Zeitschrift: Bollettino della Società ticinese di scienze naturali

Herausgeber: Società ticinese di scienze naturali

Band: 85 (1997)

Artikel: Ciclo dell'azoto e simbiosi batterica nei cefalopodi : caratterizzazione, interpretazione e ruolo fisiologico

Autor: Grigioni, Sveva

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-1003303

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 02.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Ciclo dell'azoto e simbiosi batterica nei cefalopodi: caratterizzazione, interpretazione e ruolo fisiologico

Sveva Grigioni

Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie, Muséum National d'Histoire Naturelle, 55, Rue Buffon, 75005 Parigi, Francia

L'interesse e la passione per il mare si sono profilati durante gli anni di formazione universitaria a Losanna, dove ho conseguito la licenza in Biologia. Dopodiché gli ecosistemi e gli organismi marini sono diventati il soggetto privilegiato dei miei studi, in particolare ho svolto un lavoro di diploma di diciotto mesi sull'ecologia bentica in Bretagna nei laboratori marini di Roscoff e Dinard.

A questo punto mi sono staccata dall'Università di Losanna.

In seguito, la mia intenzione di riprendere e continuare la formazione professionale negli ambiti della biologia marina e della batteriologia, ha preso di nuovo forma con un soggetto di ricerca concernente i cefalopodi.

Il distacco dall'università «d'origine» ha permesso di candidarmi all'ottenimento della borsa offerta dalla Commissione di ricerca della Svizzera Italiana del Fondo Nazionale.

Grazie a questo appoggio ho potuto dare avvio al lavoro di tesi a Parigi in un laboratorio all'avanguardia nelle ricerche riguardanti i cefalopodi, sotto la direzione scientifica della Dottoressa Boucher-Rodoni e con la collaborazione, a Lugano, del Professor Peduzzi che segue l'evoluzione del soggetto dal punto di vista batterico.

INTRODUZIONE

I batteri, spesso possono formare associazioni simbiotiche con gli eucarioti fornendo loro le soluzioni ai problemi legati al ciclo dell'azoto.

Per esempio la fissazione dell'azoto molecolare, l'accumulazione locale dell'azoto organico, la nitrificazione e la denitrificazione, possono essere reazioni svolte da ceppi batterici liberi o legati da simbiosi (ZUMFT, 1992).

I cefalopodi sono animali marini e si muovono verticalmente o orizzontalmente nella massa d'acqua grazie al nuoto attivo. Gli spostamenti orizzontali sono comuni a tutti gli individui, mentre quelli verticali sono ciclici e specifici. In questo ambito, oltre al nuoto attivo, alcune specie presentano un sistema di compensazione del peso corporeo (galleggiabilità) che funziona grazie all'accumulazione, nelle conchiglie o nei tessuti, di grassi, di liquidi più leggeri dell'acqua di mare o di prodotti azotati.

L'azoto gassoso accumulato da *Nautilus sp.*, *Spirula sp.* e *Sepia sp.* (Fig. 1), specie che possiedono una conchiglia esterna o interna, non è prelevato dall'ambiente circostante ma sembrerebbe essere endogeno, vale a dire che è

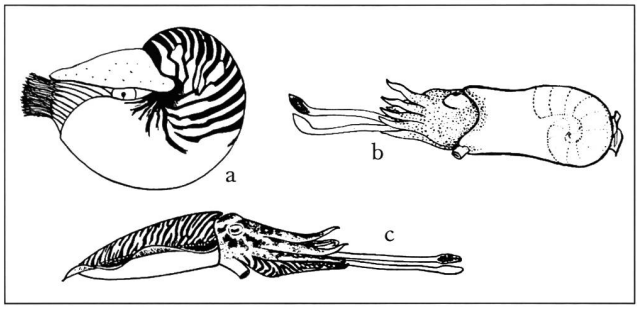

Fig. 1. Esemplari appartenenti, rispettivamente, ai generi *Nautilus* (a), *Spirula* (b) e *Sepia* (c) (LANE, 1957).

il prodotto del metabolismo proteico di questi cefalopodi (BOUCHER- RODONI & MANGOLD, 1994).

Siccome le reazioni che permettono il passaggio dall'ammonio (azoto molecolare escreto da questi invertebrati) all'azoto gassoso (Fig. 2) sono costose energeticamente per gli eucarioti, Boucher-Rodoni & Mangold (1994) hanno formulato l'ipotesi secondo la quale certi batteri nitrificanti e/o denitrificanti potrebbero essere associati simbioticamente a queste tre specie di cefalopodi.

$$NH_3 \xrightarrow{\text{Nitrificazione}} NO_3^- \xrightarrow{\text{Denitrificazione}} N_2$$

Fig. 2. Reazioni di trasformazione dell'ammonio in azoto gassoso.

PROBLEMATICA

In seguito ai risultati di Boucher-Rodoni e Mangold (1994), è nata l'esigenza di chiarire il processo d'accumulazione dell'azoto gassoso.

Questo lavoro di ricerca si propone prima di tutto di determinare la presenza di un'associazione simbiotica che assicurerebbe l'efficacia delle reazioni di nitrificazione e denitrificazione nei cefalopodi. In secondo luogo di individuare gli esseri viventi implicati (specifici o meno) ed infine di studiare la loro posizione filogenetica e compararne l'evoluzione.

STUDIO DELLA SIMBIOSI

Le tecniche di biologia molecolare, sviluppatesi negli anni ottanta, hanno permesso la caratterizzazione di un gran nu-

mero di popolazioni e comunità batteriche nei più svariati biotopi. Questi nuovi procedimenti permettono di eludere la fase di coltivazione (spesso lunga e a volte impossibile) dei ceppi batterici da mettere in evidenza.Tra queste tecniche, la PCR (Polymerase Chain Reaction) (Fig. 3) e l'IIS (Ibridazione *in situ*) (Fig. 4) sono le più utilizzate attualmente dai microbiologi, e sono state scelte per determinare la presenza di una simbiosi batterica nel contesto di questo lavoro di ricerca.

La PCR è la reazione di amplificazione del genoma contenuto nelle cellule. Allorquando si vuole determinare la presenza di cellule ben precise in un biotopo conosciuto, bisogna amplificare selettivamente un pezzo d'ADN specifico.

Per mettere in evidenza una simbiosi batterica bisogna effettuare delle amplificazioni di una sequenza di ADN batterico che codifica la sintesi della molecola 16S ARN ribosomale (16S ARNr). Questa molecola contiene delle zone conservate in tutte le specie di esseri viventi ed altre estremamente variabili, che permettono di differenziare le cellule in modo specifico.

In questo lavoro di ricerca stiamo prelevando gli organi dei tre generi *Nautilus sp.*, *Spirula sp.* e *Sepia sp.* suscettibili di accogliere i batteri nitrificanti e denitrificanti (branchie, cuori branchiali, sacchi renali,...). Dopo aver estratto l'ADN totale, procediamo alla PCR del gene del 16S ARNr batterico. Nel caso di una presenza batterica, si possono osservare le tracce della molecola amplificata dopo migrazione su gel.

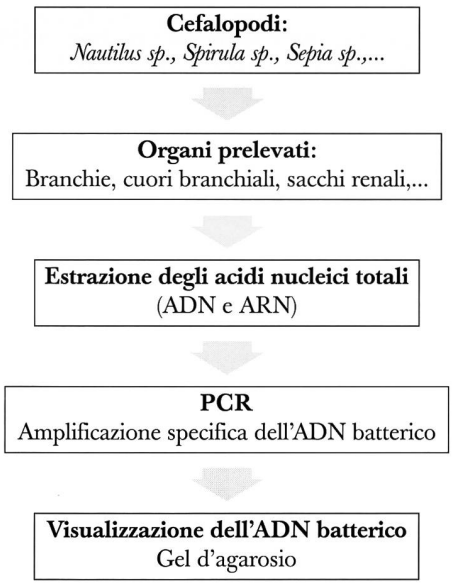

Fig. 3. Schema delle tappe della tecnica PCR utilizzata per individuare l'eventuale simbiosi batterica nei cefalopodi.

L'IIS è una tecnica che utilizza delle sonde nucleiche complementari ad una porzione d'ARNr (AMANN *et al.*, 1995, HOVANEC & DELONG, 1996).

L'astuzia che permette di mettere in evidenza la presenza batterica in un tessuto, è l'utilizzazione di sonde specifiche marcate fluorescentemente. Queste sonde si fissano in modo complementare all'ARNr batterico e, dopo il lavaggio del tessuto, un microscopio a epifluorescenza visualizzerà le cellule contenenti la sonda.

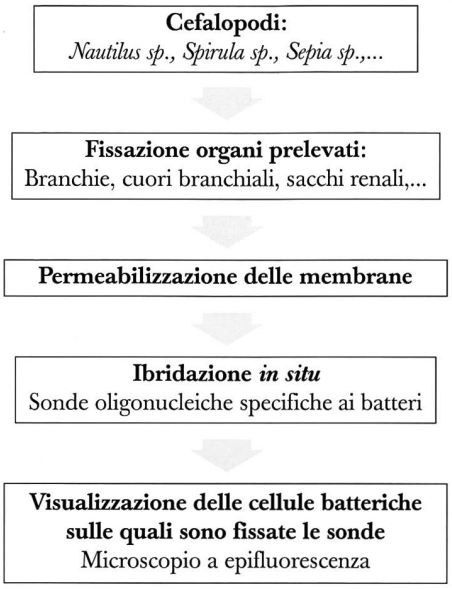

Fig. 4. Schema delle tappe dell'IIS utilizzata per individuare l'eventuale simbiosi batterica nei cefalopodi.

In questa ricerca utilizziamo delle sonde che si fissano su una porzione della molecola 16S ARNr batterica, in modo tale da mettere in evidenza qualsiasi gruppo batterico presente nei tessuti dei cefalopodi.

In seguito, utilizzando delle sonde fluorescenti sempre più specifiche, caratterizzeremo filogeneticamente le diverse popolazioni batteriche, e dopo la verifica delle loro capacità nitrificanti e denitrificanti, studieremo la coevoluzione dei simbionti.

CONCLUSIONE

Il gruppo dei cefalopodi, che è emerso precocemente nell'evoluzione degli esseri viventi, ha suscitato il vivo interesse degli studiosi in filogenetica.

Le ricerche portate avanti in questo ambito hanno fin ora fatto capo a dei criteri morfologici e molecolari propri a questi invertebrati (BONNAUD *et al.*, 1994, 1997).

Siccome le modalità di galleggiamento dei cefalopodi sono considerate essere in relazione diretta con l'evoluzione del loro modo di vita, lo studio della tassonomia e delle interazioni tra ceppi batterici e cefalopodi, metterà un processo fisiologico a profitto dello studio della coevoluzione fra simbionti. Complementerà inoltre le conoscenze attuali concernenti l'evoluzione del gruppo dei cefalopodi.

BIBLIOGRAFIA

AMANN R.I., LUDWIG W. & SCHLEIFER K.-H., 1995. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiol. Rev., 59 (1): 143-169.

BONNAUD L., BOUCHER-RODONI R. & MONNEROT M., 1994. Phylogeny of decapods based on partial 16S rDNA nucleotide sequences. C. R. A. S., 317: 581-588.

BONNAUD L., BOUCHER-RODONI R. & MONNEROT M., 1997. Phylogeny of cephalopods inferred from mitochondrial DNA sequences. Mol. Phyl. Evol. 7 (1): 44-54.

BOUCHER-RODONI R. & MANGOLD K., 1994. Ammonia production in cephalopods, physiological and evolutionary aspects. Mar. Fresh. Behav. Physiol., 25: 53-60.

HOVANEC T.A. & DELONG E.F., 1996. Comparative analysis of nitrifying bacteria associated with freshwater and marine aquaria. Appl. Environ. Microbiol., 62 (8): 2888-2896.

ZUMFT W.G., 1992. The denitrifying prokariotes. In «The prokariotes», Balows A., Trüper H.G., Dworkin M., Harder W. and Schleifer K.-H., Ed.: 554-582.