

Le terre rare, una risorsa da considerare con attenzione: il Neodimio

F. Tommasi, N. Dipierro, A. Paradiso, F. Leuci, L. Pozzessere, L. d'Aquino, G. Pagano

Riassunto - Il presente lavoro raccoglie dati preliminari sugli effetti del Neodimio, un elemento del gruppo delle terre rare, su piante modello: *Lemna minor* L. e *Vicia faba* L. cv Supersimonia. La somministrazione di dosi crescenti di cloruro di neodimio induce in entrambe le specie alterazioni morfologiche e della crescita. Le due specie risultano entrambe sensibili al Nd, ma in *V. faba* si osservano alterazioni a concentrazioni più basse e dopo tempi di esposizione più brevi.

Parole chiave: antiossidanti, *Lemna minor*, prove di crescita, *Vicia faba*

Introduzione

Le terre rare (Rare Earth Elements, REE) sono un gruppo di 15 elementi, "lantanidi", con numeri atomici compresi fra 57 e 71 inclusi nel gruppo IIIA della tavola periodica più Ittrio e Scandio. Questi elementi sono detti "terre" per l'aspetto di alcuni loro ossidi e "rare" perché in natura esistono solo come minerali complessi e alla loro scoperta erano erroneamente considerati poco diffusi in natura. In base al loro numero di massa si dividono in REE leggere e pesanti. Gli elementi "leggeri" hanno massa inferiore a 153 (dal Lantanio all'Europio), quelli "pesanti" hanno massa atomica superiore a 153 (dal Gadolinio al Lutezio). Il numero di ossidazione per la maggior parte degli elementi è +3, ma alcuni possono presentare numero di ossidazione +2 o +4. Gli elementi "leggeri" sono più abbondanti in natura e più solubili di quelli pesanti (Sneller et al. 2000). Negli ultimi trenta anni l'uso delle REE è notevolmente aumentato per il loro impiego in applicazioni industriali, tecnologiche, in agricoltura e zootecnia, suscitando timori per la contaminazione di acque e suoli. Il Lantanio (La) e il Cerio (Ce) sono gli elementi più abbondanti e più studiati, mentre i dati sugli effetti di tutti gli altri elementi costituenti le terre rare sono limitati e controversi. Recentemente è stato riportato che in specie modello quali il riccio di mare le REE causano alterazioni dello sviluppo ed effetti tossici crescenti con l'aumentare del peso atomico (Oral et al. 2017). Tra le terre rare, il Neodimio (Nd), scoperto nel 1885, ha numero atomico 60, peso atomico 144,24 e se ne conoscono cinque isotopi stabili e due radioattivi. La sua presenza nella crosta terrestre è stimata in circa 38 mg/Kg ed è, con La e Ce, fra gli elementi più abbondanti nel gruppo delle terre rare. Come tutte le REE, esso si estrae da minerali complessi contenenti anche La e Ce e, pertanto, dalla sua estrazione sono prodotte grandi quantità di residui ricchi di questi elementi. Il Nd viene correntemente utilizzato per la realizzazione di apparecchiature elettroniche e per additivi per vetro e ceramica. In agricoltura è presente in alcuni fertilizzanti utilizzati in estremo oriente anche se la sua concentrazione è molto più bassa rispetto a quella del La e del Ce (d'Aquino et al. 2009). In ambito medico è stato utilizzato senza molto successo, per problemi di biocompatibilità, in supporti per la riparazione di fratture ossee e con maggior fortuna nella realizzazione di laser per attività chirurgiche. I composti del Nd sono considerati di bassa-moderata tossicità, anche se in letteratura esistono pochi dati in merito. Le polveri sono irritanti per le mucose e la loro ingestione può causare danni epatici e polmonari. Esso svolge inoltre azione anticoagulante del sangue. Pochi dati esistono in letteratura sugli effetti del Nd in piante e organismi vegetali. L'accumulo di La e di Nd è stato riportato in alghe (Rezanka et al. 2016) ed è stata anche riportata la correlazione fra la concentrazione di Nd nel suolo e quella nei tessuti di piante spontanee (Carpenter et al. 2015). A livello fisiologico il Nd interferirebbe con l'attività dei mitocondri (Xia et al. 2015) e con la sintesi di clorofilla (Rezanka et al. 2016). Scopo di questo lavoro è stato quello di verificare gli effetti di dosi crescenti di Nd su crescita e metabolismo in una pianta acquatica (*Lemna minor* L.) ed una terrestre (*Vicia faba* L.).

Materiali e Metodi

Piante di *L. minor* sono state coltivate in soluzione di Hoagland (Hoagland, Arnon 1950) in camera di crescita alla temperatura di 24 ± 2 °C sotto luce bianca con una intensità luminosa di $90 \mu\text{e m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperiodo luce/buio di 14/10 ore. Alle piante sono stati somministrati NdCl_3 o CaCl_2 0, 0,1 e 1 mM. Le prove di crescita sono state effettuate secondo il protocollo ISO 20079 (2004) in piastre a pozzetti multipli.

Il tasso di crescita relativo (Relative Growth Rate, RGR) è stato determinato dopo 3, 7 e 12 giorni di esposizione usando la seguente formula $\text{RGR} = (\ln N_n - \ln N_0) t_n^{-1}$ dove N_0 è il numero iniziale di foglie, N_n è il numero finale di foglie e t_n è il tempo di durata del trattamento. Semi di fava (*V. faba* L.), cv Supersimonia, ottenuti da fonti commerciali, sono stati messi a germinare in camera di crescita a 25 °C, al buio per 5 giorni. I semi germinati, con radichette della lunghezza di 1 cm, sono stati messi ad incubare in acqua, CaCl_2 e NdCl_3 0,1, 0,5 e 1 mM e la lunghezza della radice è stata misurata dopo 3, 5 e 7 giorni. Tutte le analisi sono state eseguite in cinque repliche. L'analisi statistica è stata effettuata mediante *t* di Student e le variazioni sono state definite significative per $P \leq 0,05$.

Risultati e Discussione

In *L. minor* il NdCl_3 alla concentrazione 0,1 mM non causa alterazioni morfologiche e altri sintomi evidenti nelle foglie, se non una lieve clorosi dopo 12 giorni di trattamento. Alla concentrazione 1 mM la clorosi è risultata molto evidente dopo 12 giorni di trattamento (Fig. 1). I trattamenti con acqua e CaCl_2 non hanno indotto alcuna alterazione. Sebbene sintomi di clorosi siano evidenti solo a seguito di esposizione prolungata al Nd e alla concentrazione maggiore, la crescita è risultata inibita da tutti i trattamenti con NdCl_3 . I dati relativi alla RGR mostrano un decremento della stessa rispettivamente del 50% e del 65 % già alla concentrazione più bassa e già dopo 3 giorni di esposizione. La concentrazione 1 mM determina una inibizione della crescita quasi totale che risulta essere di oltre il 90 % già dopo 7 giorni di trattamento (Fig. 2). L'effetto del NdCl_3 su *V. faba* risulta essere evidente già alla concentrazione 0,1 mM con significative diminuzioni della crescita della radice già dopo 3 giorni di trattamento. Il trattamento alla concentrazione 0,5 mM induce inibizione totale della crescita della radice sin da 3 giorni di trattamento (Fig. 3) con evidenti sintomi di imbrunimento. La concentrazione 1 mM dopo 7 giorni di trattamento causa necrosi generalizzata di tutta la radice (dati non mostrati).

Fatta eccezione per La e Ce, in letteratura sono disponibili pochi dati relativi agli effetti dei singoli elementi del gruppo delle terre rare in piante, animali e uomo (Rim 2017). Per tutti gli altri elementi diversi dal La e dal Ce i dati si riferiscono in genere a miscele di REE. I composti del Nd sono considerati a bassa tossicità anche se esistono indicazioni di effetti mutageni (Rim 2017). Va però considerato che questo elemento viene largamente utilizzato per applicazioni industriali e tecnologiche in quantità crescenti, e pertanto i suoi livelli negli ecosistemi sono destinati ad aumentare anche a causa delle alterazioni dei cicli biogeochimici connesse ai processi di estrazione, utilizzo e scarto. L'accumulo di REE si verifica soprattutto nelle radici (Carpenter et al. 2015) e recenti studi hanno rilevato che specie spontanee (*Asclepias syriaca* L., *Desmodium canadense* (L.) DC., *Panicum virgatum* (L.) e coltivate (*Raphanus sativus* L., *Solanum lycopersicum* L.) cresciute su suoli contaminati da Nd e altre REE mostravano una minore crescita. Il Nd è strettamente associato ad alcune polveri provenienti dalla lavorazione dell'acciaio, al punto che lo studio dei suoi isotopi viene suggerito come strumento di monitoraggio delle emissioni di particolati atmosferici in prossimità di acciaierie (Geagea et al. 2007). Studi su piante di interesse agroalimentare hanno determinato la presenza naturale di Nd e di altre REE a concentrazioni ritenute non pericolose per l'uomo, ma il controllo dei livelli di questi elementi andrebbe effettuato con maggiore frequenza (Jiang et al. 2012). I dati presenti in letteratura relativi agli effetti del Nd sono finora controversi. Il Nd a basse concentrazioni promuove l'attività fotosintetica stimo-

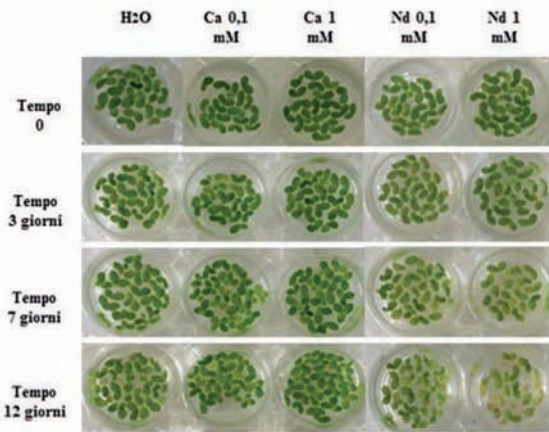


Fig. 1
Piante di *L. minor* incubate per 3, 7 e 12 giorni con acqua, CaCl_2 e NdCl_3 0,1 e 1 mM.

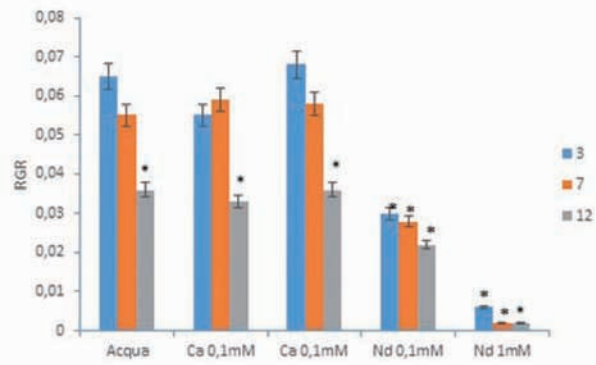


Fig. 2
RGR in piante di *L. minor* incubate per 3, 7, 12 giorni con acqua, CaCl_2 e NdCl_3 0,1 e 1 mM. Differenze significative per $P \leq 0,05$.

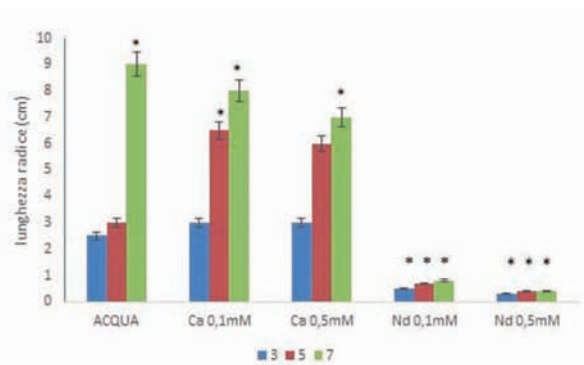


Fig. 3
Effetto del NdCl_3 sulla crescita della radice in *V. faba* L. dopo 3, 5 e 7 giorni di trattamento alle concentrazioni 0,1 e 0,5 mM. Controllo in acqua e CaCl_2 . * differenze significative per $P \leq 0,05$.

Il Nd a basse concentrazioni promuove l'attività fotosintetica stimo-

lando l'attività della ribulosio-1,5-bisfosfato carbossilasi/ossigenasi (RUBISCO) attraverso un meccanismo basato sulla formazione di un super complesso, peraltro non ancora isolato, fra l'enzima e la RUBISCO attivasi (Liu et al. 2006).

Nell'alga verde *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. il Nd sembra promuovere la crescita a basse intensità luminose, mentre non avrebbe effetto ad elevate intensità di luce (Rezanka et al. 2016). A concentrazioni di 0,2 mM il Nd interferirebbe negativamente con le funzioni mitocondriali in riso (Xia et al. 2015), mentre in colture cellulari di *Tetragonia hemsleyana* Diels et Gilg promuoverebbe la crescita (Xin et al. 2013). In alcune specie di riccio di mare l'esposizione al Nd induce effetti tossici quali alterazioni nelle larve, aberrazioni mitotiche e diminuzione della vitalità dello sperma, sebbene il Nd sembrerebbe meno tossico di Gd, Ce e La (Pagano et al. 2016, Trifuoggi et al. 2017).

I dati riportati in questo lavoro, per quanto preliminari, sostanzialmente in accordo con quanto riportato da Carpenter et al. (2015), indicano che il Nd può avere effetti tossici in entrambe le specie considerate e che *V. faba* risulta più sensibile rispetto a *L. minor* dal momento che in *V. faba* trattamenti a concentrazioni più basse e per tempi più brevi rispetto a *L. minor* determinano inibizione della crescita e necrosi delle radici. In entrambe le specie sono state rilevate anche alterazioni metaboliche connesse a squilibri fra concentrazioni di specie reattive dell'ossigeno e sistemi antiossidanti (Leuci tesi di laurea 2017, Napolitano tesi di laurea 2017). La maggiore tolleranza mostrata da *L. minor* conferma la rusticità di questa specie acquatica che risulta resistente a molti inquinanti e proposta per interventi di fitorimediazione (Forni, Tommasi 2016).

Ulteriori studi sono necessari per stabilire i livelli minimi di tossicità del Nd, il suo meccanismo di azione e la capacità di accumulo nei sistemi vegetali, in particolare quelli di interesse alimentare, per prevenire i rischi di contaminazione della catena alimentare.

Letteratura citata

- Carpenter D, Boutin C, Allison JE, Parsons JL, Ellis DM (2015) Uptake and Effects of Six Rare Earth Elements (REEs) on Selected Native and Crop Species Growing in Contaminated Soils. PLoS One. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129936>
- d'Aquino L, De Pinto MC, Nardi L, Morgana M, Tommasi F (2009) Effect of some light rare earth elements on seed germination, seedling growth and antioxidant metabolism in *Triticum durum*. Chemosphere 75: 900-905.
- Forni C, Tommasi F (2016) Duckweed: A Tool for Ecotoxicology and a Candidate for Phytoremediation. Current Biotechnology 5: 2-10.
- Geagea ML, Stille P, Millet M, Perrone T (2007) REE characteristics and Pb, Sr and Nd isotopic compositions of steel plant emissions. Science of the Total Environment 373: 404-19.
- Hoagland DR, Arnon DI (1950) The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station 347: 1-32.
- ISO/DIS 20079 (2004) Water quality – determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*) – Duckweed growth inhibition test. ISO TC 147/SC 5/WG 5, 2004.
- Jiang DG, Yang J, Zhang S, Yang DJ (2012) A survey of 16 rare Earth elements in the major foods in China. Biomedical and Environmental Sciences 253: 267-271.
- Leuci F (tesi di laurea 2017) Cerio, Neodimio e Olmio: potenziali inquinanti? Effetti di terre rare leggere medie e pesanti in *Lemna minor* L. 1-103 pp.
- Liu C, Hong FS, Wu K, Ma HB, Zhang XG, Hong CJ, Wu C, Gao FQ, Yang F, Zheng L, Wang XF, Liu T, Xie YN, Xu JH, Li ZR (2006) Effect of Nd³⁺ ion on carboxylation activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase of spinach. Biochemical Biophysical Research Communications 342: 36-43.
- Napolitano D (tesi di laurea 2017) Effetti del Neodimio su crescita e sistemi antiossidanti in *Vicia faba* L. 1-38 pp.
- Oral R, Pagano G, Siciliano A, Gravina M, Palumbo A, Castellano I, Migliaccio O, Thomas PJ, Guida M, Tommasi F, Trifuoggi M (2017) Heavy rare earth elements affect early life stages in *Paracentrotus lividus* and *Arbacia lixula* sea urchins. Environmental Research 15: 240-246.
- Pagano G, Guida M, Siciliano A, Oral R, Koçbaş F, Palumbo A, Castellano I, Migliaccio O, Thomas PJ, Trifuoggi M (2016) Comparative toxicities of selected rare earth elements: Sea urchin embryogenesis and fertilization damage with redox and cytogenetic effects. Environmental Research 147: 453-460.
- Řezanka T, Kaineder K, Mezricky D, Řezanka M, Bišová K, Zachleder V, Vítová M (2016) The effect of lanthanides on photosynthesis, growth, and chlorophyll profile of the green alga *Desmodesmus quadricauda*. Photosynthesis Research 130: 335-346.
- Rim KT (2017) Trends in occupational toxicology of Rare earth elements. In: Pagano G. (ed) Rare Earth Elements in Human and Environmental Health: at the crossroad between toxicity and safety. Chapter 1: 11-45. Pan Stanford editore, Singapore.
- Sneller FEC, Kalf DF, Weltje L, Van Wezel AP (2000) Maximum permissible concentrations and negligible concentrations for rare earth elements (REEs). Report No. RIVM 601501011 (2000) 1-66. National Institute of Public Health and the Environment. Bilthoven, The Netherlands.
- Trifuoggi M, Pagano G, Guida M, Palumbo M, Siciliano A, Gravina M, Lyons DM, Burić P, Levak M, Thomas PJ, Giarra A, Oral R (2017) Comparative toxicity of seven rare earth elements in sea urchin early life stages. Environmental Science and Pollution Research International 24: 20803-20810.
- Xia CF, Lv L, Chen XY, Fu BQ, Lei KL, Qin CQ, Liu Y. (2015) Nd(III)-induced rice mitochondrial dysfunction investigated by

spectroscopic and microscopic methods. *The Journal of Membrane Biology* 248: 319-326.
Xin P, Shuang-Lin Z, Jun-Yao H, Li D (2013) Influence of rare earth elements on metabolism and related enzyme activity and isozyme expression in *Tetrastigma hemsleyanum* cell suspension cultures. *Biological Trace Element Research* 152: 82-90.

AUTORI

Franca Tommasi (franca.tommasi@uniba.it), Nunzio Dipierro (nunzio.dipierro@uniba.it), Annalisa Paradiso (annalisa.paradiso@uniba.it), Federica Leuci, Laura Pozzessere, Dipartimento di Biologia, Università di Bari Aldo Moro, Via Orabona 4, 70125 Bari

Luigi d'Aquino (luigi.daquino@enea.it), Centro Ricerche ENEA, Piazzale Enrico Fermi 1, 80066 Portici
Giovanni Pagano (gbpagano@tin.it), Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Napoli Federico II, Via Cinthia, 80126 Napoli

Autore di riferimento: Franca Tommasi
