



A1 = Community structure of the cyanobacterial mats from the Carrizal, a geothermal spring in Mexico

P. Cennamo¹, C. Marzano², O. De Castro², M. Vázquez-Torres³, P. De Luca²

¹Facoltà di Lettere, Università degli Studi "Suor Orsola Benincasa", Via S. Caterina da Siena 37, 80135 Napoli, Italia; ²Dip.to delle Scienze Biologiche, Sez. Biologia Vegetale, Università di Napoli "Federico II", Via Foria 223, 80139 Napoli, Italia; ³Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Veracruzana. Av. Dr. Luis Castelazo s/n Col. Industrial Animas, Xalapa-91190, Veracruz, Mexico

pcennamo@unina.it

Cyanobacterial microflora is very diverse in different habitats over the world and closely connected with the ecology of the habitat. In particular, extreme habitats are colonised by numerous specialised morpho- and ecotypes which are unique to these ecologically specialised environments (1, 2, 3). A variety of methods is necessary for characterisation of cyanobacterial assemblages in thermal environments. We report here of the community structure of the cyanobacterial mats at the hot spring of the alkaline ad low sulphide artificial pool of "Carrizal" (Villa Emiliano Zapata, Mexico).

The water of the hot spring discharged into an artificial pool, where the temperature was uniform (60 °C). The main elements present in the water are Na, Mg, Cl, Li and S. These extreme environment are colonised by mats rich in thermophilic cyanobacteria. Hot spring microbial mats are natural biofilms in which photosynthetic and non photosynthetic organisms are distributed along horizontal thermal and vertical light gradients, with cyanobacteria living in the upper regions of the mat, at a temperature of 40 °C. All mats possessed highly ordered layers of airspaces at both the macroscopic and microscopic levels, and these appear to be an adaptation to a pre-floating growth habit. The diversity was evaluated in parallel employing both morphological and molecular techniques (among the latter, 16S rDNA sequencing and Denaturind Gradient Gel Electrophoresis - DGGE). A set of four primer was used to amplify the gene, and 750 bp were sequenced. The sequences were aligned and plotted as a tree using the neighbour joining algorithm.

On the mats we investigated, the dominant taxa were cyanobacteria. The most common organisms were *Anabaena* sp., *Phormidium* sp. and *Pseudoanabaena* sp. Some filamentous cyanobacteria showed a 98%-95% 16S rDNA gene similarity with *Oscillatoria* sp. and cluster together with other filamentous cyanobacteria from the thermal environments. Microscopic examination revealed mats including one single *Oscillatoria* morphology; phylogenetic analysis revealed that *Oscillatoria*-like sequences were most closely affiliated with *Pseudanabaena amphigranulata* (Van Goor) Anagnostidis (= *Oscillatoria amphigranulata* Van Goor). Even if the attribution to this species may be questionable according to Sorokovikova et al. (4), in fact the authors admitted that *P. amphigranulata* is not inhabit hot spring.

1) R. W. Castenholz, (1978) Mitt. Int. Ver. Limnol., 21: 296-315.

2) F. Hindák (2001) Nova Hedwigia Z. (Algae and Extrem. Environ.), 123: 77-93.

3) D. M. Ward, M.J. Ferris, S. C. Nold, M. M. Bateson (1998) Microbiol. Mol. Biol. Rev., 62: 1353-1370.

4) E. G. Sorokovikova, I.V. Tikhonova, O. I. Belykh, I. V. Klimentov, E. V. Likhoshvai (2008) Microbiology, 77: 365-372.

A1 = Ricerche preliminari sulla flora microalgale dei Tacchi d'Ogliastra (Sardegna centro-orientale)

V. Malavasi

Dip.to di Scienze Botaniche, Università degli Studi di Cagliari

Nell'ambito di uno studio sulla flora dei Tacchi d'Ogliastra, altopiani calcarei del Giurassico localizzati nella Sardegna centro orientale, è stata avviata un'indagine sui microrganismi fotosintetici presenti in ambienti terrestri e d'acqua dolce. Alcuni studi sulle microalghe e sui cianobatteri della Sardegna hanno riguardato limitate aree dell'isola (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) e per tanto con la presente ricerca si intende apportare ulteriori conoscenze su tali gruppi sistematici.

I campionamenti sono stati effettuati nel mese di gennaio 2009 in 4 degli 8 territori amministrativi interessati dalle indagini floristiche. Complessivamente sono stati raccolti 15 campioni di cui 2 di ambiente terrestre (materiale presente sul substrato roccioso) e 13 legati ad ambienti d'acqua dolce (pozze d'acqua). Successivamente, grazie ad un periodo di formazione in Germania, presso il Botanical Institute dell'Università di Colonia, sotto la direzione del Professor M. Melkonian, si è proceduto alla identificazione e alla determinazione delle microalghe e dei cianobatteri presenti nei campioni raccolti. Tali microrganismi sono stati conservati in ambienti asettici, a temperature costanti (18-20 °C) e con illuminazione permanente. Al fine di ottenere le condizioni più idonee per l'allevamento di alcuni di questi microrganismi sono stati testati 7 differenti terreni di coltura. L'analisi dei campioni, eseguita al microscopio ottico, ha permesso di riconoscere numerose microalghe verdi appartenenti sia alle *Streptophyta* (in particolare ai generi *Zygnema*, *Staurastrum*, *Cosmarium*, *Closterium*, *Spyrogyra*, *Cylindrocystis*) sia alle *Chlorophyta* (in particolare ai generi *Chlamydomonas*, *Oocystis*, *Ankistrodesmus*, *Oedogonium*). Oltre a ciò sono state rinvenute alcune *Bacillariophyceae*, rappresentate soprattutto dai generi *Navicula* e *Synedra*, e diversi cianobatteri per lo più azotofissatori ed appartenenti ai generi *Anabaena*, *Nostoc* e *Chroococcus*.

Questa prima analisi riferita alle componenti algali, ha interessato parzialmente i territori oggetto delle indagini floristiche e rappresenta un primo contributo per eventuali ricerche future. Queste dovranno essere incrementate nei diversi periodi dell'anno così da poter avere un quadro più completo sulla correlazione tra gruppi sistematici e diversi parametri ambientali (temperatura, umidità, etc.) che ne potrebbero condizionare la crescita e la sopravvivenza.

- 1) A. Piccone (1878) *Nuovo Giorn. Bot. Ital.*, 10(3): 289-368.
- 2) P. Mola (1919) *Atti della Reale Accad. delle Scienze di Torino*, 54.
- 3) N. Sechi (1978) *Giorn. Bot. Ital.*, 112(5-6): 347-360.
- 4) N. Sechi et al. (1998) *Atti XII Congresso AIOL, Vulcano 1996*, 2: 41-51.
- 5) N. Sechi (1999) *Atti del Workshop "Aspetti sanitari della problematica dei Cianobatteri nelle acque superficiali italiane"*, 16-17 dicembre, Roma.
- 6) S. Alfinito et al. (2000) *Boll. Soc. Sarda Sci. Nat.*, 32: 129-141.
- 7) M.A. De Miranda et al. (2002) *Rend. Sem. Fac. Sci. Univ. Cagliari*, 72(2): 19-28.
- 8) F. Trebini et al. (2004) *XVI Congresso AIOL, Terrasini, Palermo*: 288.
- 9) P.F.M. Coesel, S. Alfinito (2007) *Nordic Journal of Botany*, 25: 245-254.

A1 = La microflora incrostante i siti archeologici dei Campi Flegrei (Napoli)

C. Marzano¹, P. Caputo¹, A. Moretti¹, P. Cennamo²

¹Dip.to delle Scienze Biologiche, sez. Biologia Vegetale, Università di Napoli "Federico II", Via Foria 223, 80139 Napoli, Italia; ²Facoltà di Lettere, Università degli Studi "Suor Orsola Benincasa", Via S. Caterina da Siena 37, 80135 Napoli, Italia

E' noto che le attività microbiche rappresentano uno dei principali fattori di degrado dei beni culturali. Esse concorrono, insieme ad alcuni fattori climatici, al deterioramento dei substrati inorganici dei monumenti; l'inquinamento atmosferico, ad esempio, rappresenta una fonte di nutrienti che favorisce considerevolmente la crescita di biofilm microbici e quindi i processi di deterioramento (1, 2). La Campania è caratterizzata da un gran numero di monumenti e siti archeologici che la rendono famosa in tutto il mondo, la maggior parte dei quali sono costruiti in materiali di origine vulcanica. Al fine di preservare tale ricchezza storica è in corso da parte del nostro gruppo di ricerca un progetto di prevenzione ed eliminazione delle bioincrostazioni dei monumenti. Lo scopo principale del progetto è di individuare e classificare i microorganismi biodeterogeni e proporre specifici interventi per la loro eliminazione. La maggior parte dei dati disponibili sono stati acquisiti per i substrati tipici dei monumenti della Campania, quali il tufo grigio campano e il tufo verde dell'Epomeo di Ischia.

Vengono qui presentati i risultati ottenuti per la *Piscina mirabilis* di Miseno (Bacoli, Napoli), la più grande cisterna nota mai costruita dagli Antichi Romani. Risalente all'età augustea, aveva la funzione di approvvigionare di acqua la flotta della *Classis Misenensis*, poi divenuta *Classis Praetoria Misenensis Pia Vindex*, che ormeggiava nel porto di Miseno. La *Piscina mirabilis* è scavata nel tufo ed è sostenuta da pilastri ed archi. L'accesso al sito è rappresentata da una scalinata situata nell'angolo di sud-est, che conduce ad una prima navata, leggermente sopraelevata rispetto ad altre due navate. Le pareti laterali sono in tufo, in opera reticolata con ricorsi in laterizio, mentre i pilastri sono interamente in tufo. L'illuminazione del sito è assicurata da due grate poste sulla copertura della *Piscina*. Sono stati effettuati sei campionamenti di biofilm: tre sulle pareti e tre sui pilastri, alle stesse condizioni di umidità ed esposizione luminosa. Per l'identificazione e caratterizzazione dei biodeterogeni sono state utilizzate tecniche di microscopia ottica ed elettronica nonché marcatori molecolari (18S e 16S).

In condizioni di più alta umidità e penombra sono risultati particolarmente abbondanti i cianobatteri, quali *Oscillatoria* sp., *Symploca* sp., *Leptospira interrogans*, *Nostoc commune*, *Pseudomonas putida*, *Phormidium autumnale*, *Graesiella emersonii*. Abbondanti sono anche le alghe verdi, tra cui *Scenedesmus arcuatus*. E' stata infine rilevata la presenza di *Cyanidium* sp., un'alga rossa tipica di ambienti cavernicoli tufacei. Sono inoltre presenti muschi, quali *Bodonidae* sp., *Brachythecium salebrosum* e *Hypnum lindbergii*.

Per quanto riguarda gli interventi miranti alla eliminazione o prevenzione della formazione dei bioincrostanti, sono in via di sperimentazione metodologie basate sull'uso di biocidi o di microonde.

1) G. M. Caneva, M. P. Nugari, O. Salvatori (1991) Biology in Conservation of Works of Art. Rome: IC-CROM.

2) L. Tommaselli, G. Lamenti, M. Bosco, P. Tiano (2000) Biodet. Biodeg., 46: 251-258.

A1 = Analisi di marker biochimici e molecolari di *Gonyaulax fragilis* (Dinophyceae) utili a identificarne il ruolo nella genesi delle mucillagini

M. Riccardi¹, F. Guerrini¹, G.P. Serrazanetti², V. Ventrella², A. Pagliarani², R. Pistocchi¹

¹CIRSA, Università di Bologna, Via Sant'Alberto 163, 48100 Ravenna, Italy; ²Dip. di Biochimica "G. Moruzzi", Sezione di Biochimica Veterinaria, Università di Bologna, Via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano dell'Emilia (BO), Italy

Studi effettuati sia in laboratorio che in campo hanno permesso di dimostrare che *Gonyaulax fragilis* (Schütt) Kofoid possiede un ruolo rilevante nel determinare la comparsa delle mucillagini lungo le coste del Nord Adriatico (1, 2) della Spagna (3), del Mar di Marmara (4) e del Nord Egeo (5). Spesso questi fenomeni vengono anche correlati alla presenza di *Gonyaulax hyalina* (Ostenfeld & Schmidt), una specie molto simile a *G. fragilis*, difficilmente distinguibile da questa al microscopio ottico. Oltre a ciò, l'identificazione di queste due specie nei campioni di mucillagine è particolarmente difficoltosa in quanto le cellule sono per lo più rotte o in decomposizione e, anche nel caso di cellule intere, la loro assegnazione al genere *Gonyaulax* è complicata dal fatto che la teca è sottile e la tabulazione non è sempre ben evidente. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di individuare dei marker genetici e/o biochimici che, in aggiunta alle osservazioni al microscopio, fossero utili a confermare il coinvolgimento di *G. fragilis* in questo fenomeno. Per raggiungere questo obiettivo sono stati utilizzati due approcci diagnostici: 1) analisi della composizione lipidica in *G. fragilis* e in campioni di mucillagine, 2) disegno di sonde molecolari per test di identificazione a livello di specie tramite PCR.

L'analisi dei lipidi effettuata su 6 ceppi di *G. fragilis* cresciuti in coltura ha permesso di identificare alcune caratteristiche principali della specie, tra cui la presenza di 18:5n-3 e 22:6n-3 come acidi grassi poliinsaturi. Per quanto riguarda gli steroli, il colesterolo e il dinosterolo rappresentano i composti prevalenti tra i desmetilsteroli e 4 α -metilsteroli, rispettivamente. Il confronto con il profilo lipidico di 3 diversi campioni di mucillagine ha evidenziato che il loro contenuto in acidi grassi poliinsaturi non coincide con quello della dinoflagellata in coltura; gli steroli invece rappresentano un marker biochimico migliore e più specifico in quanto meno soggetti, rispetto agli acidi grassi insaturi, a degradazione. Più interessanti le indagini molecolari che hanno permesso di realizzare una sonda oligonucleotidica che, legandosi specificatamente ad un tratto del 18S rDNA di *G. fragilis*, è in grado di discriminare, in campioni naturali, il DNA di questa specie sia in presenza di elevate concentrazioni di altri taxa sia quando la gran parte degli organismi è degradata. Questa sonda, più degli steroli, potrebbe essere quindi utilizzata con successo per l'identificazione di *G. fragilis* in campioni ambientali soprattutto quando la loro origine risultasse incerta.

1) M. Pompei, C. Mazziotti, F. Guerrini, M. Cangini, S. Pigozzi, M. Benzi, S. Palamidesi, L. Boni, R. Pistocchi (2003) Harmful Algae, 2: 301-316.

2) R. Pistocchi, M. Cangini, C. Totti, R. Urbani, F. Guerrini, T. Romagnoli, P. Sist, S. Palamidesi, L. Boni, M. Pompei (2005) Sci Total Environ, 353: 307-316.

3) N. Sampedro, L. Arin, S. Quijano, A. Reñé, J. Camp (2007) Harmful Algae News, 33: 10-11.

4) Y. Aktan, A. Dede, P.S. Ciftci (2008) Harmful Algae News, 36: 1-3.

5) G. Nikolaidis, K. Aligizaki, K. Koukaras, K. Moschandreu (2008) Proceedings of the 12th International Conference on Harmful Algae p. 219-222.