

Laboratorio di METODOLOGIE ZOOLOGICHE

I DOCENTI DI ZOOLOGIA TITOLARI DEI CORSI IN CUI SARA' EFFETTUATA L'ESERCITAZIONE SOTTOSTANTE DICHIARANO CHE IL CAMPIONE DI ACQUA SARA' PREVENTIVAMENTE CONTROLLATO DA UN DOCENTE ESPERTO AL FINE DI ESCLUDERE IL RISCHIO POTENZIALE DI CONTAGIO PER LA EVENTUALE PRESENZA DI PATOGENI PER L'UOMO.

La biodiversità in una goccia d'acqua

In tutte le raccolte d'acqua (laghi, stagni, fossi, acque correnti, pozzanghere, barattoli mal riposti, beverini degli uccelli, pieghe delle foglie, ecc.) che non siano avvelenate da inquinanti chimici o presentino elevate quantità di detriti organici, è possibile rinvenire numerosi organismi. Molti sono costituiti da un'unica cellula, come Alghe e Protozoi, ma non mancano forme pluricellulari. Certamente non troveremo nulla nell'acqua potabile che è appositamente filtrata, chimicamente purificata e a volte clorata in modo da non contenere alcun tipo di organismo vivente. Osservando una goccia d'acqua con l'ausilio del microscopio, si possono ritrovare rappresentanti di diversi regni:

Regno Monere	Batteri e Alghe azzurre o Cianobatteri.
Regno Protisti	Protozoi (Rizopodi o Amebe, Actinopodi, Ciliati, Flagellati). Alghe unicellulari e coloniali e forme pluricellulari, rappresentate principalmente dai seguenti gruppi (Divisioni): - Crisofite (Diatomee ecc.) - Euglenofite o Alghe flagellate - Dinoflagellati - Clorofite o Alghe verdi
Regno Funghi	Possono essere presenti diversi tipi di funghi ad eccezione degli Ascomiceti e dei Basidiomiceti.
Regno Animale	- Poriferi (Spugne) - Celenterati o Cnidari (Idrozoi) - Platelminti (Turbellari) - Nematodi - Gastrotrichi - Rotiferi - Molluschi - Anellidi (Oligocheti) - Tardigradi - Artropodi (Crostei, Aracnidi, Insetti) - Briozoi

Obiettivi

- Osservare l'abbondanza delle forme
- Studiare e confrontare le caratteristiche dei gruppi
- Osservare le forme per riconoscerle e classificarle
- Concentrarsi su di un gruppo
- Confrontare le acque

ESERCITAZIONI

Prelievo dei campioni

Materiale occorrente

- bottiglie, barattoli, etc.
- lunga pipetta o tubo per raccogliere acqua dal fondale
- alcool a 75% o formalina al 40% (facoltativo)
- Prelevare campioni d'acqua da conservare in bottiglie, barattoli, o qualsiasi altro contenitore disponibile per essere esaminati in laboratorio.
- I contenitori non devono essere completamente riempiti: l'acqua dovrebbe occupare la metà circa del loro volume, in modo che resti una discreta quantità di aria per la respirazione degli organismi presenti nel campione.
- E' importante che l'acqua conservi la sua temperatura per evitare che gli organismi vengano danneggiati. I campioni dovrebbero essere esaminati nel più breve tempo possibile. Molti organismi nell'arco di un giorno, o anche meno, muoiono e si decompongono.
- Sarebbe opportuno raccogliere sia campioni da osservare in vivo, sia qualche campione da fissare immediatamente in alcool o formalina (facoltativo).
- Non disponendo di retini appositi per filtrare e concentrare gli organismi galleggianti, per avere maggiori possibilità di raccogliere campioni ricchi di microrganismi è meglio prelevare l'acqua in prossimità del fondale. In prossimità della riva si può usare una lunga pipetta (1 cm diametro), introducendola nell'acqua con l'imboccatura tappata dal dito. Si toglie poi il dito in modo che l'acqua entri nella pipetta trascinando con sé i microrganismi del fondale. Altrimenti utilizzare pipette munite di peretta o Pasteur.

Osservazione al microscopio dei microrganismi dell'acqua

Quando possibile è meglio osservare gli organismi vivi, perché alcuni possono essere identificati con certezza solo come tali. L'osservazione a fresco permette infatti di studiare gli organismi microscopici nelle loro manifestazioni vitali, come ad esempio il movimento.

Il fissaggio e la colorazione sono espedienti da usare solo quando il preparato va conservato per un certo tempo o si devono esaminare strutture che in vivo non sono facilmente riconoscibili (nuclei cellulari). Nel fissaggio molti organismi acquatici si ritraggono e il plasma diventa opaco. Tuttavia, può essere effettuata la narcosi (MS222) con sorprendenti risultati per l'osservazione degli organismi più vivaci (es. ciliati).

Per la colorazione in vivo si usano (colorazioni vitali) si usano coloranti poco tossici, come il blu di metilene, rosso neutro, rosso Congo, in soluzioni acquose (non alcoliche) molto diluite (1:500; 1:1000; 1:10.000).

Materiale occorrente

- acqua di stagni, laghetti ecc.
- vetrini portaoggetti e coprioggetto
- pipette Pasteur
- coloranti per colorazioni in vivo in soluzione acquosa (rosso neutro, rosso Congo, blu di metile)
- carta da filtro
- microscopio

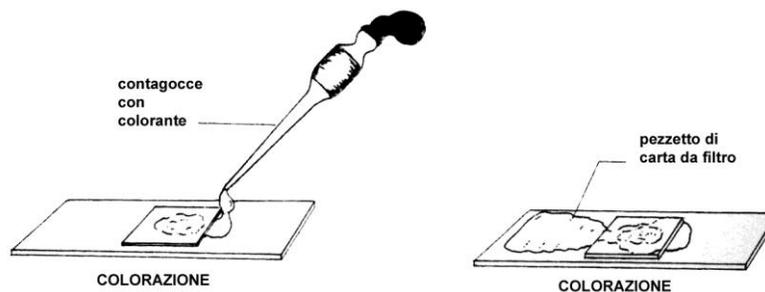
Allestimento preparati a fresco

- Porre su un vetrino portaoggetti una goccia d'acqua.
- Coprire la goccia con un vetrino coprioggetto ed osservare al microscopio.



Colorazione in vivo

- Utilizzare i vetrini precedentemente realizzati.
- Deposare una goccia di colorante lungo un lato del vetrino coprioggetto: il colorante diffonderà via via nel preparato.
- Per facilitare la diffusione, è possibile aspirare il colorante mediante un pezzetto di carta da filtro, ponendola sul lato opposto del vetrino coprioggetto.



Suggerimenti per l'osservazione

- Diverse sono le caratteristiche morfologiche che i microrganismi in questione possono presentare e che ci consentono di classificarli.
- Si osservino in particolare:
 - la forma
 - la presenza o meno di ciglia, flagelli e la loro disposizione

- presenza di pseudopodi (estroflessioni citoplasmatiche)
- tipo di movimento
- modalità di cattura del cibo
- presenza o meno di cloroplasti (granuli verdi)
- presenza di altri granuli di vario colore
- presenza di vacuoli
- esistenza di particolari estroflessioni lungo la superficie del corpo
- eventuale associazione di più individui in colonie

Qualità dell'acqua, sistema delle acque saprobie

Qualsiasi raccolta d'acqua inquinata da sostanze organiche, se non viene alimentata con nuovi inquinanti, dopo un certo tempo torna pulita, si può autopurificare. Il processo di **autopurificazione** avviene quasi esclusivamente ad opera di batteri che consumando ossigeno scindono le sostanze organiche e le decompongono in acqua, anidride carbonica ed elementi minerali. I residui dei composti organici vengono utilizzati come sostanze nutritive dalle piante verdi e dalle alghe, che moltiplicandosi, produrranno sempre più ossigeno. Quando questo processo è concluso, non vi sono più sostanze organiche, l'acqua è nuovamente pura, ricca di ossigeno, e senza odori. Non esiste sostanza organica che non possa essere decomposta da speciali batteri adatti al tipo di inquinamento di natura organica dovuto, per esempio, ad acque domestiche di scolo, a scarichi di zuccherifici o di fabbriche di cellulosa. Invece contro alcuni composti organici artificiali i batteri sono impotenti. La velocità di tale processo dipende anche da molti altri fattori, quali il movimento delle acque, la profondità dei fiumi e la presenza o meno di forti correnti, ecc. Quindi i batteri giocano un ruolo fondamentale nell'autopurificazione e pertanto vengono utilizzati anche negli impianti di depurazione biologica.

Dopo quanto detto sembra spontaneo domandarsi come sia possibile stabilire lo stato di salute delle acque. Per far questo si può far ricorso oltre che ad analisi chimiche, anche ad un **esame biologico** che si basa sul ritrovamento o meno di organismi caratteristici che essendo strettamente legati a specifiche condizioni di inquinamento organico, possono fungere da **"organismi segnalatori"**.

Non tutti gli organismi sono rilevabili in ogni tipo d'acqua, tanto che in base alla presenza predominante di tipi caratteristici è possibile stabilire la qualità (grado d'inquinamento) delle acque stesse.

Il confronto tra le popolazioni di organismi acquatici di acque provenienti da zone diverse può essere un utile indizio per dimostrare il differente grado di purezza delle acque.

L'esame biologico delle acque che si basa sulla conoscenza di questi organismi è rapido e affidabile.

Gli organismi saprobi sono animali e piante strettamente legati a specifiche condizioni di inquinamento organico; fungono quindi da organismi segnalatori.

Bisogna però conoscere alla perfezione gli organismi segnalatori e le associazioni caratteristiche, e questo richiede esercizio, pazienza e tempo. Va comunque precisato che il ritrovamento di un'unica specie caratteristica e di pochi esemplari non è molto significativo perché un'analisi affidabile presuppone la presenza di numerosi organismi segnalatori di diverse specie.

Con il **"sistema delle acque saprobie"** si può determinare la qualità delle acque e il grado di efficienza di un impianto di depurazione, stimare il carico d'inquinamento di un fiume o di un lago, rilevare l'immissione abusiva di acque di scolo non purificate, valutare se si tratta di

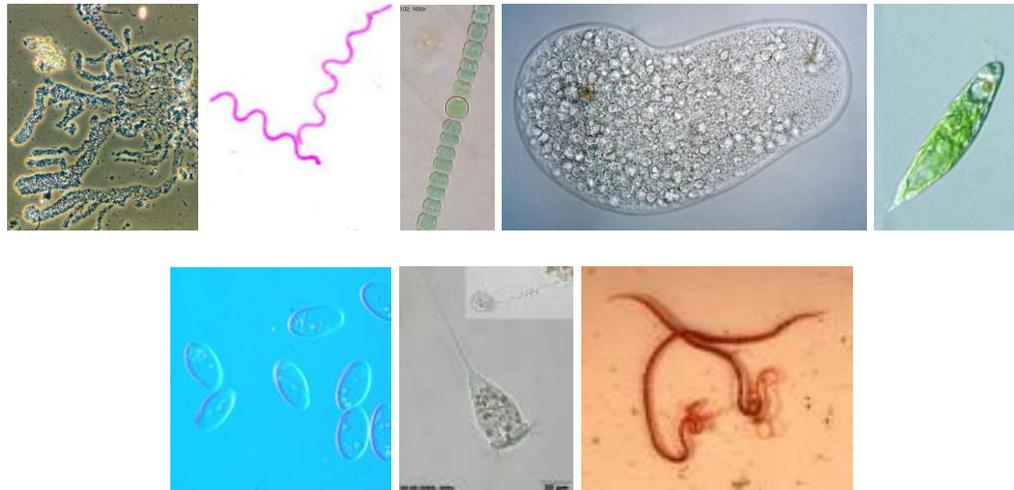
acque adatte alla balneazione o al prelievo per l'immissione in acquedotto, seguire l'andamento dell'inquinamento nel corso dei mesi e degli anni.

- **CLASSE IV, zona polisaprobia** (acque estremamente inquinate)

L'acqua è molto povera o addirittura priva di ossigeno, è maleodorante e sul fondo si deposita fango putrido. Un esempio tipico sono: acque di scarico non purificate, come pure fiumi e laghi nei punti in cui esse si immettono; le pozzanghere con concime; insenature di acque stagnanti con residui animali o vegetali. In questo tipo d'acque sono presenti in abbondanza batteri anaerobi e con essi poche altre specie di organismi adatte a questo ambiente come alcune specie di alghe azzurre, flagellati e molti ciliati fagocitatori di batteri e anellidi.

Organismi caratteristici:

Batteri:	<i>Zooglea ramigera</i> (1)
	<i>Spirillum volutans</i> (2)
Alghie azzurre:	<i>Anabaena constricta</i> (3)
Alghie flagellate:	<i>Euglena viridis</i> (4)
Amebe:	<i>Pelomyxa palustris</i> (5)
Ciliati:	<i>Paramecium putrinum</i> (6)
	<i>Vorticella microstoma</i> (7)
Anellidi:	<i>Tubifex tubifex</i> (8)



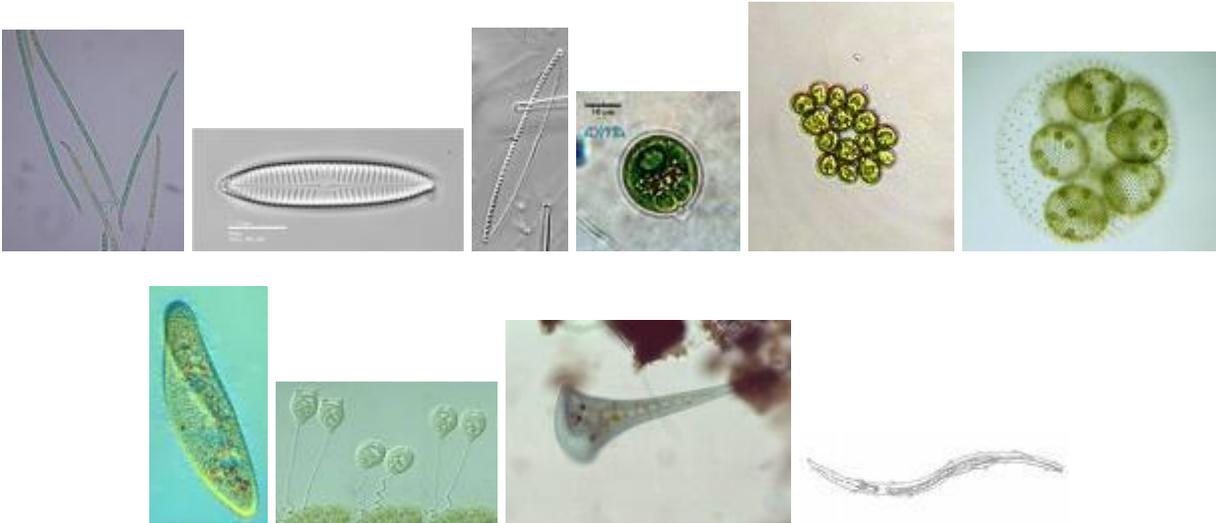
- **CLASSE III, zona α -mesosaprobia** (acque molto inquinate)

L'acqua contiene un buon quantitativo di ossigeno, ma la notevole attività batterica ne provoca un forte consumo. Piante ed animali sono rari, ma si incontrano in abbondanza diatomee, alghe verdi, flagellati e ciliati.

Organismi caratteristici:

Batteri anaerobi ed aerobi

Alghie azzurre:	<i>Oscillatoria brevis</i> (1)
Diatomee:	<i>Navicula cryptocephala</i> (2) <i>Nitzschia palea</i> (3)
Alghie verdi:	<i>Chlamydomonas ehrenbergi</i> (4) <i>Gonium pectorale</i> (5) <i>Volvox aureus</i> (6)
Ciliati:	<i>Paramecium caudatum</i> (7) <i>Vorticella convallaria</i> (8) <i>Stentor coeruleus</i> (9)
Nematodi:	<i>Monhystera similis</i> (10)



- **CLASSE II, zona β -mesosaprobia** (acque mediamente inquinate)

In queste zone i batteri sono in numero molto ridotto e l'acqua è limpida e ricca di ossigeno. Molti laghi di varie dimensioni e numerosi fiumi dove non si ha immissione recente di scarichi non depurati, sono di questo tipo. Offrono il massimo delle varietà di organismi animali e vegetali rispetto ad altri tipi d'acqua. Con un adeguato trattamento di filtrazione e aggiunta di cloro si può ottenere acqua potabile.

Organismi caratteristici:

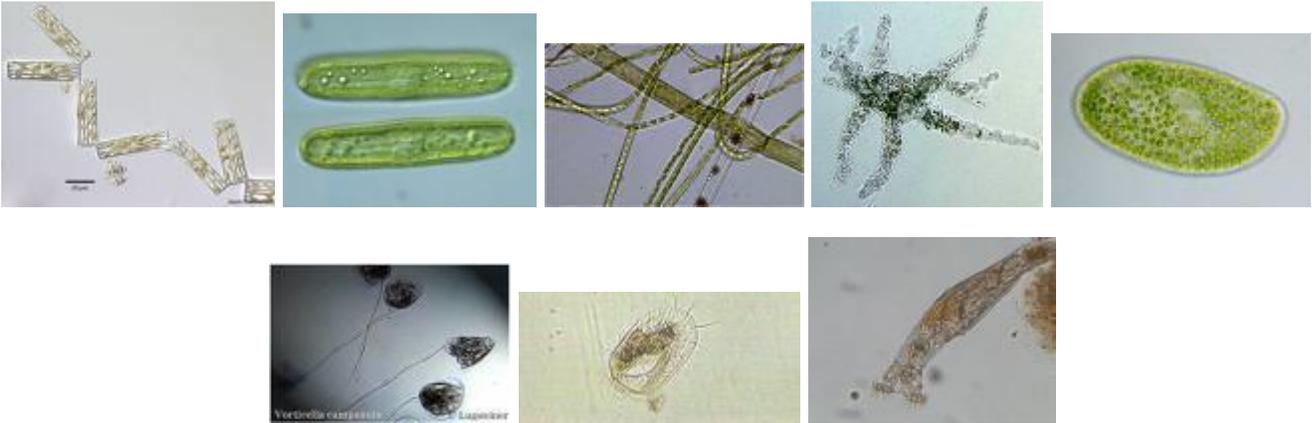
Batteri aerobi ed anaerobi

Diatomee:	<i>Fragilaria crotonensis</i> (1) <i>Pinnularia viridis</i> (2)
Alghie verdi:	<i>Oedogonium capillare</i> (3)
Amebe:	<i>Amoeba proteus</i> (4)
Ciliati:	<i>Paramecium bursaria</i> (5) <i>Vorticella campanula</i> (6)

Rotiferi:

Euplotes charon (7)

Philodina roseola (8)



- **CLASSE I, zona oligosaprobia** (acque pure, poco inquinate)

Zone con acqua limpida, notevolmente pura e ricca di ossigeno, quasi priva di residui organici e sostanze nutritive, per cui vi è uno scarso contenuto di specie ed individui. Un esempio sono da considerarsi le acque vicino alle sorgenti, ruscelli di montagna e alcuni laghi alpini, dove non ci sono immissioni di acque di scolo domestico ed infiltrazioni di concimi chimici di provenienza agricola.

Organismi caratteristici:

Batteri aerobi

Diatomee: *Pinnularia nobilis* (1)

Tabellaria flocculosa (2)

Alghe verdi: *Hydrodictyon reticulatum* (3)

Ulothrix zonata (4)

Ciliati: *Dileptus anser* (5)

Vorticella similis (6)

Rotiferi: *Kellicottia longispina* (7)

