

4. Acqua, c'è qualcuno?

Organismi viventi

Ore

dalle 1 alle 20 ore

Risultato

Giudicare la qualità di un'acqua analizzando microrganismi e invertebrati

Attività

1. Analisi di laboratorio
2. Analisi in campo
3. Elaborazione dati utilizzando strumenti informatici e test specializzati
4. Raccogliere dati utilizzando supporti multimediali

Competenze

- Utilizzare strumenti di laboratorio
- Preparare terreni colturali
- Utilizzare kit per la colorazione dei batteri
- Recuperare organismi viventi autoctoni dell'acqua
- Riconoscere la flora e la fauna raccolta
- Tabulare dati
- Calcolare indici di qualità dell'acqua

Pre-requisiti

- Conoscere e utilizzare strumenti e materiali di laboratorio
- Conoscere le caratteristiche di alcuni batteri - invertebrati

Contenuti

- La risorsa acqua
- Il ciclo dell'acqua
- L'inquinamento antropologico
- L'inquinamento industriale
- La vita nell'acqua

Modalità formative

- Lezione dialogica
- Analisi di laboratorio
- Lavoro di gruppo
- Attività operativa

Modalità di valutazione

- Relazione tecnica delle esercitazioni svolte
- Test
- Prove strutturate

Competenze certificate

Riconoscere alcuni parametri di qualità dell'acqua in relazione alle specie considerate durante l'esperienza, ne conoscere il significato ambientale ed ecologico: elabora un giudizio ipotizza modalità di intervento



Suddivisione in moduli e UD

Mod.	Unità didattica	Obiettivi	Contenuti	Metodologia e strumenti
1	I microrganismi	<ul style="list-style-type: none"> • Riconoscere al microscopio macroinvertebrati e microinvertebrati • Riconoscere i principali microrganismi dell'acqua • L'acqua al microscopio 	<ol style="list-style-type: none"> 1. i microrganismi 2. principale classificazione 3. caratteristiche dei microrganismi dell'acqua 	Libri di testo Diagrammi ad albero Aerogrammi Quaderno di lavoro Chiavi di classificazione
	Il microscopio	<ul style="list-style-type: none"> • Identificare le principali parti di un microscopio • Utilizzare il microscopio e le sue possibilità • Principio di funzionamento del microscopio 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Il microscopio: uso, funzionamento 	Lavoro di gruppo Quaderno di lavoro

CADF

La Fabbrica dell'Acqua

Capitolo 1

Nella Centrale di potabilizzazione

Premessa

Nella Centrale di Potabilizzazione andremo a vedere direttamente su cosa deve agire l'ipoclorito di sodio (Scheda 2): "La prima pulizia" nell'acqua greggia del fiume Po. Non solo, l'intera filiera di lavorazione dell'acqua potabile ha come scopo di trattenere questo materiale organico che deve essere assente nel prodotto finale "L'acqua potabile"(Uso dei filtri a sabbia Scheda 3; Uso dei filtri a carbone Scheda 4). Il biossido di cloro (Scheda 5), ultimo disinfettante che viene immesso nell'acqua poco prima di lasciare la centrale di potabilizzazione, serve proprio per proteggerla da sfortunati incontri «organici» dovuti a guasti nelle reti di distribuzione.

Le schede 2-3-4-5 sono contenute nel Percorso 3, "Acqua, maneggiare con cura".



Capitolo 2

Suddivisione del percorso

Generalità e Definizioni

Gli animali che vivono nelle acque dolci sono un'importante componente della fauna, non soltanto per numero di specie ma anche per il fondamentale ruolo che essi hanno negli **ecosistemi** (o *sistema ecologico, quale unità funzionale fondamentale di tutti gli organismi di una comunità e dei fattori ambientali con i quali interagiscono le specie dei produttori, dei consumatori e dei decompositori. Determina un ecosistema la morfologia e la geochimica dell'ambiente, il clima, le variazioni di temperatura, di pressione e di umidità, le condizioni alimentari, la diffusione e la tipologia degli organismi viventi, vegetali e animali. Ecosistemi sono p.e. un lago, un bosco...*).

Le specie animali delle acque dolci italiane sono circa 4.900 (Censimento della Limnofauna Europea 1971 aggiornata 1994) e rappresentano il 10% della totale fauna italiana calcolata di 49.000 specie (escludendo le specie marine e Protozoi). Le specie italiane rappresentano il 35% delle specie Europee.

La fauna delle acque dolci, accanto a gruppi tipicamente terrestri come gli insetti che si sono secondariamente adattati alla vita acquatica, ne conta altri la cui origine va ricercata nell'ambiente marino.

Diamo la definizione di **macroinvertebrati**: termine che non riveste alcun significato sistematico, ma che distingue gli animali "macroscopici". La loro taglia supera il millimetro, visibili a occhio nudo, tutti bentonici (che vivono a diretto contatto con il fondo) > **Parte A**.

Vengono esclusi i **microrganismi**, gruppi importanti per numero di specie e per significato biologico, come i Rotiferi, Nematodi, Idracari, Cladoceri, Ostracodi, Copepodi, alcuni dei quali sono i principali costituenti dello zooplankton (insieme degli animali che con la parte vegetale compongono il plancton, fluttuanti nelle acque marine o dolci e incapaci di contrastare la fluttuosità della acqua) delle acque dolci. La taglia dei microrganismi è inferiore al millimetro e per osservarli si deve ricorrere al microscopio > **Parte B** del percorso 4.

Esiste ancora un altro regno di dimensioni più piccole, individuabile solo con tecniche di laboratorio come le "colture batteriche" e visibile con colorazioni specifiche i **Batteri**. Sono organismi unicellulari (*una sola cellula*) di dimensioni microscopiche: diametro 0.3-0.2 μm , larghezza 0.3-100 μm .> **Parte C**

Parte A

Indice Biotico Esteso IBE

L'Indice Biotico Esteso (IBE) mette in evidenza la popolazione macroscopica che vive nell'acqua essendo un monitoraggio biologico del controllo di qualità delle acque correnti.

Nella centrale di potabilizzazione la fauna macroscopica viene trattenuta dalle griglie poste nei bocchettoni di aspirazione dell'acqua. In questo modo la presenza di macroinvertebrati dal processo di potabilizzazione è molto limitata; accidentalmente e più di tutti gli insetti possono finire nei sistemi di acqua aperti come i chiariflocculatori. Per quest'ultimo motivo l'acqua, dopo aver subito la prima filtrazione con i filtri a sabbia "non vede più la luce", cioè viene protetta all'interno di tubature e contenitori chiusi. In questo modo si evitano modificazioni che possono essere indotte dalla luce che attiva processi di fotosintesi clorofilliana, o da batteri, invertebrati e animali in genere compreso l'uomo, che la possono inquinare.

L'IBE viene usato per classificare le acque superficiali : fiumi, torrenti, laghi. Esprime, attraverso l'analisi degli animali raccolti, un giudizio di qualità dell'acqua. Questa tecnica è stata messa a punto nei torrenti del Trentino Alto Adige con **biotopi** diversi dalla nostra regione (**biotopo** unità di ambiente fisico in cui vive una biocenosi. Tipici esempi sono una pozzanghera, un prato, un torrente, più in generale qualsiasi ambiente che abbia caratteristiche sufficientemente unitarie.

La **biocenosi**, o associazione biologica, è l'insieme di organismi viventi animali e vegetali di specie diverse che coabitano in una stessa unità di ambiente biotopo e sono strettamente legati tra loro da rapporti di concorrenza - competizione - alimentazione. Una biocenosi è equilibrata quando i suoi componenti sono proporzionalmente distribuiti in modo che nessuna specie si propaghi a dismisura sovvertendo l'equilibrio ambientale; è completa quando è composta da organismi produttori (piante verdi) da organismi consumatori (erbivori e carnivori) e da decompositori (batteri e funghi). Il principio di indagine, valido per tutte le acque superficiali, rimane comunque uguale; esistono animali indicatori di acqua buona, altri invece di inquinamento.

Classi di Qualità	Valore IBE	Giudizio di Qualità
Classe I	10, 11, 12	Ambiente non inquinato o comunque non alterato in modo sensibile
Classe II	8-9	Ambiente con moderati sintomi di inquinamento o di alterazione
Classe III	6-7	Ambiente molto inquinato o comunque alterato
Classe IV	4-5	Ambiente molto inquinato o comunque alterato
Classe V	0, 1, 2, 3	Ambiente fortemente inquinato e fortemente alterato

Tabella di conversione dell'IBE in classi di qualità

L'esperienza proposta consiste nel raccogliere l'acqua ed analizzarla; con l'aiuto di chiavi di riconoscimento si identificano gli animali presenti. Analizzata tutta la popolazione, che singolarmente viene registrata in appositi moduli, le specie uguali vengono sommate, con l'ausilio dell'apposito manuale si risale al valore IBE che viene successivamente convertito in un giudizio di qualità (vedi tabella sopra).

Questa tecnica viene usata, quando vengono censiti i fiumi del territorio.

Da proporre ai ragazzi, questa esperienza presenta svariate difficoltà nonché pericolosità. La raccolta dell'acqua e del terriccio, operazione svolta con retino e secchio in golenia del fiume Po, prevede la presenza di personale di sorveglianza. La ricerca delle specie presenti, da realizzare nel minor tempo possibile per problemi tecnici del campione raccolto come mancanza di ossigeno, rappresenta una fase di studio collettiva, piacevole per i ragazzi, che può prolungarsi per molto tempo.



Perché i macroinvertebrati

La scelta dei macroinvertebrati si giustifica per le peculiari caratteristiche di questo gruppo:

- sono ubiquitari e relativamente facili da campionare
- facili da identificare
- hanno una durata di vita abbastanza lunga, registrando in modo integrato la qualità dell'ambiente
- sono sedentari e quindi rappresentativi delle condizioni locali
- hanno sensibilità diversa all'inquinamento
- rispondono diversamente ai diversi tipi di impatti

CADF

La Fabbrica dell'Acqua

Macroinvertebrati d'acqua dolce europei/italiani

Poriferi		Plecotteri		Cnidari		Tricotteri	
Platelminti		Odonati		Tricladi		Eterotteri	
Nemertini		Imenotteri		Nematofori		Coleotteri	
Anellidi		Ditteri		Irudinei		Oligocheti	
Briozoi		Lepidotteri		Gasteropodi		Megalotteri e Planipenni	
Bivalvi		Crostacei	  				

La Fabbrica dell'Acqua

Alcune nozioni

L'intervento dell'uomo sulla morfologia dei canali o corsi d'acqua in generale comporta modificazioni sulla dinamica idrologica. Dighe, regimazioni, sbarramenti, prelievi ecc.. trasformano gli ambienti modificandone la composizione chimica delle sostanze nutritive del sistema con ripercussioni a monte e a valle dell'invaso e nei tempi di ricambio dell'acqua. Ulteriori aggravii vengono apportati con l'esercizio dell'uomo attraverso gli scarichi delle attività produttive che normalmente affluiscono nelle acque superficiali. Ad esempio i tensioattivi (saponi usati in molte industrie) producono effetti tossici su pesci, invertebrati, piante acquatiche abbassando il tasso di aerazione dell'acqua (scarso ossigeno) sconvolgendo il sistema. La presenza di sostanze tossiche, immesse con gli scarichi produttivi, induce di solito una riduzione del numero di specie presenti e del numero totale di individui, o, se lo scarico contiene in varie forme azoto e fosforo, si determina l'accrescimento predominante di poche specie in grado di usare come nutrienti questi composti, producendo fenomeni come l'eutrofizzazione dell'acqua.

1. Campionamento degli organismi

Scopo del campionamento è quello di ricostruire la composizione e la densità dei popolamenti che sono presenti in una determinata sezione del corso d'acqua. Campionando nei diversi microhabitat del corso si tende a dare un significato di ricchezza in specie, essendo la porzione campionata una piccola porzione rispetto "all'universo" che si vuole ricostruire. Il campionamento si esegue con un retino da pesca, versando il contenuto all'interno di un contenitore (secchio), che si porta in laboratorio.

Esiste in bibliografia una procedura completa sul modo di campionare. Il nostro lavoro non prevede una classificazione vera e propria per cui ci limiteremo a dare notizie utili. Per chi voglia approfondire l'argomento si consiglia il testo "Indice Biotico Esteso" di Pier Francesco Ghetti Trento 2001.

Si usano le apposite schede allegate (Parte A - Percorso).

2. Setacciatura e analisi del materiale raccolto

In questa fase, realizzata in laboratorio con setaccio, pinzette e lenti di ingrandimento, viene separato il substrato solido (terriccio, sassi ecc..) dalle forme animali. Si pone una piccola quantità del materiale, per esempio con un cucchiaino, su di un apposito vassoio separando gli organismi viventi dai detriti.

3. Analisi degli organismi

Una volta separati, gli organismi possono essere colorati con rosso Bengala, fissati con fissativo (25ml di acqua 70ml di alcool etilico 95%), conservati in flaconi di vetro. L'identificazione dei Phyla può essere compiuta anche nei preparati allestiti per la conservazione degli animali.

- Identificazione e conteggi

Il livello di riconoscimento degli organismi dipende dalle esigenze della ricerca. La identificazioni fino all'ordine e alla famiglia si possono fare con l'ausilio della lente di ingrandimento o di uno stereoscopio (50 ingrandimenti). Per realizzare l'identificazione serve una buona conoscenza del quadro sistematico e l'ausilio di guide generali.

I risultati delle identificazioni e dei conteggi vanno riportati su schede apposite allegate, calcolando il numero di organismi per le diverse sp. ed il numero totale.

Individuazione dell'indice della specie

Gli indici basati sullo studio dei macroinvertebrati tengono conto del fatto che gli impatti prodotti sull'ambiente per modificazioni fisiche e chimiche agiscono su:

- composizione della specie
- numero totale di specie
- numero di individui per ogni specie
- proporzioni relative della specie entro la comunità
- ricchezza di specie
- distribuzione degli organismi tra le specie

In base alla densità della specie esaminata, l'IBE viene calcolato nella apposita tabella in funzione della densità della specie e della disponibilità delle specie a vivere in condizioni non ottimali. La sensibilità ai fattori di alterazione ambientale delle specie, nella tabella sottostante, diminuisce dall'alto verso il basso. Come si calcola l'IBE? Indichiamo con **US** le unità sistematiche (il numero di animali appartenenti alla stessa specie) trovate; la tabella IBE presenta una entrata orizzontale che deve essere utilizzata in corrispondenza della US più sensibile all'inquinamento. Nella tabella il primo ordine è quello dei PLECOPTERI; se però nel campione raccolto non sono presenti questi insetti si entrerà con gli Efemerotteri o ancora con i Tricotteri e così via, cioè si cercherà la prima classe che compare nell'ordine in verticale che risulta più sensibile all'inquinamento. In mancanza di classi sensibili all'inquinamento (animali che non si adattano e muoiono quando cambiano le loro condizioni naturali) si useranno classi di animali resistenti all'inquinamento cioè che vivono anche in acque inquinate. La seconda entrata in tabella IBE è quella verticale, cioè in corrispondenza della colonna che comprende un numero di US totali che formano la comunità in esame.

La Fabbrica dell'Acqua

Tabella per il calcolo del valore di I.B.E.

Gruppi Faunistici che determinano con la loro presenza l'ingresso orizzontale in tabella (primo ingresso)		Numero totale delle Unità Sistematiche costituenti la comunità (secondo ingresso)								
		0-1	2-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-...
Plecoteri presenti (<i>Leuctra</i> ?)	più di una U.S.	-	-	8	9	10	11	12	13*	14*
	una sola U.S.	-	-	7	8	9	10	11	12	13*
Efemeroteri presenti (escludere <i>Baetidae</i> , <i>Caenidae</i> **)	più di una U.S.	-	-	7	8	9	10	11	12	-
	una sola U.S.	-	-	6	7	8	9	10	11	-
Tricotteri presenti comprendere <i>Baetidae</i> e <i>Caenidae</i>	più di una U.S.	-	5	6	7	8	9	10	11	-
	una sola U.S.	-	4	5	6	7	8	9	10	-
Gammaridi e/o Atiidi e/o Palemonidi presenti	tutte le U.S. sopra assenti	-	4	5	6	7	8	9	10	-
Asellidi e/o Niphargidi presenti	tutte le U.S. sopra assenti	-	3	4	5	6	7	8	9	-
Oligocheti o Chironomidi	tutte le U.S. sopra assenti	1	2	3	4	5	-	-	-	-
Altri organismi	tutte le U.S. sopra assenti	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabella di conversione dei valori di I.B.E. in classi di qualità, con relativo giudizio e colore per la rappresentazione in cartografia. I valori intermedi fra due classi vanno rappresentati mediante tratti alternati con colori o retinature corrispondenti alle due classi.

CLASSE DI QUALITÀ	VALORE DI I.B.E.	GIUDIZIO DI QUALITÀ	COLORE E/O RETINATURA RELATIVA ALLA CLASSE DI QUALITÀ
Classe I	10-11-12-...	Ambiente non inquinato o comunque non alterato in modo sensibile	azzurro
Classe II	8-9	Ambiente con moderati sintomi di inquinamento o di alterazione	verde ??????????
Classe III	6-7	Ambiente molto inquinato o comunque alterato	giallo x x x x x x
Classe IV	4-5	Ambiente molto inquinato o comunque molto alterato	arancione x x x x x x
Classe V	0-1-2-3	Ambiente fortemente inquinato e fortemente alterato	rosso []

La Fabbrica dell'Acqua

Es: in una stazione troviamo 2 US di Plecotteri, l'IBE =10.

Si sommeranno tutti gli altri valori IBE per le unità sistematiche riconosciute e si andrà a ricercare in corrispondenza del valore trovato il relativo giudizio di qualità nella tabella di conversione dell'IBE. Con un IBE di 10, la classe di qualità è la prima, cioè "Ambiente non inquinato, non alterato in modo sensibile", difficile da trovare nel nostro territorio. Nella provincia di Ferrara esistono 4 Stazioni di campionamento per il fiume Po, ed ogni quattro mesi viene raccolto materiale ed esaminato. La Stazione di cui riportiamo i dati si riferisce alla postazione di Pontelagoscuro, che nell'anno 2002 ha dato i seguenti risultati:

1. periodo invernale: classe di qualità IV "Ambiente molto inquinato e comunque molto alterato".
2. periodo primaverile: classe di qualità III "Ambiente inquinato e comunque alterato"
3. periodo autunnale: classe di qualità III "Ambiente inquinato e comunque alterato".

Il mantenimento consecutivo, in due stagioni diverse, dello stesso indice lascia pensare o sperare che il fiume Po sia in via di miglioramento dall'inquinamento e che l'uomo cominci a maturare una diversa coscienza nei confronti del patrimonio naturale.

Abbiamo ritenuto più semplice questo metodo da proporre ai ragazzi ma ne esistono altri che possiamo studiare assieme. Per ogni approfondimento si rimanda al testo usato nella ricerca.

Testi usati per la ricerca

- Manuale di applicazione Indice Biotico Esteso" I Macroinvertebrati nel controllo della Qualità degli ambienti di acque correnti" Provincia Autonoma di Trento
- Atlante per il riconoscimento "Macroinvertebrati dei corsi d'acqua italiani" Provincia Autonoma di Trento
- Manuale per il riconoscimento dei macroinvertebrati vol. I, II, delle acque dolci Italiane. Provincia Autonoma di Trento.
- La Nuova Enciclopedia Delle Scienze Garzanti

La Fabbrica dell'Acqua

GRANULOMETRIA SUBSTRATI NELL'ALVEO BAGNATO (ordine di prevalenza): foccia massi

ciottoli ghiaia sabbia limo

MANUFATTI ARTIFICIALI: fondo

sponda dx

sponda sx

RETENZIONE DEL DETRITO ORGANICO: sospesa moderata scarsa

STATO DI DECOMPOSIZIONE DELLA MATERIA ORGANICA: dominano: strutture grossolane

frammenti fibrosi frammenti polposi

PRESENZA DI ANAEROBIOSI SUL FONDO: assente tracce

sensibile localizzata estesa

ORGANISMI INCROSTANTI: feltro rilevabile solo al tatto alghe crostose feltro sottile

feltro spesso, anche con pseudofilamenti incoerenti alghe filamentose

batteri filamentosi: assenti scarsi diffusi

VEGETAZIONE ACQUATICA: copertura alveo %

VEGETAZIONE RIPARIA:

LARGHEZZA DELL'ALVEO BAGNATO (..... m) RISPETTO ALL'ALVEO DI PIENA (..... m):

0-1% 1-10% 10-20% 20-30% 30-40% 40-50%

50-60% 60-70% 70-80% 80-90% 90-100%

VELOCITÀ MEDIA DELLA CORRENTE: impercettibile o molto lenta lenta

media e laminare media e con limitata turbolenza elevata e quasi laminare

elevata e turbolenta molto elevata e turbolenta

h media dell'acqua cm h max cm

CARATTERI DELL'AMBIENTE NATURALE E COSTRUITO CIRCOSTANTE:

in destra idrografica

in sinistra idrografica

CADF

La Fabbrica dell'Acqua

Parte B

I microrganismi dell'acqua

In una centrale di potabilizzazione, se l'acqua viene raccolta da una fonte superficiale, contiene una certa fauna microscopica che gradualmente viene asportata lungo la filiera di lavorazione. Il primo impatto di eliminazione si ha con il disinfettante "l'ipoclorito di sodio" (vedi Percorso 3 scheda 2); in un secondo tempo con la sedimentazione (Percorso 3 scheda 2), si realizza una precipitazione del materiale in sospensione nell'acqua che formerà fango contenente buona parte dei microrganismi. Diatomee, Rotiferi, frammenti di alghe Azzurre, Copepodi ecc. organismi microscopici riescono a volte a superare la prima pulizia dell'acqua; quindi proseguono il loro cammino verso la seconda pulizia dell'acqua che si realizza con la Filtrazione (modulo 3 scheda 3,4), prima con sabbia poi con Carbone Attivo Granulare. Questi piccoli animali svolgono funzioni di autodepurazione delle acque filtrandole e decomponendo il materiale organico. In Italia sono specie non parassite dell'uomo, fanno parte della flora e fauna del biotopo usato dove con la loro presenza autodepurano l'acqua. Garanzia di "Sanità dell'acqua" sono i disinfettanti usati e i continui controlli biologici, microbiologici e chimici effettuati dall'Ente Erogatore (Acquedotto) e dall'ARPA (Agenzia Regionale Prevenzione Ambiente) che, su commissione dell'USL (Unità Sanitaria Locale), sovrintende i controlli determinati dalla normativa cogente (Decreto Legislativo 2 febbraio 2001, n. 31 per le acque destinate al consumo umano e aggiornamento).

Ogni tipo di acqua (superficiale, pozzo, potabile, acque in bottiglia ecc..) è soggetto ad una normativa di legge che impone i parametri da ricercare, la frequenza dei prelievi da effettuare, i metodi delle analisi al quale attenersi con i correlativi valori guida (V.G.) e concentrazioni massime ammissibili (C.M.A.). Sanzioni o addirittura chiusura dell'acquedotto possono essere richieste dalle autorità competenti (USL) quando viene compromessa la salute umana, cioè non si rispettano i valori di legge.

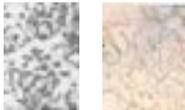
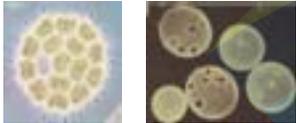
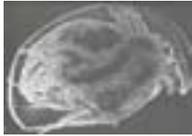
La visione al microscopio di volumi noti di acqua determina una valutazione della qualità dell'acqua in esame, e viene effettuata normalmente come analisi periodica per l'acqua potabile.

In una goccia di acqua greggia del fiume Po, la visione di alcuni microrganismi consente una visione parziale del mondo animale legato all'acqua. Per l'acqua potabile invece bisogna filtrare elevati volumi (10- 20 litri) per poter individuare solo alcune specie.

In questa esperienza la visione dei batteri, per le piccolissime dimensioni, non viene trattata.

I **microrganismi** più importanti sono Rotiferi, Nematodi, Idracari, Cladoceri, Ostracodi, Copepodi.

Microrganismi d'acqua dolce europei/italiani

Alghе flagellate		Alghе azzurre	
Alghе verdi		Diatomee	
Protozoi		Anellidi	
Rotiferi		Nematodi	
Gastrotichi		Cladoceri	
Copepodi		Fillopodi	

La Fabbrica dell'Acqua

Per la loro visione proponiamo due metodi:

1. Preleviamo un po' di acqua superficiale greggia per esempio da un fiume o da una pozzanghera e la guardiamo al microscopio. Il personale addetto provvederà al riconoscimento, aiutato da appositi manuali.
2. Preleviamo mezzo litro di acqua dal fiume Po e lo versiamo in un contenitore in vetro dove collochiamo due vetrini sospesi in verticale da tappi di sughero. Il contenitore viene collocato su un agitatore magnetico con bassa rotazione che garantisce apporto di ossigeno ed evita il ristagno dell'acqua. Questo deve essere preparato 24 ore prima della visione, cioè il tempo sufficiente perché si formi un biofilm biologico (meglio se 48 – 72 ore). Le specie presenti useranno il vetrino come supporto per il loro sviluppo. In questo arco di tempo il contenitore di vetro è diventato il loro nuovo biotopo e la crescita di alcune specie a svantaggio di altre è un esempio di "selezione naturale".

Testi usati per la ricerca

Atlante dei microrganismi acquatici "La vita in una goccia d'acqua" Scienze Naturali Franco Muzzio Editore

CADF

La Fabbrica dell'Acqua

Parte C

Batteri

Sono gli esseri viventi più diffusi, presenti dovunque (acqua, aria, terra). Possono avere forma sferica (*cocchi*), cilindrica (*bacilli*), a virgola (*vibrioni*), a spirale (*Spirilli*), con ramificazioni simili ai funghi (*attinomiceti*), tutti **unicellulari**. Possono formare aggregati caratteristici. Hanno dimensioni microscopiche: larghezza 0,3/0,2 μ m, lunghezza 0,3 – 100 μ m. I batteri, assieme alle alghe azzurre, sono **procarioti**, cioè organismi nei quali il materiale genetico costituente il nucleo cellulare non è rinchiuso da una membrana specifica. (Eucariote è la cellula più evoluta presente in organismi animali o vegetali le cui cellule presentano un nucleo ben distinto, provvisto di una membrana, che separa nettamente il materiale nucleare dal citoplasma. Sono eucarioti i protozoi, le piante e gli animali).

La cellula batterica è caratterizzata da un rivestimento (parete batterica) che ricopre la membrana plasmatica; questo rivestimento ha la funzione di mantenere rigida la cellula.

Si possono riprodurre per via asessuata dividendosi longitudinalmente o per scambio di materiale genetico a seconda delle condizioni ambientali. In condizioni particolari, per esempio mancanza di zuccheri, alcuni batteri danno origine a **spore** (forme cellulari specializzate per la sopravvivenza in condizioni ambientali avverse). Le spore possono mantenere la propria vitalità per secoli e resistere a temperature molto elevate.

I batteri sono classificati in base alle esigenze nutritive in:

1. batteri autotrofi. Come le piante, sono capaci di produrre molecole organiche partendo da composti inorganici (**fotosintetici**, sfruttando la luce, **chemiosintetici**, sfruttando recettori di composti chimici al buio).

2. batteri eterotrofi. Possono metabolizzare composti organici già sintetizzati da altri organismi o presenti nell'ambiente. Sono eterotrofi tutti gli animali, alcuni vegetali privi di clorofilla come i funghi e la maggior parte dei batteri.

3. batteri parassiti. Vivono all'interno di altri organismi. Non tutti i batteri parassiti provocano l'insorgere di malattia, cioè sono patogeni. Per esempio l'intestino dell'uomo ospita numerosi batteri che si nutrono con i prodotti della digestione; tali batteri non solo sintetizzano sostanze come vitamine utili all'organismo umano ma ostacolano l'attecchimento di specie patogene. Quando l'equilibrio tra batteri e

ospiti si rompe insorge la malattia.

4. batteri saprofiti. Sono commensali dell'intestino, si nutrono di materiale organico, attaccano e demoliscono la sostanza organica (per putrefazione e fermentazione) rimettendo in libertà gli elementi costitutivi come azoto, carbonio, ossigeno.

Le malattie sostenute da microrganismi o virus prendono il nome di **infezioni** e si dividono in infezione esogena causata dall'arrivo nell'organismo di un microrganismo patogeno o da sorgente batterica, ed infezione endogena dovuta o ad una localizzazione dei batteri diversa da quella abituale o dall'aumento numerico di una o più specie microbiche a seguito di condizioni favorevoli per la loro moltiplicazione. Una infezione batterica si verifica, sia endogena che esogena, quando l'agente infettante è tale da interessare un numero elevato di cellule dell'organismo ospite cioè dalla Dose infettiva, (è il numero di batteri necessari per avere quella specifica malattia) ed è variabile, cioè dipende dalle proprietà del microrganismo, dalla capacità di sopravvivenza dell'agente infettante e sua concentrazione, dalle condizioni ambientali adatte alla sopravvivenza. **Un organismo infetto elimina l'agente infettante attraverso le urine, le feci ed essudati vari.**

La microbiologia dell'acqua si occupa di rilevare solamente quei batteri considerati **indicatori di inquinamento fecale** che non sono batteri patogeni.

L'analisi di periodica - giornaliera dell'acqua potabile non propone la ricerca dei patogeni per diversi motivi:

1. è probabile che i patogeni entrino nell'acqua sporadicamente e non sopravvivano a lungo (essendo legati all'organismo ospite).
2. sono sempre in piccolissime quantità; nell'ambiente esterno all'ospite molti microrganismi muoiono, gli altri si dicono stressati in quanto fattori come la temperatura incidono sulla loro vitalità rendendoli latenti all'indagine analitica, la stessa analisi può comprometterne la vitalità.
3. tempi molto lunghi nelle indagini di laboratorio. Nell'ipotesi di un inquinamento fecale si deve intervenire in tempi brevi.

Un inquinamento fecale può trasportare sia batteri innocui che batteri patogeni ed è comunque oggetto di carenti regole igieniche, guasti, frode e quant'altro da fermare nell'immediato sia che pervengano da deiezioni umane che animali.

I batteri indicatori di inquinamento fecale sono normalmente presenti nell'intestino crasso dell'uomo e degli animali sotto il nome di **Batteri coliformi**; in particolare Escherichia coli rappresenta i **Coliformi Fecali**. Ma anche gli **Enterococchi**, i **Clostridi** e i **Pseudomonas** sono normali abitanti dell'intestino, quindi la loro presenza nell'acqua lascia aperta la via di ingresso anche ai batteri patogeni. I test di laboratorio per questi batteri richiedono circa 24 ore; il metodo di ricerca delle Salmonelle (patogeno) esige circa sette giorni.

Il nostro studio propone la visione delle colonie batteriche allestite in laboratorio con terreni selettivi. Si può verificarne la forma con la colorazione di GRAM.



Alcuni batteri colorati con il metodo di Gram (schemati):
1, stafilococchi; **2**, neisserie; **3**, bacilli; **4**, streptobacilli (ad es. *Bacillus anthracis*); **5**, diplococchi (ad es. pneumococco); **6**, cocco-bacilli (ad es. brucelle); **7**, streptococchi; **8**, vibrioni. Gram-positivi in violetto, Gram-negativi in rosso.

Come si colorano i batteri?

La colorazione di GRAM è una delle colorazioni più importanti e maggiormente usata nella microbiologia. Identifica i batteri in due gruppi: Gram positivi e Gram negativi; ciò è molto importante nella medicina per l'uso degli antibiotici (sostanze che inibiscono la crescita e la moltiplicazione batterica o ne provocano la morte). Nelle pratiche normali di laboratorio questa colorazione costituisce una prova per classificare un batterio.

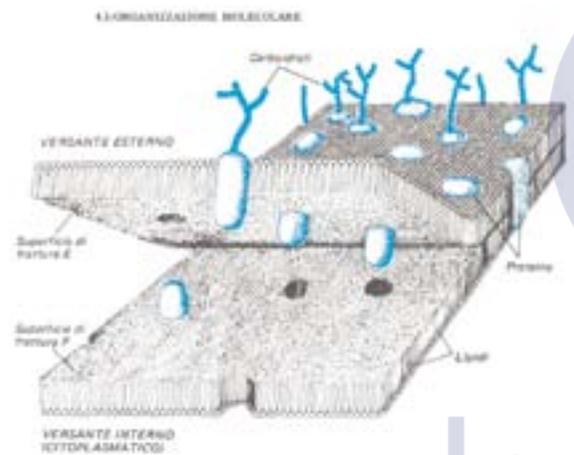
Procedimento

Con un'ansa sterile si preleva un po' di materiale batterico proveniente da una colonia precedentemente preparata e si stempera in una goccia di acqua posta sopra un vetrino per microscopio pulito. Si ottiene uno striscio batterico che viene fissato al vetrino avvicinandolo ad una fiamma. Si sottopone lo striscio batterico alle seguenti soluzioni violetto di genziana (tempo 1'), soluzione di iodio (1'), alcool agente de-colorante (1') safranina (1').

CADF

La Fabbrica dell'Acqua

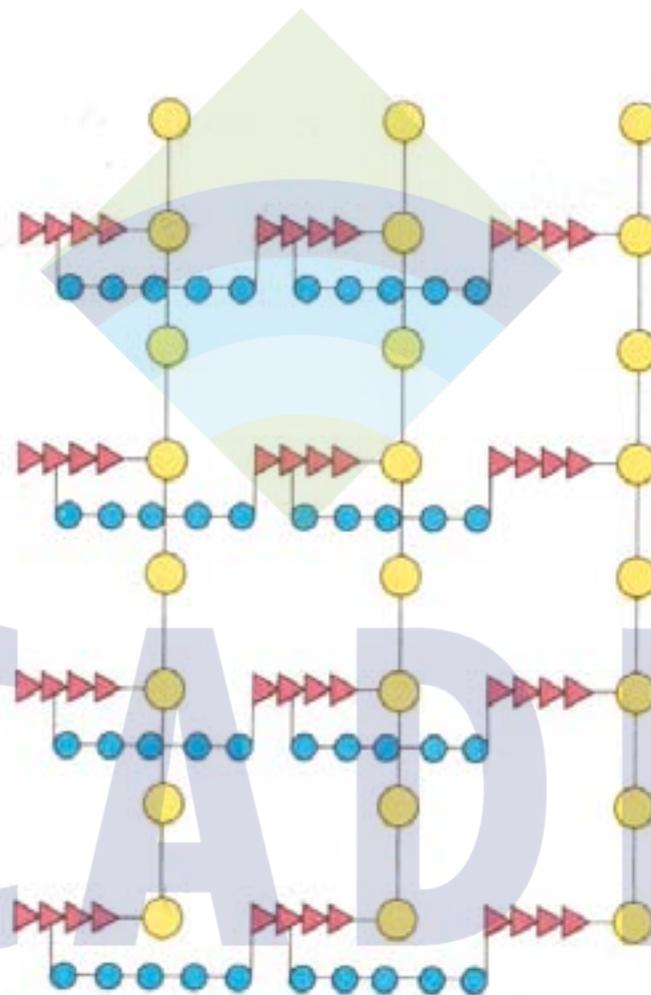
<p>Bacilli Gram positivi conservano la colorazione viola del cristal violetto</p>	
<p>Bacilli Gram negativi si decolorano con l'alcool e assumono la colorazione rossa della safranina</p>	



Membrana a doppio strato lipidico

La diversa colorazione è dovuta alla membrana plasmatica della cellula batterica, che è di natura lipidica (grassi), ed è ricoperta ulteriormente da una parete batterica formata da peptidoglicani (grossi polimeri, che forniscono la struttura rigida della parete di una cellula procariote, formati da tre tipi di unità costitutive: 1. acetilglicosammina AGA, 2. acido acetil murammico AMA, 3. un peptide costituito da 4 – 5 amminoacidi).

La spiegazione più plausibile per questo fenomeno è che i batteri Gram – contengono una più alta percentuale di lipidi rispetto ai Gram +; inoltre le pareti delle cellule Gram – sono più sottili. Il trattamento decolorante con alcool aumenta la porosità della membrana aumentando la PERMEABILITA' della parete delle cellule Gram– e così il complesso del cristal violetto può essere estratto dall'alcool.

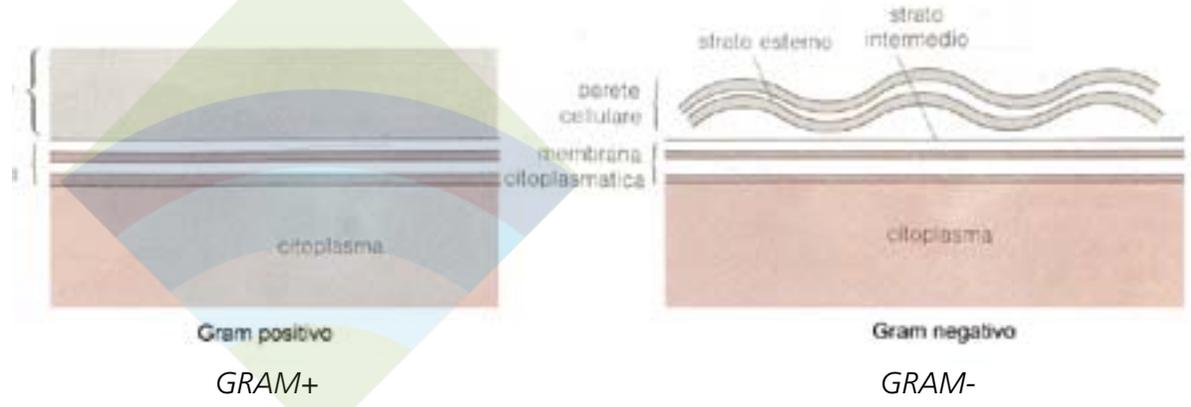
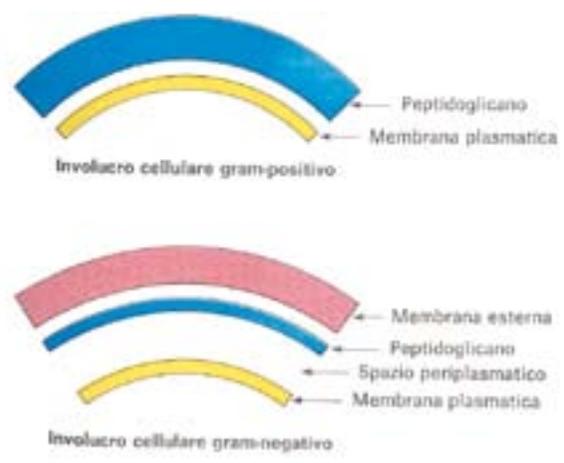


Parete batterica

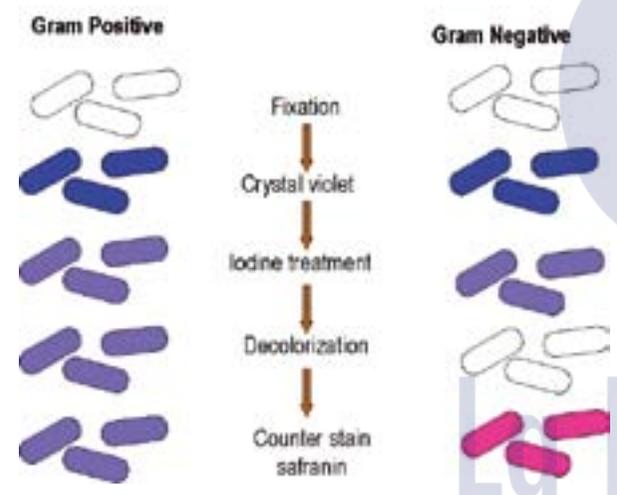
Rappresentazione schematica del peptidoglicano. Gli zuccheri sono rappresentati in giallo, i tetrapeptidi in rosso e i ponti pentaglicinici in blu. La parete cellulare è una singola macromolecola di grandi dimensioni, che ha una forma a sacco a causa di moltissimi legami trasversali.

La Fabbrica dell'Acqua

Lo spessore della parete è stato stimato compreso fra 10 – 25 nm, ma non è uguale tra i batteri gram - /+



Questa interpretazione schematica delle pareti cellulari si basa su osservazioni compiute al microscopio elettronico. Lo strato esterno dei batteri gram - non è sempre ondulato e non ha sempre lo stesso spessore, ciò è da associare all'aumento di permeabilità dell'alcool durante la decolorazione.



Riassunto della colorazione

Vengono effettuate analisi microbiologiche quotidiane, (compresi i giorni festivi), ricercando nell'acqua potabile i seguenti parametri:

1. Coliformi totali
2. Coliformi fecali
3. Enterococchi
4. Escherichia coli
5. Carica batterica totale a 22 – 36 °C
6. Clostridi solfito riduttori
7. Pseudomonas
8. Salmonella
9. Enterobatteriacee

L'intera rete di distribuzione acquedottistica viene controllata ricercando questi microrganismi. Ma anche le acque da potabilizzare, gli insediamenti produttivi che riversano i loro scarichi nelle fognature pubbliche o in acque superficiali, i depuratori di acque nere sparsi nel territorio sono sottoposti a controlli microbiologici periodici.

L'interesse di questo campo nel Settore acquedottistico è tra i più importanti, dovendo l'acqua essere batteriologicamente pura.

Nozioni per la classificazione

“Dobbiamo, ad esempio, cominciare a sottoporre ad esame ogni specie separatamente – uomo, leone, bue e simili – esaminando ogni tipo indipendentemente dal resto o considerare piuttosto prima le caratteristiche che questi hanno in comune? ”

Aristotele (III sec. A.C.)

La classificazione degli esseri viventi prende il nome di *sistematica* e può essere *filogenetica* (naturale) o *artificiale*.

La sistematica è un ramo della biologia che si occupa dello studio comparato, cioè mette a confronto i diversi organismi (piante e animali) e ricerca dei gruppi naturali in cui possano essere ripartiti gli esseri viventi con caratteristiche comuni.

Una classificazione filogenetica cataloga insieme le specie correlate filogeneticamente, ossia le specie che hanno origini ancestrali comuni; gli organismi sono anelli collegabili tra loro da una certa continuità. La dimostrazione di relazioni filogenetiche negli esseri superiori, generalmente, è facilitata dall'esistenza di resti fossili degli antenati comuni a più specie e dalla moltitudine dei caratteri morfologici che si possono studiare. Per i batteri e altre forme microscopiche viene a mancare l'ausilio dei fossili e le proprietà morfologiche che possono essere studiate sono limitate.

La sistematica artificiale prevede una gerarchia di esseri i cui ordini presentavano discontinuità relativamente grandi. Questo tipo di classificazione non viene da noi approfondito in quanto è stato abbandonato dagli specialisti che studiano questo settore delle scienze.

La sistematica moderna si basa sulla classificazione filogenetica che riunisce le forme viventi in gruppi sempre più specifici e affini, facendo derivare le relazioni di discendenza da un unico progenitore degli organismi che continuamente si modificano per evoluzione delle specie.

Classificare dal vocabolario significa ordinare per classi ed è quello che è stato compiuto per tutti gli organismi conosciuti.

La Fabbrica dell'Acqua

Regno	ES: Animale
Tipo o phylum _ Sottotipo	Cordati _ Vertebrati
Classe _ Sottoclasse	Mammiferi
Ordine _ Sottordine	Carnivori
Famiglia	Felidi
Genere	Felix
Specie	Catus
	Felix catus è il gatto domestico

Questa analisi, detta anche tassonomia, risulta difficile da applicare senza basi di studio specifiche, ma attenzione non bisogna impararla a memoria non servirebbe se non si conoscono le nozioni base che ci inducono al ragionamento:

Regno: animale, vegetale, minerale

Phylum: suddivisione inferiore al regno che raggruppa classi fra loro affini, corrispondenti al tipo

Sottotipo: ciascuna delle categorie sistematiche in cui è diviso un tipo

Classe: gruppo identificato all'interno di uno schema di classificazione con caratteristiche comuni

Sottoclasse: categorie sistematiche in cui è suddivisa una classe

Ordine: comprende le famiglie affini

Sottordine: categorie sistematiche in cui è suddiviso un ordine

Famiglia: comprende i generi affini

Genere: categoria sistematica superiore alla specie, costituita da più specie tra loro affini

Specie: è una suddivisione del genere.

La Fabbrica dell'Acqua

Esempio

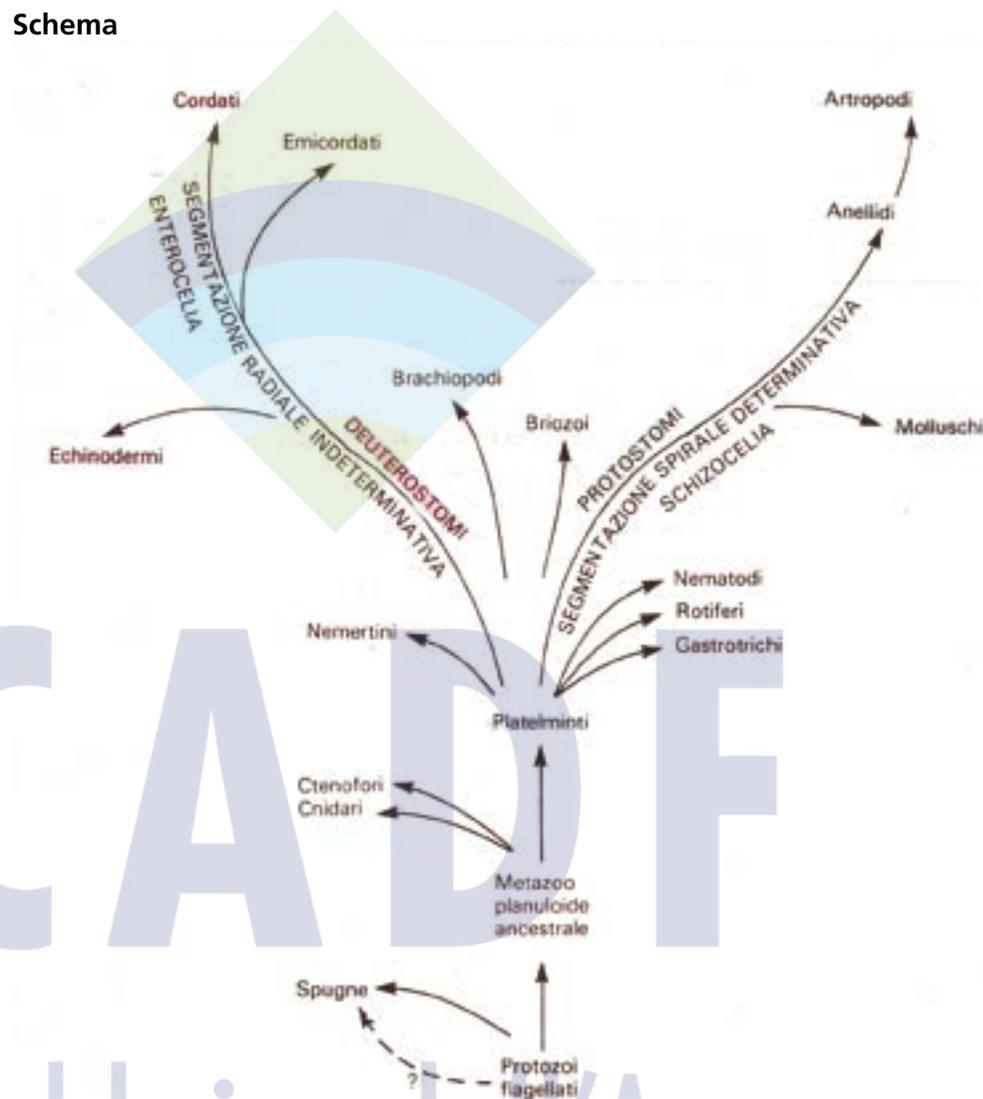
Regno: Animale , Vegetale, Minerale
Phylum: Cordati , Protozoi, Celenterati, Ctenofori, Artropodi, ecc..
Sottotipo: Vertebrati , Cefalocordati, Acrani, Tunicati o Urocordati
Classe: Mammiferi , Teleostei, Anfibi, Rettili, Insetti, Uccelli
Ordine: Carnivori , Monotremi, Marsupiali, Insettivori, Cetacei
Famiglia: Felidi , Pinnipedi ecc.
Genere: Felix , Linx (lince) Pantera (leone...), Acinonyx (ghepardo)
Specie: catus , silvestris (selvatico), sarda, (Sicilia e Sardegna), libica ecc.. Felix catus è il gatto domestico

Questo percorso è un esempio di classificazione semplice in quanto il riconoscimento dell'animale è comune a tutte le persone. Ma spesso ci troviamo di fronte ad animali che non riusciamo ad identificare a colpo d'occhio. Come si deve procedere? Si esegue una fase di studio per il riconoscimento dell'animale considerandone parti specifiche ed usando "chiavi dicotomiche" che associano l'animale nel contesto di una gerarchia tassonomica già compiuta dagli studiosi del ramo. Gli zoologi (studiosi degli animali) in genere focalizzano i loro studi specializzandosi su un phyla o su un ordine; si pensi che in Italia solo due centri (uno a Milano, l'altro in Sardegna) sono in grado di classificare i nematodi (microrganismi) per la complessità dello studio.

Esistono comunque in commercio atlanti specifici per questo tipo di studio. Qui viene fatto uso di manuali per il riconoscimento dei Macroinvertebrati delle Acque Dolci Italiane. Diamo un quadro filogenetico dell'evoluzione del Regno Animale. (Robert D. Barnes Zoologia: gli Invertebrati).

La Fabbrica dell'Acqua

Schema



La Fabbrica dell'Acqua

I Protozoi sono organismi **unicellulari** con cellule **Eucariote**, la loro evoluzione porterà ai **Metazoi** organismi **pluricellulari**. Batteri e alghe azzurre sono organismi **Procarioti unicellulari**.

Nozioni per la visione al microscopio

".... Un occhialino da guardare da vicino le cose minime..."
Galileo Galilei

Descriveremo il microscopio nelle sue parti più importanti lasciando ai testi specializzati la descrizione tecnico-storica e quella dei particolari dell'ottica su cui si basa.

Introduzione

A causa della sua conformazione l'occhio umano possiede dei limiti definiti; esso può distinguere due punti vicini o separati tra loro fino a **1 – 2 decimi di millimetro**. Se i due punti, pur essendo separati, sono più vicini della distanza menzionata, **l'occhio ne percepisce solo uno**. Si dice quindi che il potere di risoluzione dell'occhio umano arriva fino a 1 – 2 decimi di millimetro. **Il potere di risoluzione di un microscopio è definito come la distanza minima alla quale 2 punti risultano distinti; questo dipende dalla lunghezza d'onda della luce e dalla lente dell'obiettivo.**

La Fabbrica dell'Acqua

Nozioni di ottica

Millimetro = 1/1000 di metro = 10 alla meno 3 metri – si scrive **mm**

Micron = 1/1.000.000 di metro = 10 alla meno 6 metri – si scrive **µm**

Millimicron = 1/1000.000.000 di metro = 10 alla meno 9 metri detto anche **nanometro** si scrive **nm**

L'angstrom = **decimillesima parte del micron**

Luce: forma di energia (radiazione) che si propaga sottoforma di onde elettromagnetiche – lunghezza d'onda = λ - luce visibile = **0.4 a 0.7 X 10⁻⁶ metri**

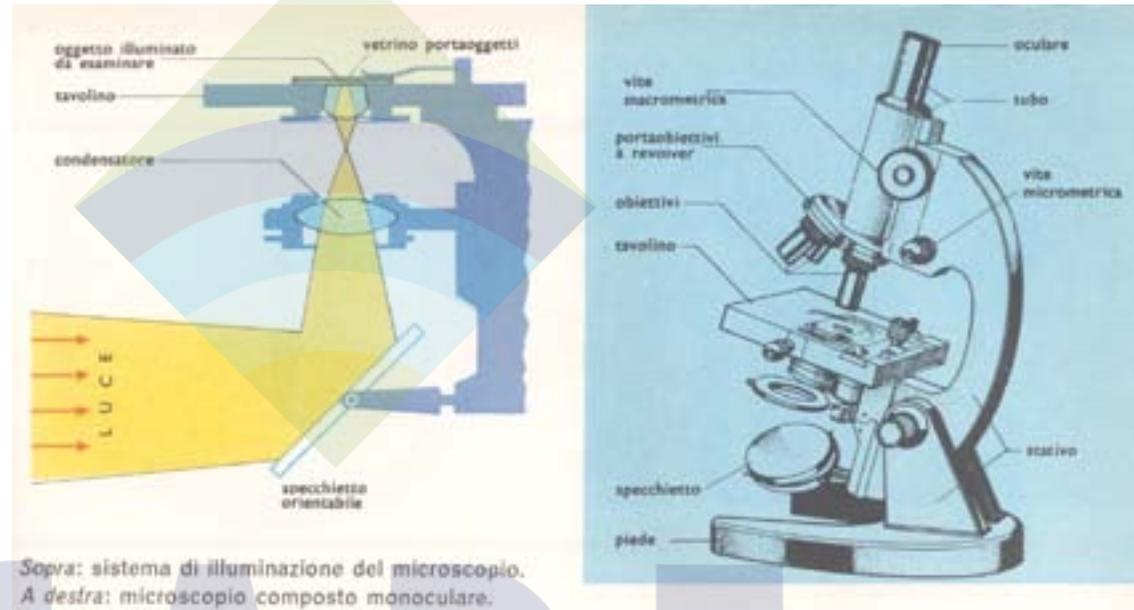
Riflessione: il raggio di luce viene respinto nel mezzo da cui proviene

Rifrazione: il raggio di luce non viene riflesso ma attraversa il nuovo mezzo di trasmissione

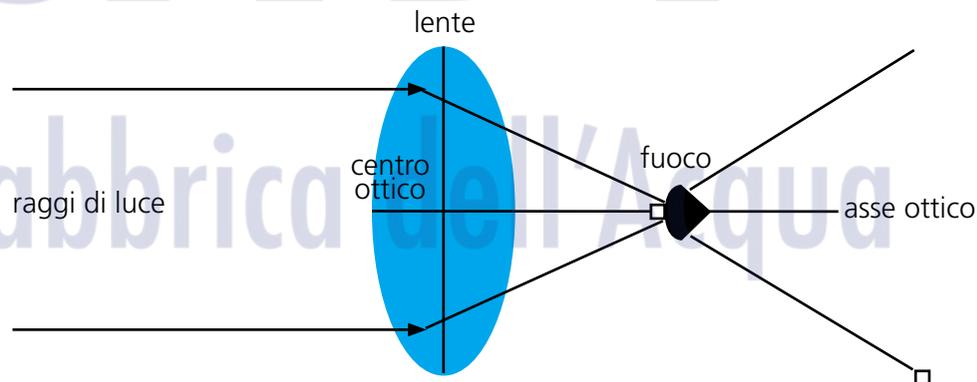
Se volessimo aumentare la risoluzione, cioè vedere oggetti separati, che sono vicini tra loro più di un decimo di millimetro, dovremmo necessariamente servirci di lenti; con il **microscopio ottico** si arriva ad una risoluzione dell'ordine dei micron, **fino a 1000 ingrandimenti circa**. Esistono altri tipi di microscopi: a **Scansione, Elettronico** con risoluzioni elevatissime fino a **100.000 ingrandimenti**, il microscopio **a luce polarizzata** che sfrutta fasci di luce particolari e serve soprattutto per lo studio dei minerali. **Noi useremo un microscopio ottico con contrasto di fase.**

La Fabbrica dell'Acqua

Il microscopio ottico



Il microscopio è uno strumento che permette la visione ingrandita degli oggetti, utilizzato normalmente per osservare corpi molto piccoli. In fisica si dice microscopio semplice la lente di ingrandimento e microscopio composto lo strumento formato da un insieme di lenti. Quest'ultimo, al quale l'uso corrente riserva il nome di microscopio, comprende un **obiettivo** e un **oculare** di piccola **distanza focale** (è la distanza tra il centro ottico e il **fuoco**, punto sull'asse ottico nel quale si intersecano i raggi dopo aver attraversato la lente).



L'oculare è in pratica una lente di ingrandimento con la quale si osserva l'immagine (reale e capovolta) prodotta da un sistema di lenti convergenti che formano l'obiettivo. Le altre parti che compongono il microscopio sono:

stativo→ serve da supporto a tutto il corredo ottico e meccanico,

piatto→ destinato all'appoggio dell'oggetto in esame,

condensatore→ illumina l'oggetto facendo convergere su di esso la luce proveniente da una sorgente luminosa,

sistema di focalizzazione dell'immagine e viti micrometriche→ permettono di spostare il vetrino in direzione parallela al piano focale.

Luce→ forma di energia (radiazione) che si propaga sotto forma di onde elettromagnetiche – lunghezza d'onda = λ - luce visibile = **0.4 a 0.7 X 10⁶** metri e varia con il variare del colore della luce. La velocità con cui si propaga è pari circa a 300.000 Km/sec. Riflessione e Rifrazione sono le manifestazioni che si generano quando la luce incontra un corpo e i diversi comportamenti sono determinati dalla natura del corpo stesso.

L'ingrandimento totale è il prodotto degli ingrandimenti dati dall'oculare e dall'obiettivo. I valori dell'ingrandimento sono indicati sul supporto delle lenti; per esempio: se sull'oculare c'è scritto 10X e sull'obiettivo 40X, l'immagine risulterà ingrandita 400 volte rispetto all'oggetto esaminato. Il microscopio presenta il vantaggio non solo di offrire un maggior ingrandimento, ma anche di correggere le aberrazioni di vario genere.

Diaframma→ sistema che regola l'intensità luminosa.

CADF
La Fabbrica dell'Acqua

I preparati che si guardano al microscopio

Il microscopio è adatto all'osservazione di oggetti per trasparenza. A tale scopo vanno bene oggetti molto piccoli, comunque sottili e trasparenti che lasciano passare la luce. Il campione da osservare va posto su un vetrino portaoggetti e coperto da un vetrino coprioggetti. Alcuni preparati richiedono la presenza di olio tra il vetrino portaoggetto ed il preparato. Per gli esseri in sospensione nell'acqua basta mettere qualche goccia di acqua su un portaoggetto ben pulito e guardare direttamente o con il coprioggetto.

Il microscopio può essere munito di un reticolo micrometrico che permette di eseguire misure di lunghezza sugli oggetti osservati.

Contrasto di fase

Dispositivo capace di trasformare eventuali differenze di fase tra i raggi di luce che attraversano parti contigue dell'oggetto in esame in differenze di intensità luminosa.

Come si osserva un preparato

Si pone il vetrino sul tavolino portaoggetti, fissandolo con le apposite mollette: si osserva mettendo a fuoco per una visione ottimale, con la vite macrometrica, il preparato prima a debole ingrandimento poi con ingrandimenti maggiori. Si compiono poi piccoli spostamenti finché i contorni dell'immagine sono nitidi.

Come si forma l'immagine?

Si guarda una immagine reale ingrandita.

Due lenti convergenti principali

(in realtà sistemi ottici):

l'obiettivo forma un'immagine reale con ingrandimento scelto

l'oculare forma un'immagine virtuale con ingrandimento fisso

lente del condensatore _ focalizza la luce incidente sul campione

diaframma _ regola l'intensità luminosa

L'oggetto da osservare deve essere posto a una distanza dal centro ottico della lente dell'obiettivo poco maggiore della distanza focale dell'obiettivo stesso. Tale lente darà, tra il centro ottico dell'oculare e il suo fuoco, un'immagine reale, ingrandita e capovolta rispetto all'oggetto. A sua volta l'oculare darà un'immagine ingrandita, virtuale e diritta della prima immagine per cui l'immagine finale sarà capovolta rispetto l'oggetto.

Se il vetrino coprioggetto è separato dalla lente dell'obiettivo soltanto dall'aria si ha l'obiettivo a secco, se invece si interpone un liquido (acqua, olio o balsamo) si parla di obiettivo ad immersione.

L'obiettivo, di piccolissima distanza focale, è composto da un certo numero di lenti (tre, quattro o più) e la prima lente ha sovente forma di una semisfera, con la faccia piana rivolta verso l'oggetto.

Esperienze:

Allestimento di un preparato:
dopo la raccolta di un campione di acqua procedere per la parte B mettendo qualche goccia di acqua su di un vetrino e guardare al microscopio. Oppure osservare i vetrini precedentemente preparati nel becher. Per la parte inerente ai batteri si procede alla colorazione (non individuale) o si guarda un vetrino già preparato.

Testi usati:

Biologia 1 per licei Ghisetti e Corvi
Il Nuovo Zingarelli Zingarelli
La Nuova Enciclopedia delle Scienze
"Principi di Microbiologia medica" M. La Placa
Robert D. Darnes "Zoologia: Gli Invertebrati"

CADF

La Fabbrica dell'Acqua