

Analisi di similarità della popolazione fungina di compost Europei tramite ITS-DGGE

Selma Franceschini* - Massimo Pugliese*,** - Angelo Garibaldi* - Maria Lodovica Gullino*,**

*Centro di Competenza per l'Innovazione in Campo Agroambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

**Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari DISAFA – Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

La rDNA-DGGE è una tecnica molecolare utilizzata per studiare, tramite impronte digitali, le popolazioni microbiche in vari tipi di campioni ambientali (Ercolini 2004; Xu *et al.*, 2013). La tecnica, nonostante le limitazioni, quando confrontata con altri strumenti molecolari simili, come ARISA e T-RFLP, permette un'affidabile e corretta rappresentazione della struttura delle comunità microbiche terricole, mostrando inoltre la più chiara discriminazione tra le comunità fungine di quattro tipologie di uso del suolo analizzate (Okubo e Sugiyama, 2009).

Nel presente studio la tecnica di PCR-DGGE (Fig.21; pag. 53) è stata utilizzata per analizzare le popolazioni fungine di quindici compost differenti per origine geografica e tipologia di materiale di partenza.

Il DNA metagenomico è stato ottenuto da sottocampioni di compost di 0.5g tramite il Soil Kit (Macherey-Nagel®) seguendo le istruzioni del manuale. I profili delle comunità fungine sono stati determinati in accordo alla tecnica descritta da Ferrocino *et al.*, (2013).

L'analisi delle similarità si è basata sulla matrice di presenza/assenza delle bande all'interno di ciascun profilo valutata in modo manuale tramite l'ausilio del programma PVELPH. Sulle matrici ottenute sono state condotte due tipi di analisi: l'analisi UPGMA in base all'indice di Jaccard e l'analisi Neighbour Joining usando l'indice di Dice. Per ciascun compost sono inoltre stati calcolati gli indici ecologici di diversità e dominanza utilizzando il programma di analisi statistica PAST.

In base all'analisi dei gruppi condotta utilizzando l'algoritmo UPGMA e l'indice di Jaccard si sono distinti tre maggiori gruppi tra i compost analizzati. La divisione ottenuta è stata sufficientemente coerente con i valori degli indici ecologici dei compost.

L'analisi con l'algoritmo Neighbour Joining utilizzando l'indice di Dice ha permesso anch'essa di risolvere tre gruppi all'interno di ciascuno dei quali è stato però possibile risolvere ulteriori due sottogruppi. Anche in questo caso gli indici ecologici si sono verificati in linea con i raggruppamenti ottenuti tramite l'analisi dei clusters.

In base alle analisi condotte nessuna particolare associazione si riscontra tra i campioni studiati in base alla tipologia di substrato (ad es. verde o misto), mentre sembra esistere una certa associazione legata alla provenienza geografica degli ammendanti analizzati, soprattutto per quanto riguarda i compost italiani e spagnoli.

Ringraziamenti

Lavoro svolto con un contributo dell'Unione Europea (7th Framework Programme of RTD, Theme 2 - Food, Agriculture and Fisheries, and Biotechnology), nell'ambito del progetto REFERTIL (c.n. 289785)

Lavori citati

ERCOLINI D. (2004) - PCR-DGGE fingerprinting: novel strategies for detection of microbes in food. *Journal of Microbiological Methods* 56, 297–314.

FERROCINO I., CHITARRA W., PUGLIESE M., GILARDI G., GULLINO M. L., GARIBALDI A. (2013) - Effect of elevated atmospheric CO₂ and temperature on disease severity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* on lettuce plants. *Applied Soil Ecology* 72, 1 – 6.

OKUBO A., SUGIYAMA S. (2009) - Comparison of molecular fingerprinting methods for the analysis of soil microbial community structure. *Ecological Research*, 24, 1399-1405.

XU Y., XIE Y., ZHANG X., CHEN C. (2013) - Monitoring of the bacterial and fungal biodiversity and dynamics during Massa Medicat Fermentata fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 27, 9647-9655.