

Comunità microbiche naturali come nuovi indicatori per valutare la qualità degli ecosistemi fluviali

Anna Barra Caracciolo, Paola Grenni

Istituto di Ricerca Sulle Acque – Consiglio Nazionale delle Ricerche (IRSA-CNR)
Via Salaria km 29, 300 Monterotondo (Roma)

SESSIONE 1

Riassunto

La qualità degli ecosistemi acquatici secondo la Diretta Quadro (WFD) si basa sull'analisi dei contaminanti prioritari (stato chimico) e sulla misura di indicatori ecologici quali es. i nutrienti e presenza di specie rappresentative dello stato trofico di un fiume. Tuttavia non viene considerato nessun legame tra lo stato chimico ed ecologico, né vengono considerati indicatori biologici in grado di riflettere la presenza di pressioni antropiche multiple (es. presenza di diversi tipi di contaminanti, variazioni di temperatura, di portata, ecc.).

Il Progetto europeo MicroCokit FP7-PEOPLE-2012-IAPP nasce con lo scopo di studiare ed identificare nelle comunità microbiche naturali dei bioindicatori utili a valutare la presenza di stress multipli negli ecosistemi fluviali. Tali bioindicatori permetteranno di rilevare gli effetti sinergici delle diverse pressioni che coinvolgono un ecosistema, supportare i risultati delle analisi chimiche ed ecologiche di routine ed aiutare le autorità competenti nel prendere azioni preventive e/o di recupero dalla contaminazione dei sistemi lotici.

Introduzione

La qualità dei corpi idrici superficiali secondo la WFD si basa su indicatori chimico-fisici (stato chimico) e su indicatori ecologici (stato ecologico). Tuttavia non viene attualmente considerata né una relazione tra lo stato ecologico e chimico, né la composizione delle comunità microbiche naturali. Il riconoscimento dell'importanza degli ecosistemi naturali e delle loro molteplici funzioni che generano una serie di beni e servizi per la popolazione umana ha ottenuto un crescente consenso, sia per quel che riguarda l'importanza della loro valutazione che per l'integrazione nelle decisioni di gestione delle risorse naturali e nella pianificazione del territorio. La maggior parte della ricerca sulla biodiversità e sulla conservazione degli ecosistemi rivolge l'attenzione verso gli organismi eucarioti tuttavia è importante riconoscere che molti servizi ecosistemici insostituibili sono forniti dalle comunità microbiche naturali. In particolare le popolazioni batteriche, grazie all'elevata abbondanza, all'ampia diffusione, al rapido tasso di crescita e alla loro vasta versatilità funzionale mostrano grandi capacità omeostatiche verso i disturbi ambientali e in particolare verso i composti xenobiotici. Gli effetti della contaminazione sulle comunità microbiche naturali possono essere essenzialmente di due tipi:

1. effetto negativo (scomparsa/inibizione) di popolazioni microbiche (*taxa sensibili*) che forniscono funzioni ecosistemiche essenziali (es. riciclo dei nutrienti, decomposizione sostanza organica, produzione nel caso degli organismi autotrofi) con conseguente perdita di servizi ecosistemici;
2. un contaminante può agire come forza selettiva allo sviluppo di popolazioni batteriche (*taxa indicatori di recupero*) che si adattano al contaminate e/o lo rimuovono. Quest'ultima

possibilità riflette la capacità omeostatica delle comunità microbiche naturali e la loro funzione di Regolazione di mantenimento della qualità delle acque.

Azioni e metodi utilizzati

Lo scopo principale del Progetto europeo MicroCokit (*Microbial Community-based sequencing analysis linked to anthropogenic pressures: MicroCoKit to address the water quality*) coordinato dall'IRSA-CNR (Anna Barra Caracciolo) è stato quello di identificare indicatori microbiologici che riflettano differenti tipi di pressioni antropiche al fine di fornire uno strumento innovativo ed utile per la valutazione dello stato di qualità delle acque.

MicroCokit Project è un progetto europeo People Marie Curie IAPP di collaborazione tra industria e ricerca con il fine di:

1. Studiare ed indentificare nuovi indicatori microbiologici di qualità ambientale
2. Mettere a punto protocolli di identificazione di microrganismi ambientali attraverso analisi basate su tecniche molecolari innovative
3. Mettere a punto metodologie per la valutazione della qualità dei corpi idrici da essere utilizzate attraverso kit commercializzabili
4. Trasferire le conoscenze metodologiche tra industria e accademia attraverso scambi di ricercatori tra i vari laboratori coinvolti
5. Trasferire le conoscenze metodologiche a giovani ricercatori attraverso workshop, training school e formazione individuale di giovani

Partner coinvolti: A. Barra Caracciolo IRSA-CNR Coordinatore; M.T. Lettieri, Joint Research Centre - European Commission, Ispra (Italy) - Institute for Environment and Sustainability - Water Resources; J. Hugget LGC Limited, Teddington, Middlesex (United Kingdom); G. Mengs, Natural Biotec SL (NTBC), Madrid (Spain); L. Medlin, The Marine Biological Association (MBA), London (UK). Sito web: www.microcokit.eu

Scambio di ricercatori tra i Partner <http://www.microcokit.eu/recruited/recruited.html>

Partecipanti IRSA-CNR: P. Grenni, L. Patrolecco, N. Ademollo

Il fiume Tevere è stato studiato come caso pilota e sono stati selezionati 4 punti di campionamento, dalla sorgente alla foce, in base al diverso grado di contaminazione: assenza di contaminazione, contaminazione di tipo agricolo, industriale e di origine urbana. Sono stati effettuati 5 campionamenti nei 4 punti selezionati per due anni consecutivi dove sono stati analizzati il carbonio organico disciolto, i principali parametri chimico-fisici (es. pH, ossigeno, temperatura, ecc.), i nutrienti, i metalli, diversi contaminanti organici normati (es. pesticidi, biocidi, idrocarburi policiclici aromatici, composti perfluorinati, ecc.) ed emergenti quali per esempio il benzotriazolo, alcuni farmaci ed antibiotici.

La caratterizzazione delle popolazioni microbiche è stata effettuata tramite le più avanzate tecniche molecolari quali real time PCR (qPCR), Fluorescence In Situ Hybridization (FISH), Microarray e NGS.

Risultati principali ottenuti

I risultati del progetto riguardano dati di monitoraggio in due diverse stagioni dell'anno (autunno e primavera) su composti normati ed emergenti, la valutazione delle variazioni nella struttura della comunità microbica in funzione della presenza di particolari classi di contaminati (bioindicatori microbiologici), la messa a punto di sonde molecolari e protocolli per analisi qPCR e FISH per l'identificazione di specie microbiche di particolare interesse (es. specie tossiche di Cianobatteri quali *Microcystis aeruginosa*, *Plankthotrix*

agardi), nonché studi in microcosmi relativi ad alcuni antibiotici presenti nel fiume Tevere a valle dei suoi principali impianti di trattamento.

Inoltre sono state effettuate ricerche e monitoraggi al fine di confrontare i risultati ottenuti con altri fiumi europei per quanto riguarda la presenza di alcuni contaminanti emergenti quali gli psicofarmaci benzodiazepine o sono in corso studi sulle acque del fiume Danubio per confermare la relazione tra antibiotici e la presenza di particolari gruppi batterici e di geni di resistenza.

L'individuazione di nuovi bioindicatori di qualità, associabili alla presenza di una classe di contaminanti e/o di condizioni di stress, può fornire nuovi strumenti di indagine utili nell'ambito della Direttiva Quadro sulle Acque.

Pubblicazione dei principali risultati su peer reviewed indicizzate

Fick J, Brodinb T, Heynenb M, Klaminderb J, Jonsson M, Grabicova K, Randákc T, Grabicc R, Kodešd V, Slobodnike J, Sweetmanf A, Earnshawf M, Barra Caracciolo A, Lettieri T, Loos R, 2017. Screening of benzodiazepines in thirty European rivers. *Chemosphere* 176: 324-332

La Rosa G, Sanseverino I, Della Libera S, Iaconelli M, Ferrero VEV, Barra Caracciolo A, Lettieri T, 2017. The impact of anthropogenic pressure on the virological quality of water from the Tiber River, Italy. *Letters in Applied Microbiology* 65: 298-305.

Barra Caracciolo A, Grenni P, Raused J, Ademollo N, Cardoni M, Rolando L, Patrolecco L, 2018. Degradation of a fluoroquinolone antibiotic in an urbanized stretch of the river Tiber. *Microchemical Journal* 138: 43-48.

Saccà ML, Ferrero VEV, Loos R, Di Lenola M, Tavazzi S, Grenni P, Ademollo N, Patrolecco L, Barra Caracciolo A, Lettieri T., 2018. Chemical mixtures occurrence and natural microbial community in a river ecosystem. Submitted to *Water Research*

Attività di formazione

- **Workshop** "Entrepreneurship from idea to success" presso JRC (Ispra) 24-25 Settembre 2016
- **MicroCokit Project Training School** "Methods for detecting and quantifying aquatic microbial communities" 4 - 6 Aprile 2017 presso IRSA-CNR. Corso per divulgare i risultati del progetto e i diversi metodi molecolari utilizzati per la caratterizzazione delle comunità microbiche naturali. Hanno partecipato 21 studenti PhD provenienti da 7 Paesi diversi (Italia, UK, Svezia, Germania, Repubblica Ceca, Francia, Sud Africa) che per tre giorni hanno frequentato le lezioni teoriche e quelle pratiche in laboratorio tenute dai diversi Partner del Progetto.
- 1 tesi di laurea magistrale presso IRSA-CNR di Roma; 1 tesi di laurea magistrale presso IRSA-CNR di Roma e Università Complutense di Madrid
- 2 post-doc Marie Curie

Conclusioni

Il progetto è in fase conclusiva e le metodologie messe a punto e i bioindicatori microbiologici individuati si stanno testando su altri corpi idrici nell'ambito di collaborazioni scientifiche e progetti in essere (es. Accordo bilaterale Italia Ungheria CNR-HAS). Le metodologie messe a punto riguardanti le sonde molecolari per l'identificazione di specie batteriche tramite qPCR e FISH da immettere sul mercato sono in pubblicazione.