# **POLLICE**

Il ghiacciaio dell'Adamello come archivio naturale dei cambiamenti di biodiversità vegetale e climatici



Foto di copertina: Marco Filipazzi, UniMIB POLLICE
Il ghiacciaio dell'Adamello come archivio naturale dei cambiamenti di biodiversità vegetale e climatici
Relazione conclusiva a cura di Antonella Cristofori e Cristiano Vernesi
Riferimento: progetto POLLiCE (pollini ghiacciai), codice progetto FSS-30. Dicembre 2015 - Febbraio 2017
Timerimento. progetto i occide (pomini ginaccial), codice progetto i 33 30. Dicembre 2013 i respitato 2017
Forma raccomandata di citazione:
Cristofori A., Vernesi C. 2017. Relazione conclusiva progetto POLLiCE: il ghiacciaio dell'Adamello come archivio naturale dei cambiamenti di biodiversità vegetale e clima. <i>Codice progetto FSS-30</i> .

## Obiettivi dello studio

Il progetto POLLiCE, ideato dalla Fondazione Edmund Mach, in collaborazione, con MUSE e Università di Milano Bicocca, vuole indagare, attraverso il prelievo di carote di ghiaccio, non solo la storia dei cambiamenti climatici ma anche le modificazioni nella vegetazione che si sono susseguite negli ultimi secoli. Questo verrà realizzato attraverso la ricerca di componenti biologiche, in primis pollini, racchiusi nel ghiacciaio dell'Adamello, il più esteso e profondo ghiacciaio d'Italia – circa 16 km² per 270 m di profondità.

In POLLICE si applicano per la prima volta sulle Alpi le tecniche di sequenziamento del DNA estratto da campioni di ghiaccio, per recuperare le informazioni relative alla biodiversità ed ai suoi cambiamenti durante i secoli scorsi e correlarle con gli impatti climatici ed antropici. La ricerca vuole in ultima istanza spostare il fuoco dello studio sui ghiacciai da una prospettiva esclusivamente climatica - come è stato prevalentemente fino ad oggi - ad una ambientale, mirando ad estrarre tutte le preziose informazioni biologiche presenti nel più profondo archivio d'Italia, il ghiacciaio dell'Adamello. Partner del progetto sono, allo stato attuale, MUSE, Università Milano Bicocca (UniMIB), ENEA, Provincia Autonoma di Trento (PAT), Università di Innsbruck (UIBK), Libera Università di Bolzano.

Considerata l'importanza delle informazioni riferite al clima ed ai suoi cambiamenti, collegati anche alle variazioni nella vegetazione, ricavabili dal progetto, è stato coinvolto l'Osservatorio Trentino per il Clima per condividere l'idea e trovare sostegno al progetto.

Grazie ai fondi ottenuti dall'Assessorato provinciale alle infrastrutture e all'ambiente attraverso il "Fondo per lo sviluppo sostenibile e per la lotta ai cambiamenti climatici" e all'appoggio del Servizio geologico PAT, è stato possibile raggiungere alcuni importanti obiettivi, il più rilevante dei quali è stata la realizzazione del carotaggio di media profondità del ghiacciaio dell'Adamello, con estrazione di una carota di ghiaccio di 45 metri.

## **RISULTATI**

## Analisi sulla carota 2015 (ADA15)

Il 15 marzo 2015, grazie al supporto del Nucleo Elicotteri della Protezione Civile della PAT, il team di POLLiCE ha effettuato un carotaggio pilota, estraendo una carota lunga 5,5, m, successivamente trasferita presso l'EuroCold Lab dell'Università di Milano-Bicocca. Sotto la supervisione del prof. Valter Maggi, responsabile di EuroCold, si è proceduto al sezionamento della carota per ottenere i diversi campioni da sottoporre alle varia analisi: chimiche, fisiche e biologiche.

## Stratigrafia macroscopica

Il team del prof. Maggi ha effettuato una prima analisi stratigrafica della carota al fine di evidenziarne eventuali macro-alterazioni, indicatrici di un accumulo irregolare rispetto all'aspettativa di un accumulo pari a circa un metro per ogni anno e per cercare di stimare in base alla diversa granulometria, i possibili strati di accumulo del ghiaccio. La metodica utilizzata è quella di prendere delle immagini delle carote sotto particolari condizioni di luce, per poter apprezzare la granulometria del ghiaccio.

## Isotopi stabili

I campioni sono stati sottoposti alla stima del rapporto fra gli isotopi stabili di ossigeno ed idrogeno. In virtù della diversa evaporazione fra i due principali isotopi stabili dell'ossigeno (¹6O e ¹8O), si ha che tendenzialmente nei periodi freddi si registra un incremento di ¹8O, mentre è ¹6O ad aumentare con l'innalzamento delle temperature. Un andamento analogo si presente per il trizio ³H, ed il deuterio ²H, i due isotopi stabili dell'idrogeno. Le analisi particolareggiate sulla carota hanno permesso di apprezzare l'alternanza fra periodi più freddi, invernali, e periodi più caldi, estivi. Le stime ottenute sono state confrontate con i dati dell'analisi morfologica dei pollini (Fig. 1). Queste indagini sono state effettuate in FEM, presso il laboratorio diretto dalla dr.ssa Federica Camin.

## Chimica ionica

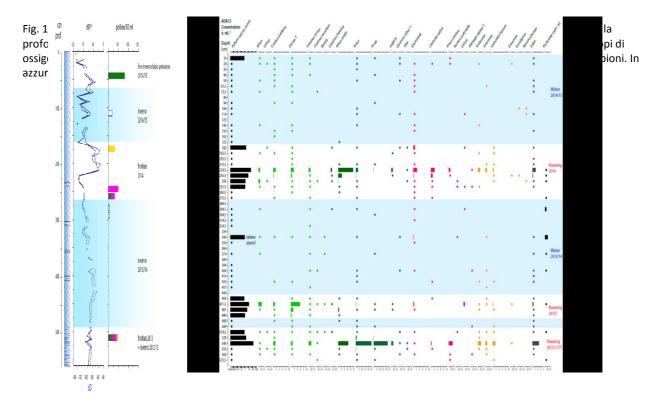
Alcuni campioni sono stati analizzati in chimica ionica. In particolare sono stati misurati: durezza, anioni (nitrati, nitriti, solfati, fosfati, idrogenocarbonato, ossidi di carbonio), cationi (calcio, magnesio, sodio, potassio), azoto e fosforo totale, ossido di silice, e zolfo, cloro, fluoro. Attraverso tale test è stato possibile esaminare la fattibilità di questa tipologia di analisi sui campioni derivati dalla carota di ghiaccio, verificando come le tecniche di analisi siano sufficientemente sensibili da rilevare le basse concentrazioni presenti nel ghiaccio, senza richiedere la concentrazione del campione di partenza. Le informazioni ricavate da queste analisi chimiche hanno la potenzialità di ricostruire i componenti chiave dell'aerosol ed i loro cambiamenti nel tempo. Ad esempio, nitrati e solfati presenti nel ghiaccio, e quindi derivati dalle precipitazioni, sono indicativi di inquinamento antropico, mentre cloruri e sodio fungono da indicatori climatici. Magnesio e calcio indicano invece la presenza di sabbie. Dai dati ottenuti dall'analisi dei campioni ADA15 si possono inoltre osservare delle oscillazioni dei valori nel tempo, possibilmente indicative di un segnale stagionale conservato. Informazioni più specifiche non sono ottenibili dai campioni testati, a causa della bassa numerosità e quantitativo degli stessi. Queste indagini sono state effettuate in FEM, presso il laboratorio diretto dal dott. Leonardo Cerasino.

## Pollini

# Morfologia classica

Grazie alla ricercatrice post-doc dell' UIBK, Daniela Festi, si sono allestiti dei vetrini relativi ai diversi strati della carota per condurre un'indagine microscopica di identificazione e conteggio dei granuli pollinici rimasti intrappolati nel ghiaccio. Questo metodo di analisi è stato, proprio dalla dr.ssa Festi, recentemente applicato sul ghiacciaio dell'Ortles, con il risultato innovativo di poter ricostruire la stratigrafia, come nel caso degli isotopi stabili, ma partendo da un altro presupposto. Relativamente ad una certa regione, le piante hanno tempistiche di fioritura specifiche delle diverse stagioni, in base alla diversa fenologia delle specie presenti nell'area di studio. Sfruttando il trasporto, anche a distanze relativamente lunghe (fino a x km circa), operato dai venti, si ha allora che i granuli pollinici rilasciati possano rimanere imprigionati nel ghiaccio. In strati che presentano concentrazioni maggiori di pollini di specie quali il nocciolo e l'ontano, si potrà ragionevolmente supporre che si tratti di un deposizione invernale, laddove ritrovare una maggiore abbondanza di pollini di graminacee ed artemisia indicherà una stagione estiva.

I campioni della carota ADA15 hanno effettivamente restituito una situazione ascrivibile ad una chiara stagionalità. In una lunghezza di circa 1 m sono stati osservati distintamente i succedersi di due gruppi di granuli pollinici. Uno, con un numero decisamente inferiore di pollini, dominato dalla presenza di poche specie con fioritura invernale, inizio primavera (e.g. nocciolo e carpino), l'altro caratterizzato, invece, da un'alta concentrazione di granuli, provenienti da molte piante diverse, quali graminacee, artemisia e rosacee, con fioritura tardo primaverile - estiva ed autunnale. I dati dei pollini, infine, mostrano una sostanziale congruenza con le indicazioni fornite dagli isotopi stabili (fig. 1).



## DNA metabarcoding dei pollini

La carota di 4,5 m si è rivelata importantissima per la messa a punto dei protocolli finalizzati all'estrazione ed amplificazione del DNA ambientale, la cui presenza ci è stata confermata dall'analisi microscopica, che ha evidenziato la presenza di granuli pollinici, ovvero elementi cellulari contenenti al loro interno molecole di DNA. Attraverso un'analisi del DNA ottenuto dal campione ambientale è possibile identificare contemporaneamente le diverse specie di piante da cui i granuli pollinici sono originati (*metabarcoding*), utilizzando come marcatore (*barcode*) un tratto di DNA presente in tutte le piante, ma con un grado di variabilità interna della sequenza che permette di identificare i tipi pollinici a livello di genere o addirittura di specie. Con questo metodo è possibile raggiungere un'identificazione più precisa rispetto all'analisi morfologica classica.

In queste prime prove ci siamo concentrati sul recupero del DNA di origine vegetale. Nello specifico, sono state confrontate diverse metodiche di concentrazione dei granuli presenti nel ghiaccio (centrifugazione/essicazione), e verificate le possibili fonti di contaminazione dei campioni. Si sono inoltre effettuati dei test per stabilire quale protocollo di estrazione del DNA risultasse più efficace per questa tipologia di campioni, confrontando due diversi procedimenti (MO BIO's DNeasy PowerSoil Kit, Qiagen e Nucleomag Plant, Macherey-Nagel). Nella successiva fase di amplificazione del DNA estratto, si è poi osservato con delle prove sperimentali, come la rappresentatività del DNA amplificato variasse ripetendo l'amplificazione stessa. Questa fase di test ha portato a selezionare il protocollo da seguire per ottenere la migliore resa dai campioni di ghiaccio, con il contenimento delle contaminazioni ambientali, ovvero l'essicazione, portando avanti campioni singoli, la successiva estrazione con Nucleomag Plant e l'amplificazione del DNA in tre diverse repliche per ottimizzare la rappresentatività delle diverse specie presenti.

Dopo questa prima fase, si è proceduto all'allestimento di campioni compositi, che potessero rappresentare lo spettro pollinico delle diverse successioni stagionali presenti nella carota ADA15, come indicato dai risultati dell'analisi morfologica dei pollini esposta precedentemente. I sei campioni così ottenuti sono stati sottoposti ad essicazione, lisi dei granuli ed estrazione del DNA. Il DNA pollinico estratto è stato quindi amplificato in corrispondenza di una porzione interna del DNA dei cloroplasti (trnL). Per ogni campione si sono eseguite le tre diverse amplificazioni (per ottenere una più ampia rappresentatività delle sequenze presenti nei campioni), quindi il DNA è stato purificato ed inviato al sequenziamento. Dopo questa fase, si potrà, attraverso un lavoro bioinformatico, assegnare ciascuna sequenza ad una pianta e quindi avere un quadro delle informazioni di biodiversità vegetale specifico per ogni campione, rappresentante una stagione. In questo modo sarà possibile confrontare i dati ottenuti con quelli dell'analisi morfologica classica ed integrarli con informazioni più specifiche circa l'identificazione della specie vegetale a cui appartengono i granuli pollinici intrappolati nel ghiaccio.

Queste indagini sono state effettuate in FEM, presso i laboratori di preparazione del DNA non invasivo, di PCR e post-PCR.

#### Spedizione scientifica marzo 2016



A marzo 2016, (dall'1 al 4), si è effettuata una spedizione scientifica allo scopo di effettuare un carotaggio di media profondità del ghiacciaio. Hanno partecipato alla spedizione i tecnici incaricati al carotaggio di ENEA Brasimone e dell'Università di Milano Bicocca, due ricercatori della FEM e due glaciologi del MUSE. L'esito della spedizione non è stato purtroppo quello sperato. Le condizioni meteorologiche avverse, con tormenta di neve e temperature molto rigide, hanno reso le operazioni molto difficile, arrecando danni anche strutture allestite per il ricovero del personale (la tenda North Face nella figura è stata divelta e distrutta). A questo si è aggiunto un problema tecnico con il carotatore elettromeccanico, che ha impedito il raggiungimento dell'obiettivo previsto. Il sostegno logistico degli elicotteri PAT non è inoltre stato possibile nella fase di allestimento del campo, a causa di un'improvvisa emergenza, con conseguente necessità di intervento di una compagnia privata di trasporto con elicotteri, che ha comportato una riduzione delle risorse economiche.

# Spedizione scientifica aprile 2016

In preparazione della seconda spedizione, UniMIB si è occupata della revisione del carotatore con la sostituzione di alcuni pezzi meccanici e la messa a disposizione di una speciale tenda per la perforazione, costruita in esemplare unico allo scopo ed inaugurata durante la spedizione .

Ad aprile 2016 (dall'11 al 14) si è effettuata una seconda spedizione scientifica. Hanno partecipato alla spedizione, in tempi diversi, i tecnici addetti alla perforazione di ENEA Brasimone e Università di Milano Bicocca, tre ricercatori FEM, una guardia forestale del Parco di Paneveggio Pale di San Martino, una glaciologa e un tecnico per le riprese del MUSE, una ricercatrice dell' UIBK e un geologo del Servizio Geologico della Provincia Autonoma di Trento.

Durante questa spedizione è stato possibile carotare il ghiacciaio per una profondità di 45 metri. Le carote di ghiaccio estratte sono state subito etichettate ed archiviate in appositi box e portate, con un trasporto freezer, presso i laboratori freddi dell'EuroCold presso UniMIB.

# Analisi carota ADA16

Presso l'EuroCold di UniMIB, le carote sono state sottoposte ad analisi di stratigrafia macroscopica, scansione iperspettrale, prelievo di sezioni sottili. La stessa UniMIB si è inoltre occupata della misura della

radioattività totale dei chips estratti ad ogni operazione di prelievo della singola carota di ghiaccio, che forniscono un dato medio valido per la profondità della carota stessa.

# Stratigrafia macroscopica e scansione iperspettrale

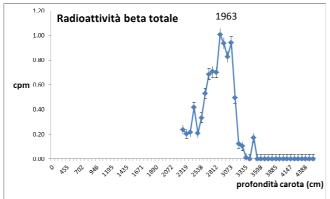
La stratigrafia è stata studiata macroscopicamente attraverso immagini normali e iperspettrali scattate ai diversi segmenti di carota. Attraverso queste è possibile distinguere le diverse tipologie di ghiaccio (ad es. ghiaccio di rigelo). Le immagini iperspettrali in particolare, realizzate ad alta precisione, visualizzano la riflettanza del campione e permettono di ricavare informazioni circa la presenza di strati di particolato, anche di bassa entità, bolle e di stimare la densità del ghiaccio analizzato. La segnatura spettrale è stata finora analizzata su 6,5 metri di lunghezza delle carote, ad una profondità intermedia.

#### Sezioni sottili

Sezioni sottili sono state realizzate longitudinalmente per tutta la lunghezza delle carote, da 0 a 45 metri di profondità. Attraverso le sezioni sottili sarà possibile realizzare uno studio tessiturale e cristallografico al tavolino universale.

#### Analisi di radioattività

Partendo dalla profondità massima, sono state analizzate le chips di ciascuna carota per evidenziare la presenza di radioattività beta e gamma. Dalle analisi è risultato che alla profondità di circa 30 metri era presente un segnale di radioattività molto alta, riconducibile agli scoppi termonucleari del 1962. Questo ha permesso di stimare l'età dell'intera carota, che si aggira attorno agli 80 anni ai 45 metri di profondità (circa 55 cm di ghiaccio/anno) (Fig 2.).



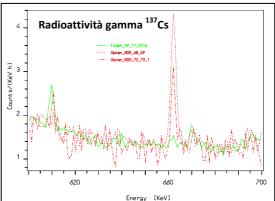


Figura 2. Misure di radioattività beta (a destra) e gamma (a sinistra) sulle carote di ghiaccio ADA16. Il picco indica alti livelli di radioattività riconducibili alle esplosioni termonucleari del 1963 e viene rilevato ad un a profondità di circa 30 metri.

Divulgazione 2016-2017

Il progetto POLLiCE ha ricevuto molta copertura da parte dei mezzi di comunicazione. I principali risultati sono elencati di seguito:

Documentario RAI "La memoria del ghiaccio", proiettato al filmfestival di Trento 2017

TgR di Rai3 del 2 maggio 2016

Annual report FEM 2016

Rivista Orobie, marzo 2017

Intervista a Orobie TV (<a href="https://www.youtube.com/watch?v=uX3vyCvWFJA">https://www.youtube.com/watch?v=uX3vyCvWFJA</a>

Geo & Geo del 16 maggio 2016 (presenti i glaciologi del MUSE Casarotto e Bertoni)

Poster Festival Meteorologia Rovereto 11-12 novembre 2016

Sito web pollice.fmach.it

Svariati articoli su quotidiani stampati e online da maggio 2016, in seguito alla spedizione di aprile 2016