

Quando la biologia incontra la nivologia MICROORGANISMI ICE-NUCLEATING e STABILITÀ del MANTO NEVOSO

Francesca Schivalocchi
PhD in ecologia microbica

DOI: 10.82089/NEV992026_2

Una nuova ipotesi di ricerca tra microbiologia e nivologia

Snowpack is traditionally studied as a physical system whose evolution is governed by meteorological conditions and snow metamorphism processes. However, it also hosts a biological component that has received relatively little attention in snow science. Some microorganisms present in the atmosphere and transported by precipitation possess ice-nucleation-active proteins (Ice Nucleation Proteins, INPs), which can promote ice formation at relatively high temperatures compared with spontaneous nucleation.

This contribution proposes an interdisciplinary hypothesis bridging atmospheric microbiology and snow science: the presence of ice-nucleating microorganisms within the snowpack could locally influence the freezing and refreezing of liquid water in snow, potentially contributing to the formation or persistence of ice crusts.

Under specific stratigraphic conditions, such crusts may represent important discontinuities within the snowpack and, when associated with the presence or subsequent formation of weak layers, may contribute to the development of stratigraphic structures relevant to snowpack stability. The proposed hypothesis is currently not supported by direct experimental evidence and therefore does not allow any effect of the biological component on snowpack stability or avalanche release to be established or quantified. However, integrating microbiological sampling, characterization of ice-nucleating activity, and snowpack analysis could help investigate potential relationships between ice-nucleating microorganisms, freezing and refreezing processes, and the evolution of snowpack stratigraphy.

Il manto nevoso è tradizionalmente studiato come un sistema fisico la cui evoluzione è regolata da variabili meteorologiche e processi di metamorfismo. Tuttavia, la neve ospita anche una componente biologica ancora poco considerata in ambito nivologico. Alcuni microorganismi presenti nell'atmosfera e nelle precipitazioni producono Ice Nucleation Proteins (INPs), proteine capaci di favorire la nucleazione del ghiaccio a temperature relativamente elevate. Il presente contributo propone un'ipotesi interdisciplinare tra microbiologia atmosferica e nivologia: la presenza di microorganismi ice-nucleating all'interno del manto potrebbe influenzare localmente i processi di congelamento e rigelo, favorendo la formazione o la persistenza di croste ghiacciate. In determinate configurazioni stratigrafiche, queste potrebbero costituire superfici di discontinuità o scorrimento e contribuire alla predisposizione del manto al distacco di valanghe. L'ipotesi non è attualmente supportata da evidenze sperimentali dirette e non consente di quantificare l'influenza della componente biologica sulla stabilità del manto. L'integrazione tra campionamento microbiologico e analisi nivologica potrebbe tuttavia permettere di verificare eventuali correlazioni tra microorganismi ice-nucleating, processi di nucleazione del ghiaccio ed evoluzione della struttura del manto nevoso.



INTRODUZIONE

Negli ultimi anni l'attenzione della ricerca scientifica si è progressivamente estesa verso il ruolo dei microorganismi - quali batteri, virus, funghi o microalghe - presenti in atmosfera nei processi meteorologici e nelle trasformazioni che avvengono una volta che essi vengono depositati nel manto nevoso. Tra questi, alcuni batteri e funghi sono in grado di produrre particolari proteine, denominate Ice Nucleation Proteins (INPs), capaci di favorire il congelamento dell'acqua a temperature relativamente elevate rispetto alla normale nucleazione spontanea.

Questi microorganismi, presenti nell'atmosfera, nelle precipitazioni nevose e nelle particelle trasportate dalle masse d'aria, potrebbero influenzare indirettamente la struttura dei cristalli e quindi del manto nevoso e, potenzialmente, la stabilità dei versanti innevati.

Sebbene il tema sia ancora poco esplorato nell'ambito nivologico, una possibile ipotesi scientifica suggerisce che la presenza di elevate concentrazioni di microorganismi ice-nucleating potrebbe contribuire, insieme ai processi fisici già noti, a modificare i processi di metamorfismo della neve, favorendo localmente la formazione di croste ghiacciate che, qualora persistano nel tempo e siano associate a idonee configurazioni stratigrafiche, potrebbero costituire superfici favorevoli allo scorri-

mento, aumentando così la predisposizione al distacco di valanghe.

COSA SONO LE ICE NUCLEATION PROTEINS?

Le Ice Nucleation Proteins (INPs) sono proteine prodotte principalmente da alcuni batteri, tra cui il più noto è *Pseudomonas syringae* (Bieber and Borduas-Dedekind, 2024; Maki et al., 1974). Queste proteine sono prodotte e rilasciate dalla cellula batterica sulla propria membrana esterna. La caratteristica più rilevante delle Ice Nucleation Proteins è la loro capacità di organizzare le molecole d'acqua in una disposizione geometrica simile a quella che si viene a formare nel reticolo cristallino del ghiaccio (figura 1). In condizioni normali, la formazione spontanea dei primi cristalli di ghiaccio richiede il superamento di una barriera energetica associata alla creazione di un nucleo stabile di ghiaccio. Le INPs riducono questa barriera energetica fornendo una superficie che favorisce l'allineamento delle molecole d'acqua e la loro aggregazione ordinata. Una volta raggiunta una certa dimensione critica, questi aggregati evolvono rapidamente in cristalli di ghiaccio.

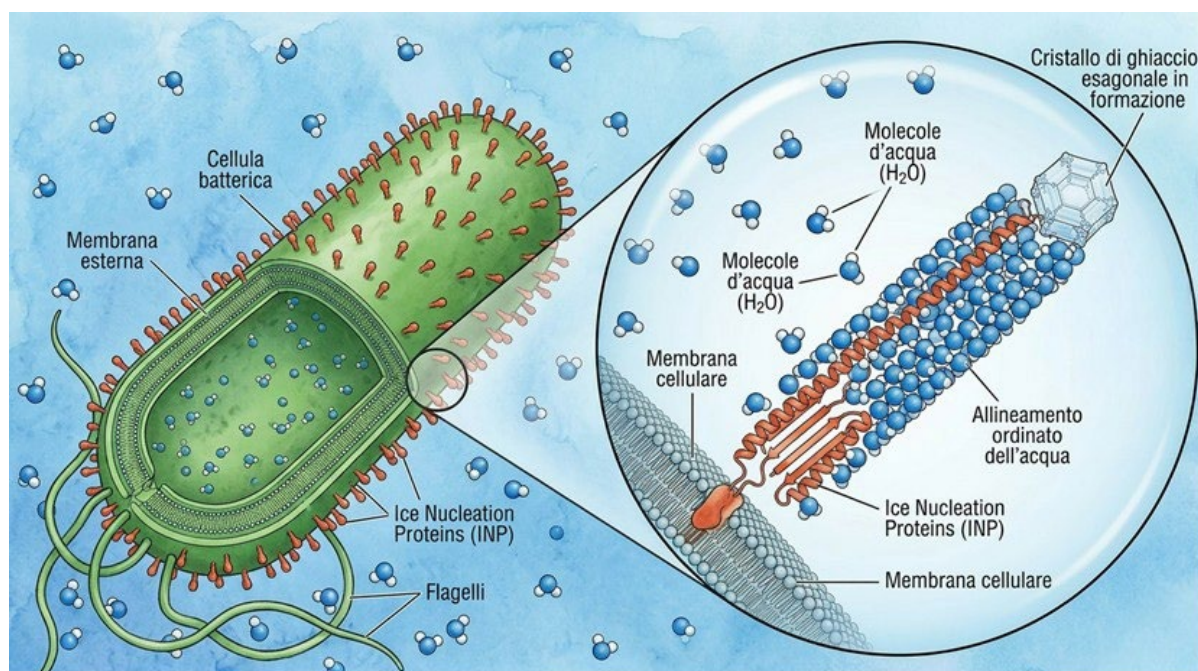
Grazie a questo meccanismo, l'inizio del congelamento può avvenire a temperature relativamente elevate, generalmente comprese tra -2 °C e -10 °C, mentre in na-

tura, senza queste proteine, l'acqua pura richiederebbe temperature inferiori a -38° C per congelare spontaneamente (Hansen et al., 2023; Roeters et al., 2021).

La presenza di nuclei di congelamento di origine biologica, come quelli associati alle INPs, modifica quindi in modo significativo questo comportamento, anticipando e favorendo il processo di congelamento. Per quanto riguarda la loro funzione biologica, sono state formulate diverse ipotesi. Una delle più accreditate suggerisce che la nucleazione del ghiaccio possa favorire il danneggiamento dei tessuti vegetali, facilitando il rilascio di nutrienti disponibili per i batteri che colonizzano la superficie delle piante (Lindow, 1983; Morris et al., 2008). Un'altra ipotesi propone che la formazione di ghiaccio favorisca il ciclo atmosferico dei batteri, facilitandone la dispersione nell'ambiente attraverso precipitazioni quali neve o grandine, che agirebbero come vettori di trasporto (Morris et al., 2008; Vali, 1995). Più in generale, si ritiene che la produzione di INPs rappresenti un adattamento ecologico vantaggioso negli ambienti soggetti a stress termico e a frequenti cicli di gelo-disgelo, sebbene il loro ruolo evolutivo non sia ancora completamente chiarito.

Le specie batteriche che producono Ice Nucleation Proteins sono diffuse in numerosi ecosistemi. Il principale habitat conosciuto è la superficie delle piante (fillosfera),

Figura 1: meccanismo di nucleazione del ghiaccio mediato da Ice Nucleation Proteins (INPs) prodotte dai batteri. Una cellula batterica produttrice di INP presenta queste proteine sulla membrana esterna. Il processo di nucleazione del ghiaccio avviene perché le INPs fungono da nucleo di congelamento, favorendo l'ordinamento delle molecole d'acqua (H₂O) nelle immediate vicinanze della superficie cellulare. Questo allineamento innesca la formazione di un nucleo di ghiaccio e promuove la crescita del cristallo a temperature molto più alte rispetto a quelle a cui congelerebbe l'acqua pura. Figura generata tramite Firefly Adobe.



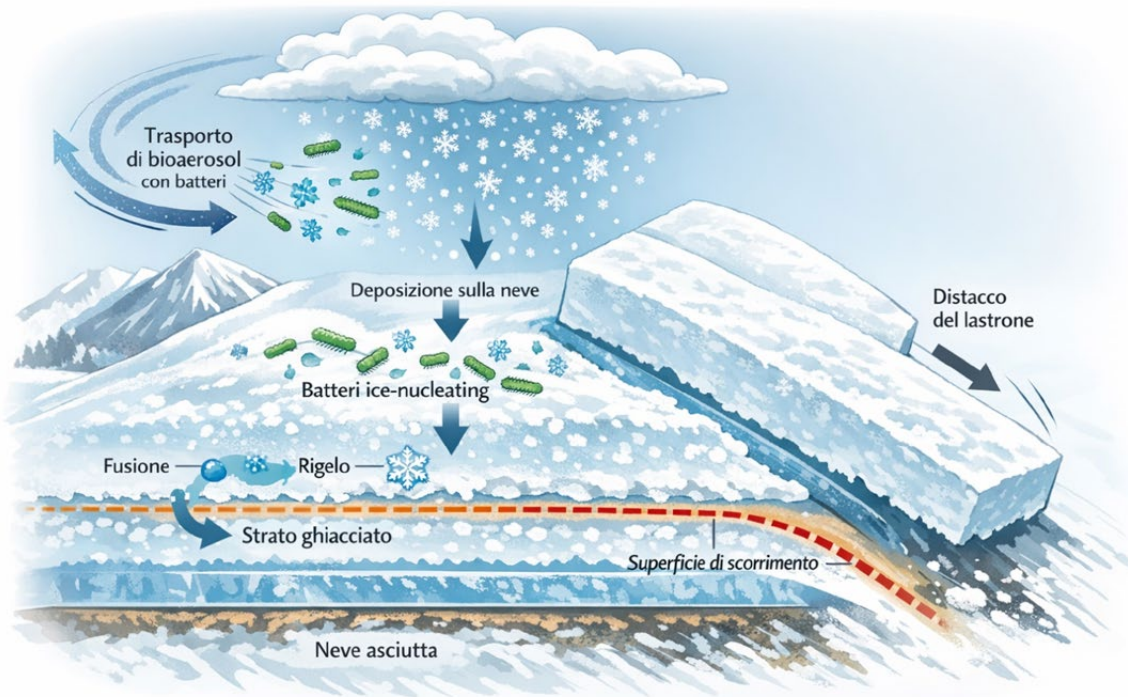


Figura 2: schema concettuale del possibile ruolo dei microorganismi ice nucleating nella formazione di superfici di scorrimento nel manto nevoso. Figura generata tramite ChatGPT.

Immagine 3: area di studio: Col du Lautaret, Francia.

dove *Pseudomonas syringae* e altre specie ice-nucleating sono particolarmente abbondanti (Hirano and Upper, 2000; Lorv et al., 2014). Ceppi batterici dotati di attività nucleante sono stati inoltre isolati da residui vegetali in decomposizione, suoli agricoli e altri ecosistemi terrestri associati alla vegetazione, suggerendo che tali ambienti costituiscano importanti serbatoi di nuclei biologici di congelamento (Hirano and Upper, 2000; Maki et al., 1974).

Le attività agricole, il vento, il sollevamento di polveri e gli spruzzi d'acqua possono successivamente trasferire questi microrganismi o frammenti cellulari contenenti INP, nell'atmosfera sotto forma di aerosol biologici. Una volta entrati nelle masse d'aria, essi possono essere trasportati per centinaia o migliaia di chilometri, contribuendo ai processi di nucleazione del ghiaccio all'interno delle nubi (figura 2). Dal punto di vista atmosferico, tali microrganismi agiscono come particelle di nucleazione (ice nucleating particles), contribuendo alla formazione di neve e grandine all'interno delle nubi. Numerosi studi hanno infatti individuato batteri che producono attivamente queste proteine nelle precipitazioni nevose, nei nuclei di grandine e negli aerosol atmosferici (Christner et al., 2008; De Araujo et al., 2019; Failor et al., 2017; Hill et al., 2014; Joly et al., 2013; Morris et al., 2008).





Immagine 4: Fase di campionamento dei microorganismi all'interno del manto nevoso, Col du Lautaret, Francia.

POSSIBILI IMPLICAZIONI PER IL MANTO NEVOSO

L'aspetto più interessante, dal punto di vista nivologico, riguarda il possibile effetto che questi microorganismi potrebbero avere una volta depositati all'interno del manto nevoso. Durante una nevicata, associata a masse d'aria ricche di particelle biologiche e microorganismi, questi possono essere incorporati nei diversi strati della neve. In presenza di oscillazioni termiche attorno a 0°C, cicli di fusione e rigelo o marcati gradienti di temperatura, le pro-

prietà ice-nucleating delle Ice Nucleation Proteins potrebbero teoricamente favorire una maggiore rapidità nella formazione di ghiaccio, la crescita di cristalli, la formazione localizzata di croste da rigelo e la creazione di superfici compatte e lisce tra strati nevosi differenti.

Sebbene questa ipotesi non sia stata dimostrata sperimentalmente e richieda ulteriori approfondimenti, è plausibile che tali effetti possano interagire con i processi fisici già noti che governano il metamorfismo della neve. Qualora favorissero la formazione o la persistenza di croste ghiacciate,

queste potrebbero contribuire alla formazione di superfici di scorrimento all'interno del manto nevoso, soprattutto nel caso di successive nevicate che si depositano sopra uno strato debole inglobato (figura 2). Dal punto di vista della stabilità del manto nevoso, è noto che la presenza di croste ghiacciate superficiali o intermedie può contribuire alla formazione di configurazioni stratigrafiche favorevoli al distacco di valanghe

In tali condizioni, la crosta costituisce un livello relativamente rigido e continuo che può influenzare la distribuzione delle tensioni all'interno del manto nevoso, favorendo l'innescò e la propagazione della frattura nello strato debole adiacente e aumentando la probabilità del distacco (Gaume et al., 2017; Van Herwijnen and Jamieson, 2007).

UN'IPOTESI ANCORA APERTA

È importante sottolineare che, allo stato attuale delle conoscenze, non esistono evidenze dirette che colleghino in modo quantitativo la presenza di microorganismi ice-nucleating all'innescò delle valanghe. La possibile relazione tra questi organismi e la stabilità del manto nevoso rappresenta per ora un'ipotesi interdisciplinare tra microbiologia, fisica della neve e nivologia. Tuttavia, il fatto che le Ice Nucleation Proteins biologiche siano tra i nuclei di congelamento più efficienti conosciuti e batteri come *Pseudomonas syringae* siano stati identificati all'interno di neve, grandine e aerosol atmosferici (De Araujo et al., 2019; Morris et al., 2008) rende questa prospettiva particolarmente interessante e meritevole di ulteriori approfondimenti.

Attualmente, i modelli previsionali impiegati in nivologia per la valutazione e l'analisi del manto nevoso e di conseguenza del pericolo valanghe si basano prevalentemente su variabili fisiche e meteorologiche, quali temperatura dell'aria, precipitazioni, vento, umidità e radiazione, per simulare l'evoluzione della stratigrafia e i processi di metamorfismo della neve. La componente biologica non è general-

mente considerata tra i parametri di input. Qualora futuri studi dimostrassero un ruolo significativo delle particelle biologiche nel processo di nucleazione del ghiaccio e nella microstruttura della neve, potrebbe risultare rilevante includerla come variabile aggiuntiva nei modelli fisici e statistici di previsione. Allo stato attuale, tuttavia, le conoscenze disponibili non consentono di quantificare in maniera affidabile l'incidenza della componente biologica sulla stabilità del manto nevoso né sulla probabilità di distacco delle valanghe.

Lo sviluppo di tecniche avanzate di campionamento microbiologico della neve, integrate con analisi del manto nevoso (figura 4), potrebbe in futuro consentire di verificare l'esistenza di eventuali correlazioni tra condizioni atmosferiche, concentrazione di particelle biologiche e formazione di specifiche strutture del manto nevoso, contribuendo così a chiarire il ruolo dei microorganismi nei processi di evoluzione della neve.

CONCLUSIONI

Tradizionalmente la neve viene studiata come un materiale fisico la cui evoluzione è influenzata principalmente da temperatura, vento, precipitazioni, umidità e radiazione. Tuttavia, il manto nevoso rappresenta anche un ecosistema complesso, popolato da microorganismi che vivono e svolgono attivamente i loro processi biologici e che possono influenzare, direttamente o indirettamente, alcuni processi fisici.

L'ipotesi che microorganismi produttori di Ice Nucleation Proteins possano contribuire, almeno in parte, ai processi che portano alla formazione di croste ghiacciate o superfici di discontinuità all'interno del manto nevoso apre una prospettiva di ricerca innovativa, ancora largamente inesplorata. Pur trattandosi di un ambito ancora speculativo, l'integrazione tra microbiologia atmosferica e nivologia potrebbe aprire nuove prospettive per comprendere i processi che regolano l'evoluzione del manto nevoso e, in futuro, contribuire al miglioramento dei modelli di previsione del pericolo valanghe.

BIBLIOGRAFIA

- ▶ BIEBER, P., BORDUAS-DEDEKIND, N., 2024. High-speed cryo-microscopy reveals that ice-nucleating proteins of *Pseudomonas syringae* trigger freezing at hydrophobic interfaces. *Sci. Adv.* 10, eadn6606. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adn6606>
- ▶ CHRISTNER, B.C., CAI, R., MORRIS, C.E., MCCARTER, K.S., FOREMAN, C.M., SKIDMORE, M.L., MONTROSS, S.N., SANDS, D.C., 2008. Geographic, seasonal, and precipitation chemistry influence on the abundance and activity of biological ice nucleators in rain and snow. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 18854–18859. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809816105>
- ▶ DE ARAUJO, G.G., RODRIGUES, F., GONÇALVES, F.L.T., GALANTE, D., 2019. Survival and ice nucleation activity of *Pseudomonas syringae* strains exposed to simulated high-altitude atmospheric conditions. *Sci Rep* 9, 7768. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44283-3>
- ▶ FAILOR, K.C., SCHMALE, D.G., VINATZER, B.A., MONTEIL, C.L., 2017. Ice nucleation active bacteria in precipitation are genetically diverse and nucleate ice by employing different mechanisms. *The ISME Journal* 11, 2740–2753. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.124>
- ▶ GAUME, J., VAN HERWIJNEN, A., CHAMBON, G., WEVER, N., SCHWEIZER, J., 2017. Snow fracture in relation to slab avalanche release: critical state for the onset of crack propagation. *The Cryosphere* 11, 217–228. <https://doi.org/10.5194/tc-11-217-2017>
- ▶ HANSEN, T., LEE, J., REICHER, N., OVADIA, G., GUO, S., GUO, W., LIU, J., BRASLAVSKY, I., RUDICH, Y., DAVIES, P.L., 2023. Ice nucleation proteins self-assemble into large fibres to trigger freezing at near 0 °C. *eLife* 12, RP91976. <https://doi.org/10.7554/eLife.91976>
- ▶ HILL, T.C.J., MOFFETT, B.F., DEMOTT, P.J., GEORGAKOPOULOS, D.G., STUMP, W.L., FRANC, G.D., 2014. Measurement of Ice Nucleation-Active Bacteria on Plants and in Precipitation by Quantitative PCR. *Appl Environ Microbiol* 80, 1256–1267. <https://doi.org/10.1128/AEM.02967-13>
- ▶ HIRANO, S.S., UPPER, C.D., 2000. Bacteria in the Leaf Ecosystem with Emphasis on *Pseudomonas syringae* — a Pathogen, Ice Nucleus, and Epiphyte. *Microbiol Mol Biol Rev* 64, 624–653. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.3.624-653.2000>
- ▶ JOLY, M., ATTARD, E., SANCELME, M., DEGUILLAUME, L., GUILBAUD, C., MORRIS, C.E., AMATO, P., DELORT, A.-M., 2013. Ice nucleation activity of bacteria isolated from cloud water. *Atmospheric Environment* 70, 392–400. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.01.027>
- ▶ LORV, J.S.H., ROSE, D.R., GLICK, B.R., 2014. Bacterial Ice Crystal Controlling Proteins. *Scientifica* 2014, 1–20. <https://doi.org/10.1155/2014/976895>
- ▶ MAKI, L.R., GALYAN, E.L., CHANG-CHIEN, M.-M., CALDWELL, D.R., 1974. Ice Nucleation Induced by *Pseudomonas syringae*. *Appl Microbiol* 28, 456–459. <https://doi.org/10.1128/am.28.3.456-459.1974>
- ▶ MORRIS, C.E., SANDS, D.C., VINATZER, B.A., GLAUX, C., GUILBAUD, C., BUFFIÈRE, A., YAN, S., DOMINGUEZ, H., THOMPSON, B.M., 2008. The life history of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* is linked to the water cycle. *The ISME Journal* 2, 321–334. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.113>
- ▶ ROETERS, S.J., GOLBEK, T.W., BREGNHØJ, M., DRACE, T., ALAMDARI, S., ROSEBOOM, W., KRAMER, G., ŠANTL-TEMKIV, T., FINSTER, K., PFAENDTNER, J., WOUTERSEN, S., BOESEN, T., WEIDNER, T., 2021. Ice-nucleating proteins are activated by low temperatures to control the structure of interfacial water. *Nat Commun* 12, 1183. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21349-3>
- ▶ VALI G. Principles of ice nucleation. Chapter 1. in "Biological Ice Nucleation and Its Applications" R.E. Lee Jr. and G.J. Warren editors, APS Press, St. Paul, Minnesota. pp.1 - 28. 1995.
- ▶ VAN HERWIJNEN, A., JAMIESON, B., 2007. Snowpack properties associated with fracture initiation and propagation resulting in skier-triggered dry snow slab avalanches. *Cold Regions Science and Technology* 50, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2007.02.004>