



PO FEAMP

ITALIA 2014 | 2020

Priorità n. 1 - Promuovere la pesca sostenibile sotto il profilo ambientale, efficiente in termini di risorse, innovativa, competitiva e basata sulle conoscenze

Misura 1.44

(ai sensi dell'art. 39 Reg. (UE) 508/2014)

Pesca nelle acque interne e fauna e flora nelle acque interne

- Innovazione connessa alla conservazione delle risorse biologiche -

(Art. 44, par. 1 lett. c del Reg. (UE) n. 508/2014)

**SVILUPPO DI METODOLOGIE INNOVATIVE PER LO
SFRUTTAMENTO SOSTENIBILE DELLE RISORSE BIOLOGICHE
NELLA LAGUNA DI LESINA
(Catch Up Fish)**



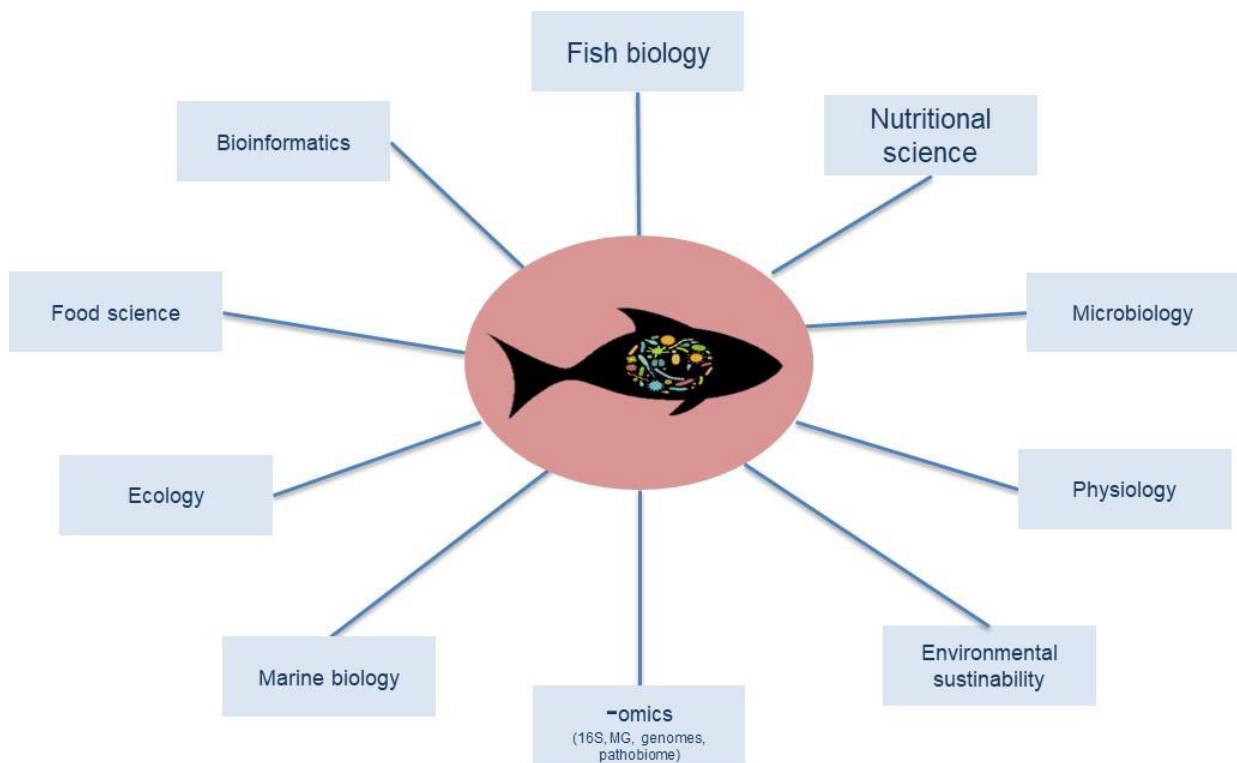
FEAMP
PO 2014-2020
Fondo europeo per gli
affari marittimi e la pesca



**CNR
IRBIM**
ISTITUTO PER LE
RISORSE BIOLOGICHE
E LE BIOTECNOLOGIE
MARINE



Il microbioma delle specie ittiche commerciali nella laguna di Lesina



FEAMP
PO 2014-2020
Fondo europeo per gli affari marittimi e la pesca



CNR IRBIM
ISTITUTO PER LE RISORSE BIOLOGICHE E LE BIOTECNOLOGIE MARINE

Work Package:	1
Task:	1.3
Deliverable:	1.3 Rapporto sul microbiota associato alle specie ittiche lagunari ed ambientali

Versione:		Data:	Luglio 2021
Tipologia:	Rapporto		
Disponibilità:	Sito web di progetto – www.catchupfish.it		
Partner Responsabile:	CNR-IRBIM		
Autore (i):	Elena Manini, Gian Marco Luna, Elisa Baldrighi		
Responsabile della supervisione:	Elena Manini		

Relazione di fine attività Task1.3

Il microbioma delle specie ittiche commerciali nella laguna di Lesina: Progetto "Catch-Up Fish"

Lo scopo di questo studio è stato quello di caratterizzare la diversità microbica presente nel tratto gastrointestinale, sulla cute e sulle branchie di tre specie ittiche commerciali della laguna di Lesina: *Atherina boyeri* spp., *Mugil cephalus* spp. e *Anguilla anguilla*.

Il microbioma associato alle specie ittiche negli ambienti lagunari è ancora poco studiato, in particolare non è nota la natura delle interazioni tra il microbioma e il suo ambiente (i.e. TASK1.3 – REVIEW SUL MICROBIOMA ASSOCIATO ALLE SPECIE ITTICHE E. Manini, E. Baldrighi, R. Bossa, G.M.Luna).

Queste nuove conoscenze ci permetteranno di comprendere il ruolo dell'ecosistema lagunare nella modulazione del microbioma delle specie ittiche di interesse commerciale e come, tale ambiente, può influire sullo stato di salute degli organismi.

I campioni prelevati in quattro aree della Laguna di Lesina, sono stati processati ed analizzati da Novembre 2019 a Dicembre 2020. Ad ogni campionamento, oltre alle specie ittiche d'interesse commerciale, sono stati prelevati campioni di acqua e di sedimento per un'analisi di confronto con l'ambiente circostante. Le attività di laboratorio e le analisi di sequenziamento del DNA microbico, sono terminate nel mese di Giugno del 2021, ed hanno riguardato principalmente l'estrazione del microbioma batterico dalle specie ittiche individuate, usando i protocolli standard presentati nel primo report di Progetto (Allegato 1 – Relazione 1° anno); il sequenziamento del DNA estratto è stato analizzato da una Ditta, scelta per continuità e confronto dei dati pregressi. La successiva analisi di bioinformatica è stata effettuata in collaborazione con l'Università Federico II.

I risultati hanno mostrato, in ciascuna specie, un'elevata diversità biologica tra i campioni e una somiglianza tra campioni dello stesso tipo di tessuto Fig. 1. In *Atherina boyeri* e *Mugil cephalus* abbiamo rilevato una somiglianza tra alcuni campioni di pelle e di branchie suggerendoci come la composizione della comunità del microbioma risponda a fattori esterni come habitat, dieta e fattori di stress. Inoltre lo studio del microbioma presente sulla superficie dell'animale (pelle) potrebbe avere un ruolo di protezione contro eventuali patogeni presenti nell'ambiente (Merrifield e Rodiles 2015; Chiarello et al. 2018). Nell'intestino, i risultati sono stati molto diversi nelle tre specie di pesci analizzati, dovuti sicuramente ad una diversa dieta dell'animale (Fig.1 e Fig. 2). E' stato dimostrato che le comunità microbiche intestinali hanno la caratteristica di migliorare la capacità metabolica e forniscono una serie di effetti benefici sui loro ospiti (Gómez e Balcázar 2008; Sullam et al. 2012);

I phyla del microbioma dominanti sono Firmicutes, Proteobacteria e Bacteroidota, risultati confermati da altri studi effettuati anche in altri ambienti (Egerton et al. 2018; Chiarello et al. 2018; Gómez e Balcázar 2008; Sullam et al. 2012; Fig. 2). In quantità minori, sono stati trovati nei campioni intestinali altri due phyla: l'Actinobacteriota e il Desulfobacterota (Fig.3). Gli Actinobacteriota sono microrganismi ben noti per la loro capacità di produrre metaboliti secondari,

attivi contro i microrganismi patogeni. I desulfobatteri contribuiscono al ciclo dello zolfo dei sedimenti marini ed è possibile che svolgano un ruolo simile come parte della comunità del microbioma.

Nei campioni di intestino sono state trovate sequenze relative alla classe Clostridia. È stato dimostrato che i simbionti dei clostridi nel tratto digestivo contribuiscono alla nutrizione dell'ospite, fornendo acidi grassi e vitamine e producendo enzimi digestivi importanti per abbattere la cellulosa, composto organico molto diffuso in natura, perché presente nei tessuti vegetali ma in generale molto persistente, tanto che il nostro organismo non riesce a digerirla, in quanto privo di enzimi capaci di scinderla in sostanze più semplici ed assimilabili.

Sono stati riscontrati nei campioni, la presenza di alcuni patogeni opportunisti nelle specie ittiche del genere *Tenacibaculum* riscontrati nei campioni di pelle e in alcuni campioni di branchie. Questo agente patogeno può provocare una malattia ulcerosa che comprende lesioni sulle branchie e sulla pelle e può portare alla mortalità. La trasmissione del batterio avviene attraverso l'acqua di mare. Il microbioma delle branchie è molto peculiare rispetto agli altri microbiomi presenti in altri tessuti e apparati dei pesci (Pratte et al. 2018; Zhang et al. 2019); i nostri risultati hanno mostrato nelle branchie, la presenza di *Psychrobacter* considerato un biomarker di stress come l'ipossia, alte concentrazioni di ammoniaca, pH e salinità dell'acqua.

Infine la presenza del dominio degli Archaea in particolare di Crenarchaeota come parte della comunità del microbioma, ci fa capire che essi svolgono un ruolo importante nel ciclo dell'azoto.

In CONCLUSIONE i risultati ci suggeriscono come la composizione del microbioma ha un forte legame con l'habitat e risponde a fattori esterni e di stress dell'ambiente. Pertanto, ulteriori studi saranno opportuni non solo per migliorare le conoscenze sul ruolo dell'ambiente lagunare nella modulazione del microbioma ma anche per poter comprendere le misure da attuare, per migliorare le condizioni dei pesci e degli organismi che popolano l'ambiente lagunare.

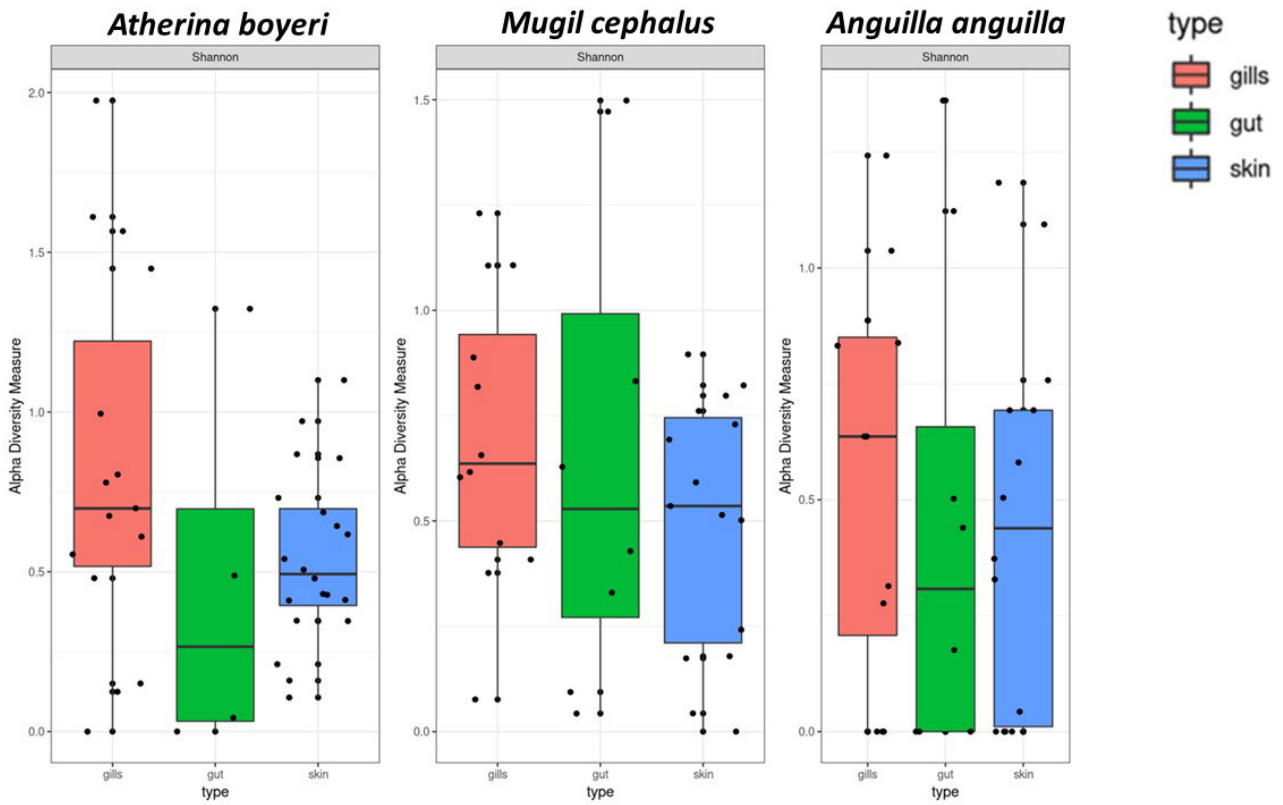


Figura 1: Stime della diversità del microbioma nei tre tipi di tessuti (branchie in rosa, intestino in verde e pelle in azzurro).

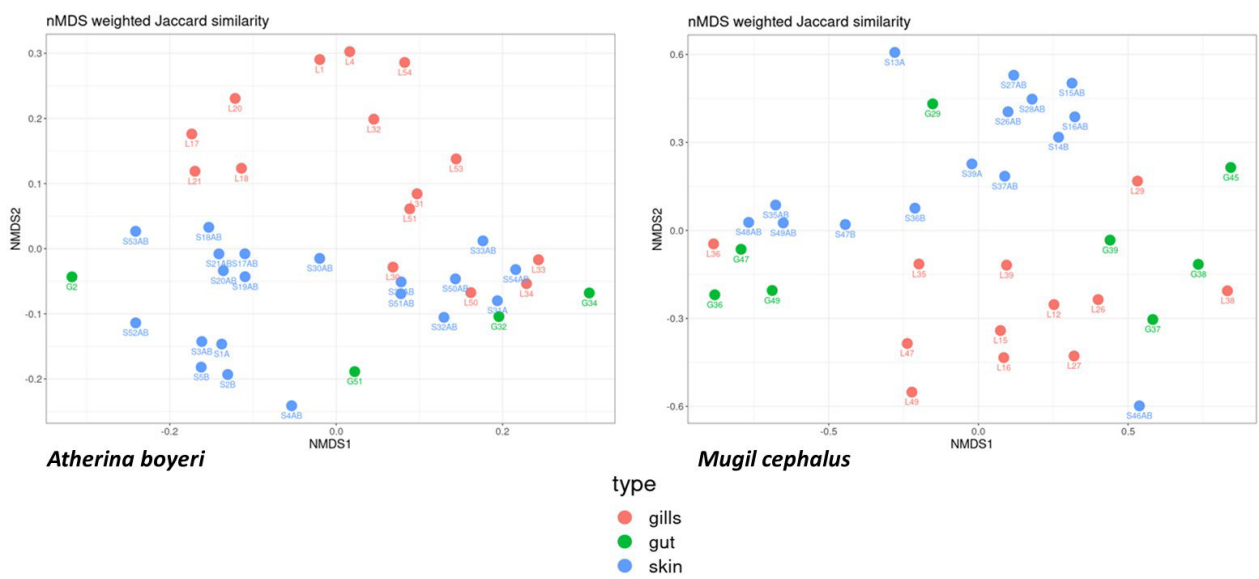


Figure 2. nMDS basato sull'indice di diversità Jaccard di *Atherina boyeri* e *Mugil cephalus*

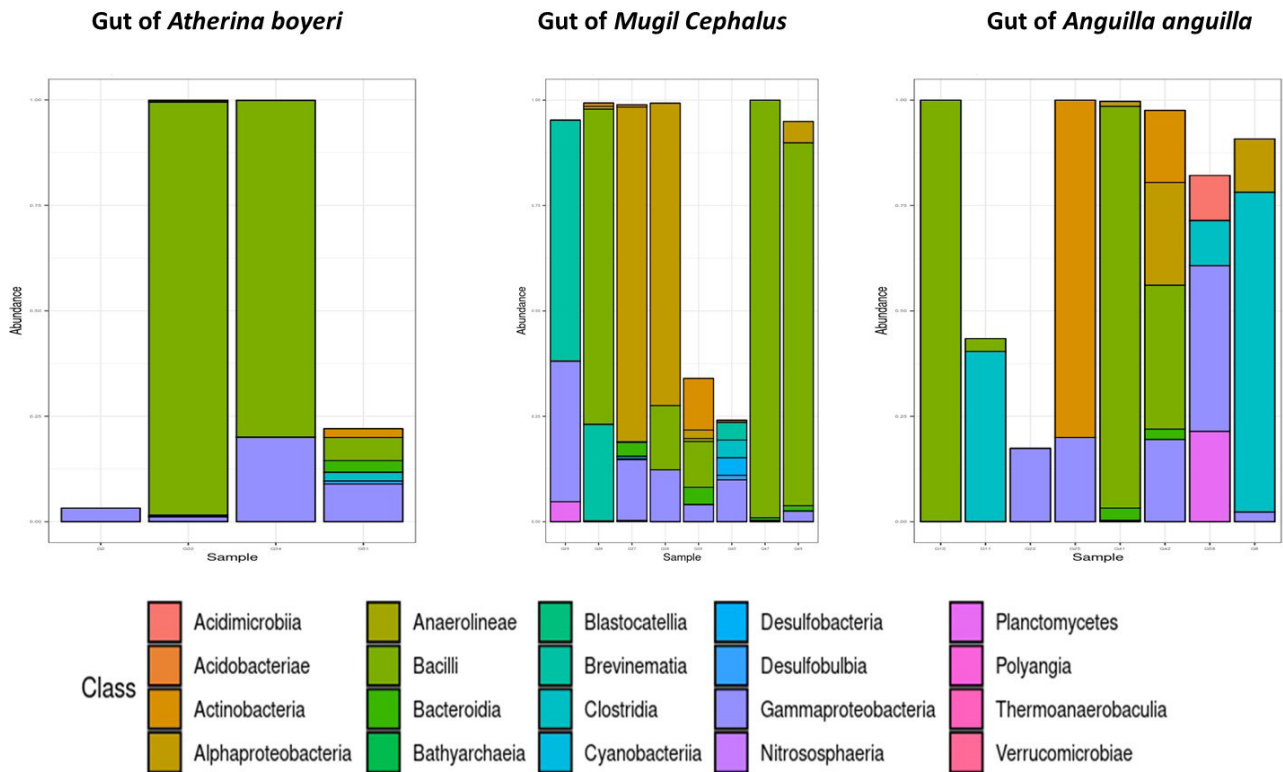


Figure 3. Diversità microbica nei campioni intestinali di *Atherina boyeri*, *Mugil Cephalus* e *Anguilla anguilla* identificati dal sequenziamento del 16S rRNA e classificati a livello di Classe: le 20 classi più abbondanti.

Referenze:

- Chiarello, Marlène, Jean-Christophe Auguet, Yvan Bettarel, Corinne Bouvier, Thomas Claverie, Nicholas A. J. Graham, Fabien Rieuvilleneuve, Elliot Sucré, Thierry Bouvier, e Sébastien Villéger. 2018. «Skin microbiome of coral reef fish is highly variable and driven by host phylogeny and diet». *Microbiome* 6 (1): 147. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0530-4>.
- Egerton, Sian, Sarah Culloty, Jason Whooley, Catherine Stanton, e R. Paul Ross. 2018. «The Gut Microbiota of Marine Fish». *Frontiers in Microbiology* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00873>.
- Gómez, Geovanny D., e José Luis Balcázar. 2008. «A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish». *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 52 (2): 145–54. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00343.x>.
- Merrifield, Daniel L., e Ana Rodiles. 2015. «10 - The Fish Microbiome and Its Interactions with Mucosal Tissues». In *Mucosal Health in Aquaculture*, a cura di Benjamin H. Beck e Eric Peatman, 273–95. San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417186-2.00010-8>.
- Pratte, Zoe A., Marc Besson, Rebecca D. Hollman, e Frank J. Stewart. 2018. «The Gills of Reef Fish Support a Distinct Microbiome Influenced by Host-Specific Factors». *Applied and Environmental Microbiology* 84 (9). <https://doi.org/10.1128/AEM.00063-18>.
- Sullam, Karen E., Steven D. Essinger, Catherine A. Lozupone, Michael P. O'Connor, Gail L. Rosen, Rob Knight, Susan S. Kilham, e Jacob A. Russell. 2012. «Environmental and Ecological Factors That Shape the Gut Bacterial Communities of Fish: A Meta-Analysis». *Molecular Ecology* 21 (13): 3363–78. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05552.x>.
- Zhang, Zhimin, Dapeng Li, Weitong Xu, Rong Tang, e Li Li. 2019. «Microbiome of Co-Cultured Fish Exhibits Host Selection and Niche Differentiation at the Organ Scale». *Frontiers in Microbiology* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02576>.