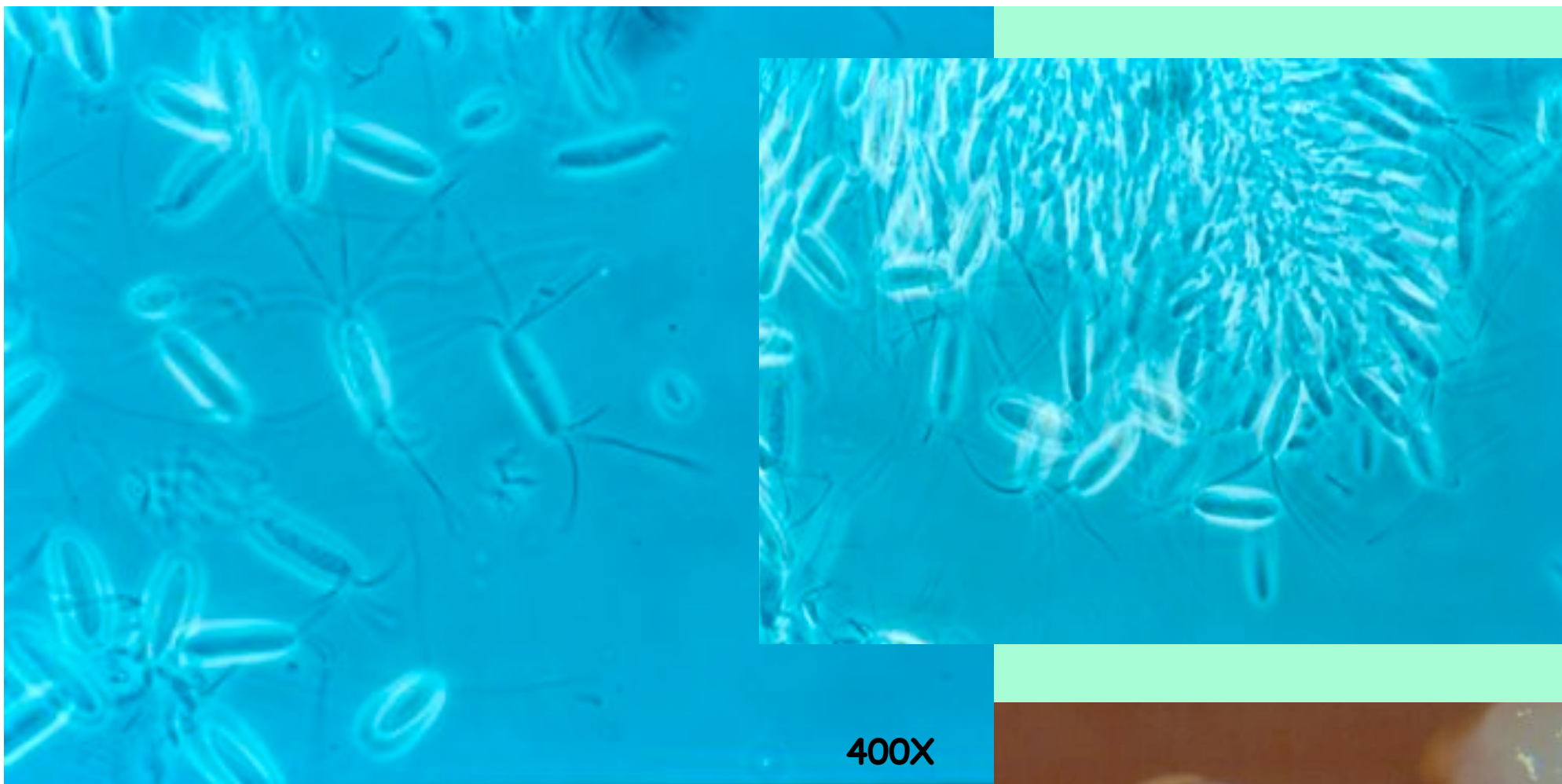


**Genere ospite-specifico!**  
**(segnalato su *Phragmites communis*)**

## ***Mirandina corticola***

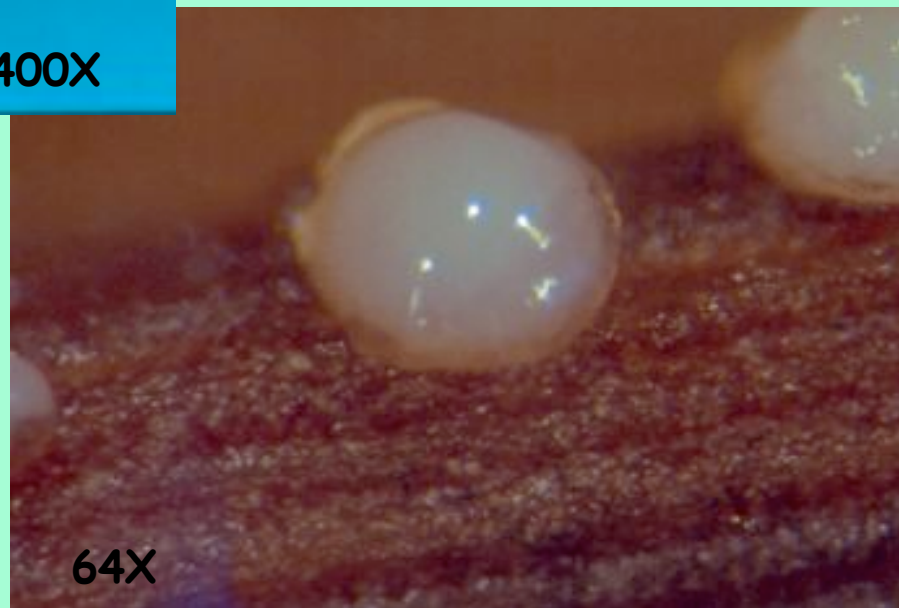






400X

***Chaetospermum chaetosporum***  
**(su foglie e fusti di cannette)**

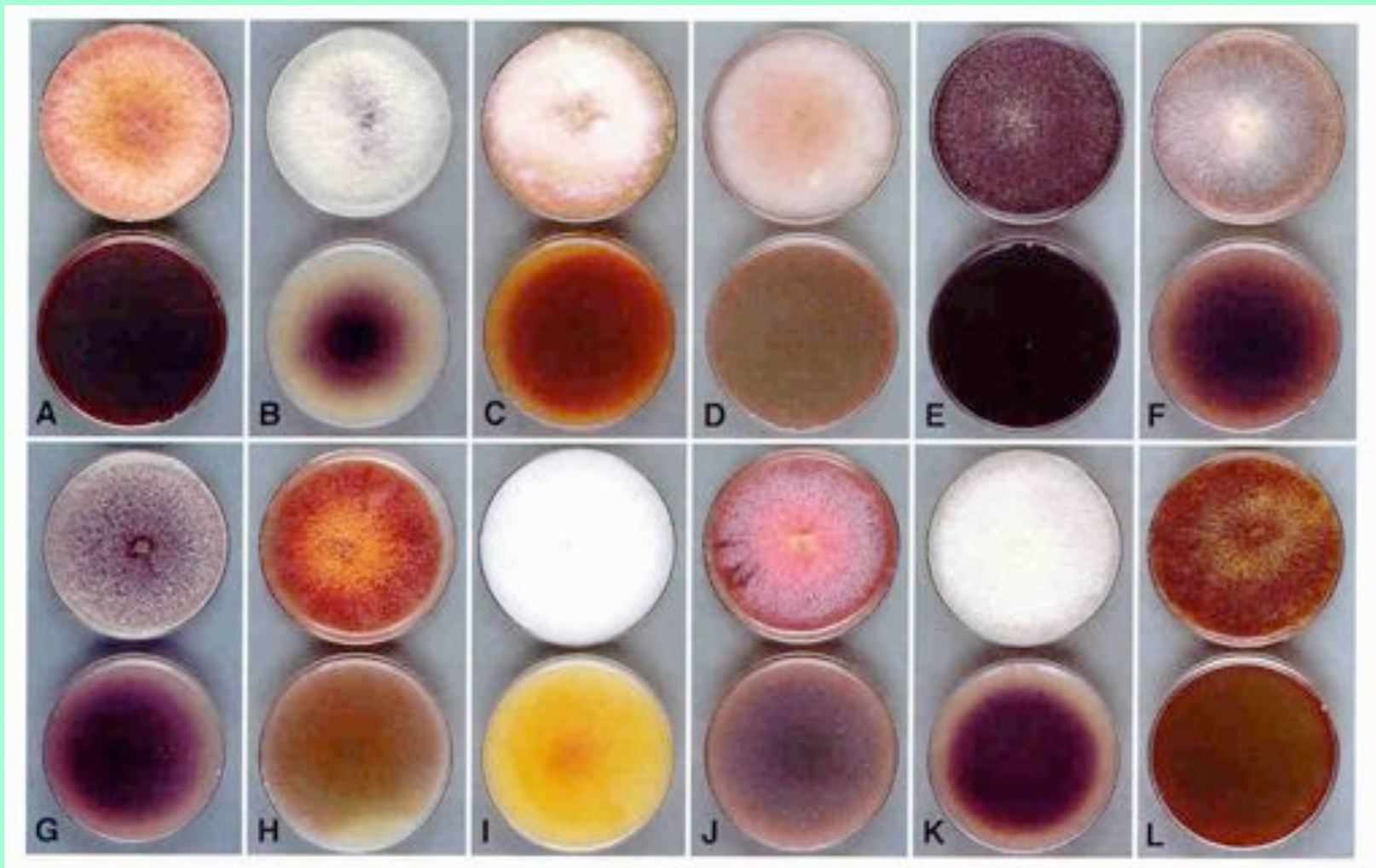


64X

**Funghi interessanti ma non utilizzabili *in vivo***



***Fusarium* spp.**





**Funghi interessanti ma non utilizzabili *in vivo***



***Penicillium* spp.**



**Fungo non utilizzabile  
(produttore di aflatossine)**



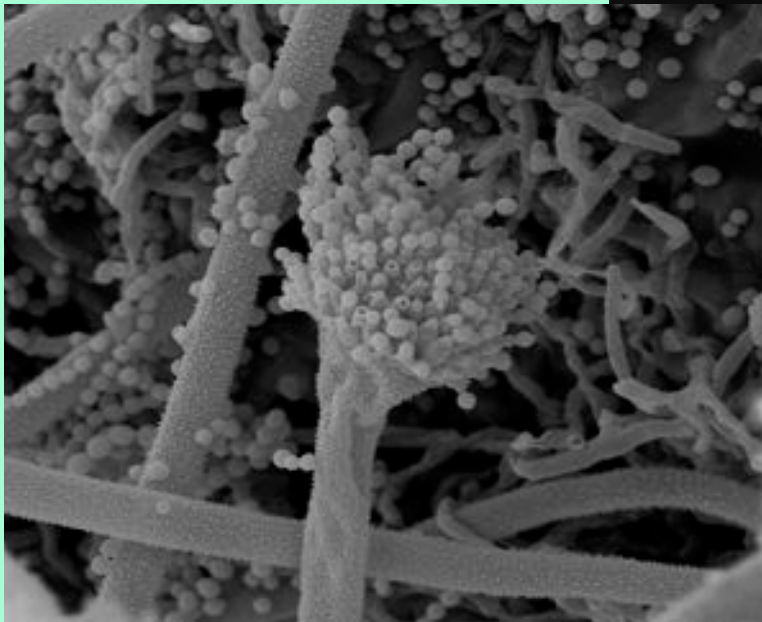
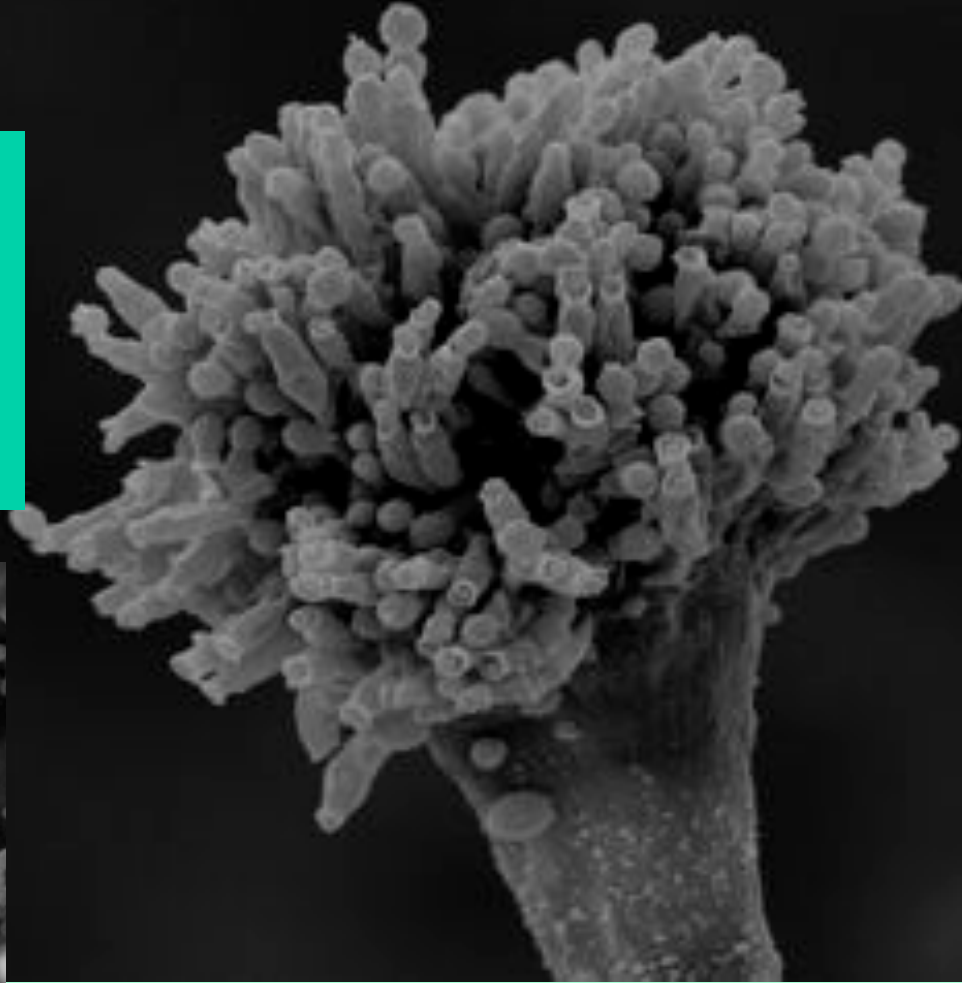
***Aspergillus flavus***





***Aspergillus niger* :**  
produttore di un'ampia gamma di metaboliti secondari, sia  
dannosi che estremamente utili

**Selezionato per la  
ricostituzione del  
consorzio microbiologico  
e indagato in quanto  
potenzialmente  
degradatore di PCB**

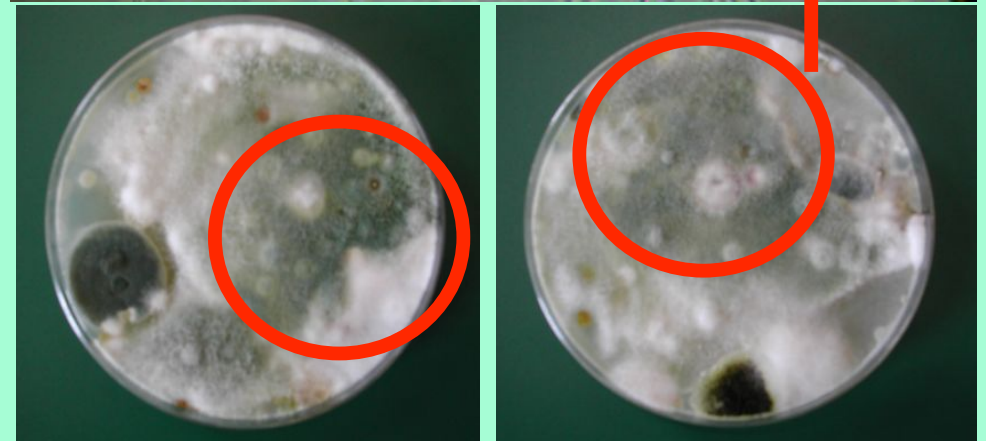
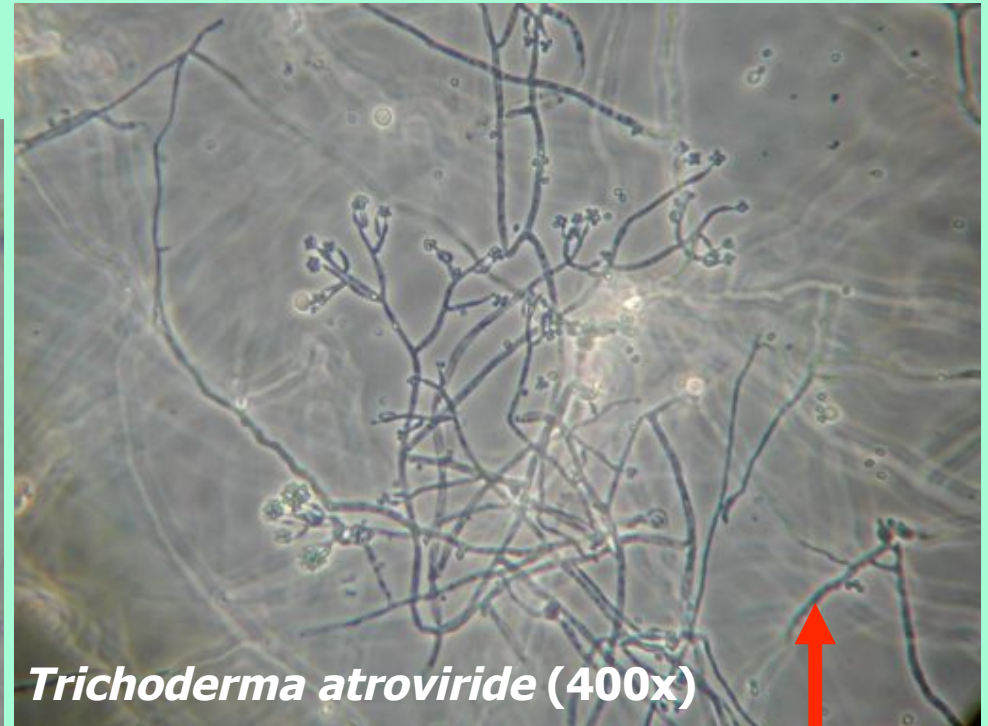
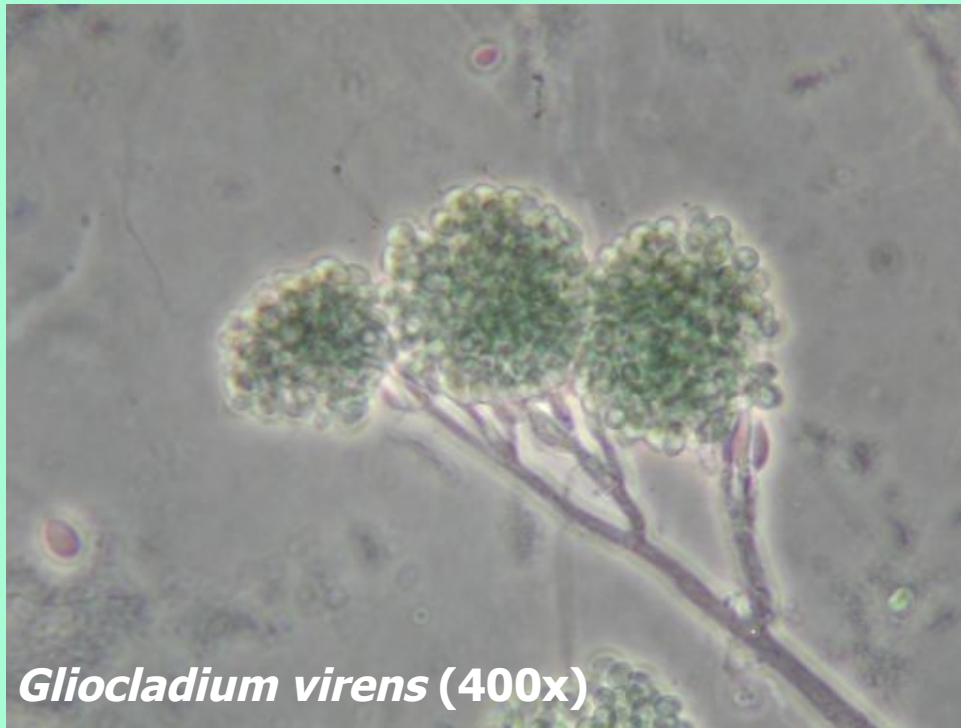


**Foto al SEM (Centro Grandi Strumenti,  
Università di Pavia)**





**Specie appartenenti ai generi *Trichoderma* e *Gliocladium* :  
già note per la loro efficacia in azioni di lotta biologica**



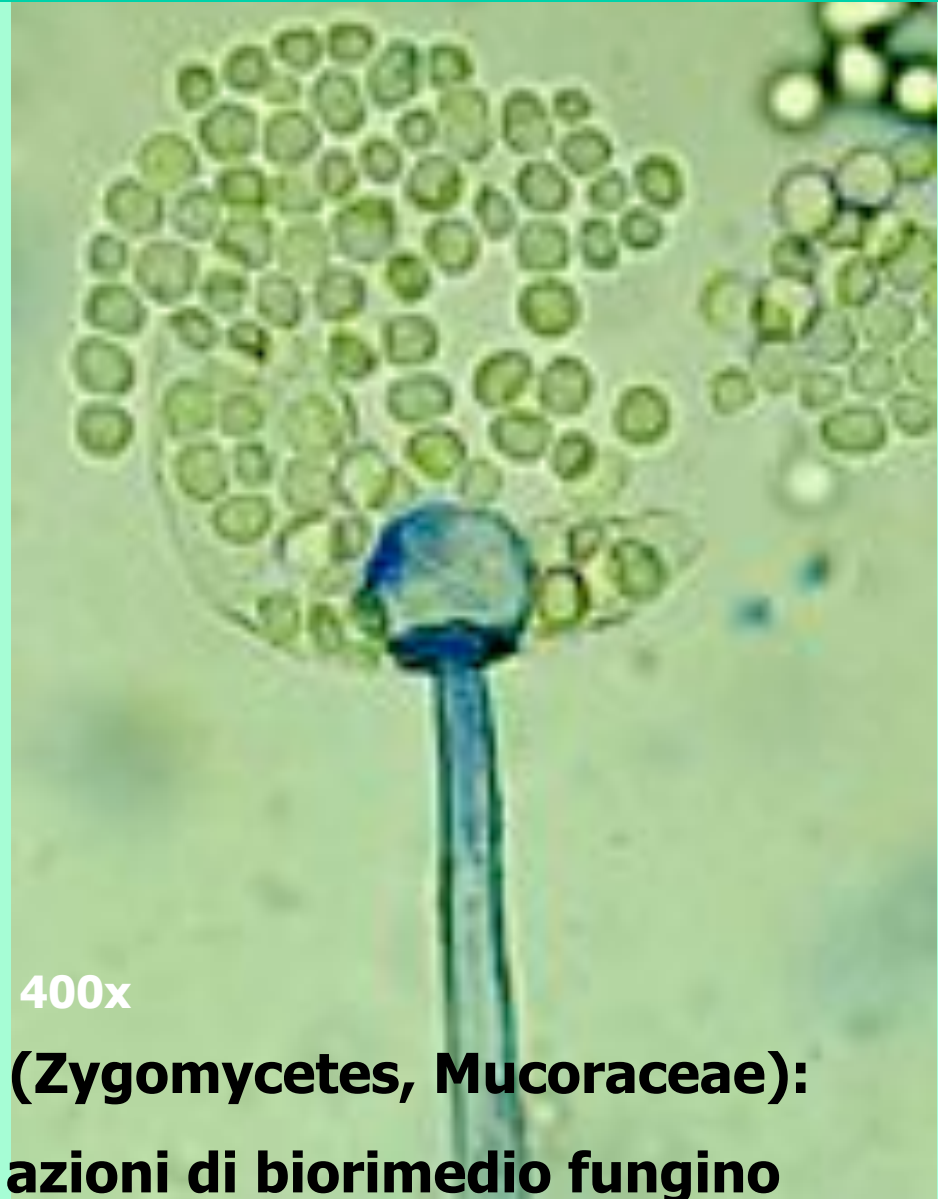


***Mucor* sp.**



**250x 400x**

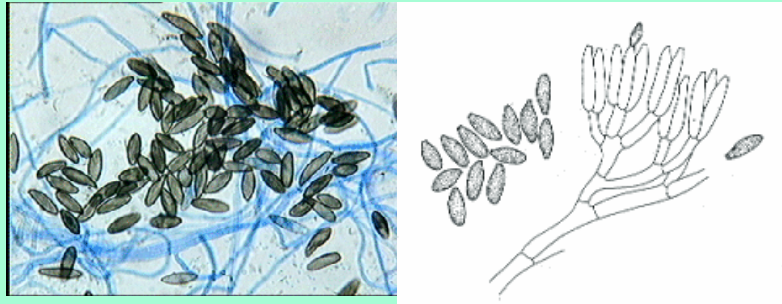
**Selezionato per la ricostituzione del  
consorzio microbiologico e indagato in  
quanto potenzialmente degradatore di PCB**



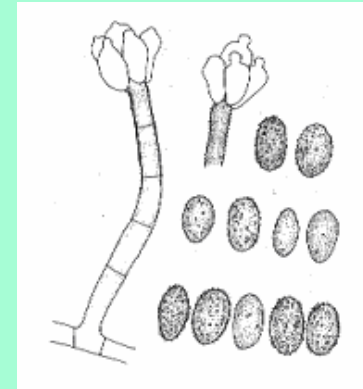
***Mortierella* e *Mucor* spp. (Zygomycetes, Mucoraceae):  
principali candidati per azioni di biorimediazione fungina**



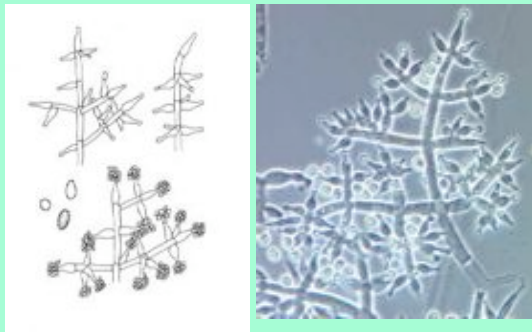
## Altri ceppi fungini testati



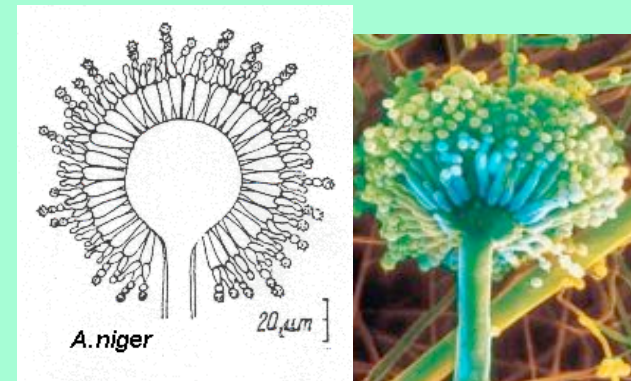
***Myrothecium verrucaria***



***Stachybotrys atra***

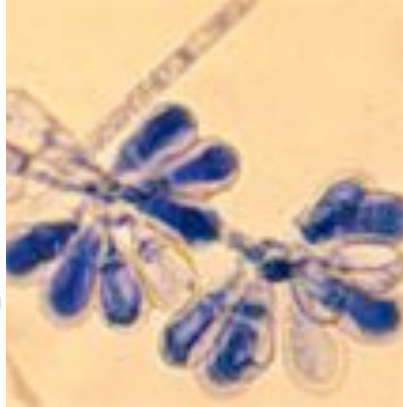


***Trichoderma atroviride***

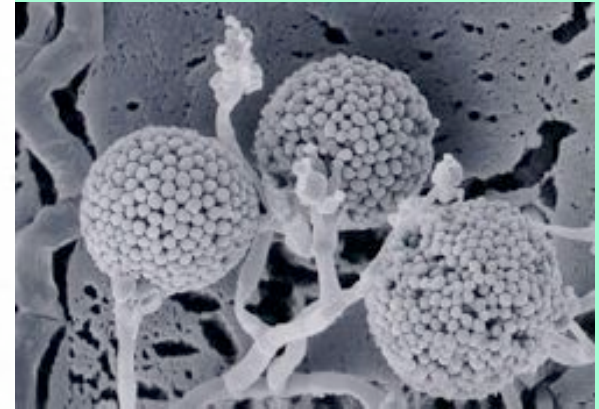


***Aspergillus niger***

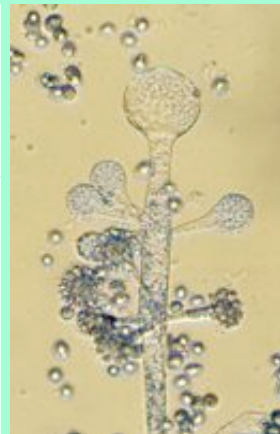
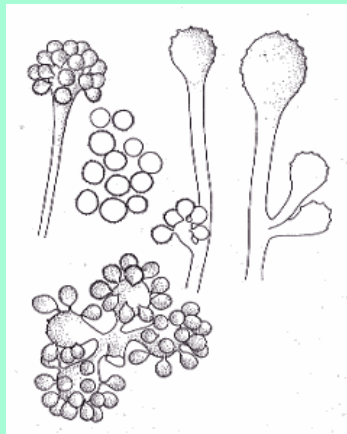
## Altri ceppi fungini testati



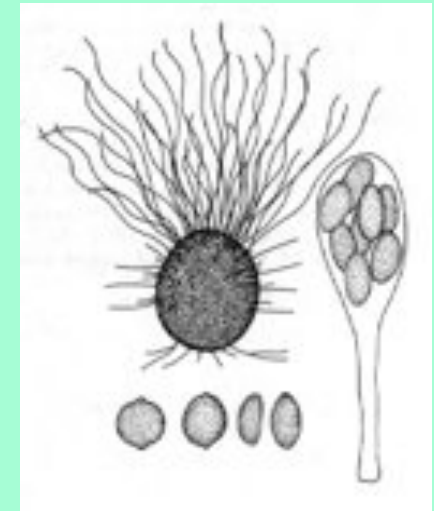
***Arthrobotrys oligospora***



***Gliocladium viride***



***Cunninghamella elegans***

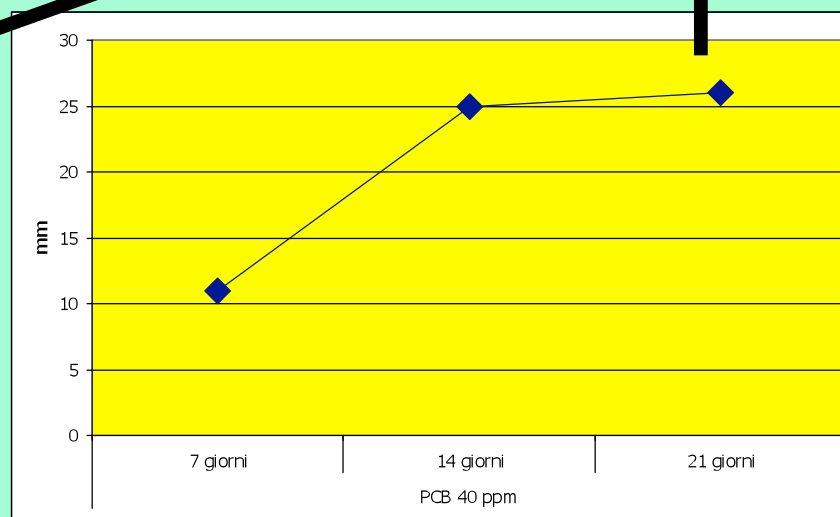
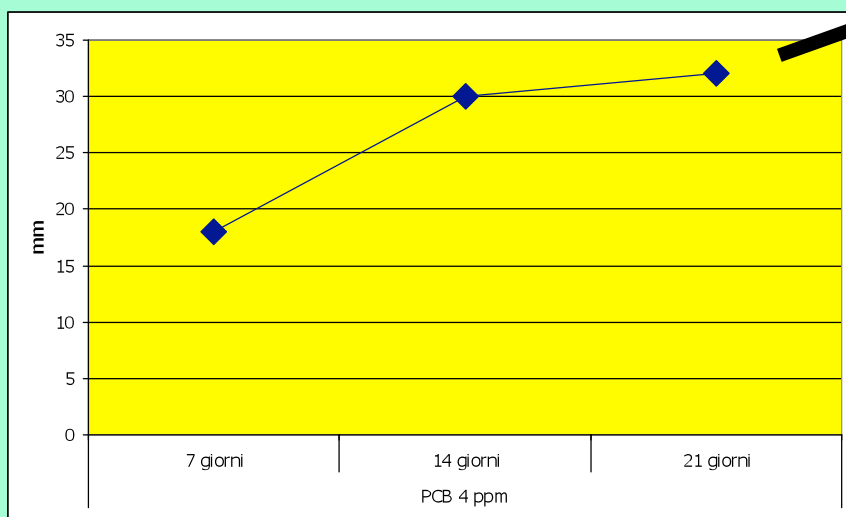
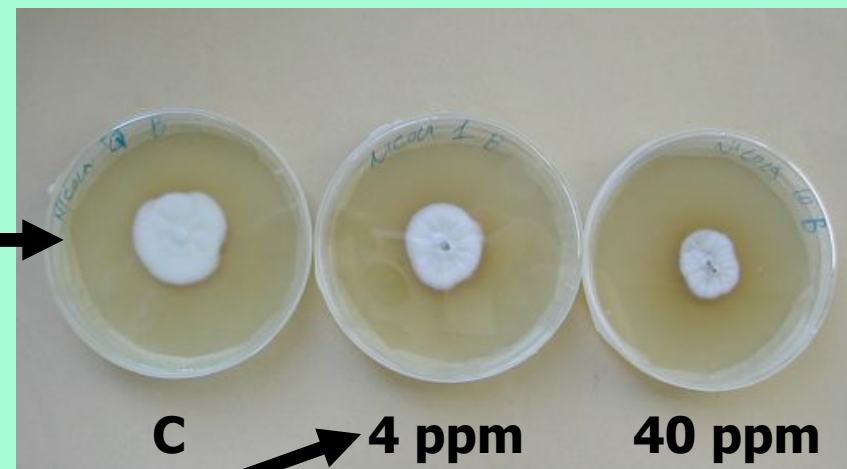
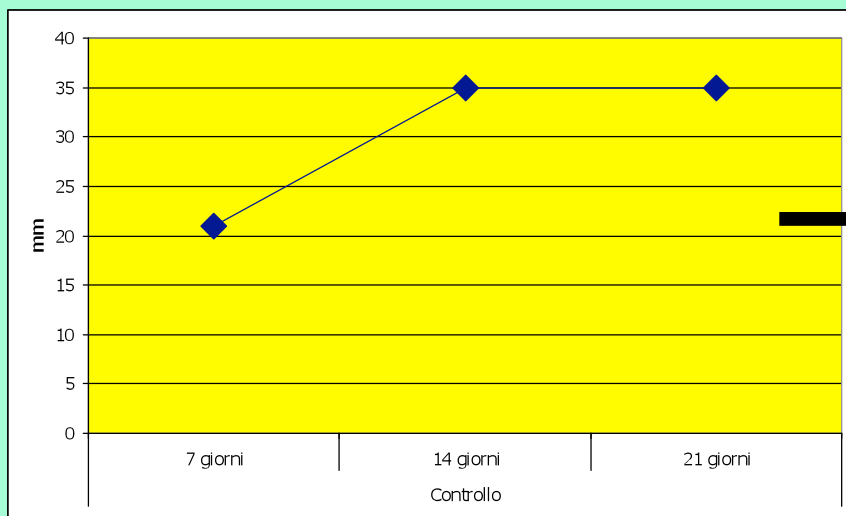


***Chaetomium globosum***

# Un bel risultato ottenuto *in vitro*



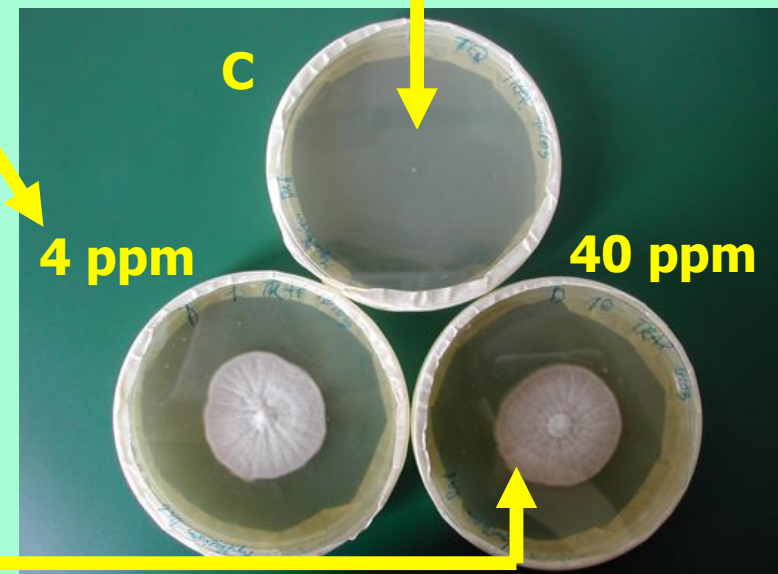
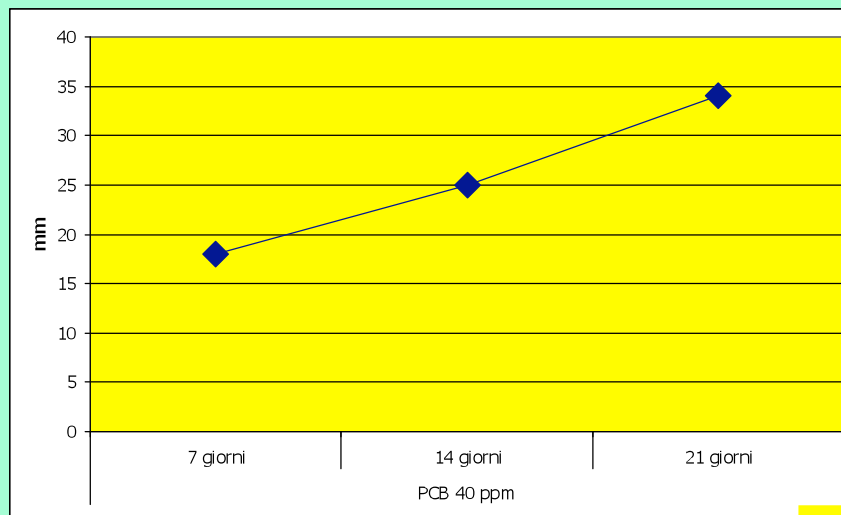
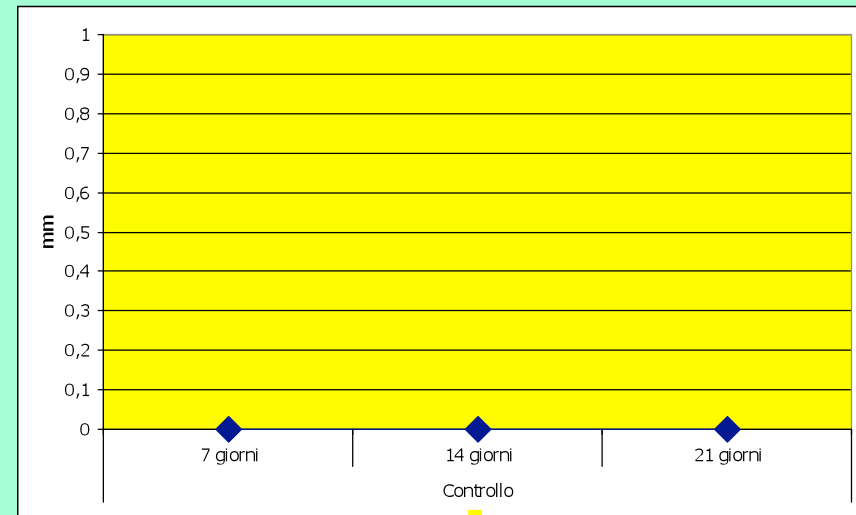
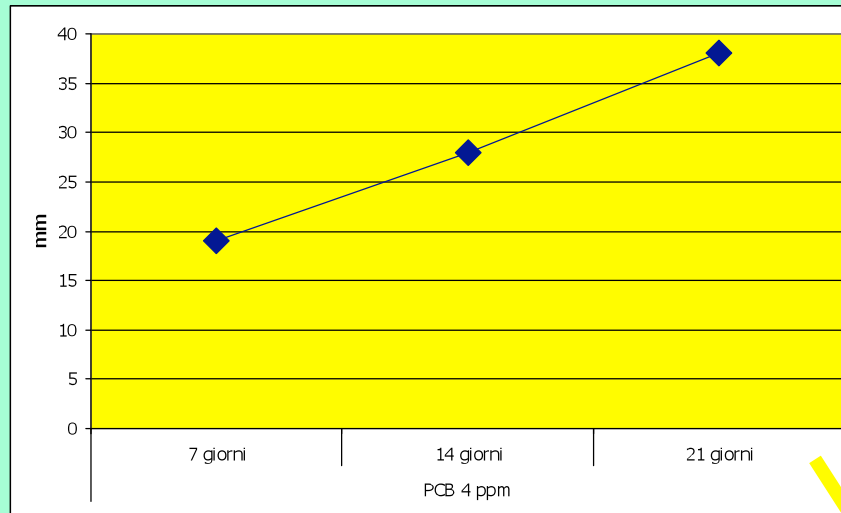
## ***Myrothecium verrucaria* su terreno contenente carbonio**



# Un bel risultato ottenuto *in vitro*



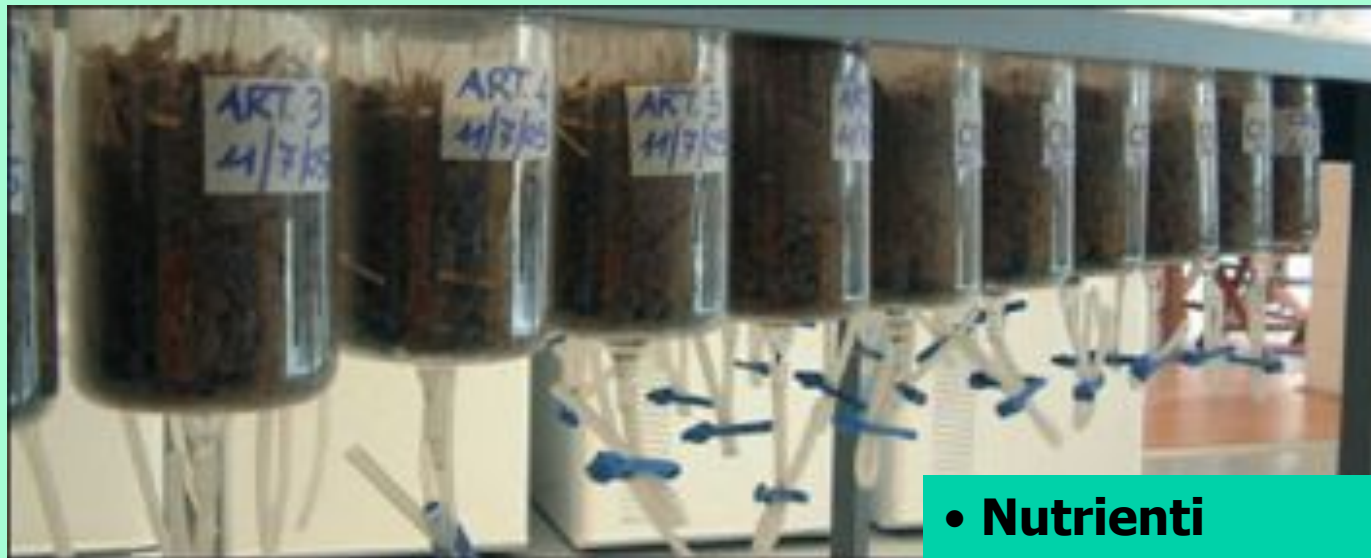
## *Myrothecium verrucaria* su terreno minerale





# SPERIMENTAZIONE IN MICROCOSMO

In un contesto di biorisanamento risulta essere fondamentale la sperimentazione in microcosmo per individuare e valutare i fattori che influenzano la biodegradazione del contaminante



- **Nutrienti**
- **Agenti strutturanti**
- **Microrganismi autoctoni**
- **Biosurfattanti**

## **BIOSURFATTANTE**

Sostanza che permette di variare il grado di BIODISPONIBILITÀ di un composto

ossia...

aumentare la biodisponibilità dell'inquinante in un suolo contaminato equivale ad aumentare la possibilità di tale sostanza di venire "attaccata" e metabolizzata dai microrganismi autoctoni

The background of the slide is a close-up, high-resolution image of numerous yellow corn kernels. The kernels are piled together, showing their characteristic teardrop shape and glossy texture. The lighting is warm, highlighting the golden-yellow color of the corn.

### Lago di Endine

Ecosistemi filtro che si interpongono agli scarichi diretti delle acque reflue nei laghi, costituiti da innovativi impianti di fitodepurazione in cui le radici delle piante (soprattutto *Phragmites*) sono rinforzate con batteri, microfunghi e micorrize; il medium è costituito da rocce zeolitiche

### Suolo agrario inquinato

Inserimento controllato di microrganismi selezionati (sia micorrizici che potenzialmente biodegradatori di PCBs), loro stimolazione mediante aggiunta di biosurfattanti, coltivazione a mais