

3.53-3.54-3.55



**AGENZIA NAZIONALE PER LA  
PROTEZIONE DELL'AMBIENTE**

## **Atti del Workshop**



**Biomonitoraggio della qualità  
dell'aria sul territorio nazionale**

## L'UTILIZZO DI MUSCHI INDIGENI E TRAPIANTATI PER VALUTARE IN MICRO E MACRO AREE LE RICADUTE AL SUOLO DI ELEMENTI IN TRACCE: PROPOSTE METODOLOGICHE

*Roberto Michele Cenci*

*Centro Comune di Ricerca, Istituto dell'Ambiente, Ispra (Varese)  
tel. 0332-789771; fax 0332-789831; E-mail: roberto.cenci@jrc.it*

### **Riassunto**

L'utilizzo dei suoli per valutare l'inquinamento di un'area dovrebbe precedere ogni altro tipo di indagine analitica, ma la composizione geochimica delle rocce potrebbe portare a conclusioni errate. Il solo controllo dei suoli non è quindi un metodo sufficiente. Le caratteristiche morfologiche dei muschi permettono invece di ottenere risultati minimizzando le pressioni che derivano dall'ambiente. Infatti con un dispendio economico modesto, in confronto ad altre tecniche, si può ottenere, attraverso la misura della concentrazione dei metalli nei muschi, il tasso di deposizione e la ricostruzione dell'andamento della concentrazione nel tempo in aree geograficamente di diversa estensione.

### **Abstract**

The analysis of soils for the evaluation of the contamination level of an area is very important; however, the geological rock composition should be taken into account to avoid wrong conclusions. Therefore the analysis of soils alone could be not sufficient. The use of mosses, due to their morfological characteristics, produces reliable results. In fact, in this way it is possible to determine, through the determination of heavy metals in mosses, their deposition rate and then reconstruct their variations in concentration either in small or in large areas. All can be done at a very low cost when compared to the traditional techniques.

**Parole chiave:** bioindicatori, muschi, metalli pesanti, suoli

**Key words:** bioindicators, mosses, heavy metals, soils

### **Introduzione**

L'ambiente che ci circonda è interessato da una molteplicità di inquinanti. Infatti oltre ai tradizionali inquinanti atmosferici, quali CO, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> e NO<sub>x</sub>, esiste un numero incalcolabile di altre sostanze di origine antropica in forma solida, liquida e gassosa. Esse sono in costante aumento e acquisiscono un'importanza sempre maggiore; tra queste, sono di grande rilevanza i metalli pesanti, che distribuiti in vari comparti ambientali sia biotici che abiotici possono provocare seri problemi ai vegetali, agli

animali e all'uomo. Infatti il loro accumulo nei differenti comparti può avere conseguenze imprevedibili e difficilmente calcolabili (Herpin & Berlekamp, 1996).

Uno studio sull'immissione di metalli nei vari comparti ambientali mostra che le attività umane giocano un ruolo decisivo nel ciclo globale di questi elementi. Tra le fonti principali di immissione si ricordano i fumi emessi dalle industrie, dalle centrali energetiche, dagli impianti di riscaldamento domestico e dai veicoli a motore (Nriagu & Pacyna, 1988).

Oltre ai livelli di inquinamento riscontrati nelle aree densamente popolate e industrializzate, è necessario considerare la dispersione dei metalli nell'atmosfera e il loro trasporto oltre i confini nazionali, con la possibilità di raggiungere aree remote, prive di una pressione antropica diretta.

Si è quindi resa necessaria la ricerca di nuovi strumenti per il controllo dell'inquinamento atmosferico.

### **I suoli**

L'analisi del suolo è tuttora prioritaria per valutare l'inquinamento da metalli di un'area, inoltre permette la valutazione dei fattori di arricchimento per una più adeguata interpretazione dei risultati ottenuti utilizzando i muschi quali bioindicatori.

Il suolo è un comparto in continua evoluzione, poichè viene profondamente influenzato dalle condizioni del clima, dal tipo di rilievo, dalla vegetazione e dalle attività dell'uomo. Per "suolo" si intende quella coltre superficiale che, dopo un lungo periodo di anni, si è trasformata in strati differenziati detti orizzonti (Stralher, 1984).

Un suolo è costituito da particelle minerali e organiche; il materiale minerale deriva dall'alterazione delle rocce da parte degli agenti atmosferici, producendo frammenti di diverse dimensioni. La sostanza organica, invece, è costituita da organismi animali e vegetali e dai loro prodotti di trasformazione.

Un esempio di profilo dei suoli, nella concezione più generale, è rappresentato da quattro orizzonti. Gli orizzonti più superficiali, A e B, rappresentano il suolo in senso stretto; sono quelli più ricchi di sostanza organica nei quali si svolge la maggior parte dei processi biologici; l'orizzonte C è situato in profondità e corrisponde alla roccia madre alterata; l'orizzonte D è il substrato roccioso. Negli orizzonti A e B si possono differenziare dei suborizzonti determinati da agenti o fattori pedogenetici, che intervengono nello sviluppo di un suolo.

I principali fattori pedogenetici sono:

- Il clima;
- Il tipo di roccia madre;
- Il tipo di rilievo;
- La durata della pedogenesi;
- Le attività biologiche.

Il limite fondamentale dell'indagine attraverso i suoli è che i risultati sono condizionati dalla composizione geologica delle rocce e potrebbero essere erroneamente interpretati. Così, alte concentrazioni di un elemento potrebbero essere attribuite a contaminazione di origine antropica, mentre potrebbero dipendere dalla natura geochimica del territorio. La sola analisi dei suoli non è quindi un metodo sufficiente per determinare con sicurezza il grado di contaminazione di un'area.

## Il biomonitoraggio

Informazioni più dettagliate e complete sugli effetti dell'inquinamento atmosferico si possono ottenere attraverso le analisi chimico-fisiche dirette dell'aria affiancate da tests biologici.

In anni recenti i ricercatori, in particolare quelli nordeuropei, hanno considerato dei metodi che rendessero possibile valutare la deposizione dei metalli pesanti e registrarne il loro accumulo nei sistemi biologici, per ottenere una corretta informazione su larga scala e a costi contenuti. La Figura 1 mostra un esempio di siti di campionamento di muschio dove appare evidente la quasi totale esclusione delle nazioni che si affacciano sul mare Mediterraneo (Rühling, 1994).

Si è così introdotto il concetto di "biomonitoraggio", cioè il monitoraggio dell'inquinamento effettuato mediante organismi viventi. Il controllo si basa sul principio che una sostanza tossica è rilevata dagli organismi viventi, i quali sono in grado di indicarne la presenza e, in prima approssimazione, la quantità nell'ambiente.

In generale, ogni organismo vivente possiede una risposta ai diversi fattori ecologici, sia naturali che antropici, e poichè l'inquinamento atmosferico determina delle variazioni nell'ambiente interessato, queste si riflettono sugli organismi viventi (Manning & Feder, 1980).

Gli organismi biologici pertanto possono essere impiegati nel monitoraggio dell'inquinamento atmosferico sia come bioindicatori che come bioaccumulatori. Nel primo caso viene utilizzata la loro sensibilità ai contaminanti atmosferici, che permette una stima della qualità dell'aria della zona indagata (metodo indiretto). Nelle specie più sensibili agli inquinanti i sintomi principali presi in considerazione sono:

- Modificazioni morfologiche;
- Variazioni della vitalità (modificazioni fisiologiche);
- Danni genetici.

Un buon bioindicatore dovrebbe inoltre possedere le seguenti caratteristiche:

- Sensibilità nota a determinate sostanze inquinanti;
- Ampia distribuzione nell'area indagata;
- Scarsa mobilità;
- Lungo ciclo vitale;
- Uniformità genetica nella zona sottoposta ad indagine.

Nel caso del bioaccumulo viene sfruttato il principio opposto a quello della bioindicazione, vengono cioè ricercate quelle specie maggiormente resistenti all'inquinamento atmosferico, in grado di accumulare per lungo tempo notevoli quantità di contaminanti, quali i metalli pesanti, i composti organici, i radionuclidi quantificati (metodo diretto). Un organismo quindi è adatto ad essere utilizzato come bioaccumulatore se presenta determinate caratteristiche, in particolare:

- Alta tolleranza per gli inquinanti indagati; punto essenziale per evidenziare le punte massime di inquinamento in quanto un organismo non in grado di sopravvivere ad alte concentrazioni di un inquinante non è adatto al ruolo di bioaccumulatore;

- Capacità di accumulare le sostanze esaminate possibilmente in correlazione lineare tra la concentrazione dei contaminanti nell'ambiente e quella nell'organismo;
- Ampia distribuzione nell'area indagata;
- Nessuna o ridotta capacità di assorbire sostanze dal substrato.

Le due strategie si possono considerare come complementari, in quanto permettono di ottenere informazioni sull'inquinamento che garantiscono un efficace biomonitoraggio integrato.

Tra gli organismi più usati come bioaccumulatori vi sono le briofite, di cui fanno parte i muschi.

### **Le briofite**

Le briofite sono organismi eucarioti, autotrofi, a vita prevalentemente terrestre, tassonomicamente suddivise in *Musci* ed *Hepaticae*.

Tutte presentano la caratteristica di formare un embrione (tanto primitivo che da alcuni non è riconosciuto come tale) e di possedere alternanza di generazioni antitetiche ed eteromorfe, con prevalenza del gametofito (generazione aploide) sullo sporofito (generazione diploide), mai autonomo poiché dipende dal gametofito per il nutrimento.

Le briofite sono le più semplici piante fotosintetizzanti capaci di vivere stabilmente sulla terraferma.

La loro emersione dall'acqua, nonostante il pericolo dell'eccessiva perdita di quest'ultima attraverso la superficie della pianta, ad opera del processo di traspirazione, offre due vantaggi:

- 1) avere un rapido ricambio di CO<sub>2</sub> dall'ambiente;
- 2) assorbire la luce non più filtrata dall'acqua ed impoverita dei raggi che sono preferenzialmente assorbiti dai pigmenti fotosintetici.

La conquista dell'ambiente terrestre ha implicato alcune modifiche nel loro processo di riproduzione. Per quanto riguarda la riproduzione sessuale, le briofite sono ancora simili alle alghe, in quanto producono gameti maschili mobili per la presenza di flagelli; perchè possa avvenire la fecondazione è necessaria la presenza di acqua o rugiada, affinché i gameti maschili possano raggiungere quelli femminili. Lo spostamento dei gameti, dipendente dall'acqua, può avvenire sulla terraferma solo a distanze limitate.

Per quanto riguarda la riproduzione per sporogonia, invece, le briofite presentano caratteri da piante terrestri in quanto producono meiospore che vengono trasportate dal vento, prive di flagelli e delimitate da pareti rigide che le proteggono dalla perdita d'acqua.

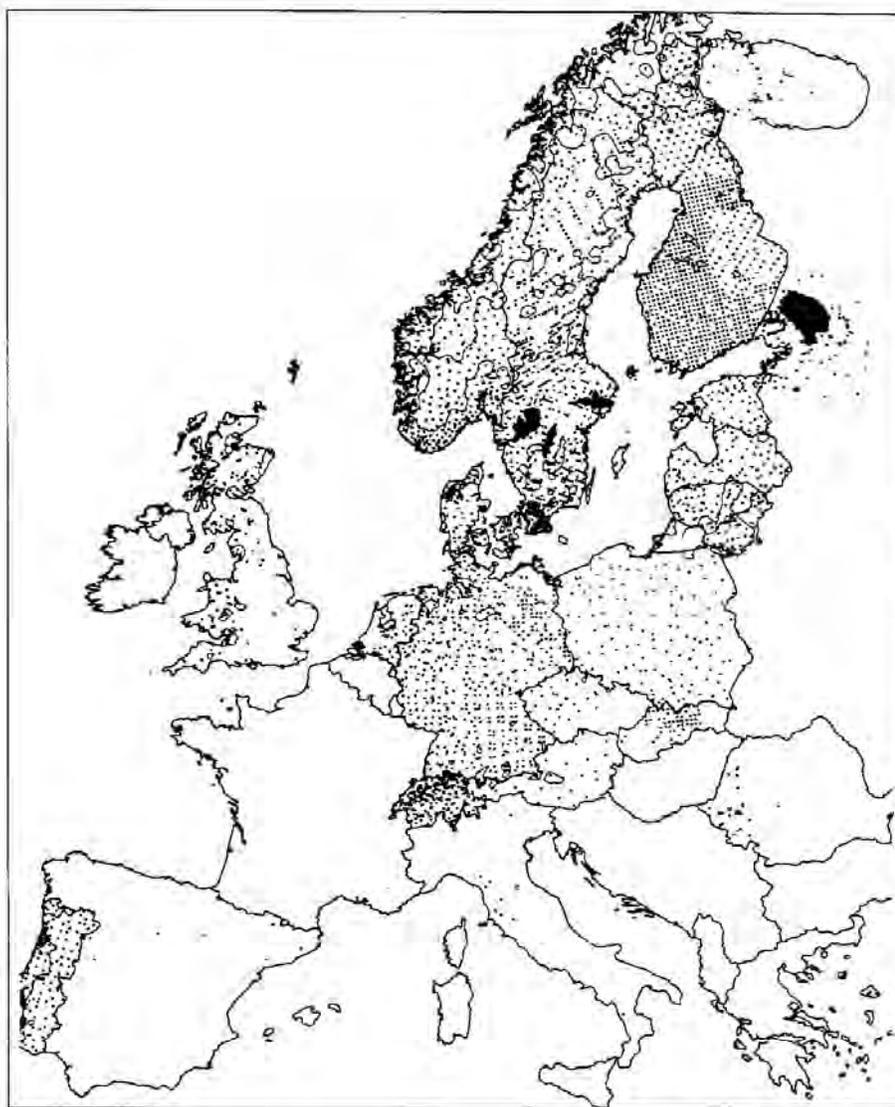


Figura 1. Mappa europea dei siti di campionamento di muschio (Rühling, 1994)

### **Morfologia delle briofite**

#### *Il gametofito*

Quando la meiospora germina dà origine a un sottile filamento detto protonema, su cui spuntano delle gemme che danno origine al gametofito; esso, giunto a maturità sessuale, differenzia i gameti.

Generalmente nei muschi il gametofito è costituito da una porzione allungata, detta fusticino, da cui si dipartono delle appendici laterali appiattite, le foglioline, e da una parte basale costituita da cellule ialine, prive di cloroplasti, i rizoidi, con funzione di ancoraggio al substrato.

Il fusticino può raggiungere lunghezze di alcuni decimetri, può essere semplice o ramificato. Di frequente numerosi gametofiti sono riuniti in un gran numero a formare un "cuscinetto" che ricopre estese superfici di terreno nei boschi.

#### *Lo sporofito*

Lo sporofito è completamente differente. Innanzitutto vive sempre attaccato al gametofito, dal quale riceve le sostanze nutritive.

In generale, esso è costituito da un piede, che affonda nella parte superiore del fusticino e si prolunga nella seta, che è una porzione filamentosa priva di appendici laterali e che termina alla sommità con una capsula, nella quale sono contenute le meiospore. A maturità raggiunta, la capsula si apre liberando le spore, che vengono disperse dal vento.

### **Ecologia delle briofite**

Le briofite sono organismi fotosintetizzanti che vivono in ambiente subaereo e, solo in pochi casi, in acqua dolce.

Sono ampiamente distribuite in una grande varietà di habitat, in parte sul terreno, sui sassi e sulle rocce, sulle foglie, sui tronchi e sui rami degli alberi.

I muschi sono molto importanti dal punto di vista ecologico, in quanto possiedono delle esigenze limitate, cosicchè possono insediarsi in ambienti da colonizzare, dove la maggior parte degli organismi non è in grado di sopravvivere.

La presenza di muschi sul terreno costituisce un fattore di primaria importanza nell'assorbimento dell'acqua piovana, con il duplice risultato di ridurre o eliminare il pericolo del ruscellamento, e di cedere progressivamente l'acqua trattenuta al terreno (Gerola, 1988).

I muschi non posseggono nè tessuti di conduzione legnosi nè tessuti di sostegno lignificati, di conseguenza l'assorbimento dell'acqua avviene attraverso tutta la loro superficie.

Le briofite in disidratazione non muoiono, ma entrano in quiescenza e, se nuovamente bagnate, ritornano a svolgere le loro funzioni vitali.

### **Utilizzo delle briofite come indicatori ambientali**

Alla fine degli anni '60, scienziati svedesi utilizzarono i muschi per valutare l'inquinamento da metalli pesanti in Scandinavia (Rühling & Tyler, 1970). Dopo di allora, l'uso di tali organismi per scopi di monitoraggio ambientale si è sistematicamente

esteso (Knight *et al.*, 1961; Clymo, 1963; Rühling & Tyler, 1969; Goodman & Roberts, 1971; Little & Martin, 1974; Rasmussen & Johnsen, 1976; Pilegaard, 1979; Brown, 1984; Markert & Weckert, 1989; Burton, 1990; Cenci & Muntau, 1993; Cenci, 1993; Goltsova & Vasina, 1993; Bargagli *et al.*, 1994; Cenci *et al.*, 1995; Berg & Steinnes, 1997; Cenci & Palmieri, 1997; Herpin *et al.*, 1997; Berlekamp *et al.*, 1998; Cenci *et al.*, 1998; Zechmeister, 1998).

La maggioranza dei muschi ricava i nutrienti necessari direttamente dall'atmosfera, non avendo sviluppato un vero e proprio apparato radicale o un tessuto di conduzione per l'acqua. I metalli pesanti sono perciò assunti attraverso la superficie delle foglioline; ciò significa che la concentrazione di tali elementi nei muschi può essere strettamente correlata alla deposizione atmosferica, in quanto i processi di assorbimento dal substrato possono essere esclusi.

Le principali caratteristiche che rendono le briofite adatte ad essere utilizzate come indicatori per la deposizione dei metalli pesanti atmosferici, possono essere così riassunte:

- Sono generalmente prive di una cuticola protettiva e di una spessa parete cellulare; ciò rende i loro tessuti facilmente permeabili all'acqua e ai minerali, inclusi gli ioni metallici.
- I loro tessuti (costituenti la parete cellulare) hanno numerosi siti attivi (gruppi carichi negativamente) che agiscono come efficienti scambiatori cationici. E' lecito supporre la presenza di gruppi con particolare affinità per i cationi metallici (agenti chelanti) (Brown, 1982; Rao, 1982).
- Il loro rifornimento minerale è ottenuto principalmente dalle deposizioni di particelle e di sali solubili. Il substrato riveste poca o nessuna importanza nell'apporto di minerali. Esistono però delle eccezioni: in quanto in alcuni muschi sembra esservi un assorbimento di metalli dal suolo, principalmente per mezzo della risalita capillare di acqua; specie quindi non adatte per il biomonitoraggio.
- La formazione di nuova biomassa, per altro scarsa, avviene sulla sommità di quella vecchia, precludendo qualsiasi contatto o interazione con il suolo o il substrato.
- In certe specie di muschi come l'*Hylocomium splendens* (Hedw) B.S.G. e nel genere *Sphagnum*, è possibile riconoscere e separare gli incrementi annuali di crescita, facilitando la determinazione dell'età e il tempo di esposizione del materiale usato.
- Ad eccezione di alcune specie, non sembra esservi alcuna traslocazione di metalli pesanti tra segmenti adiacenti o dalla vecchia biomassa a quella in via di sviluppo.
- Molte specie sono largamente diffuse (cosmopolite o circumpolari) in determinati habitat.
- Grazie alla loro longevità, a seconda della specie e del metodo di campionamento, le briofite possono essere utilizzate per valutare le deposizioni durante più anni.

I principali limiti delle briofite come indicatori sono:

- Le specie più adatte per valutare le deposizioni sono spesso assenti nelle aree urbane in quanto sensibili alle alte concentrazioni di SO<sub>2</sub> nell'aria. E' quindi necessario usare taxa molto tolleranti.
- In concomitanza con situazioni ambientali particolari (per esempio deposizioni acide) potrebbe verificarsi un assorbimento incompleto di alcuni metalli (principalmente Zn e Cd), caratterizzati da un'affinità ridotta per gli scambiatori cationici del tessuto.

- La scelta dei punti di campionamento può essere determinante e forse più critica che nel caso di altre metodologie.

Va ricordato infine che in numerosi studi, tendenti a valutare la deposizione dei metalli atmosferici, sono state utilizzate briofite trapiantate.

Così Goodman & Roberts (1971) introdussero, in un'area industriale del Galles, dei ceppi recanti muschio della specie *Hypnum cupressiforme* Hedw. Il trapianto morì dopo alcune settimane, ma i muschi continuarono ad accumulare metalli.

Quindi nel caso dei muschi trapiantati il problema principale sembra essere l'introduzione in habitat nei quali non possono sopravvivere per le condizioni climatiche avverse o di severa contaminazione. Infatti parecchie specie comunemente usate sono sensibili all'essiccazione e spesso interrompono la crescita o muoiono in un habitat inospitale.

#### **Localizzazione dei metalli nelle briofite**

E' noto che il tessuto delle briofite è uno scambiatore di ioni (Anschütz & Gessner, 1954; Puustjärvi, 1955). L'efficienza di ritenzione decresce nell'ordine:  $Fe^{3+} > Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+} > K^+$ ,  $Na^+$  a concentrazione ambiente come dimostrato per lo *Sphagnum* da Bell (1959). Per gli ioni dei metalli pesanti invece l'efficienza di ritenzione varia nell'ordine:  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  in base agli studi condotti da Rühling & Tyler (1970). L'ordine è valido per un grande intervallo di concentrazioni, sia per gli ioni singoli che in soluzione mista. Il rifornimento dei nutrienti minerali e dei metalli pesanti alle briofite può avvenire nei modi seguenti: 1) Specie che hanno una dipendenza quasi completa dalle deposizioni atmosferiche. Ciò è dovuto alla grande capacità di scambio, l'assenza di cuticola e la semplice organizzazione del tessuto che rendono le briofite incapaci di evitare l'assorbimento e l'adsorbimento di metalli pesanti dalle deposizioni atmosferiche. Presentano inoltre alto rapporto superficie/volume, o peso, che favorisce l'intrappolamento di particelle, sebbene la velocità del vento o altre caratteristiche del sito ne influenzano l'efficienza. 2) Specie di muschi che dipendono per il rifornimento di nutrienti oltre che dall'atmosfera anche dal substrato. In alcuni muschi viventi su terreni con alte concentrazioni di solubili, avviene un assorbimento di sali metallici dal substrato (Shimwell & Lauria, 1972). I sali sono apparentemente trasportati verso l'alto dalla risalita capillare di acqua, attraverso la biomassa. Essendo però in genere nei suoli il contenuto di metalli pesanti in soluzione molto basso, questo meccanismo può divenire irrilevante.

Rasmussen & Johnsen (1976), studiando l'assorbimento di minerali dell'epifita *Hypnum cupressiforme*, conclusero che la maggior parte del contenuto di metalli derivava dall'atmosfera e solo una piccola parte dal tronco dell'albero su cui il muschio viveva.

#### **Tossicità**

Sono stati eseguiti esperimenti per determinare la sensibilità delle briofite ai metalli, forniti principalmente sotto forma di sali.

Per la valutazione degli effetti tossici sono stati considerati alcuni parametri quali decrementi nel tasso di crescita, cambiamenti nel contenuto di clorofilla, variazioni nel tasso di fotosintesi e respirazione.

Dalle risultanze dei diversi studi, si può concludere che la tossicità relativa dei metalli pesanti a eguali concentrazioni degli ioni bivalenti più comuni decresce nel seguente ordine: Hg > Cu, Cd > Pb > Zn. La posizione del piombo, all'interno di questa serie, riflette probabilmente l'elevata affinità di questo ione per le cariche negative nella parete cellulare.

### **Metodiche per l'utilizzo dei muschi**

Si passerà ora alla presentazione delle proposte metodologiche per l'utilizzo dei muschi come bioaccumulatori:

**(A) muschi indigeni**

**(B) muschi trapiantati**

#### *Generalità*

Il principale limite nell'utilizzo dei muschi indigeni e trapiantati come bioaccumulatori di metalli pesanti e metalloidi consiste nel fatto che si tratta di un sistema biologico.

A tale limite si contrappone una serie notevole di vantaggi:

- ◆ bassi costi di gestione se raffrontati a tecniche "tradizionali"
- ◆ rapidità nell'ottenimento delle informazioni e dei risultati per un più rapido intervento
- ◆ possibilità di impiego sia su vaste aree sia su aree ridotte
- ◆ possibilità di intervento in quelle aree prive di muschi
- ◆ semplicità nelle procedure di dissoluzione e di analisi
- ◆ possibilità di ricostruire la storia passata delle deposizioni di elementi in tracce
- ◆ possibilità di valutare nel tempo le deposizioni
- ◆ ottenimento del tasso di deposizione annuo ( $\text{mg m}^{-2} \text{anno}^{-1}$ ) mediante i valori di concentrazione.

#### *Strategie di campionamento*

Nel pianificare le strategie di intervento occorre porre attenzione alla scala territoriale di campionamento per una corretta scelta dell'area e del numero di punti di raccolta e/o posizionamento del muschio. Informazioni relative alla variabilità del fenomeno, in considerazione delle modalità di dispersione, deposizione al suolo, influenzano la densità per unità di superficie dei campionamenti. Per fonti puntiformi quali ad esempio fonderie, termodistruttori, centrali elettriche ecc., si potrà utilizzare un campionamento/posizionamento di muschi su circonferenze concentriche all'impianto diradando il numero delle stazioni con la distanza dall'impianto; raggi di 0.2, 0.5, 1, 3, 8, e 15 km possono essere adeguati. In contrapposizione, sarà da ritenersi sufficiente per aree che misurano centinaia di migliaia di  $\text{km}^2$  (esempio il territorio italiano) il campionamento/posizionamento di muschi effettuato ai vertici di una griglia avente lato 20-30 km. Per casi particolari ci si può servire di transetti, mentre in centri abitati quali paesi o città si opterà per un posizionamento dei muschi che segua l'andamento delle

strade o una griglia a seconda degli elementi da ricercare.

L'utilizzo di un campionamento di tipo sistematico permette il confronto con altri studi; a tale proposito si può utilizzare la cartografia IGM, Tavole a scala 1:100.000, oppure i Fogli 1:25.000 che presentano quadrati avente lato di 1 km, le coordinate delle stazioni potrebbero venire posizionate sull'intersezione dei punti dei reticoli. Un'altra possibilità viene fornita dalle carte dell'Inventario Nazionale Forestale che presentano reticoli aventi maglie di passo 3 km. A seconda del tipo di informazione che si vuole ottenere si sceglierà una maglia adeguata.

#### *Elaborazione statistica dei risultati e Coefficiente di Variazione*

Il Coefficiente di Variazione (CV%) intra-area, che riassume tutti gli errori compiuti dal momento del campionamento all'analisi, deve venire stimato dal ricercatore utilizzando una tra le stazioni indagate, oppure, in via approssimativa, si potranno utilizzare i risultati della Tabella 1. Esso serve a capire se una variazione di concentrazione degli elementi è imputabile a deposizioni avvenute o alla variabilità di concentrazione che si riscontra in una medesima stazione o area di campionamento. Il CV% deve venire valutato sia quando si intende utilizzare i muschi indigeni sia per l'impiego dei muschi trapiantati. Occorre procedere al campionamento nel modo seguente: cercare un'area ricca di muschio che formi un compatto cuscinetto e delimitare con un filo di nylon un quadrato avente lato 1 metro, suddividerlo in 9 sotto-quadrati con lato pari a 33 cm. In ciascuno dei 9 sotto-quadrati raccogliere i tessuti apicali di una medesima lunghezza (es. 3 cm). (Per la raccolta e i trattamenti seguire come descritto in Muschio indigeno). Dalle soluzioni ottenute occorre effettuare 5 volte la ripetizione dell'analisi per ogni elemento per ricavare, oltre al valore medio, il coefficiente di variazione per cento.

	Al	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Ti	V	Zn
CV %	19.8	11.7	32.1	12.6	18.4	22	6.8	22.7	11.1	20.8	17.4	20.4

*Tabella 1. Coefficienti di Variazione di alcuni elementi ottenuti nel reticolo raccolto in una località della provincia di La Spezia (l'elevato valore ottenuto per l'elemento Cr è presumibilmente imputabile al processo di mineralizzazione)*

La determinazione del CV permette inoltre di eseguire una mappatura delle sottoaree caratterizzate da muschi a simile concentrazione. A tale scopo i risultati delle stazioni dell'intera area indagata vengono suddivise in classi, la cui ampiezza deve essere determinata in modo statisticamente significativo.

Utilizzando un semplice test, fissato il livello di confidenza ( $\alpha = 5\%$  o  $10\%$ ), l'ampiezza della singola classe ( $\Delta$ ) si determina attraverso la formula:

$$\Delta = t_{\alpha, n-1} \cdot \mu \cdot CV \cdot n^{-1/2}$$

dove:

n è il numero dei dati.

$\mu$  è la media dei dati,  
CV è il coefficiente di variazione intra-area non espresso in percentuale,  
 $t_{\alpha, n-1}$  è il valore del quantile della t-student con probabilità  $\alpha$ .

### Muschio indigeno (A)

Il muschio indigeno rappresenta la "memoria passata" delle deposizioni di metalli pesanti avvenute nell'arco di tempo compreso tra il momento della raccolta sino a un periodo antecedente di 10-15 anni a seconda della lunghezza del tallo che viene prelevata. Permette quindi di ricostruire in parte le vicissitudini e la storia di grandi aree (migliaia di km<sup>2</sup>) e/o ridotte aree (pochi km<sup>2</sup>).

A1) L'area di raccolta del muschio deve distare almeno 200 metri da abitazioni e da strade ad elevata percorrenza.

A2) L'area di raccolta del muschio può avere una superficie massima di 50 m<sup>2</sup> per quelle zone con ridotta presenza di muschio, in caso di tappeti compatti e abbondanti in muschio l'area potrà essere uguale o inferiore a 1m<sup>2</sup>.

A3) Per ciascun punto di campionamento raccogliere una quantità di muschio fresco compresa tra 20 e 50 g di *Hypnum cupressiforme* (in caso di assenza di *H.c.* raccogliere un'altra sola specie preferibilmente la più abbondante) esempio *Hylocomium splendens* (Hedw.), *Scleropodium purum* (Hedw.) utilizzando guanti in lattice. La scelta di *H.c.* viene effettuata sulla base di numerose osservazioni tra le quali un'abbondante presenza sul territorio europeo, un largo utilizzo e un bioaccumulo più pronunciato.

A3a) privilegiare i muschi che stanno all'interno del tappeto al fine di minimizzare l'effetto suolo (aumento della concentrazione di metalli in tracce nei muschi dovuto al suolo).

A3b) durante la raccolta occorre effettuare una prima pulitura, eliminando foglie, terriccio, ramoscelli, aghi di conifere ed altro.

A3c) il muschio va riposto in una busta preparata con carta da filtro, sulla busta vanno scritte tutte le informazioni necessarie al riconoscimento (numero stazione, località, data di prelievo, ecc.).

A4) In laboratorio togliere dalla busta i muschi.

A4a) appoggiarli su di un banco con piano in PVC oppure in ceramica.

A4b) munirsi di guanti in lattice nuovi o lavati con acqua ad Elevata Purezza (EP) o Bi-Distillata (BD).

A4c) tagliare con una forbice in materiale plastico o strappare con le mani i primi 2, 3, 4 o 5 cm apicali per una massa fresca pari a circa 10-20 g, privilegiando i talli più verdi.

A4d) deporli in un cristallizzatore (contenitore con base diametro 20 cm e altezza 10 cm) in vetro classe A, lavato in precedenza con acqua EP o BD; in mancanza di un cristallizzatore utilizzare un bicchiere in vetro da laboratorio classe A.

A4e) coprire il cristallizzatore con un vetro di orologio.

A5) Porre il tutto in una stufa per 48 ore alla temperatura di 45°C. La temperatura di 45°C minimizza le perdite per volatilizzazione di elementi quali Hg, Pb, ecc.

A5a) una medesima quantità di muschio deve essere essiccata alla temperatura di 105 °C, al fine di valutare la perdita in acqua.

A6) Solo la massa di muschio essiccata a 45 °C deve essere macinata con mulino con corpo e sfere in agata, in mancanza di mulino si può utilizzare un mortaio in agata. La granulometria del macinato deve essere inferiore a 125 µm. Tale misura di granulometria assicura un buon livello di omogeneità del campione per pesate pari a 100-200 mg.

A7) Riporre il muschio macinato in un recipiente in polietilene con doppio tappo, precedentemente lavato.

A7a) introdurre nel recipiente una sfera in teflon o vetro avente diametro di 10 mm, che servirà per omogeneizzare il campione macinato prima di ogni pesata.

### **Trapianto di muschi (B)**

Il muschio trapiantato può essere inteso come la "memoria presente", in quanto fornisce indicazioni che riguardano le deposizioni avvenute dal momento del trapianto sino al periodo di raccolta, il quale non potrà superare i 2 anni di esposizione. Risulta fondamentale trovare un'area intensamente coperta di muschio, (che servirà per raccogliere i muschi da trapiantare), la cui concentrazione in metalli pesanti sia la più bassa possibile per facilitare la valutazione nel tempo delle deposizioni. Trovata l'area procedere nel modo seguente:

B1) Raccolta in modo casuale di muschi su tutta l'area (circa 100 g) che serviranno a valutare, in modo approssimato, il livello di concentrazione degli elementi di interesse.

B2) Accertato, dopo analisi in laboratorio, che le concentrazioni degli elementi sono paragonabili ai valori base o inferiori ai valori medi italiani (Tabella 2) si potrà passare alla raccolta (punto B3), oppure cercare un'altra area e ripetere le operazioni dei punti B1 e B2.

B3) Utilizzando una vanga ben affilata, tagliare il muschio e il suolo sottostante per 10-15 cm di profondità per un'area di circa 35 x 45 cm.

B3a) sollevare muschio e suolo assieme e depositare il tutto in una cassetta di plastica precedentemente lavata con acqua BD o EP, (le cassette forate della frutta sono adatte al caso).

B3b) procedere nello stesso modo per le successive raccolte.

B4) Nell'area dove si procederà al posizionamento del muschio occorre preparare una buca con le stesse dimensioni della cassetta.

B4a) depositare la cassetta nella buca dove il tappeto di muschio dovrà risultare, una volta posizionato, allo stesso livello del terreno circostante.

B4b) occorre fare attenzione di non lasciare suolo scoperto a contatto con il muschio, coprire accuratamente i bordi esterni con erba per minimizzare l'effetto suolo.

B5) Il posizionamento delle cassette di muschio deve essere effettuato nelle vicinanze di una zona d'ombra, in assenza di aree pianeggianti privilegiare il pendio a Nord. In mancanza di ombra si potrà costruire un riparo verticalmente al piano dei muschi con materiale privo di metalli (ad esempio con canne di bambù o teli verdi a maglie in materiale plastico), al fine di ottenere una zona d'ombra il più possibile completa sul muschio. In tale operazione occorre cercare di non ostacolare la circolazione laterale dell'aria.

B6) Dopo aver depositato la cassetta, procedere al campionamento dei muschi per definire il livello iniziale della concentrazione degli elementi che si vorrà indagare, utilizzare guanti in lattice e raccogliere su tutta la superficie circa 2 g di muschio (tessuti apicali da 2, 3, 4 o 5 cm di lunghezza) che verranno posti in una busta e portati in laboratorio e trattati come descritto in precedenza (da A4 sino ad A7a).

B7) Il muschio e il suolo ad esso sottostante vanno bagnati con acqua EP o BD. La cadenza e la quantità di acqua dipendono dalla stagione, occorre ricordarsi che il suolo sotto il tappeto di muschio deve rimanere sempre umido.

B8) Le raccolte successive dei muschi (circa 2 g) possono essere effettuate con cadenza di 2, 3, 4, 6, 12, 18 o 24 mesi a seconda dell'ambiente da indagare e dalle esigenze di lavoro.

B9) È opportuno raccogliere, per una sola volta, nelle vicinanze di ciascuna stazione di muschi, un campione di suolo che verrà analizzato, al fine di una più completa interpretazione dei risultati (vedere in appendice le indicazioni).

Al	As	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Ti	V	Zn
400	0.12	0.38	0.2	1.2	8	600	77	0.53	15	14	4.6	27

Tabella 2. Valori base di elementi presenti in *Hypnum cupressiforme* in aree italiane non contaminate ( $\text{mg kg}^{-1}$  peso secco)

#### Mineralizzazione acida in forno a microonde

- I campioni di muschio macinati vanno posti con il loro contenitore senza tappo in stufa alla temperatura di 45 °C quattro ore prima dell'operazione di pesata.
- Agitare il contenitore, tolto dalla stufa e tappato, per 3 minuti per omogeneizzare il macinato.
- Pesare direttamente nei contenitori in teflon 200-250 mg circa di muschio macinato con una bilancia analitica.
- Aggiungere 5 ml di  $\text{HNO}_3$  e 2.5 ml di  $\text{H}_2\text{O}_2$

- Non aggiungere altri reattivi o acidi (es. HF).
- I contenitori vengono ermeticamente chiusi utilizzando una chiave dinamometrica e posti nel carosello all'interno del forno a microonde.
- Esempio di condizioni operative per campioni in legno, cellulosa, foglie, muschi e vegetali in genere:
  - 1 minuto alla potenza di 250 Watt
  - 2 minuti alla potenza di 0 Watt
  - 5 minuti alla potenza di 250 Watt
  - 5 minuti alla potenza di 400 Watt
  - 5 minuti alla potenza di 600 Watt
  - 2 minuti di ventilazione
- Terminato il programma termico i contenitori vengono lasciati raffreddare.
- I contenitori vengono aperti lavorando sotto cappa aspirante.
- La soluzione di ciascun contenitore viene quantitativamente trasferita con acqua EP o BD in matracci tarati da 25 o 50 ml.
- Per ogni 4 mineralizzazioni di campioni di muschio occorre trattare nello stesso modo 1 campione standard di riferimento e 1 bianco che sarà composto solamente dalle stesse quantità di reagenti utilizzati per i campioni secondo la procedura sopra descritta.
- Ciascuna soluzione (campioni di muschio, standard e bianchi) dovrà essere analizzata almeno 2 volte, fornendo successivamente il valore medio.

#### **Strumentazione, reattivi e standard**

La strumentazione necessaria è la seguente:

- Forno a microonde per la digestione acida dei muschi con potenza di 1200 W e frequenza di 2450 MHz. I contenitori per i campioni devono essere in TFM (Teflon).
- Vetreria di classe A.
- Strumentazione per la determinazione degli analiti in soluzione acquosa e/o solida, che garantisca una sensibilità adeguata alla rivelazione di quantità minime di analita che sono presenti nei muschi. Esempio di strumentazione:
  - ICP-MS
  - AAS con fornetto in grafite
  - AAS fiamma
  - AAS solido/liquido per la determinazione del Hg

#### **Reattivi e soluzioni standard:**

- HNO<sub>3</sub> 67% (p/v) ad elevata purezza (es. Suprapur Merck)

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (p/v) ad elevata purezza (es. Suprapur Merck)
- H<sub>2</sub>O ad elevata purezza, tipo preparata con sistema Milli-Q. bidistillata
- Soluzioni standard multiple preparate a partire da soluzione standard disponibili in commercio (es. Merck Titrisol 1g/l)

#### **Materiali certificati standard:**

- NBS (National Bureau of Standards)
- CRM (Certified Reference Material)
- NIST (National Institute of Standardization)
- NRC-CNRC (National Research Council Canada)

#### **Prelievo e trattamento campioni superficiali di suolo**

(Dovranno venire considerati e quindi analizzati solamente quegli elementi di maggiore interesse)

L'analisi del suolo serve per valutare l' "effetto suolo" (aumento di concentrazione causato da particelle terrigene che dal suolo si depositano sulle foglioline dei muschi) per ottenere il Fattore di Arricchimento (F.A.) che si ottiene dal rapporto (Concentrazione Elemento nel muschio/Concentrazione di Al nel muschio, diviso Concentrazione Elemento nel suolo/Concentrazione Al nel suolo).

Il campionamento del suolo prevede l'asportazione di uno strato superficiale di 5 cm di profondità e 10 cm di lato, dopo aver asportato la lettiera.

- Dopo aver raccolto il suolo e posto in un cristallizzatore o contenitore in vetro, togliere manualmente tutto quanto è macroscopico (sassi, rami ecc.).
- Essiccare il suolo in stufa a 45°C per 48 ore.
- Setacciare utilizzando un setaccio avente maglie di 2 mm.
- Macinare la frazione inferiore o uguale a 2 mm con mulino e sfere di agata.
- Pesare circa 500 mg con bilancia analitica direttamente nei contenitori in teflon per digestione mediante microonde.
- Aggiungere 5 ml HNO<sub>3</sub> e 2,5 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
- Scegliere un programma per suoli (viene qui riportato un esempio).

5 minuti alla potenza di 250 watt  
5 minuti alla potenza di 400 watt  
15 minuti alla potenza di 500 watt  
2 minuti di ventilazione.

- Terminato il programma termico i contenitori vengono lasciati raffreddare.
- I contenitori vengono aperti sotto cappa aspirante.
- La soluzione di ciascun contenitore viene quantitativamente trasferita con acqua EP o BD in matracci da 25 o 50 ml.
- Per ogni 4 mineralizzazioni di campioni di suolo occorre trattare nello stesso modo 1 campione standard di riferimento e 1 bianco che sarà composto solamente dalle stesse quantità di reagenti utilizzati per i campioni secondo la procedura sopra descritta.
- Ciascuna soluzione (campioni di suolo, standard e bianchi) dovrà essere analizzata almeno 2 volte, fornendo successivamente il valore medio.

#### **Elementi da analizzare**

- Determinazione di carbonio totale, idrogeno e azoto, su campioni solidi, mediante analizzatore elementare CHN.
- Determinazione dei macro elementi.(Si, Al, Fe, P, K, Ca, Mn, Mg, Ti, e S).
- Determinazione degli elementi in traccia.(As, Cd, Pb, Cu, Cr, Ni, Zn, V, Se, Sb e Hg).

#### **Materiali certificati standard**

- NBS (National Bureau of Standards)
- CRM (Certified Reference Material)
- NIST (National Institute of Standardization)
- NRC-CNRC (National Research Council Canada)

#### **Tecniche analitiche**

- ICP-MS
- AAS con fornetto in grafite
- AAS fiamma
- AAS solido/liquido per la determinazione del Hg
- FRX

## Conclusioni

Una discussione di tre esempi i cui risultati sono stati ottenuti seguendo le normative precedentemente presentate, viene qui illustrata e criticata con grafici. Sono stati scelti differenti elementi per un quadro conoscitivo più completo.

Il monitoraggio attraverso i suoli risulta utile per valutare in prima approssimazione l'inquinamento di un'area, ma non sempre è in grado di fornire conclusioni interpretabili in maniera univoca, in quanto vi sono fattori non dipendenti dall'inquinamento che condizionano i suoli. L'analisi dei suoli dovrebbe venire affiancata all'utilizzo dei muschi per valutare il Fattore di Arricchimento permettendo di interpretare e comprendere l'"effetto suolo" che può causare contaminazioni ai muschi.

L'utilizzo dei muschi indigeni ha fornito, a partire dagli anni sessanta, indicazioni alquanto positive in merito alle ricadute al suolo di metalli pesanti e metalloidi in vaste aree del centro e del nord dell'Europa. In Danimarca e in altre nazioni europee i muschi vengono utilizzati in modo sistematico per valutare le deposizioni al suolo.

In Italia solo negli ultimi anni sono state monitorate alcune aree, in altre si stanno effettuando controlli utilizzando i muschi. Difficoltà organizzative e scetticismo da parte di istituzioni e organi amministrativi sono alla base dello scarso successo ottenuto nel passato, un cambiamento di tendenza sta avvenendo da alcuni anni a questa parte.

Una esperienza positiva è stata effettuata nella provincia di La Spezia, dove sono stati utilizzati muschi indigeni e muschi trapiantati.

La raccolta e successiva analisi dei 5 centimetri terminali dei caulidii dei muschi indigeni appartenenti alla specie *Hypnum cupressiforme* (Figura 2), che rappresentano la "memoria passata" in quanto coprono circa 15 anni di deposizioni, ha permesso di identificare un'area di 70-100 km<sup>2</sup> comprendente la città di La Spezia, dove le concentrazioni di Pb e Cu (Figure 3 e 4) sono significativamente più elevate dei valori riscontrati nel restante territorio indagato che aveva una superficie pari a circa 1000 km<sup>2</sup>. I risultati ottenuti con i 5 centimetri dei muschi utilizzati hanno inoltre confermato, sempre nel territorio più ristretto, che la qualità dell'aria per il periodo stimato, presentava una qualità minore rispetto alla restante zona di indagine.

Il trapianto di muschi, che può essere considerato come la "memoria presente" delle deposizioni, ha permesso di monitorare nella medesima area, per il periodo di un anno mediante tre prelievi quadrimestrali, le ricadute di As e Cu (Figure 5 e 6). Le concentrazioni più elevate sono presenti nella medesima area di 70-100 km<sup>2</sup>, la zona di ricaduta è controllata dai regimi di vento, mentre le differenti concentrazioni riscontrate nell'arco dell'anno sono influenzate dai regimi delle precipitazioni.

In una micro area, che si trova nel comune di Arcola, avente una superficie di 3-4 km<sup>2</sup>, i trapianti di muschio hanno permesso di identificare e discriminare nel corso di un anno di controllo sia i contaminanti presenti sia l'entità della superficie coinvolta dalla contaminazione. La distribuzione della concentrazione di Pb (Figura 7), principale contaminante per la presenza di una fonderia che ricicla batterie esauste, si trova nelle immediate vicinanze della fonte in questione, mentre il Mn (Figura 8) non essendo presente nei materiali da fondere, registra una distribuzione pressochè omogenea su tutta l'area.

L'utilizzo dei muschi semplifica il monitoraggio e minimizza le incertezze dovute dall'ambiente, permette inoltre la ricostruzione delle contaminazioni per un periodo retroattivo di 15-20 anni. I muschi possono essere utilizzati con successo in città, piccoli

ambienti o estese aree. Permette, utilizzando un fattore di efficienza, di valutare il tasso di deposizione annuo, quindi di avere una stima dei contaminanti presenti nell'aria. Sarebbe pertanto auspicabile un largo utilizzo dei muschi per identificare le aree maggiormente contaminate, essendo il metodo di facile impiego e poco costoso.

### **Ringraziamenti**

Vorrei ringraziare il dottore M. Ferretti (LINNÆA ambiente Srl) per i preziosi suggerimenti.



*Figura 2. Muschio appartenente alla specie Hypnum cupressiforme utilizzato nelle tre località.*

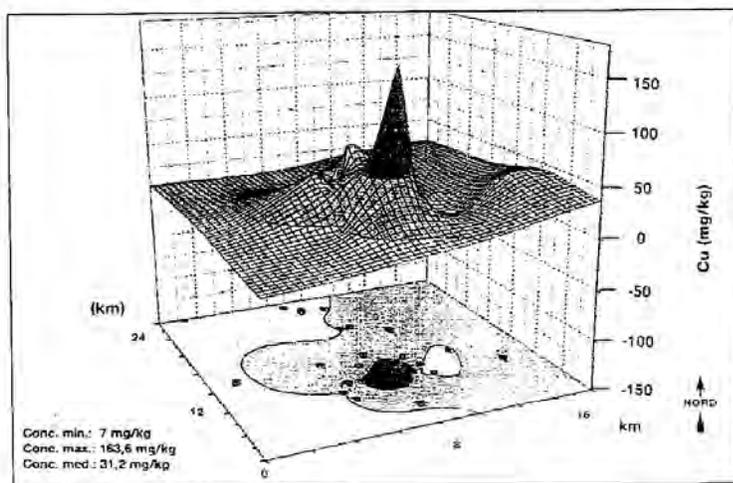
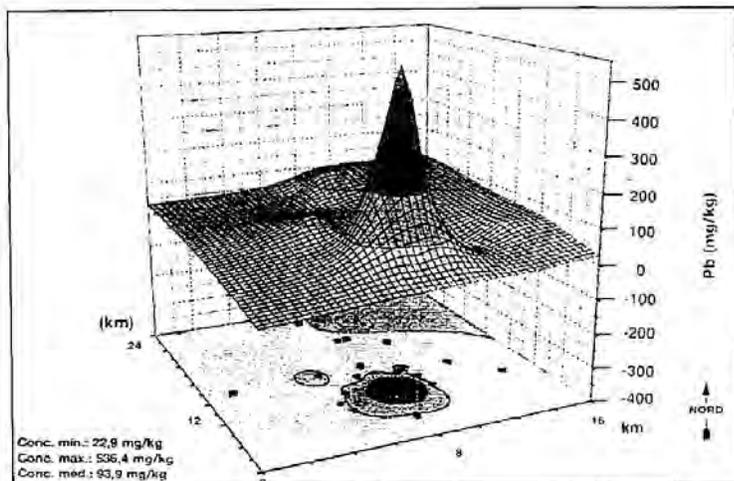


Figura 3 (in alto). Distribuzione spazio-temporale della concentrazione di Pb mediante muschio indigeno nella provincia di La Spezia.

Figura 4 (in basso). Distribuzione spazio-temporale della concentrazione di Cu mediante muschio indigeno nella provincia di La Spezia.

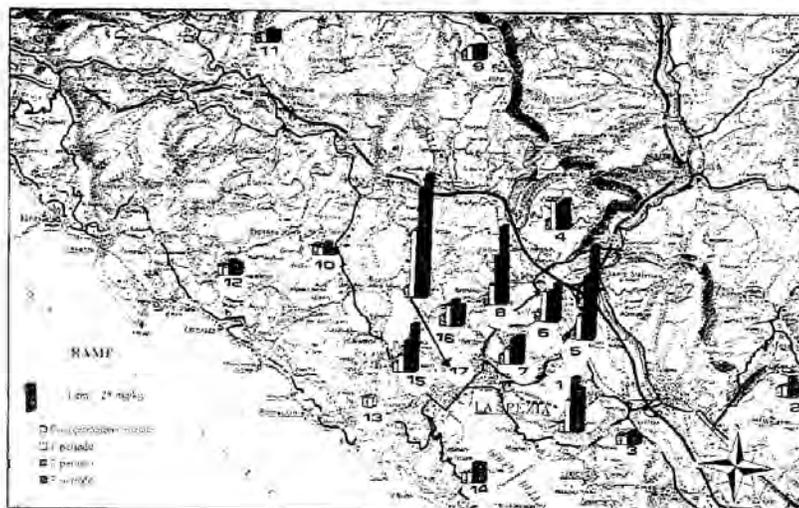
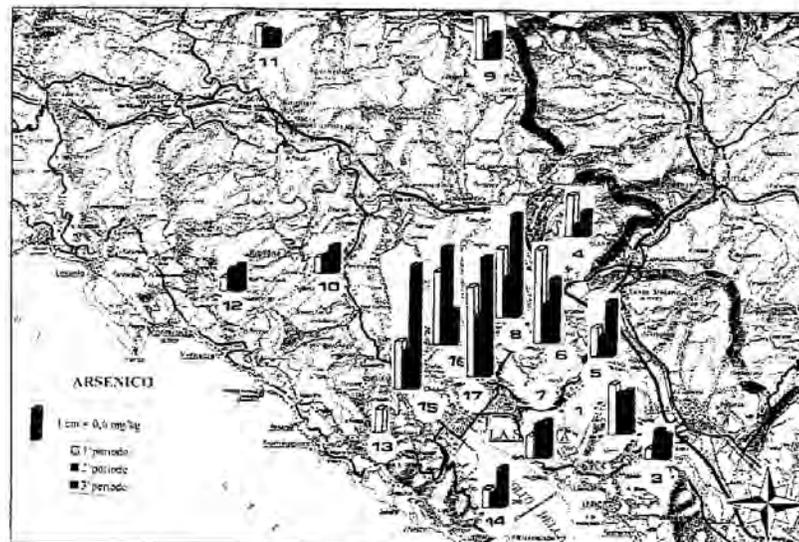


Figura 5 (in alto). Andamento della concentrazione di As nella provincia di La Spezia nel periodo di un anno mediante muschio trapiantato.  
Figura 6 (in basso). Andamento della concentrazione di Cu nella provincia di La Spezia nel periodo di un anno mediante muschio trapiantato.

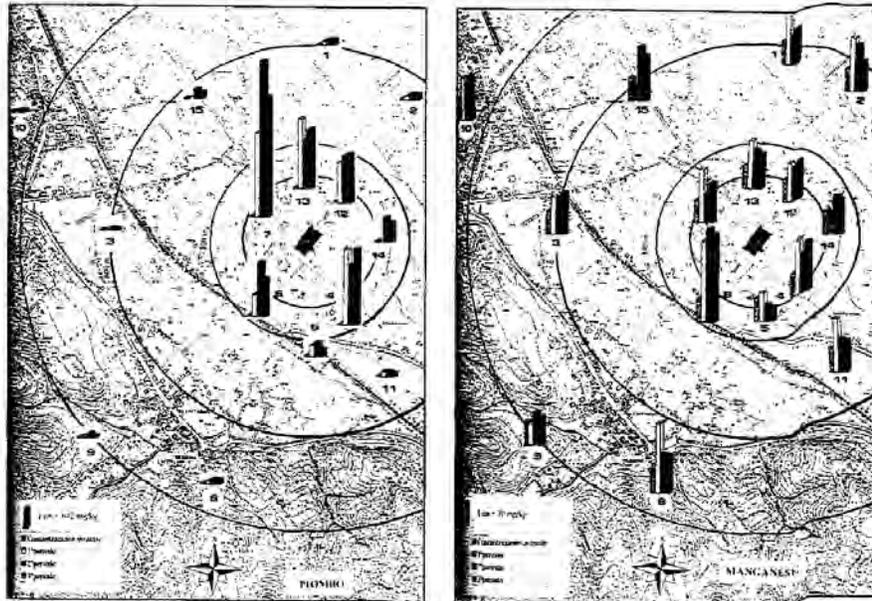


Figura 7 (sinistra). Distribuzione della concentrazione di Pb nel comune di Arcola per un periodo di un anno mediante muschio trapiantato.

Figura 8 (destra). Distribuzione della concentrazione di Mn nel comune di Arcola per un periodo di un anno mediante muschio trapiantato.

## Bibliografia

- Anschütz I., Gessner F. (1954). Der Ionenaustausch bei Torfmossen (Sphagnum). *Flora*, 141: 178-236.
- Bargagli R., Battisti E., Cardaioli E., Formichi P., Nelli L. (1994). La deposizione atmosferica di elementi in tracce in Italia. Prime rivelazioni mediante i muschi. *Inquinamento*, 2: 48-58.
- Bell P.R. (1959). The ability of Sphagnum to adsorb cations preferentially from dilute solutions resembling natural waters. *Journal of Ecology*, 47: 351-355.
- Berg T., Steinnes T. (1997). Recent trends in atmospheric deposition of trace elements in Norway as evident from the 1995 moss survey. *The Science of the Total Environment*, 208: 197-206.
- Berlekamp J., Herpin U., Matthies M., Lieth H., Markert B., Weckert V., Wolterbeek B., Verburg T., Zinner H.-J., Siewers U. (1998). Geographic classification of heavy metal concentrations in mosses and stream sediments in the Federal Republic of Germany. *Water, Air and Soil Pollution* 101: 177-195.
- Brown D.H. (1982). Mineral nutrition. *Bryophyte ecology*, 383-444.
- Brown D.H. (1984). Uptake of Mineral Elements and Their Use in Pollution Monitoring. *The experimental Biology of Bryophytes*, 229-255.
- Burton M.A.S. (1990). Terrestrial and aquatic bryophytes as monitors of environmental contaminants in urban and industrial habitats. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 104: 267-280.
- Cenci R.M., (1993). Muschi acquatici quali bioindicatori della contaminazione da elementi in tracce. Istituto della Enciclopedia Italiana fondata da Giovanni Treccani. *Cultura e Scuola*.
- Cenci R.M., Muntau H. (1993). L'utilizzo dei muschi acquatici quali bioindicatori di inquinamento nelle acque da parte di metalli pesanti. *Inquinamento*, 25(1): 42-48.
- Cenci R.M., Palmieri F. (1997). L'impiego dei muschi terrestri e del suolo per valutare le deposizioni atmosferiche di origine antropica. *Inquinamento* 1: 36-45.
- Cenci R.M., Palmieri F., Facchetti S., Mousty F., Panzeri V. (1998). Le deposizioni atmosferiche in una micro-area, valutate utilizzando suoli e muschi. *Biologi Italiani* 28: 10, 20-36.
- Cenci R.M., Palmieri F., Neri R., Paracchini L., Papucci C. (1995). Muschi e suoli per il controllo della contaminazione ambientale da metalli. Convegno "La Città e l'ENEL". Comune della Spezia, 93-120.
- Clymo R.S (1963). Ion exchange in Sphagnum and its relation to bog ecology. *Annals of Botany*, N.S., 27: 309-324.
- Gerola F.M. (1988). *Biologia vegetale. Sistematica Filogenetica*. UTET, II ediz., 351-364.
- Goltsova N., Vasina T. (1993). Heavy metals retention by the woodland moss *Pleurotium schreberi*, Leningrad region survey. *Ecol. Chem* 1: 51-60.
- Goodman G.T., Roberts T.M. (1971). Plants and soils as indicators of metals in the air. *Nature*, 231: 287-292.
- Herpin U., Markert B., Weckert V., Berlekamp J., Friese K., Siewers U., Lieth H. (1997). Retrospective analysis of heavy metal concentrations at selected locations in the Federal Republic of Germany using moss material from a herbarium. *The Science of the Total Environment*, 205: 1-12.

- Herpin U., Berlekamp J. (1996). The distribution of heavy metals in a transect of the three states: the Netherlands, Germany and Poland, determined with the aid of moss monitoring. *The Science of the Total Environment* 187: 185-198.
- Knight A.H., Crooke W.M., Inkson H.E. (1961). Cation-exchange capacities of tissues of higher and lower plants and their related uronic acid contents. *Nature*, 192: 142-143.
- Little P., Martin M.H. (1974). Biological monitoring of heavy metal pollution. *Environ. Pollution*, 6: 1-19.
- Manning W.J., Feder W.A. (1980). *Biomonitoring air pollutants with plants*. Applied Science Publishers, London: 285 pp.
- Markert B., Weckert V. (1989). Fluctuations of element concentrations during the growing season of *Polytrichum formosus* (Hedw.). *Water, Air and Soil Pollution* 43: 177-189.
- Nriagu J.O., Pacyna J.M. (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, waters and soils by trace metals. *Nature*, 333: 134-139.
- Pilegaard K. (1979). Heavy metals in bulk precipitation and transplanted *Hypogymnia physodes* and *Dicranoweisia cirrata* in the vicinity of a Danish steelworks. *Water, Air and Soil Pollution* 11: 77-91.
- Puustjärvi V. (1955). On the colloidal nature of peat-forming mosses. *Archivum societatis zoologicae botanicae Fennicae "Vanamo"*, Supplement 9: 257-272.
- Rao D.N. (1982). Responses of bryophytes to air pollution. *Bryophyte ecology*, 445-471.
- Rasmussen L., Johnsen I. (1976). Uptake of minerals, particularly metals, by epiphytic *Hypnum cupressiforme*. *Oikos* 27: 483-487.
- Rühling A., Tyler G. (1969). Ecology of heavy metals – a regional and historical study. *Botaniska Notiser*, 122: 248-259.
- Rühling A., Tyler G. (1970). Sorption and retention of heavy metals in the woodland moss *Hylocomium splendens* (Hedw). *Br. Et Sch. Oikos*, 21: 92-97.
- Rühling A. (1994). Atmospheric Heavy Metal Deposition in Europe. *Nord*, 58.
- Shimwell D.W., Lauria A.E. (1972). Lead and zinc contamination of vegetations in the southern Pennines. *Environmental Pollution*, 3: 291-301.
- Strahler A.N. (1984). *Geografia fisica*. Piccin, 1984: 271-280.
- Zechmeister H. (1998). Annual growth of four pleurocarpous moss species and their applicability for biomonitoring heavy metals. *Environmental Monitoring and Assessment*, 52: 441-451.