

Relazione finale sul periodo trascorso dal Dr. Stefano Ventura, Primo Ricercatore dell'ISE, presso il Dr. Pavel Hrouzek e colleghi all'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca, Trebon, nel quadro di un finanziamento Short Term Mobility del CNR.

Ho trascorso il periodo di fruizione della Short Term Mobility in Repubblica Ceca dal 5 al 26/11/2013.

Durante questo periodo ho frequentato quotidianamente la sede di Trebon dell'Istituto di Microbiologia dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca e in più di una occasione ho incontrato alcuni colleghi all'Istituto di Botanica dell'Accademia delle Scienze sempre a Trebon. Durante le tre settimane di soggiorno ho lavorato più assiduamente con tre colleghi, ma ne ho incontrati vari altri. Tutto il lavoro svolto durante il periodo è stato concordato e organizzato assieme al partner principale, il Dr. Pavel Hrouzek, ricercatore dell'Istituto di Microbiologia, dal quale avevo ricevuto l'invito e con il quale avevamo programmato il soggiorno; con lui ho una collaborazione continuativa che risale all'inizio degli anni duemila, quando era ancora uno studente. La presentazione delle attività svolte durante il periodo di fruizione segue le tematiche di ricerca trattate, riportando per ognuna anche i nomi dei colleghi con i quali collaboro.

Filogenesi e tassonomia di cianobatteri appartenenti al genere *Nostoc*

Partner principale Pavel Hrouzek, Istituto di Microbiologia dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca. Altri collaboratori: Claudio Sili, Cristina Mascalchi ISE-CNR Firenze, Jiri Komarek e Jan Mares Istituto di Botanica dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca, Alena Lukesova Istituto di Biologia del Suolo dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca.

I cianobatteri identificati su base morfologica come appartenenti al genere *Nostoc* sono diffusi in tutti i climi e le latitudini, dove colonizzano una grande varietà di habitat ad esclusione di quelli marini. Questi organismi rivestono un ruolo ecologico di grande importanza per la loro sviluppata capacità di adattamento alle fluttuazioni delle condizioni ambientali, alla disponibilità di nutrienti e a fattori di stress quali essiccazione, alto irraggiamento anche UV, ampie variazioni di temperatura. In quanto organismi fotoautotrofi e azotofissatori sono in grado di svilupparsi in condizioni di oligotrofia. I cianobatteri che condividono le caratteristiche morfologiche di base e il ciclo di sviluppo riconducibili al genere *Nostoc* appartengono però a branche non direttamente collegate all'interno della radiazione filogenetica dei cianobatteri eterocitici. Il genere *Nostoc* classicamente definito rappresenta quindi un insieme polifiletico di organismi. Ciò ha forti ripercussioni scientifiche ma anche applicative, a causa dell'uso massiccio di ceppi cianobatterici identificati come *Nostoc* in vari settori tecnologici. Si può citare come esempio il ceppo PCC 7120, alternativamente identificato come *Nostoc* sp., *Nostoc muscorum*, *Anabaena* sp. *Trichormus* sp., e che dal nostro studio appare chiaramente come non appartenga ad alcuno di questi taxa. Negli anni passati il gruppo di ricerca ha condotto uno studio approfondito su molte decine di ceppi operativamente identificati come *Nostoc* sp. Applicando un approccio polifasico basato sulla comparazione di dati morfologici, morfometrici, esame comparato del ciclo di sviluppo e determinazione della posizione filogenetica tramite analisi della sequenza del gene dell'RNA ribosomiale 16S. I risultati di questo studio si sono già concretizzati in alcune pubblicazioni, fra le quali l'ultima di pochi mesi or sono sulla definizione del nuovo genere *Desmonostoc* e sulla conseguente rinomina della specie *Nostoc muscorum* a *Desmonostoc muscorum* assieme a un certo numero di isolati precedentemente identificati come *Nostoc* sp. Tutti questi organismi sono evolutivamente correlati e mostrano peculiarità morfologiche e del ciclo vitale facilmente identificabili. Durante la visita è stata attentamente valutata la gran quantità di dati ottenuti su tutti i

ceppi identificati come *Nostoc* e sottoposti a studio negli ultimi anni e si è effettuata una revisione della loro analisi filogenetica anche nel quadro più ampio della filogenesi di tutti i cianobatteri eterocitici non ramificati. Abbiamo verificato con precisione l'esistenza di varie unità filogeneticamente coerenti e abbiamo predisposto una nuova pubblicazione che comprenda una discussione allargata a tutto il genere *Nostoc* e la identificazione di tutti i raggruppamenti filogenetici che lo attualmente lo compongono. Nella pubblicazione sarà anche inserita la descrizione di un nuovo genere che includa il ceppo PCC 7120 e i ceppi ad esso correlati. Completata l'analisi filogenetica il lavoro viene svolto in queste settimane separatamente da me e dal collega Hrouzek procedendo alla stesura del manoscritto della pubblicazione. In successive pubblicazioni verranno formalizzate tutte le descrizioni di nuovi generi necessarie ad una tassonomia che rispecchi la filogenesi.

Ecologia e biodiversità dei cianobatteri della Groenlandia

Partner principale Ondrej Komarek, Istituto di Microbiologia dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca. Altri collaboratori: Claudio Sili, Cristina Mascalchi, Luigi D'Acqui ISE-CNR Firenze, Jiri Komarek Istituto di Botanica dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca, Jarka Komarkova Istituto di Idrobiologia dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca, Pavel Hrouzek Istituto di Microbiologia dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca.

Questa attività deriva dalla partecipazione congiunta allo user group MICROTEA del quale sono leader che opera nella Transnational Access Action del programma EU INTERACT, finalizzata all'accesso ad un network di stazioni scientifiche artiche. Durante le estati 2012 e 2013 lo user group MICROTEA ha visitato rispettivamente Arctic Station sull'isola Disko nella Groenlandia occidentale e Zackenberg Station nella Groenlandia nord-orientale, stazioni caratterizzate da condizioni ambientali profondamente differenti. Sui numerosissimi campioni raccolti sono in corso autonomamente studi approfonditi nei laboratori dei membri di MICROTEA ma il periodo da me trascorso in Repubblica Ceca ha dato l'opportunità di iniziare un lavoro congiunto, da proseguire tramite scambi di prodotti della ricerca e di dati nel corso dei prossimi mesi. Si è trattato di pianificare ed intraprendere uno studio sulla diversità dei cianobatteri artici presenti in quegli ambienti e sulla caratterizzazione delle popolazioni cianobatteriche locali. Abbiamo iniziato un protocollo di isolamenti dai campioni raccolti che continuerà in parallelo nei nostri due laboratori. Abbiamo anche concordato un protocollo di caratterizzazione della comunità cianobatterica degli ambienti studiati tramite un doppio approccio: determinazione dei morfotipi componenti la comunità tramite osservazione al microscopio ottico ed esecuzione di fingerprint molecolari ARISA (Amplified Ribosomal InterSpace Analysis) e T-RFLP (Terminal fragment – Restriction Fragment Length Polymorphism), col fine di descrivere la diversità cianobatterica negli ambienti delle due stazioni artiche. Il lavoro si inserisce in una più ampia caratterizzazione delle comunità cianobatteriche attraverso l'artico che include anche studi precedenti e tuttora in corso nelle isole Svalbard, principalmente presso la Stazione CNR a Ny-Ålesund.

Analisi tassonomica della morfospécie *Nostoc cf. commune*

Partner principale Ondrej Komarek, Istituto di Microbiologia dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca. Altri collaboratori: Claudio Sili, Cristina Mascalchi, Luigi D'Acqui ISE-CNR Firenze, Pavel Hrouzek Istituto di Microbiologia dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca, Matthias Zielke, Bioforsk, Tromsø, Norvegia.

Lo studio è anche esso basato in gran parte su campioni raccolti durante le campagne INTERACT, da confrontare con campioni raccolti negli anni precedenti nelle isole Svalbard e in misura minore in altre località dell'artico. *Nostoc commune* presenta una morfologia delle macrocolonie tipica e ben riconoscibile: lamine gommose ondulate o arriciate che in condizioni di intensa idratazione si sviluppano adagiate sul substrato ma chiaramente separate da esso. Le macrocolonie cianobatteriche riconducibili a tale forma si ritrovano in una grande varietà di ambienti, temperati, montani e artici. Abbiamo quindi deciso di utilizzare questa morfospécie ben riconoscibile, ben separata dal

substrato sul quale si sviluppa e a distribuzione geografica molto estesa per verificare alcune idee e ipotesi riguardo alla natura e distribuzione delle specie cianobatteriche nell'ambiente. Sono state infatti formulate proposte di identificare le specie cianobatteriche sulla base della loro morfologia cellulare e coloniale, di caratteristiche del ciclo vitale e della loro ecologia, arrivando ad ipotizzare una forte limitazione geografica per la loro distribuzione. Il nostro progetto è di paragonare fra di loro campioni di *Nostoc* cf. *commune* raccolti in varie parti del mondo per verificarne la relazione filogenetica e le eventuali differenze a livello morfologico e del ciclo di sviluppo. Il protocollo sperimentale prevede di lavorare sia sulle lamine tal quali sia su ceppi cianobatterici da esse isolati e coltivati in coltura pura. Le domande alle quali vogliamo rispondere riguardano la presenza di un solo o più ceppi cianobatterici all'interno della stessa lamina, cioè della stessa macrocolonia, la precisa identificazione di tutte le specie che danno luogo alla morfologia laminare, la loro distribuzione geografica. Durante la visita abbiamo determinato con precisione il protocollo sperimentale per lo studio e iniziato le procedure di isolamento in coltura pura dei componenti delle popolazioni cianobatteriche delle lamine.

Collezione di colture di ceppi cianobatterici isolati da ambienti estremi a fini biotecnologici

Partner principale Pavel Hrouzek, Istituto di Microbiologia dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca. Altri collaboratori: Claudio Sili, Cristina Mascaldi ISE-CNR Firenze, Ondrej Komarek, Istituto di Microbiologia dell'Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca.

L'attività ha riguardato la revisione della collezione di ceppi cianobatterici appartenenti al genere *Nostoc* isolati da ambienti polari artici e antartici del mio laboratorio, al fine di eseguire su di essa uno studio sistematico sulla produzione di sostanze bioattive e citotossiche per potenziali applicazioni in campo biomedico. Oltre all'revisione della collezione attualmente in nostro possesso, il lavoro prevede, tramite l'inclusione di Ondrej Komarek nel team, di procedere a nuovi isolamenti di ceppi cianobatterici dai campioni raccolti nelle campagne artiche 2012 e 2013 e nelle campagne artiche e antartiche dei prossimi 12 mesi. L'analisi colturale, la selezione degli eventuali ceppi attivi e l'analisi di spettrometria di massa sugli estratti verranno effettuate nel laboratorio di Pavel Hrouzek.

Conclusioni

Il periodo di tre settimane da me trascorso in Repubblica Ceca ha permesso di concludere le procedure analitiche, di iniziare la stesura di un manoscritto e di pianificarne altri sulla revisione tassonomica e filogenetica del genere *Nostoc*; di razionalizzare e pianificare lo sviluppo nelle attività di laboratorio delle campagne artiche 2012 e 2013 da me intraprese assieme a uno dei colleghi visitati; di focalizzare un nuovo studio tassonomico e biogeografico sulla specie *Nostoc commune*; di raggiungere un accordo produttivo per l'investigazione sistematica di un'ampia collezione di ceppi cianobatterici di origine polare alla ricerca di potenziali applicazioni biotecnologiche in campo biomedico. Il periodo trascorso ha quindi permesso di concretizzare studi comuni già intrapresi da tempo e che proseguiranno con regolarità nel futuro, di ampliare il livello di collaborazione con alcuni colleghi e di aprire nuove interessanti prospettive di ricerca congiunta.

17/01/2014



Dr. Stefano Ventura
Primo Ricercatore

ISE - CNR - ISE	
Tit.:	Cl. F:
N. 0000110	17/01/2014
	