

Biodiversità 2018
XII Convegno nazionale



XII Convegno Nazionale **Biodiversità** **Ambienti, Salute**

Università degli Studi di Teramo
Campus A. Saliceti | 13-15 Giugno 2018



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TERAMO



Utilizzo della tecnica F.I.S.H. (Fluorescence In Situ Hybridization) per la localizzazione di batteri endogeni nel lievito *Issatchenkia Terricola*

Use of F.I.S.H. Technique (Fluorescence In Situ Hybridization) for endogenous bacteria localization inside *Issatchenkia Terricola* yeast

Antonio Alfonzo¹, Gaetano Conigliaro¹, Giuseppe Blaiotta², Nicola Scalia¹, Giancarlo Moschetti¹

¹ Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo, IT, giancarlo.moschetti@unipa.it

² Dipartimento di Scienze Agrarie, Università Federico II di Napoli, IT, giuseppe.blaiotta@unina.it

RIASSUNTO

Precedenti indagini, rivolte alla valorizzazione ed alla diffusione di pratiche enologiche basate su un ridotto uso di coadiuvanti tecnologici attraverso l'impiego di fermentazione alcoliche spontanee gestite in modo da eliminare e/o ridurre l'uso delle colture microbiche commerciali su Aglianico di Taurasi (AV), hanno permesso di isolare da mosto in fermentazione colonie di lieviti che sono state successivamente purificate e conservate in ceppoteca. Analisi microscopiche condotte sugli isolati di lievito hanno messo in evidenza la presenza di batteri endogeni presenti all'interno delle cellule del lievito.

L'obiettivo di questo studio è stato rivolto all'identificazione delle specie coinvolte nell'interazione intracellulare lievito-batterio e la loro visualizzazione utilizzando appropriate sonde molecolari fluorescenti in grado di permettere la localizzazione dei batteri endogeni. Attraverso l'applicazione della tecnica FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*) in combinazione con la microscopia confocale a scansione laser (CLSM) sono state visualizzate le cellule bat-

teriche all'interno del lievito-ospite. I risultati ottenuti, hanno permesso di identificare la specie coinvolte e di visualizzare l'interazione intracellulare tra *Issatchenkia terricola* e *Staphylococcus* sp. che rappresenta un caso particolare di endosimbiosi tra lieviti e batteri. La natura dell'interazione rimane sconosciuta, così come i meccanismi di invasione delle cellule di *I. terricola* e le modalità di trasmissione durante la riproduzione asessuata del lievito. Attraverso il protocollo della tecnica FISH, opportunamente modificato, è stato possibile visualizzare con successo *Staphylococcus* sp. cellule all'interno di *I. terricola* mediante ibridazione con sonda generica per eubatteri EUB338. Ulteriori osservazioni, con sonde specifiche, sono necessarie per confermare il meccanismo di trasmissione dei batteri endogeni dai lieviti, dalle cellule madri alla figlia.

Il rapporto intracellulare tra *I. terricola* e *Staphylococcus* sp. rappresenta un singolare fenomeno di relazione simbiotica tra eucarioti e procarioti, questa associazione potrebbe avere un enorme impatto sullo studio e

la comprensione di questo ruolo dei microrganismi nella fermentazione spontanea del vino. ♦