



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

Dipartimento
di Scienze
della Vita
e dell'Ambiente
DISVA

Dott. Alessandro Nardi
Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente
Università Politecnica delle Marche, Ancona
e-mail: a.nardi@univpm.it

Ancona, 30 dicembre 2025

RELAZIONE DELLE ATTIVITÀ 3° ANNO RICERCATORE A TEMPO DETERMINATO (art. 24, comma3, lettera a della Legge n°240/2010)
SETTORE SCIENTIFICO DISCIPLINARE BIOS-10/A (ex BIO/13)
Programma di Ricerca "National Biodiversity Future Center" nell'ambito del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR)

Periodo di riferimento: 01/01/2025 – 31/12/2025



Attività di Ricerca

Durante il terzo anno di incarico in qualità di Ricercatore a tempo determinato (art. 24, comma 3, lettera a, Legge n. 240/2010), nell'ambito del Programma di Ricerca National Biodiversity Future Center, le attività scientifiche precedentemente avviate relative alla presenza, biodisponibilità ed effetti dei contaminanti emergenti in ambiente marino sono state consolidate ed ampliate, con particolare attenzione all'integrazione dei risultati complessivi.

Come già definito nelle precedenti relazioni, per contaminanti emergenti si intendono sostanze di sintesi (o di origine naturale) riscontrate con frequenza crescente in ambiente, per le quali non sono disponibili limiti normativi definiti e i cui meccanismi di azione biologica e rischi per gli ecosistemi e la salute umana risultano ancora parzialmente caratterizzati, nonostante la documentata capacità di indurre effetti biologici anche a basse concentrazioni. In tale categoria rientrano principi attivi di farmaci ad uso umano, sostanze per- e polifluoroalchiliche (PFAS), pesticidi, nonché micro- e nanoplastiche.

Le attività di ricerca sono state articolate in quattro linee di ricerca interconnesse, ma distinte per approcci e finalità:

- i) integrazione della mappatura della presenza di contaminanti emergenti in matrici abiotiche e biotiche in scenari ambientali rappresentativi;
- ii) studio dei meccanismi di azione di contaminanti emergenti a livello trascrizionale, biochimico, cellulare e fisiologico in modelli biologici in vivo e in vitro e interazioni in condizioni di stress multiplo;
- iii) sviluppo di approcci sperimentali di manipolazione finalizzati all'aumento della tolleranza degli organismi alle condizioni di stress ambientale;
- iv) studio della vulnerabilità di specie di bivalvi di interesse commerciale e valore ecologico;



Integrazione della mappatura della presenza di contaminanti emergenti in matrici abiotiche e biotiche in scenari ambientali rappresentativi

Nell'ambito delle attività condotte in collaborazione con il partenariato di progetto, sono stati identificati sette scenari ambientali dal rilevante interesse, nei quali sono stati raccolti campioni di acqua, sedimenti e organismi per identificare i livelli nei punti di immissione e la distribuzione dei contaminanti emergenti in ambiente marino. Gli scenari ambientali selezionati hanno incluso, i fiumi Po e Tevere, quattro grandi città marittime, Ancona, Genova, Palermo e Trieste, e una zona lontana dalle principali fonti di contaminazione, le isole Tremiti; in diversi siti di ciascuna di queste aree sono stati campionati acqua, sedimenti e organismi marini (sia invertebrati che vertebrati), con attività di campionamento condotte nell'estate 2023 e nel periodo invernale che va da dicembre 2023 a febbraio 2024. I campioni ottenuti sono stati rapidamente trasportati nei locali del Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente e, dopo opportuno processamento per ogni tipologia di campione, mantenuti a -20°C fino al momento delle analisi. Presso il Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente dell'Università Politecnica delle Marche, sono state sviluppate metodiche analitiche per la quantificazione in acqua, sedimenti e biota dei livelli di principi attivi di farmaci ad uso umano (APs, active pharmaceuticals) e sostanze per- e polifluoroalchiliche (PFAS).

I risultati ottenuti nel biota hanno evidenziato la presenza pressoché ubiquitaria dei composti farmaceutici investigati, con frequenze di detezione comprese tra il 3% (cotinina) e l'86% (diclofenac) e livelli variabili delle diverse classi terapeutiche, con i farmaci impiegati per il trattamento delle patologie cardiovascolari riscontrati nell'ordine delle centinaia-migliaia di ng/g peso secco, seguiti dagli antinfiammatori non steroidei (nell'ordine delle decine-centinaia di ng/g p.s.) ed in ultimo gli psicofarmaci (nell'ordine delle unità-decine di ng/g p.s.). Tuttavia, gli psicofarmaci sono le molecole con maggiore eterogeneità spaziale e costante rappresentazione in tutti i siti, mentre i farmaci per il trattamento delle patologie



cardiovascolari sono dominati dal gemfibrozil e gli antinfiammatori non steroidei dal diclofenac, con alcune peculiarità sito-specifiche. Per quanto riguarda le specie analizzate, in generale gli invertebrati hanno mostrato livelli più elevati rispetto ai vertebrati campionati, probabilmente sia per via delle vie di esposizione sia per la presenza nei vertebrati di meccanismi di biotrasformazione e detossificazione più complessi e simili all'uomo per i quali tali molecole sono state originariamente sviluppate.

Per quanto riguarda i PFAS, le analisi condotte sull'acqua hanno mostrato una elevata eterogeneità sito-specifica (presenza pressoché ubiquitaria nell'area del Po e quasi totale assenza nelle aree di Ancona e Palermo) e la dominanza di composti perfluoroalchilici a catena corta (di nuova generazione). Le analisi condotte sugli organismi marini hanno invece evidenziato una bassa biodisponibilità di questi composti: solo 5 dei 20 composti analizzati sono stati riscontrati (PFBA, PFDA, PFDoA, PFTeDA, PFTrDA), con frequenze di deteazione che vanno dall'1% (PFBA) ad un massimo del 10% (PFDoA) e livelli che vanno da un minimo di 0,052 ng/g p.s. (PFDA) ad un massimo di 2,91 ng/g p.s. (PFTrDA). I dati ottenuti sono attualmente oggetto di ulteriori analisi per una valutazione più approfondita.

I risultati presentati sono oggetto di due pubblicazioni in preparazione, una in fase avanzata di preparazione ed incentrata sulla presenza ed i livelli dei farmaci, ed una in fase di impostazione incentrata sulla presenza e sui livelli dei PFAS e sulla relazione con gli effetti tossici osservati in laboratorio.



Studio dei meccanismi di azione di contaminanti emergenti a livello trascrizionale, biochimico, cellulare e fisiologico in modelli biologici in vivo e in vitro e interazioni in condizioni di stress multiplo.

Le attività presentate in questa sezione integrano quanto presentato nelle precedenti relazioni e sono in continuità scientifica con i precedenti risultati.

- I risultati ottenuti precedentemente in merito alla tossicità del glifosato e del suo principale prodotto di degradazione (acido aminometilfosfonico, AMPA), hanno evidenziato una maggiore tossicità di quest'ultimo rispetto al composto parentale. Sulla base di questi risultati, sono stati condotti esperimenti per valutare la modulazione della tossicità di questo contaminante in condizioni di iposalinità, scenari conseguenti ad eventi di piogge estreme ed alluvioni. Gli esperimenti sono stati condotti utilizzando mitili della specie *Mytilus galloprovincialis* campionati in Adriatico come organismi modello, esposti a 0.5 µg/L AMPA (concentrazione ambientalmente realistica con effetti biologici subletali evidenti, Nardi et al., 2025) per 21 giorni a tre regimi di salinità, 35 (salinità di controllo), 25 (moderata iposalinità), e 15 (iposalinità estrema). Al termine dell'esposizione è stato analizzato un ampio set di 42 risposte biologiche a livello biochimico, cellulare e fisiologico, che hanno evidenziato come variazioni repentine e marcate della salinità possano amplificare gli effetti negativi causati dall'AMPA, interferendo con la normale funzione osmotica cellulare, il metabolismo energetico e i meccanismi di detossificazione. Attualmente, è in fase di conclusione un manoscritto su questo studio che sarà inviato per revisione a gennaio 2026 in una rivista internazionale peer-reviewed di fascia Q1.

Lo stesso esperimento è stato condotto con mitili della specie *Mytilus galloprovincialis* campionati in Portogallo, Ria de Aveiro, un ambiente di transizione caratterizzato da rilevanti apporti di acqua dolce, per esplorare le differenze di risposta agli stessi stress in relazione alla storia ecologica degli organismi utilizzati, ampliando la caratterizzazione tossicologica di questo contaminante emergente, anche in relazione a fattori di cambiamento climatico e alla storia ecologica degli organismi target. I risultati ottenuti in questo studio sono oggetto

di un articolo in preparazione, nei quali questi saranno discussi anche in relazione a quelli presentati nello studio condotto con mitili adriatici.

Analogamente, sono stati condotti esperimenti per valutare il ruolo dello stress termico legato alle ondate di calore in mare nel modulare la tossicità dell'acido perfluorottanoico (PFOA), uno dei composti perfluoroalchilici più conosciuti e persistenti. In questo esperimento, gli organismi sono stati esposti a due concentrazioni di PFOA (0.1 e 1 µg/L) in due scenari di temperatura, 20°C e 24°C, per 14 giorni, simulando la co-esposizione al contaminante e ad una ondata di calore. Le analisi dei campioni isolati e dei dati raccolti sono attualmente in corso, ma i risultati preliminari hanno evidenziato un limitato effetto della temperatura elevata sulla tossicità di PFOA, confermando la buona tolleranza dei mitili adriatici allo stress termico sulla base del loro range di tolleranza termica.

In ciascuno degli esperimenti condotti, i tessuti di ghiandola digestiva e branchie e l'emolinfa degli individui sperimentali sono stati raccolti al termine di ciascuna fase sperimentale e opportunamente processati per le successive analisi, riportate di seguito.

- Accumulo dei composti testati nei tessuti degli organismi
- Alterazioni del metabolismo ossidativo (valutazione delle singole difese antiossidanti, della capacità antiossidante totale nei confronti di diverse specie radicaliche, accumulo di lipofuscina)
- Alterazioni del sistema colinergico (attività dell'enzima acetilcolinesterasi)
- Metabolismo degli xenobiotici e sistemi di detossificazione (attività degli enzimi carbossilesterasi, con tre substrati a diversa affinità specifica, e glutathione S-transferasi)
- Proliferazione perossisomiale e metabolismo lipidico (attività dell'enzima acil-CoA ossidasi, accumulo di lipidi neutri, catena di trasporto elettronico)
- Composizione e funzionalità del sistema immunitario (rapporto tra popolazioni cellulari emocitarie, efficienza di fagocitosi, integrità delle membrane lisosomiali)
- Danni genotossici (frammentazione del DNA, insorgenza di micronuclei)



Parallelamente, sono stati condotti esperimenti *in vitro* per testare gli effetti di alcuni PFAS (PFOA, PFPeA, GenX) su linee cellulari umane (fibroblasti dermici primari, HDF; carcinoma polmonare, A549; adenocarcinoma al seno, MCF7) e su estratti cellulari di mitilo. Gli esperimenti condotti, testando dosi da 1 a 1000 μM , hanno avuto lo scopo di comparare gli effetti in termini di mortalità cellulare, dell'insorgenza di stress ossidativo e alterazioni a carico della funzionalità cellulare indotte dalle diverse tipologie di PFAS, convenzionali e emergenti. I risultati ottenuti hanno permesso di evidenziare come i composti perfluoroalchilici di nuova generazione (a catena corta), sebbene ritenuti più sicuri rispetto ai composti a catena lunga, abbiano la capacità di alterare la funzionalità cellulare a basse dosi anche se con magnitudo di effetto e concentrazione soglia di effetto diverse rispetto a molecole più grandi.



Sviluppo di approcci sperimentali di manipolazione finalizzati all'aumento della tolleranza degli organismi alle condizioni di stress ambientale.

Le attività condotte in questa task hanno previsto attività sperimentali finalizzate ad esplorare l'applicazione di approcci sperimentali innovativi e sostenibili per aumentare la tolleranza a fattori ambientali di stress.

In condizioni di laboratorio, sono stati condotti esperimenti per valutare l'efficienza del "priming", tecnica mirata a promuovere una risposta transitoria alle condizioni di stress, preparando l'organismo a condizioni ambientali sfavorevoli mediante l'esposizione ad uno stress di natura simile ma di intensità inferiore. Tali approcci sono documentati in alcune specie di bivalvi e fanerogame marine mediante l'esposizione a stress termico; tuttavia, approcci ampiamente validati in ambito terrestre, come il priming chimico, che prevede l'utilizzo di perossido di idrogeno, agente pro-ossidante non sono mai stati testati in ambiente acquatico.

In questo contesto, sono stati condotti diversi esperimenti per definire le migliori condizioni di priming (ovvero concentrazioni ottimali di perossido di idrogeno) su vongole della specie *Ruditapes philippinarum*, valutando l'attivazione di meccanismi di risposta allo stress ma anche l'insorgenza di eventuali danni cellulari. Una volta definita la condizione di priming ideale, sono stati condotti esperimenti in laboratorio sottoponendo a condizioni di stress multiplo (ondata di calore e PFOA) organismi non primati (naïve) e organismi sottoposti a priming chimico, valutando la sopravvivenza nel mese successivo allo stress, ma anche un set di risposte biologiche subcellulari legate alla risposta allo stress e all'insorgenza di danni cellulari. I risultati ottenuti suggeriscono l'efficacia del priming con perossido di idrogeno nell'aumentare la tolleranza degli organismi allo stress combinato, in quanto è stata osservata una maggiore sopravvivenza dei bivalvi primati esposti allo scenario di stress multiplo in confronto ai non primati, accompagnata da un minor accumulo di prodotti della perossidazione lipidica, una maggiore efficienza del sistema antiossidante e un minor grado



di danneggiamento del DNA, sebbene sia presente un disturbo ai lisosomi paragonabile tra gli organismi primati e quelli non primati. L'approccio è stato successivamente traslato in campo, sottoponendo gli organismi al priming in laboratorio e poi trasferendoli in campo insieme ad organismi non primati al fine di comparare la sopravvivenza ad eventuali condizioni di stress ambientale dopo un periodo di 3 mesi durante la stagione estiva. Al termine dell'esperimento, non sono state osservate differenze in termini di mortalità o di — indici biometrici e fisiologici nelle due popolazioni di vongole, verosimilmente anche in relazione all'assenza, nel periodo sperimentale considerato, di condizioni ambientali di stress sufficientemente severe, tali da permettere l'attivazione di eventuali meccanismi di risposta allo stress.

Parallelamente, sono stati testati approcci di manipolazione e trapianto del microbiota, utilizzando organismi provenienti da ambienti ad elevato grado di contaminazione come donatori e organismi provenienti da impianti di acquacoltura come riceventi. Sono stati testati approcci di trapianto di microbiota per coabitazione e comparati con la somministrazione di estratti dei tessuti degli organismi donatori. Gli organismi sottoposti a trapianto di microbiota sono poi stati esposti in condizioni di laboratorio ad una miscela di metalli rilevanti nell'ambiente di provenienza dei donatori (mercurio e rame). I risultati preliminari ottenuti suggeriscono il trapianto di microbiota per coabitazione come una tecnica promettente per migliorare la tolleranza delle specie di bivalvi, sebbene siano necessari ulteriori studi di lungo termine e la valutazione dell'efficacia dell'approccio in condizioni di campo.

I risultati degli esperimenti dettagliati sono oggetto di due pubblicazioni in corso di preparazione, che saranno sottoposte a revisione presso riviste peer-reviewed di fascia Q1 nel primo semestre del 2026.



Studio della vulnerabilità di specie di bivalvi di interesse commerciale e valore ecologico

Le attività condotte in questa task hanno previsto attività sperimentali finalizzate a comprendere i fattori che influenzano la vulnerabilità di specie di bivalvi di interesse commerciale e valore ecologico che stanno subendo una forte riduzione con impatti sia socio-economici che ambientali.

Nell'ambito delle attività condotte per valutare lo stato di salute del mosciolo selvatico di Portonovo, nel terzo anno di incarico in qualità di Ricercatore a tempo determinato sono continuate le attività di campionamento e analisi di mitili selvatici (*Mytilus galloprovincialis*) dell'area di Portonovo (Monte Conero, Ancona) finalizzate allo studio delle risposte biologiche in relazione alla variabilità ambientale, per investigare le possibili cause del declino di questa specie dall'elevato valore ecologico ed economico. Tali attività sono state svolte nell'ambito del tavolo di lavoro e ricerca già citato nella precedente relazione, istituito dal Comune di Ancona, su richiesta della Cooperativa Pescatori Portonovo e SlowFood Italia, che ha visto il coinvolgimento oltre del DiSVA-UNIVPM anche di CNR-IRBIM, IZSUM e ARPA Marche. Le attività di campionamento e raccolta risultati sono attualmente in corso, ma i risultati disponibili hanno permesso di escludere fenomeni di contaminazione chimica tra le cause di stress ed evidenziare piuttosto come condizioni ambientali che deviano dalla climatologia del sito (temperatura, nutrienti) nei mesi invernali portino ad una maggiore insorgenza di condizioni di stress negli organismi campionati nel periodo estivo.

Le analisi che saranno condotte nei prossimi mesi insieme allo studio delle variabili ambientali permetteranno di ottenere un quadro più chiaro sullo stato di salute della risorsa e sulle forzanti che ne regolano l'abbondanza, in maniera tale da poter suggerire a decisori politici e *stakeholder* di settore le opportune strategie di gestione.



Attività didattica

L'attività di ricerca è stata accompagnata da attività didattica sviluppata come di seguito.

Incarico di docenza del corso "Basi Biologiche e Metodi delle Biotecnologie" (6 CFU, 48 ore), Laurea Triennale in Ingegneria Biomedica, Facoltà di Ingegneria, Università Politecnica delle Marche.

In aggiunta all'attività didattica relativa al corso, ho svolto supervisione in qualità di Relatore della Tesi di Laurea Triennale in Ingegneria Biomedica della Dott.ssa Ilaria Carbonari, dal titolo "Sviluppo di un approccio di Machine Learning basato su profili metabolomici per la classificazione di Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali".

Attività didattica nell'ambito della scuola di Dottorato di Ricerca in Scienze della Vita e dell'Ambiente dell'Università Politecnica delle Marche

- Supervisione in qualità di Tutor di Dottorato della candidata Dott.ssa Deborah Cesaroni (XXXIX Ciclo)
- Corso dal titolo: "Biological effects of chemicals in sentinel species: from molecular to cellular levels" (9 ore), A. A. 2024/2025.
- Corso dal titolo: "Contaminants of Emerging Concerns (CECs): application of molecular and cellular approaches on Precision Cut Tissue Slices for studying their biological effects" (8 ore), A. A. 2024/2025.

Attività di docenza nell'ambito dei Corsi di Laurea Magistrale in Biologia Marina (BM), e Scienze della Nutrizione e dell'Alimentazione (SNA) presso il Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche

- Supervisione in qualità di Relatore, Tesi Magistrale, Lucia Gismondi (SNA, data prevista discussione Tesi: luglio 2026)
- Supervisione in qualità di Relatore, Tesi Magistrale, Dott.ssa Gaia Ferretti (BM, discussione Tesi: novembre 2025)



- Supervisione in qualità di Correlatore, Tesi Magistrale, Dott.ssa Beatrice Angrisani (SNA, discussione Tesi: febbraio 2025)

Finanziamenti

Ricerca Scientifica di Ateneo 2025, € 1.309,00 per il progetto dal titolo “Interazioni e meccanismi di tossicità di miscele di contaminanti emergenti in scenari di cambiamento climatico”.

Partecipazione a congressi

- National Biodiversity Future Center, Final Conference, Napoli 1-2 dicembre 2025. Presentazione dal titolo: “Rethinking the hazard of glyphosate and its breakdown products for marine biota: moving beyond standard ecotoxicological bioassays toward long-term and climate-change-relevant exposures”.
- XII Convegno Nazionale SIRAM, Caorle, 3-4 ottobre 2025. Presentazione dal titolo: “Ecotossicologia come strumento per la salvaguardia dell’ambiente e delle produzioni”.
- National Biodiversity Future Center, M30 Conference, Ancona 16-17 giugno 2025. Presentazione dal titolo: “Technological innovation in Zero Pollution Vision to protect biodiversity”.
- Forum Nazionale della Biodiversità, Milano, 19-22 Maggio 2025. Presentazione dal titolo: “Unravelling pharmaceutical pollution in the Mediterranean: mapping presence and effects to prioritize risks for marine biodiversity”.

Produzione Scientifica

- Cunha, M., Bortot, C., Santovito, G., **Nardi, A.**, Soares, A.M.V.M., Gil, A.M., Freitas, R., 2025. What do emerging PFAS tell us that the classic ones did not? Insights from in vitro assays. *Marine Pollution Bulletin*, 221, art. no. 118490. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2025.118490
- Mezzelani, M., El Idrissi, O., Panni, M., d'Errico, G., **Nardi, A.**, Benedetti, M., Di Carlo, M., Fattorini, D., Ferraresso, S., Rovere, G.D., Bernardini, I., Milan, M., Gorbi, S., Regoli, F., 2025. Mechanisms of cellular and molecular responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to human pharmaceuticals ibuprofen, paroxetine and their mixture. *Environmental Research*, 284, art. no. 122239, DOI: 10.1016/j.envres.2025.122239
- Panni, M., Mezzelani, M., Giuliani, M.E., Nisi-Cerioni, P., **Nardi, A.**, Mollo, E., Regoli, F., Benedetti, M., Gorbi, S., 2025. Mechanisms of Cellular Responses of the Natural Alkaloid Caulerpin and Its Similarities with the Lipid-Lowering Agent Fenofibrate in *Mytilus galloprovincialis*. *Toxins*, 17 (10), art. no. 512. DOI: 10.3390/toxins17100512
- **Nardi, A.**, Vivani, V., Benedetti, M., Mezzelani, M., d'Errico, G., Regoli, F., Gorbi, S., 2025. Cellular targets of glyphosate, AMPA and their mixture in *Mytilus galloprovincialis*: Mechanisms of action and long-lasting effects. *Journal of Hazardous Materials*, 496, art. no. 139180. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2025.139180
- Monticelli, G., **Nardi, A.**, Mezzelani, M., Bernardini, I., Dalla Rovere, G., El Idrissi, O., Ferraresso, S., Vivani, V., Benedetti, M., Gorbi, S., Peruzza, L., Bargelloni, L., Patarnello, T., Regoli, F., Milan, M., 2025. Transcriptomic and microbiota responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to environmental concentrations of caffeine and cocaine. *Aquatic Toxicology*, 286, art. no. 107458. DOI: 10.1016/j.aquatox.2025.107458
- Meacci, S., Orsini, M., Pittura, L., **Nardi, A.**, Gorbi, S., Regoli, F., Abulebda, A.M.A., Riolo, P., Ruschioni, S., 2025. A pilot study to assess carabids (Coleoptera:



Carabidae) as potential bioindicators of microplastics contamination in soils. Environmental and Sustainability Indicators, 27, art. no. 100729. DOI: 10.1016/j.indic.2025.100729

- Cunha, M., **Nardi, A.**, Soares, A.M.V.M., Gil, A.M., Freitas, R., 2025. Revealing hidden risks: in vitro analysis of PFAS hazards in *Mytilus galloprovincialis* gills and digestive gland. Journal of Hazardous Materials, 485, art. no. 136823. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2024.136823
- Bernardini, I., Mezzelani, M., Panni, M., Dalla Rovere, G., **Nardi, A.**, El Idrissi, O., Peruzza, L., Gorbi, S., Ferraresso, S., Bargelloni, L., Patarnello, T., Regoli, F., Milan, M., 2025. Transcriptional modulation in Mediterranean Mussel *Mytilus galloprovincialis* following exposure to four pharmaceuticals widely distributed in coastal areas. Aquatic Toxicology, 279, art. no. 107255. DOI: 10.1016/j.aquatox.2025.107255

In fede,

Alessandro Nardi
Alessandro Nardi