



XII Convegno Nazionale **Biodiversità Ambienti, Salute**

Università degli Studi di Teramo
Campus A. Saliceti | 13-15 Giugno 2018



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TERAMO



Studio della diversità cianobatterica e microalgale nelle acque interne: dall'approccio tradizionale ai metodi 'OMICS'

Cyanobacterial and microalgal diversity assessment in inland waters: from the traditional approaches to the 'OMICS' methods

Nico Salmaso¹

¹ Research and Innovation Centre, Fondazione Edmund Mach (FEM), San Michele all'Adige, IT, nico.salmaso@fmach.it

RIASSUNTO

Lo studio della diversità dei cianobatteri e delle microalghe in ambienti acquatici è tradizionalmente svolto mediante l'esame microscopico dei campioni e l'uso di tecniche molecolari applicate a colture unialgali (amplificazione PCR di marcatori molecolari, sequenziamento e analisi filogenetiche). Relativamente ai cianobatteri, una corretta identificazione è della massima importanza, data la capacità di questo gruppo di produrre un'ampia varietà di tossine. Nondimeno, l'uso di questi approcci tradizionali negli studi ambientali presenta molti limiti, in quanto tende a sottostimare il numero di taxa e, nel caso delle sole osservazioni microscopiche, a produrre in molti casi identificazioni tassonomiche ambigue. Ciò è particolarmente vero nel rilevamento degli individui rari oppure degli individui più piccoli che, in habitat specifici, possono costituire una frazione dominante del plancton. Questo problema è stato solo parzialmente risolto con l'uso dei metodi tradizionali di identificazione indipendenti dalle colture, quali l'elettroforesi su gel (per es. DGGE), la CARD-FISH, e il clonaggio e se-

quenziamento. Questa situazione è radicalmente cambiata con l'avvento delle nuove tecnologie High Throughput Sequencing (HTS), che hanno aperto nuove prospettive nella valutazione della diversità biologica e funzionale. Le tecniche di "marker gene amplification metagenomics" permettono, attraverso l'amplificazione massiva di marcatori specifici (p. es. geni 16S rRNA), di ottenere numerosissime sequenze rappresentative del DNA estratto da campioni ambientali (eDNA). A titolo esemplificativo, l'applicazione di questa tecnica in campioni raccolti nel Lago di Garda ha permesso di identificare una varietà di cianobatteri molto più ampia rispetto a quella stimata con l'utilizzo dei soli metodi microscopici, evidenziando un'importante presenza di taxa di piccole dimensioni appartenenti a diverse specie di Synechococcales e Chroococcales, e grandi colonie di Nostocales (*Gloeotrichia echinulata*). Sempre con questa tecnica, è stata evidenziata la presenza dei nuovi taxa cianobatterici non-fotosintetici di recente scoperta, e mai identificati finora nei grandi laghi a sud delle Alpi, appartenenti

ai Melainabacteria e ML635J-21. Associando l'utilizzo di specifici marcatori (p. es. *rbcL*) a librerie di riferimento di DNA, l'applicazione delle tecniche di metabarcoding in diversi altri ambienti si è rivelata inoltre particolarmente efficace nel riconoscimento delle diatomee. Tuttavia, l'applicazione delle tecniche di marker gene amplification non è esente da complicazioni a causa della bassa risoluzione dei geni maggiormente utilizzati (p. es. 16S rRNA nei batteri e 18S rRNA negli eucarioti), dei limiti inerenti alle pipeline bioinformatiche più comuni, dell'incompletezza dei database di DNA di riferimento e della natura semi quantitativa delle tecniche HTS. Una più ampia adozione delle tecniche al momento meno diffuse, quali shotgun metagenomics e "Next Next" Generation Sequencing (sequenziamento di singole molecole), e degli approcci multi-omici permetterà non solo di aumentare il livello di risoluzione tassonomica, ma anche di studiare la funzionalità a livello di specie e comunità. ♦