



Interreg
Alpine Space
Eco-AlpsWater



European Regional Development Fund

Acque Alpine & eDNA

2021

OPUSCOLO DIVULGATIVO



Eco-AlpsWater

Strategia innovativa di valutazione ecologica e gestione delle risorse idriche per la protezione dei servizi ecosistemici nei laghi e fiumi alpini

REDAZIONE

Tina Elersek & Nico Salmaso

AUTORI

TESTO di Katarina Novak, Aleksandra Krivograd Klemenčič, Maša Zupančič, Tina Eleršek, Ute Mischke, Rainer Kurmayer, Nico Salmaso, Hans Rund. Una parte del testo è stata ripresa e modificata dal testo pubblicato sulla rivista Življenje in tehnika, issue LXXII, ottobre 2021.

REVISIONE di Hans Rund

FOTO da: archivio Environment Agency of Slovenia & National Institute of biology (Maša Zupančič, Tina Eleršek)

DISEGNI di Mateja Pivk (artinfoto.si)

FIGURE SCHEMATICHE di Tine Eleršek

PROGETTAZIONE di Tina Elersek

PUBBLICATO da National Institute of Biology

Copyright © National Institute of Biology 2021

Edizione digitale

Ljubljana, 2021

INFO tina.elersek@nib.si

Conosciamo tutti eMAIL,
eBOOK, eWALLET... ma
eDNA è qualcosa di
completamente diverso!
Scopriamolo insieme qui!

Katalogni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

[COBISS.SI-ID 86520835](https://nib.si/COBISS.SI-ID/86520835)

ISBN 978-961-7144-08-6 (PDF)

Interreg
Alpine Space
Eco-AlpsWater
European Regional Development Fund





Indice

Introduzione	3
Impatto umano sugli ecosistemi delle acque interne	6
Valutazione dello stato ecologico con metodi tradizionali	7
Che cos'è lo stato ecologico?	7
Fitobentos	9
Fitoplancton	10
Pesci	12
Stato ecologico e analisi del DNA ambientale	13
Biblioteca del laboratorio molecolare e tipografia	15
Il futuro della valutazione dello stato ecologico delle risorse acquatiche	17



Tutte le azioni sull'ambiente si riflettono sulla salute delle nostre acque.



Introduzione

Le acque interne sono una delle risorse naturali più preziose della Terra e, allo stesso tempo, sono altamente in pericolo a causa delle attività umane. Molti corpi idrici superficiali sono messi in pericolo a causa dell'inquinamento e del degrado della funzionalità ecosistemica. Una buona qualità dell'acqua è una prerogativa indispensabile soprattutto per la fornitura di acqua potabile e altri servizi cruciali, quali l'igiene e l'assistenza sanitaria, l'agricoltura, l'industria, il tempo libero, il turismo e altri servizi ecosistemici. Una gestione efficace delle risorse idriche richiede un monitoraggio regolare dello stato di qualità dell'acqua, ciò che consente di rilevare i cambiamenti nell'ambiente e identificare le cause di degrado. In particolare, il monitoraggio dei taxa acquatici rappresenta uno strumento efficace per verificare l'evoluzione della qualità dei corpi idrici, permettendo di intraprendere azioni di recupero appropriate.

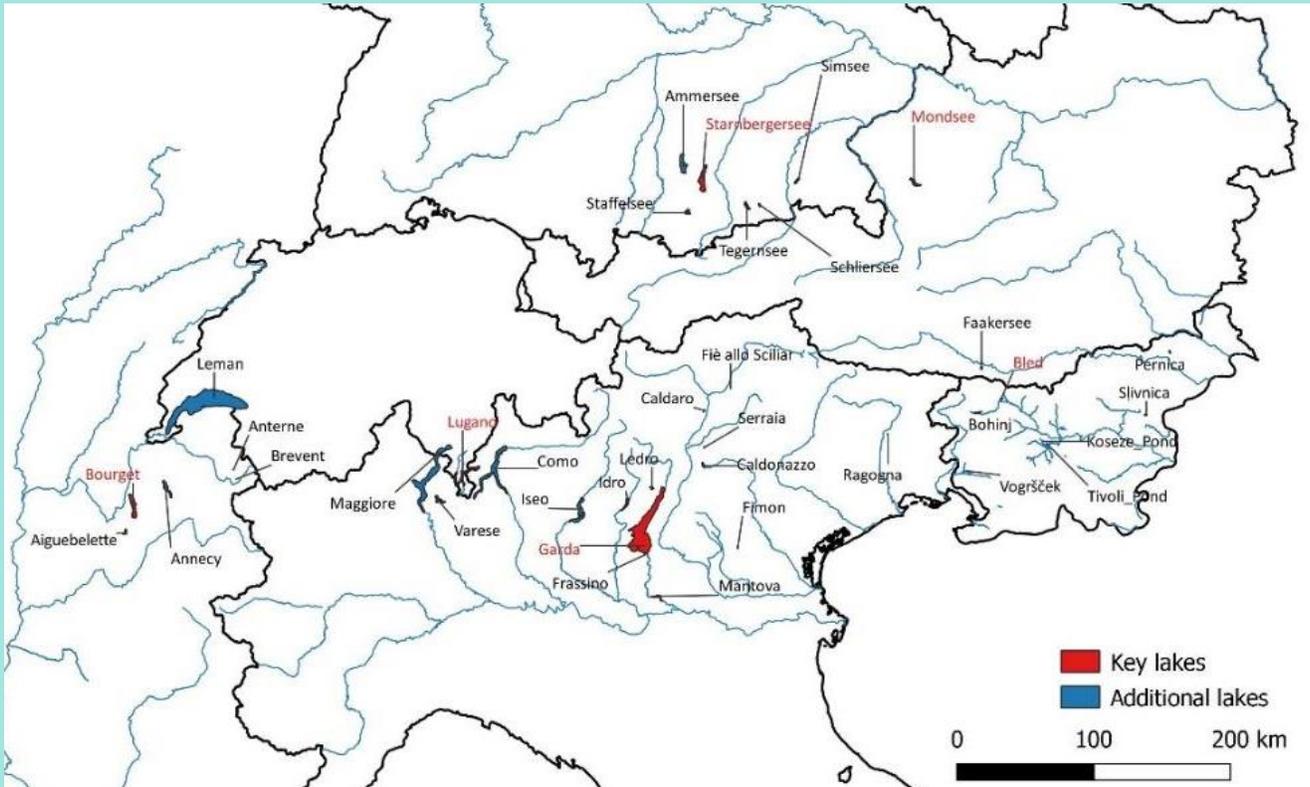
Il sito web di Eco-AlpsWater (EAW) offre molto materiale fotografico e video:

<https://www.alpine-space.org/eco-alpswater>

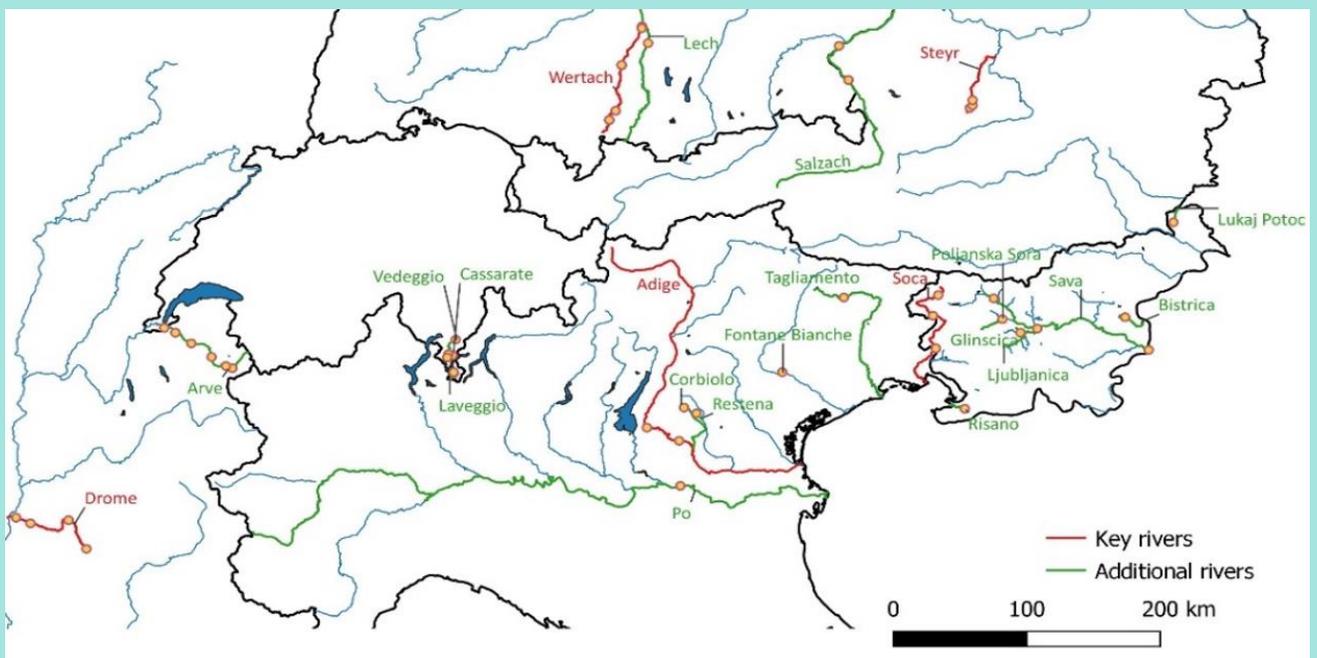
Cortometraggio sul progetto EAW

<https://www.youtube.com/watch?v=VIKk9LVRqho>

Il monitoraggio dello stato ecologico delle acque può essere effettuato con metodi tradizionali e/o moderni. Tuttavia, devono prima essere sviluppati nuovi metodi, ottimizzati e deve essere condotto un confronto approfondito sui risultati prodotti da entrambi gli approcci. Questo è esattamente ciò di cui si occupa il progetto [Eco-AlpsWater](#) (EAW), in cui 12 partner dei paesi alpini hanno unito le forze per sviluppare sistemi innovativi di monitoraggio delle risorse acquatiche. I nuovi protocolli sono stati testati in aree pilota, collegando le nuove esperienze con i decisori e gestori delle risorse idriche. L'acronimo del progetto EAW trae il nome dal titolo esteso: "Strategia innovativa di valutazione ecologica e gestione delle risorse idriche per la protezione dei servizi ecosistemici nei laghi e fiumi alpini". L'obiettivo è di migliorare gli approcci tradizionali utilizzati per il monitoraggio dello stato ecologico delle acque utilizzando tecniche di sequenziamento del DNA di nuova generazione (metabarcoding). Il nuovo approccio utilizza tecniche di sequenziamento ad alto rendimento per analizzare il DNA di comunità incluso in batteri, alghe e altri microrganismi, o il materiale genetico nella sostanza organica rilasciata da piante e animali più grandi, inclusi i pesci (DNA ambientale, eDNA). Le nuove tecniche consentono l'identificazione rapida ed economica delle specie mediante l'analisi del DNA.



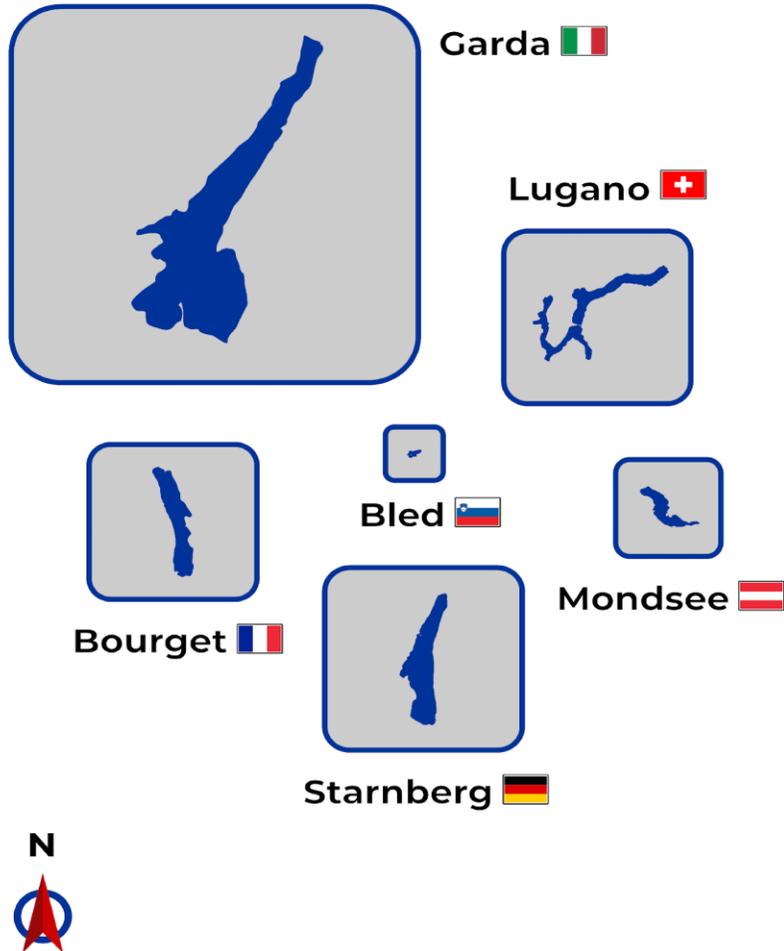
EAW laghi chiave: Bled, Bourget, Garda, Lugano, Mondsee e Starnberg.



EAW fiumi chiave: Adige, Drome, Soča, Steyr e Wertach.



Key pilots lakes:



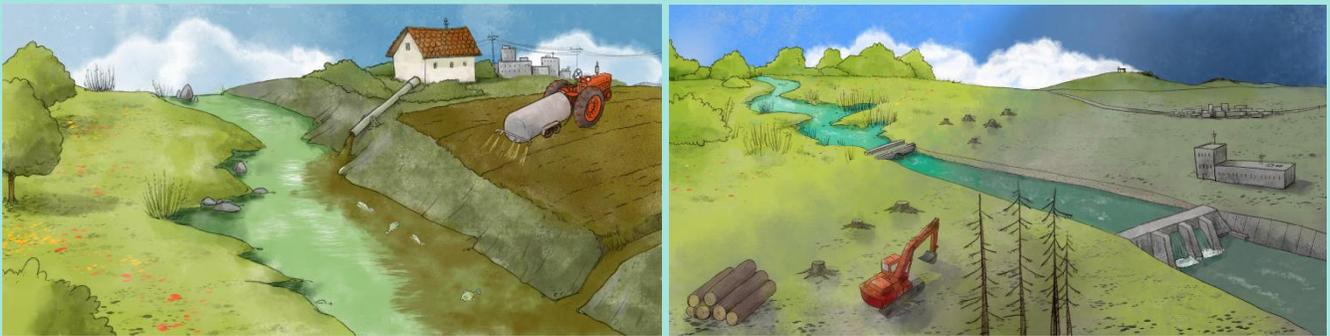
I laghi chiave in Austria, Francia, Italia, Germania, Slovenia e Svizzera sono stati campionati a intervalli mensili, ottenendo un set finale di oltre 180 campioni. Questi laghi sono molto diversi per dimensioni e caratteristiche chimiche. Pertanto, i nuovi metodi molecolari sono stati testati anche su 150 campioni provenienti da ulteriori corpi idrici ubicati nell'intera regione alpina, per un totale di oltre 330 campioni analizzati.



Impatto umano sugli ecosistemi delle acque interne

L'impatto umano può modificare l'ambiente acquatico a tal punto che gli organismi esistenti non sono più in grado di adattarsi alle nuove condizioni. Questo processo porta a un cambiamento nella composizione delle specie naturali (autoctone), le quali diminuiscono o scompaiono del tutto a favore di nuove specie (alloctone) potenzialmente invasive e maggiormente adattate alle nuove condizioni

Un **ecosistema** è costituito dagli organismi e dall'ambiente fisico con cui questi interagiscono. L'**ecosistema acquatico** comprende pertanto gli organismi che vivono nell'acqua o strettamente a contatto con l'acqua, e il loro ambiente fisico: acqua, sedimenti, zone ripariali, ecc. Esempi di ecosistemi delle acque interne sono corsi d'acqua, fiumi, stagni, laghi e zone umide.



Esempi di impatto delle attività antropiche sugli ambienti acquatici comprendono: l'uso intensivo delle acque per scopi irrigui, industriali e civili; lo sversamento di reflui e nutrienti algali; l'acqua drenata dal lavaggio di superfici; la costruzione di muri, soglie e barriere.

L'uomo ha da sempre sfruttato le acque dolci e le aree ripariali. Con lo sviluppo dell'agricoltura e dell'urbanizzazione, numerose zone umide e pianure alluvionali sono state prosciugate, mentre, per la protezione dalle inondazioni, i letti dei fiumi sono stati livellati o circondati con muri di protezione. L'utilizzo di dighe ha spesso stravolto radicalmente la fisionomia originale di interi corsi di acqua. Gli impatti fisici sono inoltre spesso associati anche a cambiamenti nella chimica delle acque. Per es., l'eutrofizzazione provoca eccessive proliferazioni algali, che sono la risposta biologica diretta al sovraccarico di nutrienti provenienti dall'agricoltura e dalle acque reflue.



Valutazione dello stato ecologico con metodi tradizionali

Che cos'è lo stato ecologico?

Lo **stato ecologico** fornisce indicazioni sulle condizioni qualitative e funzionali degli ecosistemi acquatici attraverso la distribuzione di organismi chiave. Per la sua valutazione vengono svolti **monitoraggi** seguendo le normative fornite a livello nazionale (WPO, Ordinanza sulla Protezione delle Acque, in Svizzera) ed europeo (WFD, direttiva quadro sulle acque). Una precisa identificazione tassonomica diviene fondamentale se si considera che molte specie assumono il ruolo di bioindicatori essenziali. La valutazione dello stato ecologico viene completata considerando anche la chimica e l'idrologia. Con la necessità di procedere ad un aggiornamento delle tecniche biologiche più tradizionali, il progetto EAW si è concentrato sull'aggiornamento delle tecniche biologiche. Ulteriori azioni di monitoraggio sono promosse per rispondere ad altre esigenze, legate all'utilizzo sicuro delle acque per **scopi potabili, ricreativi e di balneazione**.

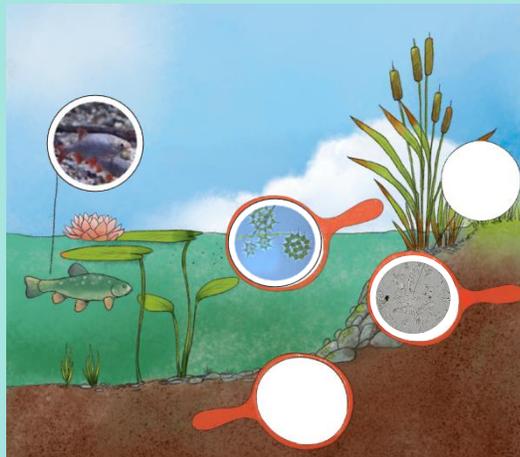


La valutazione convenzionale dello stato ecologico è illustrata da una scala di colori di cinque classi e la descrizione normativa di ciascuna classe è definita dalla Direttiva quadro europea sulle acque (WFD).



Per illustrare lo stato ecologico viene utilizzata una scala di colori che va da Elevato (blu) a Cattivo (rosso). In Europa, tutti gli enti governativi deputati alla gestione delle acque hanno concordato lo stesso obiettivo, vale a dire mantenere tutti i corpi idrici in uno stato ecologico Buono o Elevato. Un confronto della situazione attuale con lo stato naturale di riferimento fornisce indicazioni sul grado di deviazione dello stato dei corpi d'acqua causato dalle attività antropiche.

Differenze di flusso, trasporto di sedimenti, illuminazione, profondità o livello trofico hanno effetti importanti sulle comunità acquatiche. Laghi e fiumi sono pertanto classificati all'interno di specifiche **tipologie di corpi idrici**. Ad esempio, i laghi alpini condividono caratteri diversi rispetto ai laghi di pianura e sono valutati utilizzando indicatori biologici e chimici diversi.



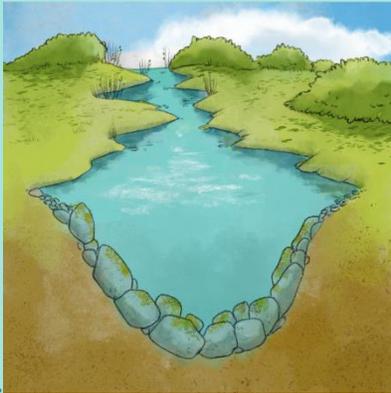
Ogni elemento di qualità biologica risponde in modo differente a diverse pressioni e cambiamenti, fungendo pertanto da indicatore. Nel progetto Eco-AlpsWater, lo stato ecologico è stato determinato utilizzando il fitobentos, il fitoplancton e i pesci.

La presenza e l'assenza di determinati organismi sono buoni indicatori dello stato ecologico di un determinato habitat; questi organismi sono chiamati **organismi indicatori** o **bioindicatori**. Hanno bisogno di condizioni specifiche per la crescita e la riproduzione e sono molto sensibili ai cambiamenti, il che significa che in caso di degrado dell'habitat la loro abbondanza cambia. Per determinare con precisione lo stato di un lago o di un fiume, vengono considerati diversi elementi di qualità biologica, alcuni dei quali sono descritti di seguito. Informazioni dettagliate sul campionamento dei diversi elementi di qualità biologica (fitobentos, fitoplancton e pesci) sono riportate sul portale WEB del progetto Eco-AlpsWater (sezione Project Results, [Documents](#)). I metodi utilizzati per il campionamento possono essere esaminati anche in diversi video sulla pagina web di progetto (sezione Info-material, [Videos](#)).



Fitobentos

Il fitobentos è costituito da microalghe (p. es. alghe verdi, rosse, e gialle, euglenofite e diatomee) e cianobatteri che vivono attaccati al substrato (sassi, macrofite, radici, detriti di legno e piante). Per quanto riguarda il fitobentos, nel progetto EAW, ci siamo concentrati principalmente sulla comunità fitobentonica delle diatomee, che hanno uno strato cellulare esterno fatto di silice.



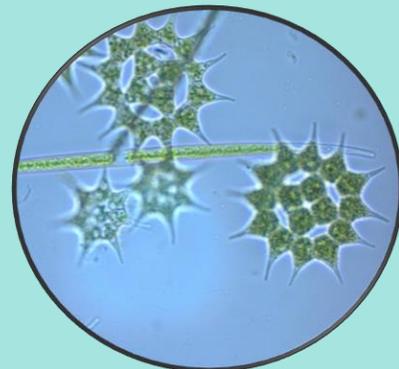
Il biofilm presente sui sassi raccolti nei fiumi e nei laghi viene raschiato e raccolto in un contenitore usando una piccola spazzola. In laboratorio, la materia organica nelle cellule viene rimossa con acido, lasciando solo frustoli silicei (gusci). Il campione pulito viene quindi montato su un vetrino, e i frustoli analizzati al microscopio ottico, valutando la presenza e quantità relativa delle specie di diatomee.

Le diverse specie di diatomee si distinguono per la forma e la struttura del frustolo siliceo. A causa della loro prevalenza generale e della loro rapida risposta ai cambiamenti nell'ambiente, le diatomee sono un buon indicatore della qualità dell'acqua. Sulla base delle specie indicatrici trovate nel campione e della loro frequenza, è possibile calcolare indici di qualità dell'acqua, quali l'indice di stato ecologico (generalmente legato ai carichi di nutrienti).



Fitoplancton

Il fitoplancton è costituito da un gruppo funzionale molto eterogeneo e molto ricco di specie di microalghe eucariote e cianobatteri in sospensione nella colonna d'acqua. La gran parte dei microorganismi fitoplanctonici posseggono clorofilla-a, un pigmento verde indispensabile per i processi fotosintetici e la produzione primaria. Per questo motivo, spesso la clorofilla-a viene utilizzata come proxy per la stima della biomassa fitoplanctonica. Sebbene alcune specie siano in grado di spostarsi utilizzando flagelli o di controllare la loro posizione verticale nella colonna d'acqua regolando la produzione di vescicole gassose (cianobatteri), questo gruppo di microorganismi è principalmente soggetto a trasporto passivo da parte delle correnti e delle masse d'acqua. Pertanto, il fitoplancton è importante soprattutto nelle acque lacustri e stagnanti dove può causare, se presente in quantità massive, estese fioriture algali. Se questi fenomeni vedono coinvolti i cianobatteri, le fioriture possono essere spesso caratterizzate anche dalla produzione di tossine (cianotossine).



I campioni di fitoplancton sono raccolti lungo un gradiente di profondità, utilizzando un campionatore d'acqua. Il campione viene conservato e colorato con un fissativo (soluzione di Lugol) fino all'analisi. Al microscopio ottico si contano le cellule delle specie di fitoplancton e si registra il volume cellulare di ciascuna specie, che può variare da 2 a 50 000 μm^3 .

Il limite di profondità alla quale il fitoplancton si sviluppa è controllato dall'energia luminosa, che è un elemento essenziale per lo svolgimento dei processi fotosintetici. La penetrazione dell'energia in profondità è controllata da diversi fattori, tra cui la torbidità di origine minerale o prodotta dalle stesse microalghe. Prima del campionamento, la profondità alla quale arriva luce sufficiente per potere sostenere la produzione primaria (zona eufotica) è valutata utilizzando un disco speciale (disco di Secchi) che permette di misurare il livello di trasparenza dell'acqua, e specifiche misure di conversione. Tale misura è utilizzata per definire lo strato



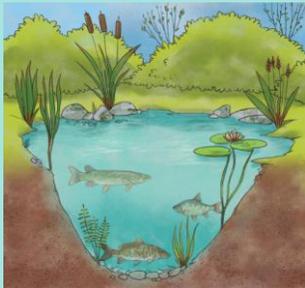
verticale dove effettuare i campionamenti utilizzando un campionatore d'acqua integrato. Il campione viene colorato e fissato con un conservante (Lugol) fino alla successiva analisi. Al microscopio ottico, le cellule delle specie di fitoplancton vengono contate, registrando il volume cellulare di ciascuna specie.

Sulla base dei biovolumi cellulari specifici e dell'abbondanza, è possibile determinare il biovolume totale di fitoplancton nel campione. Utilizzando la composizione delle specie, l'abbondanza, il biovolume cellulare totale, la concentrazione di clorofilla-a e i valori indicatori delle singole specie, si procede con il calcolo dell'indice fitoplanctonico e quindi dello stato ecologico, che è per lo più è correlato con i carichi di nutrienti (stato trofico).



Pesci

Rappresentando spesso l'ultimo anello della catena alimentare nelle acque, i pesci costituiscono un importante indicatore dello stato dell'intero ecosistema acquatico. A causa dei cicli vitali più lunghi, i pesci sono molto sensibili ai cambiamenti a lungo termine nell'ambiente. Poiché si muovono attivamente durante i diversi periodi di vita o parti della giornata a causa dei modelli migratori e dell'uso di habitat diversi, i pesci riflettono lo stato del corso d'acqua a monte e a valle e lo stato degli affluenti. Pertanto, sono particolarmente sensibili ai cambiamenti idromorfologici. Il campionamento viene effettuato mediante pesca elettrica in fiumi e laghi e utilizzando reti da pesca con maglie di diverse dimensioni nelle zone pelagiche e litorali dei laghi. La pesca elettrica viene effettuata da pescatori addestrati, che utilizzano impulsi elettrici per stordire temporaneamente i pesci e farli uscire dall'acqua. I pesci vengono quindi contati, le specie identificate e la loro lunghezza e peso misurati. Dopo le misurazioni, i pesci storditi vengono trasferiti in una vasca di acqua dolce, dove possono riprendersi prima di essere rilasciati in una zona tranquilla vicino alle rive di un fiume o di un lago. Le reti da pesca vengono utilizzate per catturare specie che difficilmente potrebbero essere catturate con l'elettropesca a causa delle loro preferenze per habitat pelagici o bentonici. Sfortunatamente, questo è un approccio molto invasivo e la maggior parte dei pesci catturati con le reti muore.



I pesci rispecchiano lo stato del corso d'acqua a monte e a valle, e lo stato degli affluenti. Sono particolarmente sensibili alle variazioni idromorfologiche dei corpi d'acqua.

Sulla base dell'area campionata e del numero di pesci catturati, si può procedere con il calcolo dell'abbondanza delle specie e della biomassa per ettaro di superficie d'acqua. Misurando la lunghezza, si ottiene una stima della composizione per età e quindi del successo riproduttivo della comunità ittica. Sulla base dei dati raccolti, vengono calcolati indici di stato ecologico basati sulla composizione, abbondanza e struttura della comunità ittica.



Stato ecologico e analisi del DNA ambientale

Tutti gli organismi nell'acqua lasciano le tracce genetiche che contengono informazioni chiave sullo stato ecologico dell'ambiente. I ricercatori stanno lavorando per imparare a leggere queste tracce sequenziando il DNA ambientale (DNA libero e DNA nei microrganismi).



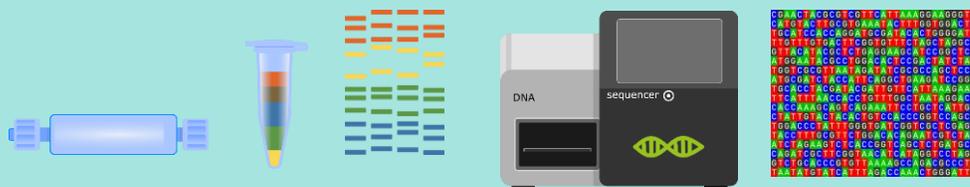
Il DNA (acido desossiribonucleico) è un vettore di informazioni genetiche in tutti i viventi.
eDNA (DNA ambientale) è tutto il materiale genetico che si trova in un ambiente.

Per le analisi molecolari si procede con la raccolta di un campione di acqua o di biofilm (fitobentos) da cui si isola il DNA ambientale. Nell'ambiente acquatico, sono presenti molti organismi, comprendenti virus, batteri, piante e animali acquatici, ma anche "ospiti" occasionali, quali esseri umani e i loro animali domestici. Tutti questi organismi lasciano le loro molecole di DNA nell'ambiente. Con il termine "DNA ambientale" (eDNA) si intende l'intero materiale ereditario di tutti gli organismi che sono (o sono stati) presenti nell'ambiente oggetto di campionamento. Questo materiale genetico può derivare direttamente dalle cellule dei microrganismi che vengono campionati insieme all'acqua (ad esempio, alghe microscopiche o batteri). Negli organismi più grandi (ad es. pesci o animali), il materiale genetico viene rilasciato nell'ambiente attraverso secrezioni corporee, pelle morta, capelli e simili, e può conservarsi nell'ambiente acquatico per diversi giorni o addirittura settimane sotto forma di molecole di DNA. Tuttavia, se intrappolato nei sedimenti sul fondo dei corpi idrici, il DNA può conservarsi per anni o decenni; in alcuni casi addirittura millenni, ciò che apre le porte alla ricerca paleolimnologica. Il DNA ambientale ottenuto dai campioni di acqua o biofilm fornisce risposte a una serie di domande e problematiche ecologiche; dobbiamo solo sapere come leggere l'alfabeto del DNA. Il DNA è una lunga catena di nucleotidi simboleggiati dalle singole lettere A, T, G e C, che rappresentano quattro diverse basi azotate (adenina, timina, guanina e citosina). L'alfabeto genetico è quindi composto da sole quattro lettere che codificano tutta la vita sul nostro pianeta. Se un singolo nucleotide è una singola lettera, i singoli codoni (insiemi di tre nucleotidi) sono parole e ogni gene è una frase a sé stante. Ogni organismo porta al suo interno un libro chiamato genoma, il suo intero record genetico. Questa parabola del libro, derivata dal



libro Genome dell'autore Matt Ridley, ci aiuterà a comprendere il codice genetico e i metodi molecolari.

Se leggiamo l'intero genoma di ogni organismo, potremmo riconoscerne l'identità, risalendo alla specie o anche sottospecie di appartenenza, e talvolta anche l'origine geografica. Tuttavia, la lettura dell'intero genoma (nota come genomica) richiede tempo e, soprattutto, porta a enormi quantità di dati. In ogni campione ci si possono aspettare molte specie diverse di organismi. Se volessimo leggere l'intero genoma di tutti gli organismi presenti in ogni campione, elaborare e archiviare una tale quantità di dati sarebbe una sfida enorme.



Lo stato ecologico dei corpi lacustri e fluviali può essere determinato considerando gruppi selezionati di organismi. Invece di leggere un libro dall'inizio alla fine, ne leggiamo solo una breve sezione, unica per ogni tipo.

A livello pratico, lo stato ecologico dei corpi lacustri e fluviali può essere determinato considerando solo gruppi selezionati di organismi. Invece di leggere un libro dall'inizio alla fine, ne leggiamo solo una breve sezione, unica per ogni tipo. Per ogni gruppo di organismi è stata selezionata una regione specifica del genoma, sulla base della quale possiamo distinguere le singole specie l'una dall'altra. Per i batteri, ad esempio, questa è una parte del gene 16S rRNA, che controlla la trascrizione per la subunità ribosomiale minore. La sequenza dei nucleotidi nei marker genetici selezionati deve essere sufficientemente diversa tra specie differenti, in modo da consentirne la loro distinzione. D'altra parte, questi markers devono essere sufficientemente omogenei, in modo che tutti i rappresentanti dei gruppi analizzati possano essere identificati nell'ambito degli stessi gruppi tassonomici (dalle specie ai ranghi tassonomici superiori). Il termine "barcoding" (codice a barre) si è affermato per tali regioni, motivo per cui il processo di lettura della sequenza nucleotidica di segmenti di DNA selezionati e la loro successiva classificazione sono anche comunemente indicati con questo nome. Quando l'analisi viene svolta a livello di comunità (per mezzo del DNA ambientale), l'analisi prende il nome di "metabarcoding".



Biblioteca del laboratorio molecolare e tipografia

Quella del laboratorio molecolare non è una classica biblioteca dove si prendono in prestito i libri, ma una biblioteca laboratorio dove è possibile cercare frasi specifiche per poi "moltiplicarle" o "stamparle", in modo da poterle identificare meglio in mezzo ad altre numerose frasi. Una volta selezionata, la regione genomica che rappresenta i gruppi tassonomici di interesse viene moltiplicata in quante più copie possibili. Questo è un passaggio essenziale se si considera che in un campione contenente i record genetici completi di tutti gli organismi presenti, la nostra sezione selezionata rappresenta una proporzione trascurabile nella moltitudine di milioni e milioni di geni, quindi non può essere analizzata separatamente. Immaginiamo di dover trovare una frase specifica da una pila di libri senza il comando "cerca", e di dovere identificarne le piccole differenze rilevate in tutti i singoli libri. Appare certamente come un compito arduo e lungo.

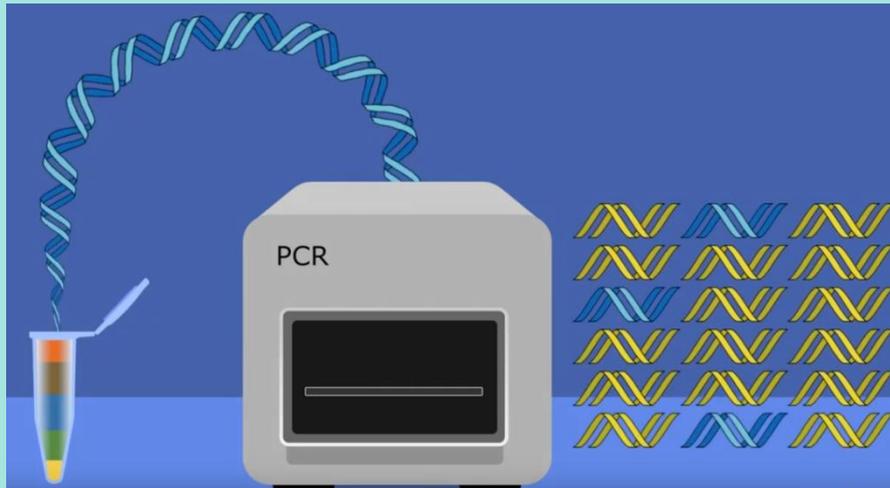


Parti di una biblioteca del laboratorio molecolare e di una stamperia.

I ricercatori utilizzano uno strumento molecolare che viene chiamato reazione a catena della polimerasi (PCR) che combina i comandi "cerca", "copia" e "incolla". A partire da poche copie della nostra regione studiata di DNA, la PCR può creare miliardi di copie in meno di due ore. Lo fa imitando le stesse condizioni che si verificano durante l'amplificazione del DNA in una cellula vivente. Il ruolo chiave in questo processo è svolto da brevi frammenti della sequenza nucleotidica ("primers"), che svolgono il ruolo della funzione di "ricerca". Poiché sono progettati per corrispondere alle prime e alle ultime lettere della frase che stiamo cercando, leggeranno solo la parte selezionata in tutto il libro, ignorando qualsiasi altra informazione non necessaria. L'altro attore importante nella moltiplicazione è l'enzima polimerasi, che svolge le funzioni di "copia" e "incolla", proprio come accade in questo momento nelle cellule di tutti gli esseri viventi. L'unica differenza è che nei processi di divisione cellulare delle cellule viventi ad essere raddoppiato è l'intero record ereditario, mentre in una reazione di PCR in laboratorio il



raddoppio (per singolo ciclo di PCR) interessa solo una regione selezionata. Alla fine della reazione di amplificazione, la regione di DNA studiata rappresenta la stragrande maggioranza del DNA nel campione analizzato.



Moltiplicazione di regioni di DNA selezionate (gialle).

Il passaggio successivo consiste nella lettura della frase di interesse – ovvero la sezione scelta di DNA - in un processo chiamato sequenziamento del DNA. Questo processo permette di ottenere un numero enorme di lettere che compongono le frasi di interesse (le sequenze nucleotidiche delle singole specie). Tuttavia, poiché la sequenza delle lettere da sola non significa nulla per noi (come in una lingua straniera), abbiamo bisogno di un dizionario. E qui entrano in gioco le biblioteche di riferimento: vaste banche dati biologiche in cui sono archiviate le sequenze nucleotidiche di molte specie di organismi ottenute dal sequenziamento del DNA nell'ambito di svariati progetti di ricerca. La traduzione di una sequenza nucleotidica in elenchi di specie di organismi (classificazione) avviene utilizzando vari algoritmi. Se il processo di identificazione viene applicato a tutte le sequenze nucleotidiche lette, il risultato è un elenco di tutte le specie identificate di organismi presenti nel campione. Tuttavia, esistono ancora molte specie di organismi che non hanno ancora una propria voce nelle biblioteche di riferimento, per le quali cioè non è disponibile un loro “barcode” genetico di riconoscimento. Ciò riguarda principalmente quegli organismi microscopici la cui coltivazione e identificazione in laboratorio è molto difficile o impossibile. Tali carenze nelle librerie di riferimento complicano notevolmente l'elaborazione bioinformatica dei risultati ottenuti dal sequenziamento.



Il futuro della valutazione dello stato ecologico delle risorse acquatiche

Il maggior potenziale del monitoraggio molecolare risiede nel risparmio di tempo, nell'aumento della sensibilità dei metodi, nel rilevamento delle specie di più grosse dimensioni senza danneggiarle (ad esempio i pesci) e nella riduzione dei costi. Per esempio, mentre il monitoraggio della fauna ittica nei laghi è molto dispendioso, richiedendo la collocazione di reti da pesca a diverse profondità, le tecniche di metabarcoding richiedono, oltre alla filtrazione di pochi litri d'acqua, analisi da svolgere in laboratorio. Mentre la tecnologia di sequenziamento del DNA si sta evolvendo rapidamente, i costi delle analisi diminuiscono. Rispetto alla determinazione delle specie indicatrici basata su criteri morfologici, i metodi molecolari sono molto potenti e consentono l'analisi parallela di molti campioni in breve tempo. Inoltre, sono in grado di individuare specie rare che sono difficili o addirittura impossibili da rilevare con i metodi tradizionali.



Le specie indicatrici sono rappresentate in tutti gli elementi biologici utilizzati per la determinazione dello stato ecologico delle acque con il metodo tradizionale: fitoplancton, fitobentos e macrofite, invertebrati bentonici e pesci. Tuttavia, potendo identificare tutti gli organismi presenti in un campione, gli strumenti molecolari permettono di valutare la potenzialità di biodiagnosi presenti anche in altri gruppi di organismi acquatici (per es. batteri, protisti, funghi). L'ecosistema acquatico è molto più complesso di quanto attualmente possa essere rilevato con i metodi tradizionali.



L'inclusione di nuovi metodi basati sul DNA nelle pratiche di monitoraggio non è semplice. Il monitoraggio dello stato ecologico si basa su lunghe serie temporali di dati che richiedono, per poter essere confrontati, l'utilizzo di metodologie omogenee. Inoltre, le condizioni di riferimento per ciascuna tipologia di corpo idrico – condizioni osservabili in assenza di impatti umani, e che funge da paragone nella determinazione della qualità delle acque - è tuttora definita sulla base dell'applicazione di metodologie e metriche tradizionali. Il passaggio al monitoraggio molecolare richiede pertanto tempo per garantirne un'implementazione di successo. È innanzitutto necessario valutare sistematicamente l'affidabilità di questi metodi e la comparabilità dei risultati con quelli ottenuti con i metodi tradizionali, adattando gli indici biologici esistenti e le condizioni di riferimento. Inoltre, bisognerà adeguare le procedure di campionamento per soddisfare le esigenze delle analisi molecolari garantendo la rappresentatività dei campioni e l'assenza di contaminazione da parte di materiale genetico, sul campo e in laboratorio.

Molti progetti di ricerca e reti di istituzioni scientifiche in tutto il mondo si stanno concentrando su questi temi e alcuni paesi hanno già iniziato a introdurre il barcoding del DNA nel loro programma di monitoraggio ecologico delle acque. Il primo Paese europeo a fare questo passo è stato il Regno Unito; alcuni anni fa ha annunciato l'avvio del monitoraggio molecolare per un gruppo di diatomee che rappresentano uno dei principali bioindicatori negli ambienti acquatici. Tuttavia, l'introduzione di tali modifiche richiede cautela e lungimiranza, poiché le ambiguità già menzionate non possono essere trascurate nell'introduzione graduale dei nuovi metodi, i quali dovrebbero in primo luogo integrare e non sostituire completamente l'approccio stabilito finora. Il monitoraggio molecolare non è ancora stato istituito in tutti i paesi alpini, ma sono già in corso ricerche per dimostrare che la sua implementazione non solo è molto utile, ma necessaria. In una prospettiva di medio periodo, il monitoraggio tradizionale e quello molecolare dovranno essere tuttavia svolti in parallelo.

I metodi molecolari hanno un grande potenziale nel monitoraggio di base dello stato ecologico dell'acqua e solo il tempo, nuovi studi, e la formazione di una nuova generazione di biologi ambientali impiegati nelle agenzie per l'ambiente mostreranno come possiamo usarli in modo efficace. Ma la vita (l'acqua) sarà più comprensibile dopo aver aggiornato i nostri metodi di monitoraggio convenzionali. L'obiettivo a breve termine dei ricercatori e biologi ambientali è stabilire la strategia ottimale per il biomonitoraggio di tutte le tipologie di corpi idrici e per tutti gli elementi biologici. Ciò potrà essere ottenuto attraverso una combinazione di metodi tradizionali e molecolari. Va notato infine che, al di là degli approcci previsti nei biomonitoraggi



di nuova generazione, la presenza di esperti tassonomi rimarrà indispensabile per lo sviluppo dei database di riferimento da utilizzare per la classificazione degli organismi.

Non dobbiamo dimenticare che si tratta di nuovi strumenti, ma che comunque l'obiettivo principale è:

Proteggere le nostre risorse idriche e fornire acqua pulita
Ora e in futuro, per tutta la popolazione.



Unisciti alla nostra rete alpina (EAW Alpine Network):

<https://www.alpine-space.org/projects/eco-alpswater/en/project-results/eaw-alpine-network>

e segui ulteriormente le nostre attività!



Interreg
Alpine Space
Eco-AlpsWater



European Regional Development Fund



Questo opuscolo è stato realizzato nell'ambito del progetto Eco-AlpsWater, finanziato in parte dall'Unione Europea con il Fondo Europeo di Sviluppo Regionale (sostegno dell'UE: 1.447.666,54 €). Il progetto è stato realizzato nell'ambito del Programma di cooperazione transnazionale alpina INTERREG Spazio Alpino per il periodo 2014-2020.

